

わが国の健康者における髄膜炎菌の保菌状況

¹愛媛県立衛生環境研究所, ²神奈川県衛生研究所, ³山形県衛生研究所, ⁴福島県衛生研究所,

⁵石川県保健環境センター, ⁶岡山県環境保健センター, ⁷香川県環境保健研究センター,

⁸大分県衛生環境研究センター, ⁹長崎県衛生公害研究所, ¹⁰沖縄県衛生環境研究所, ¹¹国立感染症研究所

田中 博¹⁾ 黒木 俊郎²⁾ 渡辺 祐子²⁾ 浅井 良夫²⁾
 大谷 勝実³⁾ 須釜久美子⁴⁾ 芹川 俊彦⁵⁾ 中嶋 洋⁶⁾
 砂原千寿子⁷⁾ 帆足喜久雄⁸⁾ 山口 仁孝⁹⁾ 久高 潤¹⁰⁾
 高橋 英之¹¹⁾ 井上 博雄¹⁾ 山井 志朗²⁾ 益川 邦彦²⁾
 渡辺 治雄¹¹⁾

(平成16年10月7日受付)

(平成17年5月31日受理)

Key words : *Neisseria meningitidis*, healthy carrier

要 旨

2000年9月から2003年3月までの期間, 全国10県で健康者における髄膜炎菌の保菌状況を調査した。学生, 社会人, 高齢者, 外国人等の健康者5,886名の口蓋扁桃から髄膜炎菌の分離を試みた結果, 髄膜炎菌は25名(学生21名, 社会人3名, 外国人1名)から分離され, 分離された集団での分離率は0.5%~5%, 全体の平均分離率は0.4%であった。保菌者の年齢は50歳の1名を除いてすべて10歳代後半から20歳代であり, 性別は男性17名, 女性8名であった。分離菌株は血清群別試験でB群(9株)とY群(4株)に群別されたが, 12株は群別できなかった。また, 髄膜炎菌の簡易分類マーカーであるγグルタミールアミノペプチダーゼ活性の認められない菌株が1株存在した。

[感染症誌 79: 527~533, 2005]

序 文

わが国における髄膜炎菌性髄膜炎は1960年代から急速に激減し, 最近では比較的まれな疾病となっている¹⁾。しかし, 世界的には年間50万症例と死者5万人の発生があり²⁾, 公衆衛生上重要な疾患とされている。特に, アフリカ中央部の髄膜炎ベルト(meningitis belt)と呼ばれる地域では, わが国より罹患率が高い国が多く, また, 先進国においても局地的な小流行や流行国からの輸入例が見られている^{3,4)}。このような海外の状況から推

察し, 本疾病が日本国内でも再興する可能性を否定することはできない。髄膜炎菌は動物や環境因子を介することなく, 患者または健康保菌者の呼吸器分泌物から直接伝播するため²⁾, 健康保菌者は最も重要な感染源となっている⁵⁾。そのため我々は, わが国における髄膜炎菌の健康保菌者の実態を把握し, 潜在的な流行の危険性を探ることを目的に全国規模で健康者の保菌状況を調査した。

対象と方法

1. 調査県および調査対象

本調査には全国10県(山形県, 福島県, 神奈川県, 石川県, 岡山県, 香川県, 愛媛県, 大分県,

別刷請求先:(〒790 0003)松山市三番町8丁目234

愛媛県立衛生環境研究所 田中 博

平成17年8月20日

長崎県、沖縄県)の地方衛生研究所が参画し、2000年9月から2003年3月までの期間に調査対象者から髄膜炎菌の分離を試みた。調査対象は幼児(予防接種のため医療機関を訪れた幼児)、幼稚園児、高校生、学生(専門学校、短期大学、大学に在学する概ね18歳から30歳の学生)、社会人(保健所、研究所、公的機関等に勤務する概ね20歳から60歳の勤労者)、高齢者(地域の老人会や高齢者施設に所属している概ね60歳から80歳の高齢者)、外国人(国際交流施設が実施する日本語教室を訪れた日本在住の外国人)の健康者5,886名とした。調査対象者は学生が多数を占め、年齢層の中心は10代後半から20代であった。男女比は約1:2(男性2,096名、女性3,790名)であった。

2. 調査方法

1) 検査法の統一

調査に先立ち、各研究所の検査担当者を対象にした研修会を開き、検体の採取方法と髄膜炎菌の分離・同定法のマニュアル化を図り、できるだけ統一した検査法で行うこととした。また、外部精度管理を実施し、髄膜炎菌が正しく分離・同定できることを確認した。

2) 検体の採取

検体の採取に当たっては、調査対象者に対して調査の目的等のインホームドコンセントを行い、年齢、性別、国籍等を訊ねた後、左右の口蓋扁桃表面を、それぞれ1本ずつの滅菌綿棒で拭い取り、検体とした。なお、採取部位については、WHOの髄膜炎菌レファレンスセンターであるノルウェー国立公衆衛生研究所のDr. Froholmの助言を参考にした。即ち、欧米における髄膜炎菌の保菌調査⁶⁾⁻⁸⁾では口蓋扁桃を採取部位としており、これらの結果と比較するために本調査でも口蓋扁桃から検体を採取した。

3) 髄膜炎菌の分離・同定

検体は採取後できるだけ早く(概ね2時間以内)MTM培地(Modified Thayer-Martin medium)に画線塗抹し、37℃で48時間、加湿した容器内でローソク培養を行った。培養後、髄膜炎菌の疑われるコロニーを釣菌し、グラム染色と濾紙法によるチトクロームオキシダーゼ試験を実施した。釣

菌したコロニーがオキシダーゼ試験陽性でグラム陰性の双球菌であった場合には純培養し、CTA培地を用いた糖分解試験でブドウ糖、麦芽糖、白糖、果糖、乳糖の分解能を、ゴノチェックIIキット(コスモ・バイオ)でγ-グルタミールアミノペプチダーゼ活性を調べた。以上の生化学的性状検査の結果から髄膜炎菌と口腔内に常在する他のナイセリア属菌を鑑別したが、必要に応じて同定検査キット(日水製薬IDテストNH-20ラビット等)も使用し、同定の一助とした。さらに、今回の調査で分離された髄膜炎菌とされるすべての菌株は神奈川県衛生研究所でダブルチェックされた。髄膜炎菌と同定された菌株は市販群別血清(Difco)A, B, C, D, X, Y, Z, 29E, W135を用いてスライド凝集法により血清群別試験を行った。

結 果

1. 髄膜炎菌の分離状況

髄膜炎菌は福島県で1名、神奈川県で12名、愛媛県で10名、沖縄県で2名の合計25名から分離され、平均分離率は0.4%であった(Table 1)。年度別の分離状況は2000年度4名、2001年度13名、2002年度8名と、0.2~0.5%の割合で毎年分離された(Table 2)。対象者別の分離状況では21名の学生(分離率0.5%)と3名の社会人(分離率0.3%)から分離されたが、外国人1名(分離率2.6%)からも分離された(Table 3)。髄膜炎菌が分離された人々の年齢は50歳の1名を除いてすべて10歳代後半から20歳代であった。また、男性17名に対し女性8名で、男性から多く分離された(Table 4)。一方、髄膜炎菌が分離された学生の集団の中で、検体を採取した学校別に分離率を比較すると0.5~5%と開きがあり、学校によって分離率に差異が認められた(Table 5)。

2. 分離菌株の性状

分離された菌株の生化学的性状と血清群をTable 6に示した。分離株のほとんどは髄膜炎菌の典型的な性状を示したが、愛媛県の学生から分離された菌株はCTA培地による糖分解試験やIDテストNH-20ラビットによる生化学的性状のプロファイルから明らかに髄膜炎菌であったにもかかわらず、γ-グルタミールアミノペプチダーゼ活性

Table 1 Isolation of *N. meningitidis* from healthy persons in Japan

Prefecture	Group	No. of specimens	No. positive (%)
Yamagata	Children	41	0
	High school students	42	0
	College students	136	0
	Workers (adult)	219	0
	Elderly people	20	0
Fukushima	College students	206	1 (0.5%)
	Workers (adult)	79	0
Kanagawa	Kindergarten children	162	0
	High school students	130	0
	College students	1,687	11 (0.7%)
	Workers (adult)	182	1 (0.5%)
Ishikawa	College students	612	0
Okayama	College students	59	0
Kagawa	College students	145	0
	Workers (adult)	68	0
Ehime	College students	1,003	9 (0.9%)
	Workers (adult)	129	0
	Foreigners	38	1 (2.6%)
	Elderly people	146	0
Oita	College students	232	0
	Workers (adult)	84	0
Nagasaki	College students	122	0
	Workers (adult)	147	0
	Unspecified	57	0
Okinawa	Workers (adult)	44	2 (4.5%)
	Elderly people	96	0
Total		5,886	25 (0.4%)

Table 2 Isolation of *N. meningitidis* from specimens in different periods

Year	No. of specimens	No. positive (%)
Sep. 2000 Mar. 2001	1,713	4 (0.2%)
Apr. 2001 Mar. 2002	2,642	13 (0.5%)
Apr. 2002 Mar. 2003	1,531	8 (0.5%)
Total	5,886	25 (0.4%)

が認められなかった。血清群別試験ではB群9株とY群4株に群別されたが、約半数にあたる12株は群別できなかった。

考 察

欧米における調査では健康者の保菌率は5～15%とされ、特に軍隊や学校などの密閉的集団では20～40%と高い^{2,6)-8)}。しかしながら、わが国の集団における髄膜炎菌の保菌調査は数少なく、健康保菌者に関する情報は極めて乏しい。そのような中で、1969年に神奈川県内の教育隊においてC群による患者が発生した事例での集団における保菌率は30～70%であった⁹⁾。一方、1971～77年にかけて神奈川県内の短大生および小学生の集団を対象に行った保菌調査では、短大生の平均保菌率

Table 3 Isolation of *N. meningitidis* according to group

Group	No. of specimens	No. positive (%)
Children	41	0
Kindergarten children	162	0
High school students	172	0
College students	4,202	21 (0.5%)
Workers (adult)	952	3 (0.3%)
Elderly people	262	0
Foreigners	38	1 (2.6%)
Unspecified	57	0
Total	5,886	25 (0.4%)

Table 4 *N. meningitidis* carrier rates of by age

Age (year)	Rate (%)	
	Males	Females
< 5	0 (0/72) *	0 (0/73)
6 10	0 (0/28)	0 (0/28)
11 15	0 (0/17)	0 (0/19)
16 20	0.8 (5/593)	0.2 (4/1,799)
21 30	1.4 (11/785)	0.3 (4/1,309)
31 40	0 (0/137)	0 (0/204)
41 50	0.8 (1/123)	0 (0/125)
51 60	0 (0/161)	0 (0/77)
>61	0 (0/118)	0 (0/155)
Unspecified	0 (0/62)	0 (0/1)
Total	0.8 (17/2,096)	0.2 (8/3,790)

* : No. isolated/No. tested

Table 5 Comparison of meningococcal carrier rates according to college location

Colleges	Location	Rates (%)
A	Fukushima	1.1 (1/94) *
B	Tokyo	5.0 (4/80)
C	Kanagawa	0.5 (1/220)
D	Kanagawa	0.8 (2/262)
E	Kanagawa	1.1 (4/379)
F	Ehime	1.5 (5/321)
G	Ehime	1.6 (1/62)
H	Ehime	0.7 (2/294)
I	Ehime	1.7 (1/59)

* : No. isolated/No. tested

は7.2%，小学生は4.3%であったが，この集団では髄膜炎菌感染症患者の発生は見られていない⁹⁾．今回，我々は，非流行時の健康者の全国的な

Table 6 Biochemical characteristics and serogroups of the *N. meningitidis* strains isolated in this study

Biochemical test	Most strains	One mutant strain
Gram stain	Gram-negative diplococci	Gram-negative diplococci
Oxidase	+	+
Acid produced from		
Glucose	+	+
Maltose	+	+
Sucrose	-	-
Fructose	-	-
Lactose	-	-
γ -Glutamyl aminopeptidase	+	-
Serogroup	B : 8 strains Y : 4 strains Non-groupable : 12 strains	B : 1 strain

保菌状況を知ることは，わが国における髄膜炎菌の流行の可能性を探る上で重要と考え，本調査を実施した．その結果，平均保菌率は全体の0.4%であった．この値は欧米に比べ非常に低く，また，前述した1970年代の神奈川県調査結果と比べても低い値であり，わが国の髄膜炎菌感染症患者の発生数が少ない状況を反映したものと思われる．

髄膜炎菌は50歳の1名を除き，学生および学生の年齢層の対象者から分離された．さらに，髄膜炎菌が分離された学生の集団の中で，学校別に分離率を比較すると0.5%から5%と開きがあり，また，男性の分離率が女性に比べ高いなど，集団

の状況によって分離率に差異の生じる傾向が見られた。この原因について今回の調査結果から十分に説明することは難しいが、分離率1%以上で保菌者が4人以上見つかった所は比較的規模が大きく、スポーツ等の盛んな男女比に偏りが無い活動的な大学であった。このような集団には保菌者が多く存在するのではないかと推察した。一方、髄膜炎菌感染症の場合、患者の家族や同僚に保菌者が存在し、患者は保菌者であった家族や同僚から感染・発病すると推測されている¹⁰⁾。今回の調査でも1例ではあるが、髄膜炎菌が分離された女子学生(発熱、咽頭発赤を呈する)の家族(母親)および友人の男子学生について保菌検査を行ったところ、友人から髄膜炎菌が分離され、親密な男女の友人間で感染が認められた。この様なヒトからヒトへの感染は接触度合により左右されるが、ヒトからヒトへの感染が容易なほど保菌者も多くなり、流行の可能性が高まると考えられた。

γ -グルタミールアミノペプチダーゼ活性はMTM培地のような病原性ナイセリア属菌分離用選択培地に発育するグラム陰性球菌(髄膜炎菌、淋菌、*Neisseria lactamica* および *Moraxella catarrhalis* の4菌種)の鑑別に用いられ、この酵素活性を利用した鑑別用キット(ゴノチェックIIキット)も市販されている。本酵素は4菌種のうち髄膜炎菌のみが保有しているため¹¹⁾、髄膜炎菌の同定に重要な役割を果たしている。Jandaら¹²⁾は、ゴノチェックIIキットにより髄膜炎菌の97.1%は正しく鑑別されるが、一部の菌株は正しく同定されなかったと述べている。また、黒木らの報告¹³⁾した同キットによる菌種の鑑別の検討では非常に良好な結果が得られたが、供試菌55株のうち1株が誤って判定されている。この原因は鑑別に必要な酵素の活性が弱い、または欠損した菌株が存在するためと推定している。今回の調査で分離されたほとんどの菌株はゴノチェックIIキットで髄膜炎菌と同定されたが、 γ -グルタミールアミノペプチダーゼ活性がない菌株の存在も認識された。この菌株はゴノチェックIIキットのみを用いた酵素活性による鑑別試験では正しく鑑別されず、各種の糖分解性試験やその他の生化学的性状検査を行った結果、

髄膜炎菌と同定された。髄膜炎菌の検査には迅速性が要求されることから短時間で判定できるゴノチェックIIキットがよく使用されている。しかし、低率ではあるが正しく鑑別されない菌株もあることが確認されたため、髄膜炎菌の同定に際しては1種類の鑑別用キットに頼るのではなく、多種類の生化学的性状項目を持つ検査キットと併用する必要があると思われる。なお、今回分離された菌株の酵素欠損は、PCRによる関連遺伝子の増幅試験で挿入配列(IS)の挿入による遺伝子の不活化が原因であることがわかっている¹⁴⁾。

分離菌株の血清群はB群、Y群、群別不能株であった。髄膜炎菌の血清群は莢膜多糖体の違いから少なくとも13群に分類され、疫学調査やワクチン接種プログラムの設定時に応用されている。わが国では主にB群菌が散发例から多く分離されているが¹⁵⁾、アフリカの髄膜炎ベルト地域ではA群による流行が主流であり、C群やY群による流行もヨーロッパや米国に見られている²⁾。一方、海外で感染し、国内に持込まれた事例として、メッカへの巡礼者を介したW-135群の感染例が米国などで報告されている⁴⁾。わが国でもオーストラリア滞在中に肺炎を先行感染し、帰国後、敗血症を呈したB群菌の症例¹⁶⁾や香港居住後に帰国した健康保菌者からの家族内感染により発症したと考えられるB群菌による気管支肺炎¹⁷⁾の輸入症例が報告されている。航空輸送の発展などにより、海外からの人の流入が増加し、かつ短時間に行われている現状において海外での流行は、即時にわが国にも波及・影響する。さらに、日本国内では長い間髄膜炎菌感染症の流行が見られていないため、免疫学的にみて髄膜炎菌に対する感受性の高い集団になっていると予想する記述¹⁸⁾がある。本調査での保菌率は諸外国と比較して低い値であり、このことがわが国での患者発生数の少ない要因の一つになっていると推測される。しかし、前述した現状から輸入症例の増加も含め、今後流行が起きる可能性を否定することはできない。わが国では今のところ髄膜炎のワクチンは導入されていないが、A群が流行しているアフリカの髄膜炎ベルト地域ではWHO主導で勢力的に導入され、

また、1999年にC群髄膜炎菌による1,500人以上の感染者と150人の死者を出したイギリスでは2000年からC群ワクチンを乳幼児のワクチン接種プログラムに導入し、巧を奏している¹⁹⁾。現行のワクチンではワクチン導入に際して、導入地で流行している髄膜炎菌の血清群の疫学情報が必須となるため、国内で分離された菌株の血清群などの解析と海外での発生状況を知ることはワクチン導入に関する貴重なデータとなり、髄膜炎菌感染症の予防対策上極めて重要である。今後、発生患者の解析とともに、保菌率が比較的高率であった学生集団を中心に健康者の定期的な保菌調査を行い、わが国での流行の可能性を予測する必要があると考える。

謝辞：本調査に際して、検体の採取等で御尽力を頂いた関係施設の各位に深謝いたします。なお、本調査は平成12～14年度厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）髄膜炎菌性髄膜炎の発生動向調査及び検出方法の研究（主任研究者：山井志朗及び益川邦彦 神奈川県衛生研究所）の分担研究（分担研究者：井上博雄 愛媛県立衛生環境研究所）として実施し、その概要は第78回日本感染症学会総会（2004年4月東京都）において発表した。

文 献

- 1) 高橋英之：髄膜炎菌性髄膜炎。感染症発生動向調査週報 2001；3：8 10.
- 2) WHO：Meningococcal vaccines：polysaccharide and polysaccharide conjugate vaccines. Weekly epidemiological record 2002；77：331 9.
- 3) Connolly M, Noah N：Is group C meningococcal disease increasing in Europe? A report of surveillance of meningococcal infection in Europe 1993 6. Epidemiol Infect 1999；122：41 9.
- 4) CDC：Public Health Dispatch：Update：Assessment of risk for meningococcal disease associated with the Hajj 2001. MMWR 2001；50：221 2.
- 5) 吉田真一：髄膜炎菌。森 良一，天児和暢編，戸田新細菌学，南山堂，東京，1993；p.362 3.
- 6) Bevanger L, Bergh K, Gisas G, Caugant DA, Froholm LO：Identification of nasopharyngeal carriage of an outbreak strain of *Neisseria meningitidis* by pulse-field gel electrophoresis versus phenotypic methods. J Med Microbiol 1998；47：993 8.
- 7) Riordan T, Cartwright K, Andrews N, Stuart J, Burris A, Fox A, et al.：Acquisition and carriage of meningococci in marine commando recruits. Epidemiol Infect 1998；121：495 505.
- 8) Neal KR, Nguyen-Van-Tam JS, Jeffrey N, Slack RCB, Madeley R, Ait-Tahar K, et al.：Changing carriage rate of *Neisseria meningitidis* among university students during the first week of term：Cross sectional study. Br Med J 2000；320：846 9.
- 9) 黒木俊郎，山井志朗，井上博雄，田中 博，高橋英之，渡辺治雄：わが国の健康者における髄膜炎菌の保菌状況。病原微生物検出情報 2002；23：37 8.
- 10) 中村 功，国広誠子：髄膜炎菌感染症。化学療法の領域 2001；17：1274 80.
- 11) Yajko DM, Chu A, Hadlay WK：Rapid confirmatory identification of *Neisseriaceae gonorrhoeae* with lectins and chromogenic substrates. J Clin Microbiol 1984；19：380 2.
- 12) Janda WM, Ulanday MG, Bonnhoff M, LeBeau LJ：Evaluation of the RIM-N, Gonocheck-II, and Phadebact systems for the identification of pathogenic *Neisseria* spp. and *Branhamella catarrhalis*. J Clin Microbiol 1985；21：734 7.
- 13) 黒木俊郎，渡辺祐子，山井志朗，滝沢金次郎：Gonocheck-II キットによる病原性ナイセリア属菌種の迅速同定。感染症誌 1986；61：581 6.
- 14) Takahashi H, Tanaka H, Inouye H, Kuroki T, Watanabe Y, Yamai S, et al.：Isolation from a healthy carrier and characterization of a *Neisseria meningitidis* strain that is deficient in γ -glutamyl aminopeptidase activity. J Clin Microbiol 2002；40：3035 7.
- 15) Takahashi H, Kuroki T, Watanabe Y, Tanaka H, Inouye H, Yamai S, et al.：Characterization of *Neisseria meningitidis* isolates collected from 1974 to 2003 in Japan by multilocus sequence typing. J Med Microbiol 2004；53：657 62.
- 16) 白石 眞，関 一平，安藤裕康，中澤暁雄，伊巻尚平，長嶋淳三，他：海外渡航中に肺炎を先行感染として発症した *Neisseria meningitidis* 敗血症の1例。感染症誌 2001；75：692 5.
- 17) 大滝雅之，多部田弘士，鈴木陽一：輸入感染症による家族内感染と考えられた *Neisseria meningitidis* 気管支肺炎の1例。日胸疾会誌 1997；35：461 5.
- 18) 永武 毅：髄膜炎菌性髄膜炎。総合臨床（増刊号）2003；52：1091 5.
- 19) 高橋英之，渡辺治雄：ワクチン その開発と将来展望。髄膜炎菌ワクチン。臨床検査 2004；48：441 8.

Isolation of *Neisseria meningitidis* from Healthy Persons in Japan

Hiroshi TANAKA¹⁾, Toshiro KUROKI²⁾, Yuko WATANABE²⁾,
Yoshio ASAI²⁾, Katsumi OOTANI³⁾, Kumiko SUGAMA⁴⁾,
Toshihiko SERIKAWA⁵⁾, Hiroshi NAKAJIMA⁶⁾, Chizuko SUNAHARA⁷⁾,
Kikuo HOASHI⁸⁾, Yoshitaka YAMAGUCHI⁹⁾, Jun KUDAKA¹⁰⁾,
Hideyuki TAKAHASHI¹¹⁾, Hiroo INOUYE¹⁾, Shiro YAMAI²⁾,
Kunihiko MASUKAWA²⁾ & Haruo WATANABE¹¹⁾

¹⁾Ehime Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science

²⁾Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory

³⁾The Yamagata Prefectural Institute of Public Health

⁴⁾Fukushima Institute of Public Health

⁵⁾Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science

⁶⁾Okayama Prefectural Institute for Environmental Science and Public Health

⁷⁾Kagawa Prefectural Institute for Environmental Science and Public Health

⁸⁾The Oita Prefectural Institute of Health and Environment

⁹⁾Nagasaki Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science

¹⁰⁾Okinawa Prefectural Institute of Health and Environment

¹¹⁾Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases

Between September 2000 and March 2003 healthy subjects in 10 prefectures of Japan were investigated to identify carriers of *Neisseria meningitidis*. Twenty-five *N. meningitidis* strains were isolated from 5,886 throat swab specimens collected from healthy persons, such as students, elderly, and foreigners. Of the 25 carriers, 9 were teenagers, 15 were in their twenties, and only one was in the fifties. The male-female ratio of the carriers was 17 to 8, showing male dominance. The serogroups of the 25 strains were B (9 strains), Y (4 strains) and non-groupable (12 strains). One of the strains was found to be deficient in γ -glutamyl aminopeptidase activity, which is an identification marker for *N. meningitidis*.