タイ国, チェンマイにおける β 溶連菌の研究 —特に A 群溶連菌の T 及び M 抗原の組合せについて—

レンサ球菌感染症研究会 (会長: 中島邦夫)

東邦大学医学部公衆衛生学教室

村井 貞子 稲積 温子

チェンマイ大学医学部細菌学教室

Sumalee Pruksakorn

(昭和63年 3 月 3 日受付)

(昭和63年 3 月14日受理)

*Key words: streptococcal prevalence in Thailand,
impetigo streptococcus, T-typing, M-typing, OF test*

要 旨

1985年より1986年にかけて, タイ国, チェンマイにおいて患者, 保菌者を合わせ383株の β 溶連菌を分離し, 血清学的な群別, T 型別, M 型別を行い, OF テストを実施した. 一部分離菌株を用い免疫実験も行い次の結果を得た.

1) 分離菌株の74.9%は A 群, 15.4%が G 群, 6.3%が C 群, 3.4%が B 群であった. また A 群溶連菌 T 型別では [14, 49], [3, 13, B3264] が多く, 16株 (5.6%) の NT と 83株 (28.9%) の T complex を示す菌株があり, これら結果は日本における群別, T 型別結果と大きく異なっていた.

2) A 群287株中76(26.5%)は従来の M 型別血清で型別可能であり, その菌型は, M49, M44, M11, M1及び M60であった.

3) 分離菌株の OF テストは HCl extract を用いて行ったが, その結果は, 文献的にも確認されている T 型別結果から推定される OF の結果とは必ずしも一致しなかった.

4) 免疫実験を行った結果, 従来の型別血清と反応しない型別血清, T-Thai 15, T-Thai 16, M-Thai 15, M-Thai 16を作製し得た. これらを含めた分離菌株の M 型別率は31.0%となった.

5) T 型別結果と M 型別結果との間で多くの矛盾 (従来までの文献より説明し得ぬ) を見た. 例えば, 最終的には T-Thai 15, M-Thai 15の型別結果となった Thai 15菌株は当初 T23, M44と型別された菌株であった. 又 M49と型別された菌株が T 型では Imp. 19を示す等多くの例が存在した.

これらの結果から, 溶連菌の浸淫度に関して明確になっていないアジア諸国の分離菌株の T 型別結果を評価する際には, 十分な注意が肝要であろうと考えられた.

東南アジア諸国におけるリウマチ熱, リウマチ性心臓病の罹患率は未だ高く報告¹⁾されているが, 溶血性連鎖球菌 (以下溶連菌) の浸淫に関する研究は日本に比較して著しく少ない. 1985年より1986年にかけてタイ国チェンマイ大学における

溶連菌感染症の研究の一部として, 分離菌株の同定を行う機会を得た. その結果, 日本国内で分離される β 溶連菌の菌群及び A 群菌型の分布との間に異なる結果を得た. また A 群溶連菌の菌型に関して, 従来文献中に見られる T と M の菌型の対応と異なる結果も得たので報告する.

実験材料及び方法

分離溶連菌菌株: チェンマイ大学病院の臨床検

別刷請求先: (〒143) 大田区大森西 5-21-16

東邦大学医学部公衆衛生学教室

村井 貞子

査材料より分離した128株と学童咽頭より分離した健康保菌者由来株255株の合計383株である。

群別方法：一部臨床材料については、タイ国で Phadebact Streptococcus Test (Pharmacia Diagnostics) を用いて同定された A 群溶連菌の送付を受けたが、最終的には Fuller 法²⁾を用いて抽出した群多糖体と群別血清との間の毛細管内沈降反応で群別をした。使用した群別血清は教室で作製した以下の群血清である。

群：A, B, C, E, F, G

T 型別方法：定法³⁾に従い、トリプシン処理菌体と T 型別血清（教室で作製）との間の凝集反応をガラス板上で行い、肉眼 1 分で判定した。使用した型別血清は以下の通りである。

多価血清：T, U, W, X, Y

単価血清：型 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 18, 19, 22, 23, 25, 27, 28, 44, 49, B3264, Imp. 19.

M 型別方法：100℃加熱塩酸抽出抗原⁴⁾（以下 HCl extract）と教室で作製し、一部 WHO Collaborating Center (Prague, Czechoslovakia)（以下 WHO center）において Bactericidal activity を確認した M 型別血清との間の沈降反応を Micro gel 法⁵⁾を用いて観察した。使用した型別血清は以下の通りである。

型 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 18, 19, 22, 23, 27, 28, 39, 41, 44, 48, 49, 53, 54, 57, 60, 61, 63 と 3R 及び 28R

なお、WHO center から分与された 30, 33, 36, 37 型血清もこれに加えた。

標準抗原として用いた菌株：免疫血清及び型別血清の保有抗体を検討するためには、以下の菌株より作製した凝集原と HCl extract が使用された。

A 群標準菌株：J17, A4 株

T 型別用標準菌株：型 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 18, 19, 22, 23, 25, 27, 28, 28R, 44, 47, 49, B3264 と Imp. 19.

M 型別用標準菌株：型 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 22, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 33, 34,

36, 37, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63 と 3R 及び 28R.

以上は WHO center よりの方与株であり、一部を除き型別血清との間で特異的な反応を確認した菌株である。

OF (Opacity Factor) テスト：Maxted ら⁶⁾の方法に従った。Ion Agar (Oxoid) に馬血清を加えた寒天ゲルを 5×5cm² のガラス板上に作製して、その上に各菌株の HCl extract をスポットして、37℃一晩放置後に生ずる白濁の有無を判定した。

免疫実験に供した菌株：1) Thai 15 菌株。リウマチ性心臓病の患者咽頭より分離され、分離当初は自発凝集が強く T 型別しにくい菌株であった。継代とトリプシン処理条件をかえることにより T23 型 (T 型別での 23 型) と型別された。M 型別は 44 型 (M44 型と記載)、OF (+) の菌株である。

2) Thai 16 菌株：従来使用してきた型別血清では、TNT (non typeable), MNT, OF (-) の菌株であり、咽頭炎由来菌株である。

家兎の免疫及び型別血清の作製：上記 2 株を用い、T ワクチンと M ワクチン⁷⁾を作製し、定法⁷⁾通りに家兎に免疫をして抗血清を得た。型別血清作製のための吸収には A 群多糖体抗体の吸収用に Type 25 : A25, matthews を用いた。吸収条件は血清 1ml に対して菌体 1g (湿菌量) とし、原則として 37℃, 1 時間加温後、4℃一晩放置し、その遠心上清を吸収血清とした。

T 型別血清については、多糖体抗体吸収後に残存する交差反応の吸収には、交差反応を示す菌型の T 型別用標準菌株を使用し、上記の吸収条件に従った。

M 型別血清についても同様の条件とし、交差反応を示す M 型別用標準菌株で吸収をした。

また、分離菌株を用いた免疫血清と従来の型別血清との間の交差吸収試験も同様な条件で行った。

結 果

1. 分離菌株の群別及び T 型別結果：Table 1 は群別と従来の型別血清を用いた T 型別分布を

Table 1 Group and T-type distribution of streptococci isolated in Chiang Mai, Thailand

Group	T-type	Clinical materials				Carrier	Total(%)
		Skin inf.	Pharyngitis	RHD	Others		
A		56	47	7	14	163	287(100.0)
1		1				4	5
[3,13,B3264]							(12.2)
3		1	1			2	4
13		5	1		1	9	16
B3264		5	3	1		4	13
others		1				1	2
[4,28]							
4		4	2		2	3	11
28		2	1			11	14
[5,11,12,27,44]							
11		9	1	1	1	10	22(7.7)
12						2	2
others		1	1			1	3
6		2		1	1	1	5
[14,49]							(13.6)
49		1	11			20	32
14-49						7	7
[8,25,Imp19]							(11.8)
Imp.19		9	4	1	2	8	24
others		4	2	1	1	2	10
9			1			1	2
18						1	1
22			2			3	5
23		4		1		5	10
Other Complex		2	2	1	4	7	16
NT		5	15		2	61	83(28.9)
B			1		1	11	13
C				2		22	24
G						59	59
Total		56	48	9	15	255	383

材料別に示した結果である。前記のように臨床材料からの分離菌株はすでにタイ国で A 群として群別されていた菌株である。これに対し、保菌者由来株では β 溶連菌として送付された菌株を含んでおり、A 群溶連菌は63.9%(163/255)であり、G 群23.1%(59/255)、C 群、B 群の順で残りの部分を占めていた。

材料別に A 群 T 型別分布をみると、患者皮膚材料では [8, 25, Imp. 19], [3, 13, B3264], T11が多く、患者咽頭材料では T49或いは NT、健康学童咽頭材料では [14, 49], T28, T11と NT が多い菌型であった。全体では [14, 49], [3, 13, B3264] [8, 25, Imp. 19]が多い菌型であっ

たが、NT が A 群全体の28.9%(83/287)であり、従来までに文献的にみられぬ complex を作る菌型を other complex としてまとめると、5.6%であった。

2. 分離菌株の T 型別と OF テストの関連：Table 2 は Table 1 で明瞭に T 型別された菌株の T 型と OF テストの結果を示した。なお表中右欄には従来までに文献的⁶⁾に推定された M 型或いは日本において多くみられる T 型と M 型との関連⁸⁾と、その場合の OF テストの結果を示した。表中 T28, T49, Imp. 19, T23型等では分離菌株の OF テストの結果が必ずしも均一ではなく、或いは予想される M 型の OF との差がある菌株が

Table 2 Opacity Factor (OF) of group A streptococci identified by T-typing

T-type	Number of strains			Estimated M-type (OF)	
	OF(+)	OF(-)	Total		
1	5		5	1	(-)
[3,13,B3264]					
3	1	3	4	3	(-)
13	15	1	16	13	(+)
B3264	8	5	13		
[4,28]					
4	10	1	11	4&60	(+)
28	5	9	14	28	(+)
[5,11,12,27,44]					
11	19	3	22	11	(+)
12	1	1	2	12	(-)
27	1		1		
44	1		1	44	(+)
6	5		5	6	(-)
[14,49]					
49	8	24	32	49	(+)
14-49		7	7	14	(-)
[8,25,Imp.19]					
Imp.19	14	10	24		
8-Imp.19		1	1	8	(+)
25-Imp.19	6	1	7	25	(+)
8-25-Imp.19	1	1	2		
9		2	2	9	(+)
18		1	1	18	(-)
22	3	2	5	22	(+)
23	9	1	10	23	(-)

存在していた。

3. 分離菌株の M 型別について：従来まで使用している M 型別血清での M 型別結果は、M49；25株、M44；18株、M11；14株、M8；10株、M1；8株、M60；1株、であり M 型別率は26.5%(76/

287) であった。

4. Thai 15菌株による免疫血清の性状：Fig. 1 は Thai 15 の M ワクチン投与により作製した M-Thai 15血清とそれに関連する菌型の M 型別用標準菌株よりの HCl extract との沈降反応の所見である。Thai 15 の HCl extract (R) は、前述の様に M-Thai 15血清 (A) と M 型別血清の M44 (B) に沈降線を作った。しかしこれらは必ずしも融合している所見ではない。また T 型別では Thai 15菌株が T23型と型別されるところから M23血清 (E) と M47血清 (D) を周囲に配置したが、これらとは反応しなかった。さらに M44型別血清と Thai 15で吸収した血清 (C) では Thai 15 の M44血清との反応は消失し、M-Thai 15血清を M44で吸収 (F) しても (A) とは完全に融合する沈降線が残存した。従ってこの沈降線は M-Thai 15に特異的な反応と考えられた。

上記の結果を踏まえ、(L)はM44のHCl extract を置いた。M-Thai 15から多糖体を完全に吸収した血清(A)では、M44との反応が存在した。しかし、この沈降線は、M44血清(B)とは融合せず M44 と M44血清 (B) との間の反応に抑制されている。そして、M-Thai 15血清を M44で吸収すると (F) 消失した。一方、2本の沈降線を形成する M44と M44血清(B)の反応は、Thai 15菌株での吸収(C)により、抗体側に近い一本が消失し、M44の反応が残存する結果であった。

以上の結果より、Thai 15菌株には、従来までの

Fig. 1 Precipitation reaction of Thai 15 and M44 strains to M-typing sera
Central well R: Thai 15 Hcl extract, L: M44 Hcl extract
Peripheral well A: M-Thai 15 serum absorbed with M25, B: M44 serum, C: M44 serum absorbed with Thai 15, D: M47 serum, E: M23 serum, F: M-Thai 15 serum absorbed with M44

Table 3 Absorption test of T-Thai 15 serum

Absorption antigen	Agglutination reaction	
	Aggl. ag.	reaction
—	all	+
↓		
T25 (polysaccharide)	Thai 15	+
	T23	+
	T47	+
	T25	—
↓		
T23 (repeatedly)	Thai 15	+
	T23	—
	T47	—

Table 4 Absorption test of T-Thai 16 serum

Absorption antigen	Agglutination reaction	
	Aggl. ag.	reaction
—	all	+
↓ T25 (polysaccharide)	Thai 16	+
	T4	+
	T8	+
	Thai 15	+
	T25	—
↓ Thai 15	Thai 16	+
	others	—

M44血清を用いた沈降反応では共通する抗原性を示したが、交差吸収試験により相互に吸収し得ない特異的な反応を証明し得た。

Table 3はT-Thai 15血清の性状と吸収試験の結果を経過を追って示した。使用した凝集原は、T型別用標準菌株25種類より作製し、多糖体抗体を吸収するとT-Thai 15, T23, T47の反応が残り、更にT23で吸収することによりT-Thai 15の反応のみが残存した。なおT23血清、T-Thai 15血清、T23凝集原、T-Thai 15凝集原を用いて交差吸収試験を行い、相互に吸収しきれずに残存する型特異的な反応を得た。

5. Thai 16菌株による免疫血清の性状：M-Thai 16血清については、多糖体抗体吸収後に残存する沈降線は、55種類のM型別用標準菌株からのHCl extractにはみられず、Thai 16のみに反応を

Table 5 Relationships among M-precipitation reaction, OF reaction, and T-agglutination reaction of the isolated strains

M-type	OF	T-type	No. of strains
Thai-15	+	23	9
		NT	2
Thai-16	—	[8-25-Imp.19]	3
		NT	2
49	+	49	8
		Imp.19	9
		NT	4
		B3264	1
	—	49	1
		others	2
44	+	[25-Imp.19]	2
	—	[28-49]	11
		others	2
11	+	[11 comp.]	8
		NT	4
		other	1
	—	[3-13-B3264]	1
8	+	6	3
		NT	3
		others	4
1	—	NT	6
		Imp.19	2
60	+	4	1
Total			89

した。

Table 4はT-Thai 16血清より多糖体抗体を吸収し、Thai 15で更に吸収することにより、T-Thai 16型別血清を作成した経過を示した。T型別血清に含まれている以外の菌型と考えられる結果であった。

6. M-Thai 15, M-Thai 16両血清を加えた場合の分離菌株のM型別結果と、それらのOF, T型別結果について：Table 5は分離菌株287株についてM-Thai 15, M-Thai 16両血清を加えたM型別結果を示し、それらのOFの分布とOFの(+) (—)別に分けた時の、T型別結果を示した。T型別結果は、従来までのT型別血清を用いたもので示してあり、T-Thai 15血清及びT-Thai 16血清を用いると、M-Thai 15菌株はすべてT-Thai 15として、M-Thai 16菌株はすべてT-Thai 16として

型別された。

M型別率は31.0% (89/287) とやや上昇し、多い菌型はM49; 28.1%, M44; 16.9%, M11; 15.1%, M-Thai 15; 12.4%, となった。

M49と型別された25株中3株がOF(−)と確認されており、M49, OF(+) 22株中8株がT49であるが、特に9株がImp. 19としてT型別される結果であった。

M44では、当初同定されたM44菌株の中で3株がM-Thai 15と再型別されたためにM44, OF(+)の菌株は減少した。これに比較しM44, OF(−)の割合が多く、[28-49]のT complexが多い結果であった。

またM8, M1等で型別された菌株でT型別で81を示すものが存在しなかった。

考 察

アジア諸国における溶連菌および溶連菌感染症に関する研究はWHOの援助によりかなりの進展を見ている。しかしSharma⁹⁾が報告しているように、いまだ二次症としてのリウマチ熱やリウマチ性心臓病は、熱帯、亜熱帯地方では一般的な心臓病の原因であり、学童期の主要死因として考えられている現状である。1979年のリウマチ熱とリウマチ性心臓病に関する国際会議¹⁰⁾において、パキスタン、インド、フィリピン等からこれら疾患の疫学像が報告されたが、1987年第10回のLancetfield 国際シンポジウムでもSharma¹¹⁾がインドにおける罹患率を5~10/1,000と報告している。これら疾患の予防のためには、これら地域における溶連菌の疫学像の把握も欠くことのできないものと考えられる。

タイ国における状況もほぼこれらの国と同様であり、1984年のWHOの報告¹²⁾の中でSukonthaman は気候条件からも化膿性感染症、腸管感染症と同様に皮膚感染症の多いことを述べ、また咽頭感染からのリウマチ熱の多いこともあげている。しかし、実際には検査システム、試薬、人材等の問題が多く、溶連菌の疫学的な資料が非常に乏しいのが現状である。1987年にSukonthaman¹³⁾はリウマチ性心臓病の二次予防をしている患者の咽頭培養を継続的にを行い、のべ520材料から67株の

β 溶連菌を分離しており、多い溶連菌としては、G, B, F, C, A 群菌の順に挙げており、10株のA群溶連菌のT型別を示している。それによると[8, 25, Imp. 19]; 3, [4/28]; 2株であり他は1株ずつとなっている。特殊な条件下ではあるがG群菌の割合の多いことを示している。これについては、1975年に著者¹⁴⁾も加わったフィリピンでの疫学的な研究で示した溶連菌群の分布、1982年のマレーシア¹⁵⁾での成績を見ても、また本研究中での保菌者由来菌株の分布からも一致した結果であり、日本に比較して、これらの国ではG群溶連菌の浸淫の多いことは現状であろう。これは分離平板上で、G群溶連菌に比較し溶血の弱い傾向にあるA群溶連菌を見落とし易い、とする技術上の問題だけに由来するとは思われなかった。

本研究の中でのA群溶連菌の主要T型は、[14, 49], [3, 13, B3264], [8, 25, Imp. 19], T11等であり、いわゆる impetigo streptococcus¹⁶⁾といわれる菌型である。これは日本で通常検出されてきたT型別成績¹⁷⁾とはかなり異なった結果であった。特に皮膚感染材料より分離された菌型は[8, 25, Imp. 19]; 23.2%, [3, 13, B3264]; 21.4%, T11; 16.1%であり、Parker¹⁸⁾の impetigo streptococcus が多くみられた。T49についてはDillon¹⁹⁾のアラバマの成績同様に咽頭炎由来株に多くみられた。

従来皮膚由来の菌株については、Tのcomplexを作ること、咽頭材料を目的としたそれまでのclassicalなM型別血清では型別できぬことが報告され、現在では皮膚由来株の菌型が主となり、特にM50以上の高い番号をもつM抗原が研究されてきた。これらを考慮し、本研究においても多くのM型別血清を用いたが、M型別率は31.0%に止まっている。

A群溶連菌菌体上に存在するT抗原とM抗原との関連については、T抗原が数種類のM型菌に共通に存在する抗原であることからしばしば混乱を招く。これらの抗原を反映する型別方法の結果で、T型別結果が必ずしもM型別結果と一致するものでないことは、日本の分離菌株においてもすでに報告²⁰⁾をした。本研究では、フィリピン¹⁴⁾

での経験をもとに、日本よりさらに T-M 抗原関係の把握できぬことを想定し、Parker²¹⁾の教科書にある T 型別血清をすべて用いたが Table 1 に示したように、NT; 28.9%と従来までに記載されていない T 型の complex を作る菌株が 5.6% 存在した。さらに Table 5 に示したが、T 型で Imp. 19 を示す M49、或いは [28-49] で型別される M44 菌株のように、従来までに記載を見られぬ菌株上での T-M 抗原の対応を検出した。特に後者の例では OF が (－) であることから M44 血清の中に M44 抗体とは別の抗体が存在すること、しかもその対応抗原が M44 と交差反応を持つ菌株であることが予想される。これは本研究で、OF (+) の Thai 15 型 (仮称) が M44 型及び T23 型から独立した事実と同様な考え方である。これらのことから推察すると、従来までの classical な T 抗原として型別される結果は、菌株のもつ minor な T 抗原を型別しているにすぎず、実際には major な T 抗原を別に保有している可能性を示唆している。特に西アフリカ或いは東南アジアの分離菌株での M 型別率の低さを、まだ同定されていない M 抗原の存在に結びつけた Fraser ら²²⁾の報告でも裏づけられる。

本研究で免疫に用いた Thai 15、Thai 16 の菌株については次の様に考察できる。Thai 15 菌株については T 型別 (T23 型) の結果から今回研究に用いなかった M 型別血清 (M15, 17, 30)²¹⁾ に対する可能性が残っている。しかしこれら M 型の菌株はすべて OF (－) とされていること、及び M 型別用標準菌株 M15, M17, M30 よりの HCl extract は M-Thai 15 血清と沈降線を作らなかったことより、その可能性は少ない。Thai 16 菌株については T は NT であった。しかし M-Thai 16 血清に反応した分離菌株は Table 5 より従来の型別血清では [8-25-Imp. 19] とされる菌株であり、この T 抗原をもつ菌株で本研究に含まれなかった OF (－) の菌型は M31, M55, M65²¹⁾ があげられる。これらの菌型を含めて特に高い番号をもつ M 型に対する研究を展開する予定である。

今回の Thai 15 及び Thai 16 の菌型に対する研究では、従来法の型別法を用いて、教室で保存し

ている菌型に対する同一性を研究したにすぎず、必ずしも新しい菌型とは考えていない。なお、これらについては、菌株と免疫血清をそえて WHO center に送付し同定を依頼している。

以上、今回のタイ国の研究では 1975 年にフィリピンの β 溶連菌の研究で見たと同様に、T 型別と M 型別との関連の上で説明できぬ現象を観察した。その結果より、 β 溶連菌の浸淫に関して情報の少ない地域における T 型別結果の評価には十分な考慮の必要なことが判明した。

結 論

1985 年より 1986 年にかけてタイ国チェンマイ大学の溶連菌疫学研究の一環として患者、保菌者より分離した 383 菌株の群別、T 型別、M 型別と OF テストを行い次の結論を得た。

1) 分離菌株の群別、T 型別、M 型別共に従来日本でみられる分布とは大きな差が存在する。

2) タイ国における主要菌型は、いわゆる impetigo streptococcus であり、これらの菌株の T 型別と M 型別の結果は、従来の型別血清を用いて説明するのに困難を伴う場合が多かった。

3) 分離菌株の OF テストの結果についても同様、従来の文献に見られない結果を T、M 抗原との関連として得た。

4) 免疫実験の結果、現在教室で保有している抗原、抗体系以外の菌型と考えられる Thai 15、Thai 16 (仮称) を同定した。

以上の結論より特に東南アジア等、また溶連菌の疫学情報に乏しい国々での研究の際には、T 型別結果を従来の日本の T 型別結果と同様に評価するには一考を要すると考えられた。

文 献

- 1) Padmavati, S.: Rheumatic fever and rheumatic heart disease in developing countries. Bulltin of WHO, 56: 534-550, 1978.
- 2) Fuller, A.T.: Formamide method for extraction of polysaccharide from hemolytic Streptococci. In Bacterial polysaccharide, p. 231-232, Thomas, Springfield, 1950.
- 3) 宮本 泰: レンサ球菌感染症。微生物検査必携, 細菌・真菌検査。第二版, 34-50, 日本公衆衛生協会, 東京, 1978.
- 4) Lancefield, R.C.: The antigenic complex of

- streptococcus haemolyticus I. Demonstration of type-specific substance in extracts of streptococcus haemolyticus. *J. Exp. Med.*, 47: 91—103, 1928.
- 5) Rotta, J., Krause, R.M., Lancefield, R.C., Everly, W. & Lackland, H.: New approaches for the laboratory recognition of M types of group A Streptococci. *J. Exp. Med.*, 134: 1289—1315, 1971.
 - 6) Maxted, W.R., Widdowson, J.P., Fraser, C.A. M., Ball, L. & Basett, D.C.J.: Streptococcal typing by means of serum opacity reaction. In *Streptococcal disease and the community* (Haverkorn, M.J. ed.) p. 48—55, *Excerpta Medica*, Amsterdam, 1974.
 - 7) Rotta, J.: Type identification of group A streptococci. In *Textbook from WHO Collaborating Center for Reference and Research on Streptococci*. Prague, 1977.
 - 8) 村井貞子, 稲積温子, 野上和加博, 縣 俊彦, 徳丸 実, 村田篤司: 小児科外来診療における溶血性連鎖球菌感染症の長期的研究—患者の概要, 診断, 分離菌株について—. *感染症誌*, 61: 471—481, 1987.
 - 9) Sharma, K.B.: National control programs of the Streptococcal disease complex. In *World strategies for the streptococcal disease complex: Microbiological components in the global control program*, p. 51—55, WHO, 1984.
 - 10) Shiokawa, Y. & Kawakita, S.: Proceedings of International conference on rheumatic fever and rheumatic heart disease (Shiokawa, Y. and Kawakita, S. ed.) *Jap. Circulation Society*, Kyoto, Japan, 1979.
 - 11) Sharma, K.B. & Prakash, K.: Strategies for RF/RHD in India. In *Abstracts of Xth Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Disease* (Lütticken, R. ed.) p. 113, Cologne, Germany, 1987.
 - 12) Sukonthaman, A.: The National Streptococcal Reference Center in Thailand (NSRC). In *World strategies for the Streptococcal disease complex: Microbiological components in the global control program*, p. 41—44, 1984.
 - 13) Sukonthaman, A.: The biological profile of beta-hemolytic streptococci (BHS) colonized rheumatics under long-term regular Penicillin prophylaxis. In *Abstract of Xth Lancefield International Symposium on Streptococci and Streptococcal Disease*. (Lütticken, R. ed.) p. 54, Cologne, Germany, 1987.
 - 14) 金子義徳, 村井貞子, 奥田六郎, 矢田純一, Tupasi, T.E.: フィリピンにおける溶連菌感染症の疫学的細菌学的研究. *日本公衛誌*, 25: 301—310, 1978.
 - 15) Jamal, F., George, J. & Darus, A.: Pharyngeal carriage of beta-haemolytic streptococci in Malaysian schoolchildren. In *Recent advances in Streptococci and Streptococcal disease*. (Kimura, Y., Kotani, S. and Shiokawa, Y. ed.), p. 21, Reedbooks, Bracknell, Berkshire, 1985.
 - 16) Dillon, H.C.: Streptococcal infections of the skin and their complications: Impetigo and Nephritis. In *Streptococci and Streptococcal diseases* (Wannamaker, M. and Matsen, J.M. ed.), p. 571—587, Academic Press, New York, 1972.
 - 17) 宮本 泰, 滝沢金次郎, 松島章喜, 中塚 繁, 浅井良夫, 安田哲夫: A 群溶連菌菌型分布 (1978年4月—80年3月) と抗生剤感受性 (1966年—77年) の推移. *感染症誌*, 56: 14—19, 1982.
 - 18) Paker, M.T., Tomlinson, A.J. & Williams, R.E. O.: Impetigo contagiosa. The association of certain types of staphylococcus aureus and streptococcus pyogenes with superficial skin infections. *J. Hyg.*, 53: 458—473, 1955.
 - 19) Dillon, H.C. & Derrick, W.: Recent studies of Streptococcal skin and throat infections in Alabama. In *Streptococcal disease and the community*. (Haverkorn, M.J.) p. 266—274, *Excerpta Medica*, Amsterdam, 1974.
 - 20) 稲積温子, 村井貞子: 一地域に流行した A 群溶連菌 T12型及び T12-complex 型菌株の研究. *感染症誌*, 61: 印刷中, 1987.
 - 21) Paker, M.T.: Streptococcus and Lactobacillus. In *Topley and Willson's Principle of Bacteriology, virology and Immunity*. Seventh edition (Wilson, G., Miles, A. CBE and Paker, M. T. ed.) 2: p. 173—217, Edward Arnold, London, 1984.
 - 22) Fraser, C.A.M. & Colman, G.: Some provisional M-types among Streptococcus pyogenes (Lancefield group A). In *Recent Advances in Streptococci and Streptococcal Diseases*. (Kimura, Y., Kotani, S. and Shiokawa, Y. ed.), p. 35—36, Reedbooks, Bracknell, Berkshire, 1985.

A Study on Streptococcal Prevalence in Chiang Mai, Thailand, with Special
Reference to Unusual Combination Between T and M Antigens
of Group A Streptococcus

Teiko MURAI, Yoshiko INAZUMI & Sumalee PRUKSAKORN*

Department of Public Health, Toho University School of Med., Tokyo, Japan

*Department of Microbiology, Fac. of Med., Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

Three hundred and eighty three strains of streptococci were isolated from both patients and carriers in Chiang Mai, Thailand from 1985 to 1986. The strains were serologically identified by grouping, T-typing and M-typing and tested by Opacity Factor (OF) test. Immunization tests were also carried out with isolated strains.

The results were as follows:

1) Of the isolated strains, 74.9% were determined to be group A streptococci; 15.4% were group G; 6.3% were group C; and 3.4 % were group B. Prevalent T-types of group A streptococci were [14, 49], [3, 13, B3264], and there were 16 NT (non-typeable) strains (5.6%) and 83 (28.9%) T-complex types of strains, whose combinations have not yet been published. These results were quite different from the prevalent groups and types of streptococcus found in Japan.

2) A total of 76 out of 287 strains (26.5%) of group A streptococci were M-typeable with classical M-typing sera available in our laboratory. Specifically, the M-types of strains were M49, M44, M11, M1 and M60.

3) OF test of the isolated strains were undertaken with HCl extracts, and some of the results did not completely correspond to T-types already confirmed by other investigators.

4) By immunization test, typing sera of T-Thai 15, T-Thai 16, M-Thai 15 and M-Thai 16 could successfully be prepared. Using M-typing sera, including the newly-prepared antisera against the isolated strains, M-typeability of all strains was slightly increased to 31.0%.

5) Many discrepancies were observed between the results of T-typing and M-typing, such as those of the Thai 15 strain, which was finally typed as T-Thai 15, M-Thai 15, but was originally typed as T23, M44. Some of the strains typed as M49 were originally typed as Imp. 19 by T-typing method, and there were many other cases of discrepancy.

From these results, we can see that it is important to pay attention to the appraisal of T-typing results of strains isolated in Asian countries, where streptococcus prevalences have not yet been clearly understood.