

# V 資 料

## 県内で分離された溶連菌のM型別について

山脇徳美\* 和田恵理子\*  
茂木武雄\* 森田盛大\*

### I はじめに

法定伝染病である猩紅熱をはじめとしてさまざまな病態像の感染症を引き起こすA群溶連菌の血清型別法として、菌体表面に存在するTタンパクとMタンパクによって型別するT型別法とM型別法の二つの方法がある<sup>1)</sup>。T型は19種類の血清型に分けられ、市販の型別用抗血清によるスライド凝集法で容易に型別できることから、現在、A群溶連菌の血清型別法としてT型別法が広く行なわれている。しかし、Tタンパクは菌の病原性と関係ない<sup>2)</sup>のに対して、Mタンパクは病原性と密接に関係していること<sup>3)</sup>から、Mタンパクによる型別の方がT型別より病原学的に有用性が高いと考えられている。しかし、M血清型数は60余種類と多いことおよび型別用特異抗血清を作成することが困難であること<sup>1)</sup>から、A群溶連菌のM血清型別は限られた研究機関で行なわれているだけである。

このようなことから、昭和60年度に「公衆衛生微生物検査における精度管理に関する研究班(厚生科学研究)」内に「溶血レンサ球菌レファレンス委員会」がつけられ、A群溶連菌のM血清型別システムが検討されてきた。参加機関は国立予防衛生研究所、大分県公害衛生センター、大阪府立公衆衛生研究所、富山県衛生研究所、神奈川県衛生研究所、埼玉県衛生研究所と当所の7機関であるが、これまでにM型別用抗血清を分担作成し、型別検査に使用し得るか否かを検討してきた。その結果、抗M-1型、抗M-3型、抗M-6型、抗M-12型、抗M-18型の5種類の抗血清は、M型別用抗血清として使用できることが判明した。

本報では、これらの抗血清を用い、ゲル内沈降反応法により県内で分離された溶連菌のM型別調査を行ったので、その成績を概略報告する。

### II 材料と方法

#### A. 供試溶連菌

供試溶連菌は昭和61年と62年に県内の定点観測検査材料(咽頭拭い液)から分離された溶連菌56株(A群菌55株:T-1型5株,T-3型14株,T-6型6株,T-12型25株,T型不明5株;群不明菌1株)と定点観測協力病院検査室から分与された溶連菌39株(A群菌38株:T-1型13株,T-3型6株,T-6型9株,T-12型6株,T型不明4株;群不明菌1株)計95株である。

#### B. M型別用抗血清

型別用抗血清は参加研究機関で分担して作成した抗M-1型(大阪公衛研)、M-3型(富山衛研)、抗M-6型、抗M-12型、抗M-18型(秋田衛研)の5種類の血清である。いずれも家兔免疫血清である。

#### C. M抗原抽出法

菌体からのM抗原抽出は、「溶血レンサ球菌検査」<sup>4)</sup>に準じて行なった。すなわち、10mlトッドヘッド培地(Difco)で37°C一夜培養した菌体を3000回転、10分間の遠心で集め、その菌体に0.2規定塩酸水溶液0.4mlを加え、95°C以上の湯浴で10分間加熱し、Mタンパクを抽出した。急冷後、0.2規定水酸化ナトリウム水溶液で中和し、3000回転、10分間遠心した上清をM型別用抗原とした。

#### D. ゲル内沈降反応

M型別はゲル内沈降反応によった。すなわち、1% agarose (-PBS, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1%)を用い、well φ 3 mm, center-center 7 mmとして、4°Cに放置し、1日目、2日目に肉眼で沈降線を観察し、M型を判定した。

#### E. 溶連菌の群別、T型別試験

供試溶連菌の群別およびT型別は市販抗血清(デンカ生研)を用い、常法<sup>4)</sup>に従って行った。

\*秋田県衛生科学研究所

表1 定点観測検査材料から分離された溶連菌のT, M型別成績

検査NO	臨床診断名	分離材料	群	T型	M型
1	猩紅熱	咽頭拭い液	A	3	3
2	"	"	A	3	3
3	"	"	A	3	3
4	"	"	A	12	12
5	"	"	A	3	3
6	"	"	A	3	3
7	扁桃炎	"	A	3	3
8	猩紅熱	"	A	12	12
9	急性咽頭炎	"	A	UT	12
10	咽頭炎	"	A	12	12
11	猩紅熱	"	A	12	12
12	"	"	A	1	1
13	急性咽頭炎	"	A	12	12
14	猩紅熱	"	A	12	12
15	"	"	A	12	-
16	扁桃炎	"	A	12	12
17	咽頭炎	"	A	12	12
18	"	"	A	3	3
19	"	"	A	12	12
20	猩紅熱	"	A	3	3
21	扁桃炎	"	A	12	12
22	溶連菌感染症	"	A	3	3
23	"	"	A	3	3
24	猩紅熱	"	A	3	3
25	"	"	A	12	-
26	扁桃炎	"	A	12	-
27	急性咽頭炎	"	A	12	-
28	扁桃炎	"	A	3	3

検査NO	臨床診断名	分離材料	群	T型	M型
29	扁桃炎	咽頭拭い液	A	3	3
30	猩紅熱	"	A	12	12
31	扁桃炎	"	UT	-	18
32	猩紅熱	"	A	12	12
33	"	"	A	UT	-
34	"	"	A	UT	-
35	溶連菌感染症	"	A	12	12
36	"	"	A	3	3
37	猩紅熱	"	A	12	12
38	"	"	A	UT	-
39	"	"	A	6	6
40	上気道炎	"	A	12	12
41	扁桃炎	"	A	12	12
42	猩紅熱	"	A	6	6
43	上気道炎	"	A	12	12
44	猩紅熱	"	A	UT	-
45	"	"	A	12	12
46	溶連菌感染症	"	A	1	1
47	猩紅熱	"	A	12	-
48	咽頭炎	"	A	6	6
49	アングリーナ	"	A	12	-
50	猩紅熱	"	A	1	1
51	"	"	A	6	6
52	"	"	A	6	6
53	"	"	A	1	1
54	"	"	A	6	6
55	咽頭炎	"	A	1	1
56	"	"	A	12	12

### Ⅲ 結 果

#### A. 定点観測検査材料から分離された溶連菌のM、T型別試験成績

昭和61、62年に我々が県内の感染症サーベイランス定点観測医療機関で採取した咽頭拭い液から分離された溶連菌のM、T型別試験成績は表1に示すとおりであった。

すなわち、T-1型と型別された5株中5株(100%)はM-1型、T-3型と型別された14株中14株(100%)はM-3型、T-6型と型別された6株中6株(100%)はM-6型、T-12型と型別された25株中19株(76%)はM-12型とそれぞれ型別された。また、T型不明菌5

株中1株(20%)はM-12型と型別された。さらに、T-18型と型別された供試菌はなかったが、群別不明菌1株がM-18型と型別された。結局、56株中47株(84%)がM型別された。次に、菌株の由来別にもてみると、猩紅熱患者由来30株中M型別されたものは24株(80%)、扁桃炎患者由来9株中M型別されたものは7株(78%)、咽頭炎患者由来9株中M型別されたものは9株(100%)、溶連菌感染症患者由来5株中M型別されたものは5株(100%)、上気道炎患者由来2株中M型別されたものは2株(100%)であったが、アンギーナ患者由来の1株はM型が不明であった。

表2 定点観測協力病院検査室から分与された溶連菌のT、M型別成績

検査NO	臨床診断名	分離材料	群	T型	M型
1	不 明	膿	UT	-	-
2	"	咽頭拭い液	A	12	12
3	"	膿	A	UT	12
4	"	耳 漏	A	3	3
5	"	"	A	UT	-
6	"	膿	A	UT	-
7	"	咽頭拭い液	A	3	3
8	"	"	A	1	-
9	"	"	A	1	-
10	"	腔分泌液	A	12	-
11	"	耳 漏	A	3	3
12	"	"	A	6	6
13	"	咽頭拭い液	A	1	-
14	"	"	A	6	-
15	"	"	A	3	3
16	"	耳 漏	A	1	-
17	"	咽頭拭い液	A	1	-
18	"	"	A	6	-
19	"	"	A	3	-
20	"	耳 漏	A	3	3

検査NO	臨床診断名	分離材料	群	T型	M型
21	不 明	耳 漏	A	6	-
22	"	咽頭拭い液	A	1	-
23	"	"	A	UT	-
24	"	"	A	1	-
25	"	耳 漏	A	1	-
26	"	"	A	12	-
27	"	咽頭拭い液	A	6	6
28	"	耳 漏	A	12	-
29	"	帯 下	A	6	6
30	"	"	A	6	6
31	"	咽頭拭い液	A	6	6
32	"	"	A	6	6
33	"	"	A	1	1
34	"	"	A	1	1
35	"	"	A	1	1
36	"	"	A	1	1
37	"	"	A	12	12
38	"	"	A	1	1
39	"	"	A	12	12

## B. 定点観測協力病院検査室から分与された溶連菌のM, T型別試験成績

昭和62年に県内の定点観測協力病院の検査室から分与された溶連菌のM, T型別試験成績は表2に示すとおりであった。すなわち, T-1型と型別された13株中5株(38%)はM-1型, T-3型と型別された6株中5株(83%)はM-3型, T-6型と型別された9株中6株(67%)はM-6型, T-12型と型別された6株中3株(50%)はM-12型とそれぞれ型別された。また, T型不明菌4株中1株(25%)はM-12型と型別された。結局, 検査室由来菌39株中21株(54%)がM型別された。これらの菌株が分離された患者の臨床診断名は不明であるが, 分離材料別にみても, 咽頭拭い液から分離された23株の内M型別されたものが13株(57%), 耳漏からの10株の内M型別されたものが4株(40%), 膿からの3株の内M型別されたものが1株(33%), 帯下からの2株の内M型別されたものが2株(100%), 腔分泌物からの1株はM型不明であった。

## IV 考 察

A群溶連菌の血清型別法として, 菌体表面に存在するTタンパクによって型別するT型別法が現在一般的に行なわれているが, T型と病原性が関連しないという欠点がある。他方, Tタンパクと同様, 菌体表面に存在するMタンパクによって型別するM型別法がある。Mタンパクは菌の病原性と密接に関係していること<sup>3)</sup>から感染症の病原診断を行う際, M型は有意義なものになる。しかし, M型の血清型数が60余種類と多いことおよび型特異的抗血清を作成することが困難であること<sup>1)</sup>から, M血清型別を行なっている機関は限られた研究機関だけである。このようなことから, 国内で, A群溶連菌のM血清型別が容易に出来るシステムを作るため, 昭和60年度より, 7研究機関が参加し, M型別抗血清を分担作成し, 型特異性などについて調査してきた。その結果, 抗M-1型, 抗M-3型, 抗M-6型, 抗M-12型, 抗M-18型血清の5種類がM型別用抗血清として使用できることが判明した。そして, 今回, 我々はこれらの抗血清を用いて県内で分離された溶連菌のT-1型, T-3型, T-6型, T-12型とT型不明菌および群別不明菌のM血清型別試験を行なった訳である。

まず, 溶連菌が病原と考えられる感染症患者の検査材料すなわち定点観測検査材料の咽頭拭い液から分離された溶連菌の場合, T-1型, T-3型, T-6型菌は100%, T-12型菌は76%がそれぞれのM型に型別され, 平均84%のM型別率であった。これに対して, 臨床診断名が不明で, 種々の検査材料から分離された溶連菌(定点

観測協力病院の検査室から分与されたもの)のM型別率は, T-1型菌で38%, T-3型菌で83%, T-6型菌で67%, T-12型菌で50%であり, 平均すると54%であった。定点観測由来と検査室由来のM型別率の差の成因は明確でないが, 1つの可能性として, 後者の場合, 病原菌としてのかかわり方の少ない菌株が, 前者より多かったのではないかと推定される。一方, T型不明菌9株中2株(22%)がM型別されたことおよび群別不明菌2株中1株(50%)がM型別されたことなどから, M型別の有用性が示唆された。

以上, 今年度の成績について述べたが, 今後もA群溶連菌のM血清型別を継続調査していきたいと考えている。

## V 結 論

M型別用抗M-1型, 抗M-3型, 抗M-6型, 抗M-12型, 抗M-18型血清を用いて, 昭和61, 62年に県内で分離されたT-1型, T-3型, T-6型, T-12型とT型不明菌および群別不明菌のM血清型別試験を行なった結果, 次のような結論が得られた。

- 1) 定点観測検査材料から分離された溶連菌のM型別率は84%であった。
- 2) 定点観測協力病院の検査室から分与された溶連菌のM型別率は54%と低率であった。
- 3) 1と2の差の成因として, 供試溶連菌の病原菌としてのかかわり方の程度の差が1つの可能性として考えられた。
- 4) T型不明菌や群別不明菌でもM型別された菌株があったことから, M型別の有用性が示唆された。

稿を終えるにあたり, 溶連菌株を快く分与してくださいました秋田組合総合病院検査科の伊藤優子先生と山本組合総合病院検査科の畠山義彦先生に深謝します。

## 文 献

- 1) 宮本 泰: レンサ球菌, 臨床検査, 13, 1085-1091 (1969)
- 2) Johnson R.H. and Vosti K.L.: Purification and characterization of group A streptococcal T-1 antigen., *Infect. Immun.*, 16, 867-875, (1977)
- 3) Lancefield R.C.: The antigenic complex of *Streptococcus haemolyticus*. I. Demonstration of a type specific substance in extracts of *Streptococcus haemolyticus*, *J. Exp. Med.*, 47, 91-103, (1928)
- 4) 厚生省: レファレンスシステム研究班: 溶血レンサ球菌検査法, p17, (昭和60年3月)