

## 7年間にわたり小学生の咽頭から分離した $\beta$ 溶血レンサ球菌, *Haemophilus* 属菌, *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* の 疫学的検討

田近 志保子, 佐々木 実, 金子 克, 小川 英治\*

岩手医科大学歯学部口腔微生物学講座, \*小川小児科医院

(主任: 金子 克 教授)

(受付: 1997年10月21日)

(受理: 1997年11月20日)

**Abstract** : During the last 7-year period from 1991 to 1997,  $\beta$ -hemolytic streptococci, *Haemophili* and *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* in throat of healthy school children in Morioka were examined. The results were summerized as follows. 1. The rates of isolation of  $\beta$ -hemolytic streptococci in lower- grade children were higher than in upper- grade children. 2. In the isolated  $\beta$ -hemolytic streptococci, group A streptococci were the most prevalent. The isolation rates of the group were from 61.3% to 96.6%, followed by group B, group G and group C streptococci. 3. Type T 3 and T12 were dominant in this period: the isolation rates of type T3 were at the top in 1993 and 1994, and those of type T12 were high in 1991, 1992, 1996 and 1997. Although type T1, T4 and T28 were low epidemic T types, these types were isolated almost every year. A similar tendency was seen in the results of clinical specimens. 4. Genome typing of type T3 group A streptococci, which were isolated dominantly, was performed by pulse-field gel electrophoresis (PFGE). These were divided into two PFGE types. The two types were provisionally designed as type I and II. Most of the isolates tested belonged to type I, and isolates of type II were observed only in 1994. 5. The average rate of isolation of *Haemophili* was 6.3% regardless of the grade or year. 6. The rates of isolation of *M. (B.) catarrhalis* were higher in the lower grades than in the upper grades : 49.9% in the first grade and 17.7% in the 6th grade. 7. In the isolated *M. (B.) catarrhalis*, the production rate of penicillinase positive isolates was 87.4% and that of cephalospolinase positive was 81.7%.

**Key words** :  $\beta$ -hemolytic streptococci, haemophili, *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*, isolation, school children

### 緒 言

$\beta$ 溶血レンサ球菌は咽頭炎, 扁桃炎, 化膿性疾患, 猩紅熱, 急性糸球体腎炎, リウマチ熱などの起炎菌であり, これら感染症の大部分はA群溶血レンサ球菌によっておこる。一般に,  $\beta$

溶血レンサ球菌は健康人の咽頭からも分離されるが, 成人よりも小児において分離率が高い。その疫学的背景を知る目的で, 同一集団を長期間にわたり調査することは重要であると考え。すでに $\beta$ 溶血レンサ球菌の分離やA群溶血レンサ球菌のT型別について, 医療機関での報

An epidemiological study of  $\beta$ -hemolytic streptococci, *Haemophili*, *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* isolated from healthy school children in the 7-year period.

Shihoko TAJIKA, Minoru SASAKI, Masaru KANEKO, and Eiji OGAWA\*

Department of Microbiology, School of Dentistry, Iwate Medical University, Morioka, 020 Japan  
\*Ogawa Pediatric Office

**Table 1.** The number of healthy school children examined in grade and year.

Grade	Year							Total
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	
1st	92	84	83	80	81	79	62	561
2nd	89	87	83	78	85	83	70	575
3rd	79	86	94	92	83	81	89	604
4th	91	80	88	93	95	83	79	609
5th	85	90	80	91	92	94	84	616
6th	97	83	84	76	92	85	94	611
Total	533	510	512	510	528	505	478	3,576

告は勝川ら<sup>1)</sup>, 奥山ら<sup>2)</sup>をはじめとして数多くあるが, 健康な同一集団を対象にした例については, 中島ら<sup>3)</sup>, 奥山ら<sup>4)</sup>の報告があるに過ぎない。また, *Haemophilus* 属菌, *Moraxella (Branhamella) catarrhalis* は鼻咽腔に常在するが, とくに小児においては髄膜炎, 副鼻腔炎, 肺炎など, 種々の疾患の起炎菌となることもある。これらの菌種も A 群溶血レンサ球菌と同様に健康人からも分離されるが, 長期間にわたり, 同一集団を対象にした調査は見られない。著者らは, 1991 年から 1997 年の 7 年間にわたり小学生の咽頭から  $\beta$  溶血レンサ球菌, *Haemophilus* 属菌, *M. (B.) catarrhalis* の分離を試み, これら菌種の学年別分離率と年次推移について検討した。健康学童から分離した A 群溶血レンサ球菌の T 型別の年次推移については, 同一学区の小児科医院の患者から分離した臨床分離株と比較した。分離率の高かった A 群溶血レンサ球菌血清型 T 3 については, パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) で遺伝子レベルでのタイピングを行った。また, 近年 *M. (B.) catarrhalis* は  $\beta$ -ラクタマーゼ産生株が増加し, 臨床上問題となっているので, 分離した *M. (B.) catarrhalis* の  $\beta$ -ラクタマーゼ産生能についても検討を加えた。

## 材料と方法

### 1. 材料

(1)盛岡市内の 1 小学校で 1991 年から 1997 年の 7 年間, 毎年 4 月から 5 月に学校検診を行ったさいに, 小学生 (延べ 3,576 名) を対象として

(Table 1), 滅菌綿棒で咽頭拭い液を採取して材料とした。

(2) A 群溶血レンサ球菌 T 型別の年次推移については, 健康学童からの分離株と検診と同時期に同一学区内にある小児科医院の患者から分離した A 群溶血レンサ球菌 456 株を用いて比較検討した。

### 2. 分離と同定ならびに血清型別

$\beta$  溶血レンサ球菌の分離は, 選択培地<sup>5)</sup> (5% ヒト赤血球, コリスチン 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , ナリジクス酸 15  $\mu\text{g}/\text{ml}$  を加えたコロンビア寒天培地) に材料を直接塗抹して, 37°C, 24 時間ローソク培養し,  $\beta$  溶血を指標に菌を分離した。 $\beta$  溶血レンサ球菌の群別は群別用家兔免疫血清 (デンカ生研), A 群溶血レンサ球菌の T 型別は T 型別用家兔免疫血清 (デンカ生研) を用いて凝集反応により行った。

*Haemophilus* 属菌の分離は, チョコレート寒天培地に材料を直接塗抹し, 37°C, 24 時間ローソク培養した。グラム染色により, グラム陰性桿菌であることを確認し, X 因子, V 因子要求性と生化学的性状検査<sup>6)</sup>により菌種を同定した。

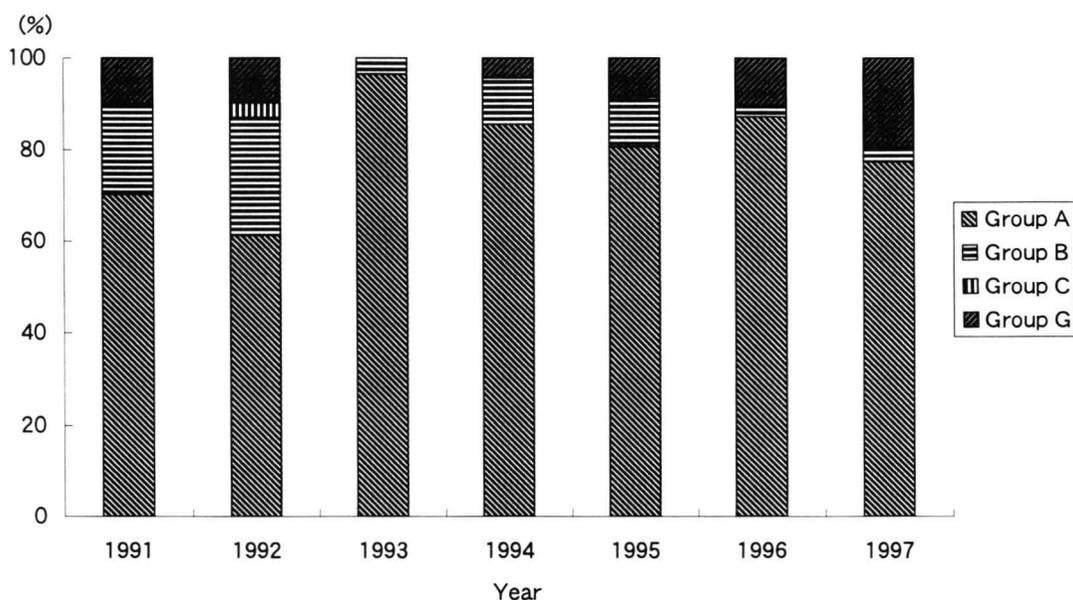
*M. (B.) catarrhalis* は, 選択培地<sup>7)</sup> (5% ヒト赤血球, バンコマイシン 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , トリメトプリム 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , アセタゾールアミド 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  を加えたトリブチケースソイ寒天培地) に材料を直接塗抹し, 37°C, 24 時間好気培養して, グラム陰性双球菌であることを確認して, 生化学的性状検査<sup>8, 9)</sup>により同定した。

### 3. パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE)

**Table 2.** Annual change of isolation number-and-rate of  $\beta$ -hemolytic streptococci from throat of school children in Morioka, 1991 to 1997.

Grade	Year							Total
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	
1st	19(20.7)*	11(13.1)	20(24.1)	5( 6.3)	14(17.3)	6( 7.6)	8(12.9)	83(14.8)
2nd	22(24.7)	11(12.6)	12(14.5)	14(17.9)	21(24.7)	8( 9.6)	2( 2.9)	90(15.6)
3rd	14(17.7)	10(11.6)	17(18.1)	22(23.9)	13(15.7)	9(11.1)	5( 5.6)	90(14.9)
4th	12(13.2)	10(12.5)	10(11.4)	16(17.2)	14(14.7)	5( 6.0)	10(12.7)	77(12.6)
5th	12(14.1)	8( 8.9)	10(12.5)	1( 1.1)	16(17.4)	15(16.0)	3( 3.6)	65(10.6)
6th	12(12.4)	12(14.5)	8( 9.5)	12(15.8)	5( 5.4)	4( 4.7)	3( 3.2)	56( 9.2)
Total	91(17.1)	62(12.2)	77(15.0)	70(13.7)	83(15.7)	47( 9.3)	31( 6.5)	461(12.9)

\* : %

**Fig. 1.** Annual change of groups of  $\beta$ -hemolytic streptococci isolated from throat of school children in Morioka, 1991 to 1997.

小林ら<sup>10)</sup>の方法に従い, A群溶血レンサ球菌 T 3 型 32 株の一夜培養菌をアガロースに包埋 (アガロースブロック) し, リゾチームとアクロモペプチダーゼを含む溶菌液で 37°C, 12 時間振とうした。次にアガロースブロックをプロテアーゼ K を含むタンパク質分解液で 52°C, 12 時間処理した。さらにプロテアーゼ阻害剤 (phenylmethane sulfonyl fluoride, Sigma) を加えて 2 時間振とうし, 制限酵素 *Sma* I で 25°C, 6 時間処理した。菌体を DNA を含むアガロースブロックを Pharmacia Gene Navigator

と GN controller (Pharmacia) を用いて, パルスタイム 5 秒から 40 秒, 220 V, 14 時間の条件で電気泳動した。

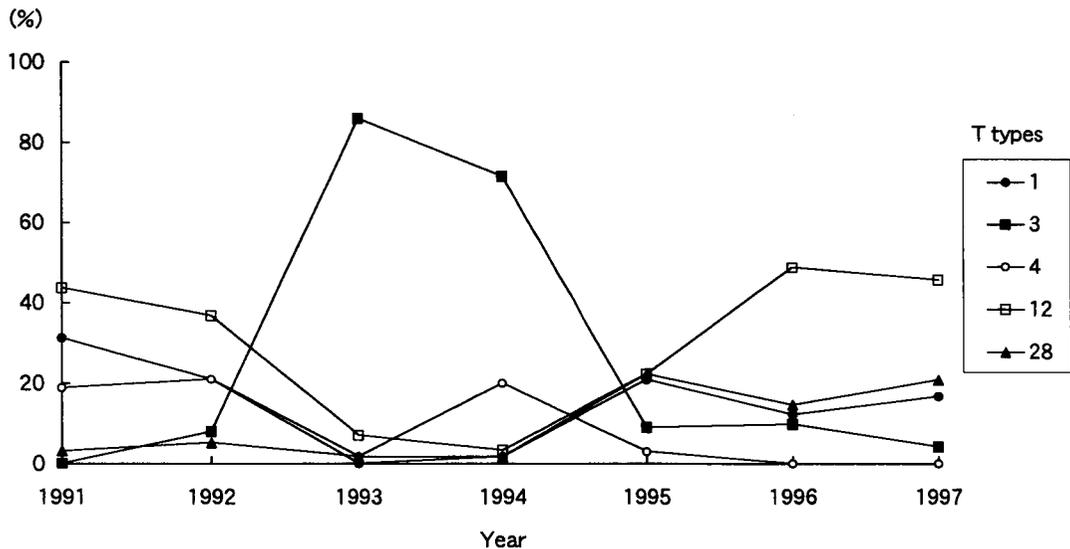
#### 4. $\beta$ -ラクタマーゼ産生能の判定

*M. (B.) catarrhalis* の  $\beta$ -ラクタマーゼ産生能はアシドメトリー法<sup>11)</sup>で判定した。ペニシリナーゼ産生能とセファロsporinナーゼ産生能は, それぞれペニシリン G, セファゾリン 4.5 mg (力価) とブロムクレゾールパープル 3  $\mu$ g を含有したろ紙に被検菌のコロニーを塗抹し, コロニー周囲の色調が紫色から黄色に変化したも

**Table 3.** Annual change of isolation number-and-rate of group A streptococci by T type from throat of school children in Morioka, 1991 to 1997.

T type	Year						
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997
1	20( 31.3)*	8( 21.0)	0	1( 1.7)	14( 20.9)	5( 12.2)	4( 16.7)
2	0	0	0	0	0	0	1( 4.2)
3	0	3( 8.0)	49( 86.0)	43( 71.6)	6( 9.0)	4( 9.8)	1( 4.2)
4	12( 18.9)	8( 21.0)	1( 1.7)	12( 20.0)	2( 3.0)	0	0
6	1( 1.5)	0	0	0	0	0	1( 4.2)
8	0	3( 8.0)	0	0	0	0	0
11	1( 1.5)	0	0	0	0	0	0
12	28( 43.7)	14( 36.8)	4( 7.0)	2( 3.3)	15( 22.3)	20( 48.8)	11( 45.7)
13	0	0	2( 3.6)	0	0	0	0
25	0	0	0	0	1( 1.6)	0	1( 4.2)
28	2( 3.1)	2( 5.2)	1( 1.7)	1( 1.7)	15( 22.3)	6( 14.6)	5( 20.8)
B 3264	0	0	0	1( 1.7)	14( 20.9)	6( 14.9)	0
Total	64(100.0)	38(100.0)	57(100.0)	60(100.0)	67(100.0)	41(100.0)	24(100.0)

\* : %



**Fig. 2.** Annual change of prevalent types of group A streptococci.

のを陽性とした。

### 結 果

#### 1. 健康学童の学年別β溶血レンサ球菌の分離

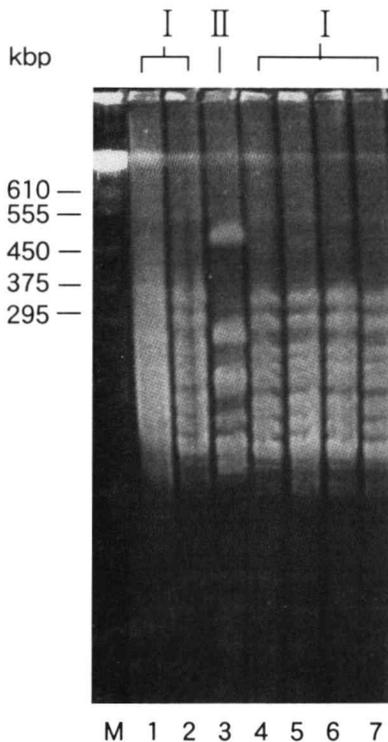
1991年から1997年まで7年間の学年別β溶血レンサ球菌分離陽性者と分離率をTable 2に示した。β溶血レンサ球菌の分離率は、1年生から3年生までの低学年では、1年生は

14.8%、2年生は15.6%そして3年生では14.9%であった。4年生から6年生の高学年では、4年生は12.6%、5年生は10.6%、6年生では9.2%で分離陽性率は低学年では高かった。分離率の年次推移については、1991年から1995年の5年間では1992年が最少の12.2%で、1991年が最多の17.1%で10%台であったが、1996年には9.3%、1997年は6.5%と減少

**Table 4.** Annual change of isolation number-and-rate of group A streptococci by T type from clinical specimens of children in Morioka, 1991 to 1997.

T type	Year						
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997
1	1( 1.1)*	5( 9.1)	2( 8.0)	19( 39.6)	13( 15.3)	22( 18.2)	17( 60.7)
2	0	1( 1.8)	0	0	0	0	0
3	9( 9.6)	5( 9.1)	14( 56.0)	5( 10.4)	0	0	0
4	25( 26.6)	18( 32.7)	4( 16.0)	4( 8.3)	8( 9.4)	15( 12.5)	2( 7.1)
6	0	0	0	1( 2.1)	0	0	1( 3.6)
8	2( 2.1)	5( 9.1)	2( 8.0)	0	0	0	0
11	0	0	1( 4.0)	0	0	2( 1.8)	0
12	50( 53.2)	21( 38.2)	0	8( 16.7)	22( 25.9)	55( 44.9)	3( 10.7)
13	0	0	1( 4.0)	0	0	1( 0.9)	0
18	5( 5.3)	0	0	0	0	0	0
28	2( 2.1)	0	1( 4.0)	4( 8.3)	22( 25.9)	16( 13.3)	5( 17.9)
B 3264	0	0	0	7( 14.6)	20( 23.5)	10( 8.4)	0
Total	94(100.0)	55(100.0)	25(100.0)	48(100.0)	85(100.0)	121(100.0)	28(100.0)

\* : %

**Fig. 3.** Pulsed-field gel electrophoresis patterns of group A streptococci type 3 strains DNA digested with endonuclease *Sma* I. Lanes : M, marker ; 1, isolate in 1992 ; 2, isolate in 1993 ; 3 and 4, isolate in 1994 ; 5, isolate in 1995 ; 6, isolate in 1996 ; 7, isolate in 1997.

した。

## 2. 分離したβ溶血レンサ球菌の年度別, 群別の比率

Fig. 1 に示したように各年次ともA群が大半を占め, 比率が最も低い1992年でも61.3%, 最も高い1993年は96.6%であった。ついでB群の比率が高く1996年は2.1%, 1992年では25.8%であった。また, G群は1993年には分離できなかったが, 1997年は19.4%の分離率であった。C群は1992年にのみ3.2%分離した。

## 3. 健康学童から分離したA群溶血レンサ球菌T型別の推移

T型別の年次分布をTable 3に, 主要菌型(T 1, T 3, T 4, T 12とT 28型)の年次推移をFig. 2に示した。T 3型は1993年では86.0%, 1994年では71.6%の高い分離率を示した。次いでT 12型は1991年には43.7%, 1992年には36.8%, 1996年には48.8%そして1997年には45.7%の分離率を示した。T 1, T 4, T 28型は何れの年次においても分離したが, その分離率はT 3型やT 12型に比べ低値であった。T 2, T 8, T 11, T 13, T 18, T 25, T 28, T B 3264型は年次によって分離されないこともあり散発的傾向にあった。

**Table 5.** Annual change of isolation number-and-rate of *Haemophilus* from throat of school children in Morioka, 1991 to 1997.

Grade	Year							Total
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	
1st	11(12.0)*	5( 6.0)	5( 6.0)	4( 5.0)	4( 4.9)	3( 3.8)	5( 8.1)	37( 6.6)
2nd	5( 5.6)	8( 9.2)	9(10.8)	3( 3.8)	5( 5.9)	3( 3.6)	6( 8.6)	39( 6.8)
3rd	5( 6.3)	6( 7.0)	4( 4.3)	5( 5.4)	4( 4.8)	4( 4.9)	5( 5.6)	33( 5.5)
4th	6( 6.6)	4( 5.0)	8( 9.1)	3( 3.2)	4( 4.2)	6( 7.2)	6( 7.6)	37( 6.1)
5th	8( 9.4)	8( 8.9)	5( 6.3)	4( 4.4)	5( 5.4)	3( 3.2)	7( 8.3)	40( 6.5)
6th	6( 6.2)	6( 7.2)	6( 7.1)	5( 6.6)	4( 4.3)	2( 2.4)	9( 9.6)	38( 6.2)
Total	41( 7.7)	37( 7.3)	37( 7.3)	24( 4.7)	26( 4.9)	21( 4.2)	38( 7.9)	224( 6.3)

\* : %

**Table 6.** Annual change of isolation number-and-rate of *M.(B.)catarrhalis* from throat of school children in Morioka, 1991 to 1997.

Grade	Year							Total
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	
1st	61(66.3)*	49(58.3)	49(59.0)	22(27.5)	39(48.1)	32(40.5)	28(45.2)	280(49.9)
2nd	36(40.4)	50(57.5)	37(44.6)	31(39.7)	39(45.9)	37(44.6)	17(24.3)	247(43.0)
3rd	30(38.0)	28(32.6)	33(35.1)	18(19.6)	25(30.1)	29(35.8)	13(14.6)	176(29.1)
4th	27(29.7)	23(28.8)	32(36.4)	19(20.4)	21(22.1)	10(12.0)	7( 8.9)	139(22.8)
5th	22(25.9)	23(25.6)	15(18.8)	10(11.0)	16(17.4)	15(16.0)	12(14.3)	113(18.3)
6th	28(28.9)	25(30.1)	15(17.9)	7( 9.2)	15(16.3)	7( 8.2)	11(11.7)	108(17.7)
Total	204(38.3)	198(38.8)	181(35.4)	107(21.0)	155(29.4)	130(25.7)	88(18.4)	1,063(29.7)

\* : %

4. 臨床材料から分離したA群溶血レンサ球菌のT型別の推移

Table 4 に 1991 年から 1997 年までの 7 年間に調査した健康学童と同一学区内の小児科医院の患者から分離した臨床分離株の T 型別推移を示した。健康学童由来株とはほぼ同様の傾向を示し、1993 年には T 3 型が 56.0% でピークを示し、T 12 型は 1991 年の 53.2%、1992 年の 38.2%、1996 年には 44.9% であった。毎年分離した T 型は T 1、T 4、T 28 型であった。これらの結果から健康学童由来株の T 型と臨床分離株の T 型の年次推移は、同じ様な傾向を認めた。

5. A 群溶血レンサ球菌 T 3 型の PFGE ゲノムタイピング

分離率が高かった A 群溶血レンサ球菌 T 3 型 32 株について、PFGE によるゲノムタイピングを行った。年次毎のバンドの泳動パターンを

Fig. 3 に示した。レーン 1、2 とレーン 4 から 7 の泳動パターンを示したタイプ I とレーン 3 の泳動パターンのタイプ II の 2 つの異なるタイプを認めた。1992 年から 1997 年にかけて分離した 32 株のうち、1994 年に分離した 2 株がタイプ II で、他の 30 株は全てタイプ I であった。

6. 健康学童からの *Haemophilus* 属菌の分離

*H.influenzae* と *H. parainfluenzae* をあわせて *Haemophilus* 属菌の分離陽性者数と分離率を Table 5 に示した。学年別の分離率は 5.5% から 6.8% の間であった。また、年度別の分離率は 4.2% から 7.9% の間にあり、*Haemophilus* 属菌の分離率は学年、年度に関連性が認められなかった。

7. 健康学童からの学年別 *M. (B.) catarrhalis* の分離

Table 6 に *M. (B.) catarrhalis* の分離陽性者数と分離率を示した。7 年間における学年別の

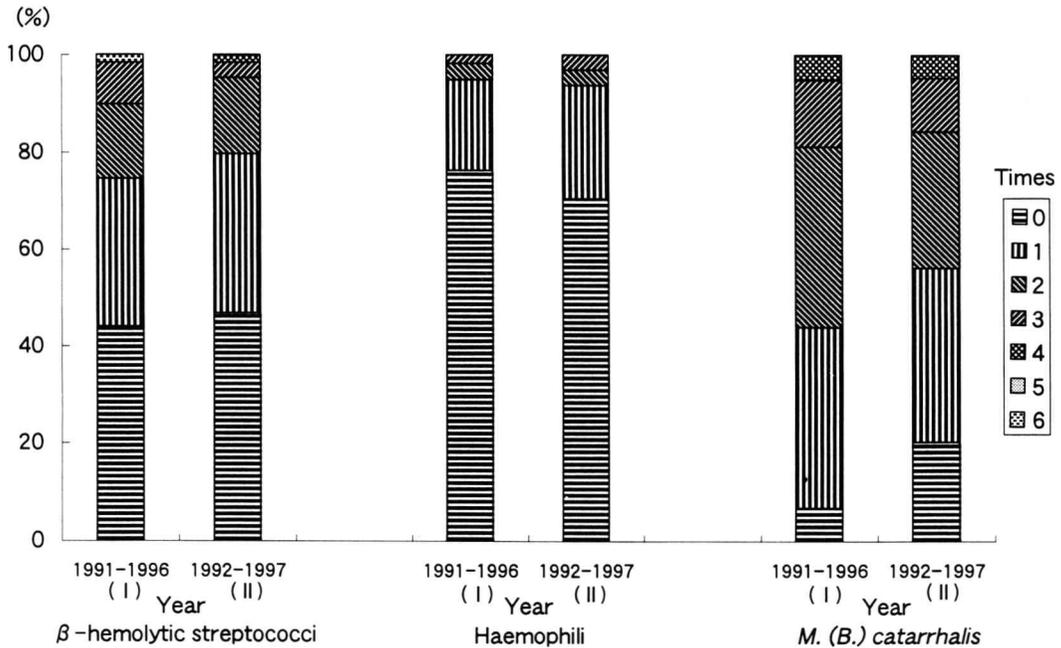


Fig. 4. The rate of children with the same isolation frequency of  $\beta$ -hemolytic streptococci, *Haemophilus* and *M. (B.) catarrhalis*.

分離率をみると、1年生は49.9%、2年生では43.0%、3年生では29.1%、4年生では22.8%、5年生では18.3%、そして6年生では17.7%で、高学年になるほど低下した。年次毎の分離率は1991年が38.3%、1992年が38.8%、1993年が35.4%と高かったが、1994年には21.0%、1997年は18.4%と分離率が低かった。

8. 同一人で6年間に $\beta$ 溶血レンサ球菌、*Haemophilus* 属菌、*M. (B.) catarrhalis* を分離した回数

$\beta$ 溶血レンサ球菌、*Haemophilus* 属菌、*M. (B.) catarrhalis* が分離できた回数を Fig. 4 に示した。1991年から1996年(59名、グループ I)および1992年から1997年(64名、グループ II)まで6年間に検査をすることができた学童数は123名であった。 $\beta$ 溶血レンサ球菌が一度も分離できなかったものが、グループ I では26名(44.1%)、グループ II では30名(46.9%)であった。分離回数が1回のみの学童は、グループ I では18名(30.5%)、グループ II では

21名(32.8%)で、分離回数が多くなると分離陽性者の割合は低下し、6回(毎年)分離できたのは、グループ I の59名中1名のみでその割合は1.6%であった。

*Haemophilus* 属菌では、一度も分離できなかったものがグループ I では45名(76.3%)、グループ II では45名(70.4%)であった。分離回数が1回のみの学童がグループ I で11名(18.6%)、グループ II では15名(23.4%)で、1度も分離できなかったものと分離回数1回のもものが大半を占めた。

*M. (B.) catarrhalis* ではグループ I、グループ II ともに分離回数が1回と2回の学童が大半を占め、その合計はグループ I では44名(74.6%)、グループ II では41名(64.1%)であった。

9. *M. (B.) catarrhalis* の $\beta$ -ラクタマーゼ産生

分離した *M. (B.) catarrhalis* の $\beta$ -ラクタマーゼ産生株数と産生率を Table 7 に示した。

**Table 7.** The number of isolates and rates of  $\beta$ -lactamase producing *M.(B.)catarrhalis*.

Production of $\beta$ -lactamase*	Year							Total
	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	
Penicillinase	183(89.7)	173(87.4)	155(85.6)	92(86.0)	136(87.7)	113(86.9)	77(87.5)	929(87.4)
Cephalosporinase	172(84.3)	160(80.8)	146(80.7)	89(83.2)	124(80.0)	106(81.5)	72(81.8)	869(81.7)

( ): % \* : By use of acidmetric tests

$\beta$ -ラクタマーゼ産生 959 株 (90.2%) でそのうち、ペニシリナーゼ産生株が、最も陽性率が低かったのは 1993 年の 155 株 (85.6%)、最も高かったのは 1991 年の 183 株 (89.7%) で、全体では 929 株 (87.4%) であった。セファロsporinase 産生株は最も陽性率が低かったのが 1995 年の 124 株 (80.0%)、最も高かったのが 1991 年の 172 株 (84.3%) で全体では 869 株 (81.7%) であった。

### 考 察

1991 年から 1997 年までの 7 年間に小学生の咽頭から分離した  $\beta$  溶血レンサ球菌, *Haemophilus* 属菌, *M. (B.) catarrhalis* の学年別分離率と年次推移を検討した。

$\beta$  溶血レンサ球菌は 1991 年から 1995 年までは 12.2% から 17.1% と 10% 台の分離率だったが、1996 年は 9.3%, 1997 年は 6.5% と分離率が低下した。これは最近  $\beta$  溶血レンサ球菌による流行がなかったものと考えられる。

患者の咽頭から分離した  $\beta$  溶血レンサ球菌について A 群溶血レンサ球菌が大多数を占めることが知られており、滝沢ら<sup>12)</sup>は 93.9%, 奥山ら<sup>2)</sup>は 94.3% の分離率であったと報告している。健康学童の場合は 42.8% あるいは 47.7% の分離率で臨床分離株に比べ低率であると報告<sup>4,13)</sup>しているが、著者らの今回の検討では 61.3% から 96.6% とやや高率であった。A 群溶血レンサ球菌の場合、5 月や 9 月の新学期に高率であったという報告<sup>4)</sup>もある。著者らの場合 4 月から 5 月に検査を行っているところから、新入生や転校生により新たな菌が持ち込まれる機会が多いことなどがその原因の一つと考えら

れる。

また、咽頭からの A 群溶血レンサ球菌の分離は施設内小集団から地域内、全国的な規模まで様々な流行の実態把握が行われている<sup>1, 2, 12-14)</sup>。今回、著者らの検討した A 群溶血レンサ球菌の T 型別の年次推移は、T 3 型が 1993 年と 1994 年に高い分離率を示し、T 12 型が 1991 年、1992 年、1996 年と 1997 年に高い分離率を示した。これは同一地域の同時期における臨床分離株の分離状況と一致していることから、これら菌型の流行があったものと考えられる (Table 3, Table 4, Fig. 2)。遠藤ら<sup>15)</sup>が全国的な規模で臨床材料と健康学童由来株の T 型別を検討し、それぞれ分離された菌型が異なることを報告している。今回、対象とした小児科医院が同一学区内にあり、限られた地域での調査であったので菌型と地域での流行に同じ様な傾向がみられたものとする。また、今回の調査で T 3 型、T 12 型の他に T 1 型、T 4 型、T 28 型は臨床分離株、健康学童由来株ともにほぼ毎年分離された菌型であった。全国的にみて多く検出されるのは T 4、T 6、T 12 型であるといわれているので、本研究において特に T 3 型の分離率が高かったことは調査対象となった地域において流行があったものと考えられる。

田中ら<sup>16)</sup>および Upton ら<sup>17)</sup>は PFGE による A 群溶血レンサ球菌 T 3 型のゲノムタイピングを行った結果、2 つのゲノムパターンが存在すると報告している。著者らが分離した健康学童由来 A 群溶血レンサ球菌 T 3 型でもタイプ I とタイプ II の 2 つのゲノムパターンがみられた。タイプ I は対象年次の全てにみられたが、タイプ II は 1994 年にのみ見られた。また、同時期、

同一学区内にある小児科医院からの臨床分離株 (A群溶血レンサ球菌 T 3 型) も健康学童由来株と同様にタイプ I とタイプ II の 2 つのゲノムパターンがみられ, タイプ II は 1994 年にも認められた。このことは T 3 型流行の主流はタイプ I と考えられ, タイプ I とともにタイプ II がみられた 1994 年の場合は, 同一菌型で異なるクローンによる流行があったことが示唆された。

年齢と分離率の関連について, A群溶血レンサ球菌の分離は 5 才から 7 才にピークがあるという奥山ら<sup>18)</sup>の報告と, 9 才前後にピークがあるという児玉ら<sup>19)</sup>の報告がある。今回対象となった健康学童は, 1 年生から 3 年生 (6 才から 8 才前後) で分離率が高く, 2 年生が 15.6% で分離率のピークを認めた。また, *M. (B.) catarrhalis* は 2 才前後に分離率のピークがあり, その後減少し, 小児 (0 才から 9 才) の場合 50% 前後の分離率であるという報告<sup>20)</sup>がある。本研究では, *M. (B.) catarrhalis* は 1 年生の分離率 (49.7%) が最も高く, 高学年になるに従い分離率が減少した。本研究のように小学生を対象とした場合,  $\beta$  溶血レンサ球菌, *M. (B.) catarrhalis* では低学年で分離率が高くなることがわかった。

*Haemophilus* 属菌は臨床的には 2 才以下の小児の場合, 髄膜炎, 中耳炎, 肺炎などの起炎菌となっているという報告<sup>21, 22)</sup>がある。今回, 6 才以上の健康学童を対象にした場合には分離率も低く, 各学年とも 6% 前後の分離率で年齢と分離率の関連はなかった。

また, 在学 6 年間を通して検査のできた学童 (123 名) の  $\beta$  溶血レンサ球菌, *Haemophilus* 属菌, *M. (B.) catarrhalis* の保有状況を見ると,  $\beta$  溶血レンサ球菌では 1 回も分離できなかったものが約 50% あった。分離回数が 1 回の学童が最も多く, 6 年間, 毎年分離できた学童は 1 人だけであった。また, 2 回以上分離できた場合も多くは菌型が異なっており,  $\beta$  溶血レンサ球菌は長期間咽頭に留まることは少ないように思われた。また, *Haemophilus* 属菌では分離回数

が 1 回以下の学童が 90% 以上で分離率も低く, 健康学童の咽頭では分離頻度が低いことが示唆された。*M. (B.) catarrhalis* の場合は 1 回も分離されなかった学童の比率が,  $\beta$  溶血レンサ球菌や *Haemophilus* 属菌にくらべて低い。6 年間で検査した学童の 86.2% から 1 回以上分離でき, 学童においては保有率が高い菌種であると考えられる。

*M. (B.) catarrhalis* は  $\beta$ -ラクタマーゼ産生率が高く臨床上問題となっているが, *M. (B.) catarrhalis* 分離株の  $\beta$ -ラクタマーゼ産生能は, ペニシリナーゼ産生株は 87.4%, セファロスポリナーゼ産生株は 81.7% であった。これは 1980 年代は 10% 以下であったが, 最近では 90% であるとの Enright ら<sup>23)</sup>の報告と一致していた。学童の場合 *M. (B.) catarrhalis* の保有率が高く, *M. (B.) catarrhalis* による感染には抗菌剤の選択に留意する必要がある。

近年, 医療技術の進歩, 高齢者の増加など compromised host の増加により感染症も大きく変化してきた。今回, 著者らは学童の口腔から小児のみならず成人でも重篤な感染症を起こすことがある  $\beta$  溶血レンサ球菌, *Haemophilus* 属菌, *M. (B.) catarrhalis* を分離し疫学的検討を行った。これらの細菌は健康学童からも分離され, また, 年齢や年度によっても保有状況, 分離率, 菌型が異なることがわかり, 疫学的検討の重要性を再認識した。このような長期間の疫学調査が流行の予測, 感染予防対策, あるいは治療上の大きな手がかりとなるものと考えられる。

## 結 語

1991 年から 1997 年の 7 年間に小学生の咽頭から分離した  $\beta$  溶血レンサ球菌, *Haemophilus* 属菌, *M. (B.) catarrhalis* の学年別分離率と年次推移を検討し, 以下の成績を得た。

1.  $\beta$  溶血レンサ球菌の学年別分離率は低学年ほど高かった。
2.  $\beta$  溶血レンサ球菌の群別は A 群が最も多く, 61.3% から 96.6% で大半を占め, ついで B

群, G群, C群の順であった。

3. A群溶血レンサ球菌のT型別の推移はT3型が1993年と1994年, T12型が1991年, 1992年, 1996年と1997年に高い分離率を認めた。また, 分離率は低いほぼ毎年分離できたのはT1型, T4型, T28型であった。

4. T3型溶血レンサ球菌のPFGEゲノムタイプピングの結果, 1994年はタイプIとIIがみられたが, 他の年は全てタイプIのみであった。

5. *Haemophilus* 属菌は学年, 年度に関係なく6.3%の分離率であった。

6. *M. (B.) catarrhalis* の分離率は1年生では49.9%で, 6年生では17.7%で低学年ほど高かった。

7. *M. (B.) catarrhalis* の $\beta$ -ラクタマーゼ産生はペニシリナーゼ産生が87.4%で, セファロスポリナーゼ産生は81.7%であった。

本論文の要旨は, 第51回日本細菌学会東北支部総会(平成9年9月5日)において発表した。

## 文 献

- 1) 勝川千尋, 原田七寛, 中曾根智恵: 1967年から1987年の21年間に大阪府下で分離されたA群溶血レンサ球菌について, 第1編, 流行菌型の推移, 感染症誌, 63: 1257-1264, 1989.
- 2) 奥山雄介, 井上豊, 石原ひろみ, 大島まり子: 埼玉県内の医療機関で臨床材料から分離されたA群レンサ球菌の分離状況(1979~1989年) 第1編 咽頭粘液由来A群レンサ球菌, 感染症誌, 65: 928-937, 1991.
- 3) 中島邦夫, 足立利幸, 羽田巴: 学童の咽頭分離A群溶血レンサ球菌(*Streptococcus pyogenes*)の動態 第1編 16年間(1962~1977)の菌型の推移, 感染症誌, 53: 530-538, 1979.
- 4) 奥山道子, 下山洋子, 中島邦夫: 大阪市内1小学校の健康学童の咽頭分離溶血レンサ球菌(A, B, C, G群)の長期的観察(1980~1992年) 第1編 検出率の推移, 感染症誌, 68: 656-664, 1994.
- 5) Ellner, P. D., Stoessel, C. J., Drakeford, E., and Vasi, F.: A new culture medium for medical bacteriology. *Am. J. Clin. Pathol.* 45: 502-504, 1966.
- 6) Killian, M.: A taxonomic study of genus *Haemophilus*, with the proposal of a new species. *J. Gen. Microbiol.* 93: 9-62, 1976.

- 7) Vaneechoutte, M., Vershraegen, G., Claeys, G., and van den Abeele, A.: Selective medium for *Branhamella catarrhalis* with acetazoleamide as a specific inhibitor of *Neisseria Spp.* *J. Clin. Microbiol.* 26: 2544-2548, 1988.
- 8) Ahmad, F., Young, H., McLeod, D. T., Croughan, M. J., and Calder, M. A.: Characterization of *Branhamella catarrhalis* and *Neisseria* species in a diagnostic laboratory. *J. Clin. Pathol.* 40: 1369-1373, 1987.
- 9) Knapp, J. S. and Holmes, K. K.: Modified oxidation-fermentation medium for detection of acid production from carbohydrates by *Neisseria Spp.* and *Branhamella catarrhalis*. *J. Clin. Microbiol.* 18: 56-62, 1983.
- 10) 小林昌彦, 根本優子, 金子克: メチシリン耐性黄色ブドウ球菌のパルスフィールドゲル電気泳動およびAP-PCRによるゲノムタイプピング, 感染症誌, 71: 620-627, 1997.
- 11) 高橋綾子:  $\beta$ -ラクタマーゼの検査法, 検査と技術, 17: 900-905, 1989.
- 12) 滝沢慶彦, 富沢功: 札幌市における最近5年間の臨床分離株A群, B群溶血レンサ球菌の菌型と薬剤感受性, 感染症誌, 65: 938-944, 1991.
- 13) 中島邦夫, 下村洋子, 比良野和子, 横田正春, 西谷謙二, 奥山道子, 奥田清, 巽典之, 矢野郁也: 中, 高齢層の咽頭分離溶血レンサ球菌(A, B, C, G群菌)に関する研究-小学校児童と比較して-, 感染症誌, 65: 983-991, 1991.
- 14) 中島邦夫, 奥山道子, 奥田清: 全国的にみた溶血レンサ球菌の疫学的研究-7府県の小・中学生の咽頭分離の溶血レンサ球菌を対象にして-第2編 A群溶血レンサ球菌のT型別の比較, 感染症誌, 59: 905-913, 1985.
- 15) 遠藤美代子, 柏木義勝, 奥野ルミ, 天野祐次, 小野川尊: 臨床材料および健康学童から分離されたA群溶血レンサ球菌の薬剤感受性と菌型について(1986~1988年), 感染症誌, 65: 919-927, 1991.
- 16) 田中大祐, 刑部陽宅, 児玉博英: パルスフィールド電気泳動によるA群溶血レンサ球菌の型別, 感染症誌, 70: 283-286, 1996.
- 17) Upton, M., Carter, P. E., Orange, G., and Pennington, T. H.: Genetic heterogeneity of M type 3 group A streptococci causing severe infections in Tayside, Scotland. *J. Clin. Microbiol.* 34: 196-198, 1996.
- 18) 奥山雄介, 井上豊, 大島まり子: 埼玉県内の医療機関の臨床材料から分離された溶血レンサ球菌の動向, 1979-1987, 感染症誌, 63: 1249-1256, 1989.
- 19) 児玉博英, 林美千代, 刑部陽宅: 高齢者と小児の正常咽頭および腸管溶血レンサ球菌保菌状態の比較, 感染症誌, 65: 977-982, 1991.
- 20) Faden, H., Harabuchi, Y., Hong, J. J., and Tonawanda: Epidemiology of *Moraxella catarrhalis* in children during the first 2 years of life: Relationship to otitis media. *J. Infect. Dis.* 169:

1312-1317, 1994.

21) Halfon-yaniv, I. and Dagan, R. : Epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* type b infections in Bedouins and Jews in Southern Israel. *Pediatr. Infect. Dis.* 9 : 321-326, 1990.

22) Takala, A. K., Eskola, J, Peltola, H., and Makela, P. H. : Epidemiology of *Haemophilus influenzae* type b disease among children in

Finland before vaccination with *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccine. *Pediatr. Infect. Dis.* 8 : 297-302, 1989.

23) Enright, M. C. and Mckenzie, H. : *Moraxella (Branhamella) catarrhli-clinical* and molecular aspects of a rediscovered pathogen. *J. Med. Microbiol.* 46 : 360-371, 1997.