

原著

福岡県における *Streptococcus pyogenes* の
マクロライド耐性状況

田中悠平¹⁾ 寺町麻利子¹⁾ 石本和久¹⁾ 後藤憲志¹⁾
日高秀信¹⁾ 大津寧¹⁾ 升永憲治¹⁾ 津村直幹¹⁾
長井健祐²⁾ 進藤静生³⁾

要旨 A群溶血レンサ球菌による咽頭・扁桃炎患者由来の菌株286株について、薬剤感受性およびT血清型別の調査を行い、2009年と2012年の2つの時期における年次変化の検討を行った。マクロライド(エリスロマイシン)耐性株は2009年検討群、2012年検討群でそれぞれ49.3%、45.8%であった。過去の報告と比較し、その割合は急激に増加していた。T血清型別の検討では、T1型およびT12型の割合が多く、これらの血清型ではマクロライド高度耐性株が多かった。

はじめに

A群溶血レンサ球菌(group A β -hemolytic *Streptococcus*: GAS)は菌種名で*Streptococcus pyogenes*とも呼ばれる。最も一般的な疾患である咽頭・扁桃炎の治療には、ペニシリン系薬を中心とした β ラクタム系薬が推奨されている^{1,2)}。ペニシリンアレルギーを有する患者はセフェム系薬に対してもアレルギー症状をきたすケースがあり、その場合の急性GAS性咽頭・扁桃炎に対する治療には、マクロライド系薬を選択することが多い。これまでに β ラクタム系薬に対する耐性の報告はないが、2000年以降、国内におけるマクロライド耐性株の増加が目立っている。

今回、われわれは過去5年間におけるA群溶血レンサ球菌の薬剤感受性およびT血清型別について調査を行い、おのおのの年次推移を明らかに

することを目的に検討を行った。

I. 対象と方法

1. 菌株

2007年5月～2012年10月までに、福岡県の小児科開業医を受診し、急性GAS性咽頭・扁桃炎と診断された小児咽頭由来のA群溶血レンサ球菌286株を対象とした。菌株の分離はヒツジ血液寒天培地(ニッスイ)、SEB培地(ニッピ社)を用いて行い、同定はグラム染色、血液寒天培地におけるコロニー形態、バシトラシンテスト、BD BBLクリスタルGP(BD)により行った。

2. 薬剤感受性試験

対象菌株について、ベンジルペニシリン(PCG)、アモキシシリン(AMPC)、エリスロマイシン(EM)、クラリスロマイシン(CAM)、アジスロマイシン(AZM)、クリンダマイシン(CLDM)、ト

Key words : *Streptococcus pyogenes*, マクロライド耐性, T血清型別

- 1) 久留米大学病院小児科
〔〒830-0011 久留米市旭町67〕
- 2) ながい小児科医院
- 3) しんどう小児科医院

表 2009 年検討群と 2012 年検討群の各種薬剤に対する MIC

2009 年検討群				
Antimicrobial Agent	No. of isolates	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		50%	90%	Range
PCG	81	≤ 0.063	≤ 0.063	$\leq 0.063 \sim \geq 128$
AMPC	81	≤ 0.063	≤ 0.063	$\leq 0.063 \sim \geq 128$
CAM	81	0.5	≥ 128	$\leq 0.063 \sim \geq 128$
EM	81	0.5	≥ 128	$\leq 0.063 \sim \geq 128$
AZM	81	0.25	≥ 128	$\leq 0.063 \sim \geq 128$
CLDM	81	≤ 0.063	≥ 128	$\leq 0.063 \sim \geq 128$
2012 年検討群				
Antimicrobial Agent	No. of isolates	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
		50%	90%	Range
PCG	205	≤ 0.063	≤ 0.063	$\leq 0.063 \sim \geq 128$
AMPC	205	≤ 0.063	≤ 0.063	$\leq 0.063 \sim \geq 128$
CAM	205	0.25	≥ 128	$\leq 0.063 \sim \geq 128$
EM	205	0.25	≥ 128	$\leq 0.063 \sim \geq 128$
AZM	205	0.5	≥ 128	$\leq 0.063 \sim \geq 128$
CLDM	205	0.125	≥ 128	$\leq 0.063 \sim \geq 128$
TFLX	205	0.25	0.5	$\leq 0.063 \sim 2$

スフロキサシン (TFLX) の各薬剤に対する MIC を、微量液体希釈法を用いて測定した³⁾。抗菌薬のブレイクポイントは、CLSI のガイドラインを用いた。

3. T 血清型別

T 血清型別については、溶血レンサ球菌用 T 型別判定用免疫血清 (デンカ生研) を用いて分類した。

今回、2011 年 4 月～2012 年 10 月までの期間に採取した菌株 205 株 (2012 年検討群) の薬剤感受性および T 血清型別を調査したうえで、2007 年 5 月～2009 年 4 月の期間に同様の方法で調査した 81 株 (2009 年検討群) と、おのおの比較検討を行った。なお、TFLX については 2012 年検討群についてのみ薬剤感受性試験を行った。

II. 結 果

2009 年検討群 81 株および 2012 年検討群 205 株の各薬剤に対する MIC を示す (表, 図 1)。PCG および AMPC はすべての株 (286 株) において $\text{MIC} \leq 0.063 \mu\text{g/ml}$ であった。

2009 年検討群のマクロライド系薬に対する耐性の割合は、EM 耐性が 49.3%、うち高度耐性 ($\text{MIC} \geq 16 \mu\text{g/ml}$) が 24.7% であった。同様に CAM はそれぞれ 48.1%、24.7%、AZM はそれぞれ 42.0%、25.9% であり、3 薬剤とも 40% 以上が耐性株であり、高度耐性株が約 25% でみられた。また、CLDM 耐性の割合は 19.7% であり、耐性株はすべて $\text{MIC} \geq 16 \mu\text{g/ml}$ の高度耐性株であった。

2012 年検討群の耐性の割合は、同様にそれぞれ EM は 45.8%、34.1%、CAM は 45.3%、24.8% であり、AZM は 46.8%、30.7% であった。マクロライド系 3 薬剤 (EM, CAM, AZM) とともに $\text{MIC}_{90} \geq 128 \mu\text{g/ml}$ ($\text{MIC range} : \leq 0.063 \sim \geq 128$) であった。また、CLDM の耐性株の割合はそれぞれ 16.5%、15.6% であり、2009 年検討群と同様にマクロライド系 3 薬剤と比較して耐性株の割合が低かった (図 1)。

次に、マクロライド系 3 薬剤および CLDM について MIC 値の年次変化を示す (図 1)。2009 年検討群と 2012 年検討群を比較すると、EM, CAM, AZM はすべて $\text{MIC}_{90} \geq 128 \mu\text{g/ml}$ であり、いずれの群も高い耐性率であった。EM 耐性株 ($\text{MIC} \geq 2$

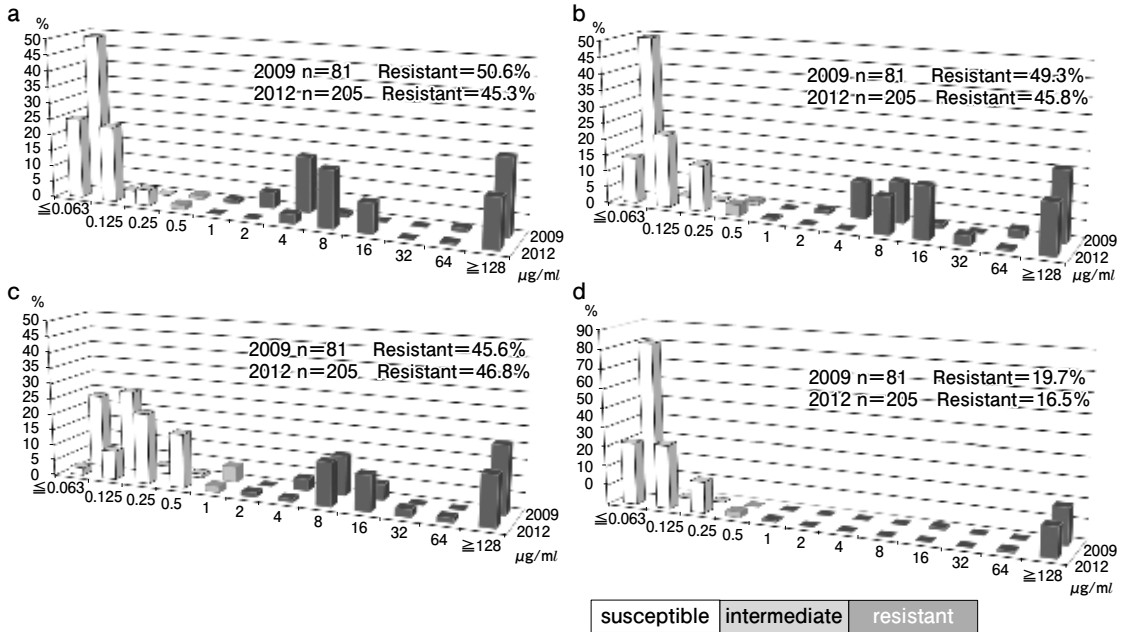


図 1 MIC の年次変化 (2009 年検討群 vs. 2012 年検討群)

a : CAM b : EM c : AZM d : CLDM

縦軸：各群における菌株数の割合 (%), 横軸：MIC (µg/ml)

µg/ml) はそれぞれ 49.3%, 45.8%であり, 耐性の割合は軽度の減少傾向であった。しかし, EM の MIC ≤ 0.063 µg/ml を示す株の割合は 49.3% から 14.1%へ大幅に減少し, MIC ≥ 16 µg/ml を示す株 (高度耐性株) の割合は 24.7%から 34.1%へと増加していた。CAM, AZM, CLDM については高度耐性株の有意な増加はみられなかった。しかし, MIC ≤ 0.063 µg/ml を示す株の割合は, CAM で 2009 年は 81 株中 40 株 (49.3%), 2012 年は 205 株中 51 株 (24.9%) と大幅に減少していた。同様に, AZM で 2009 年は 81 株中 19 株 (23.5%), 2012 年は 205 株中 5 株 (2.4%) であり, また CLDM で 2009 年は 81 株中 65 株 (80.2%), 2012 年は 205 株中 65 株 (31.7%) とやはり大幅な減少がみられた。以上のことから, マクロライド系薬および CLDM について耐性化が進んでいることが示唆された。当施設では, 2004 年, 2006 年にも同様の検討を行っており, EM 耐性株はそれぞれ 7.1%, 11.9%であった。2009 年検討群および 2012 年検討群の EM 耐性株は 2006 年と比較して約 4 倍増加したことになる。

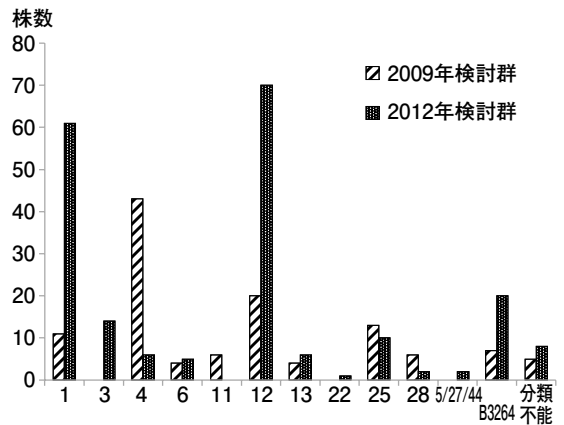


図 2 T 血清型別 (2009 年検討群 vs. 2012 年検討群)

TFLX については, MIC₅₀ 0.25 µg/ml, MIC₉₀ 0.5 µg/ml (MIC range : ≤ 0.063~2) であり, MIC 4 µg/ml 以上の耐性株はみられなかった。

T 血清型別の結果を示す (図 2)。2012 年検討群では, T1 型 30%, T12 型 34% の 2 種類の血清型が過半数を占めた。その他に 3・4・6・13・22・25・28・5/27/44・B3264 型を認めた。2012

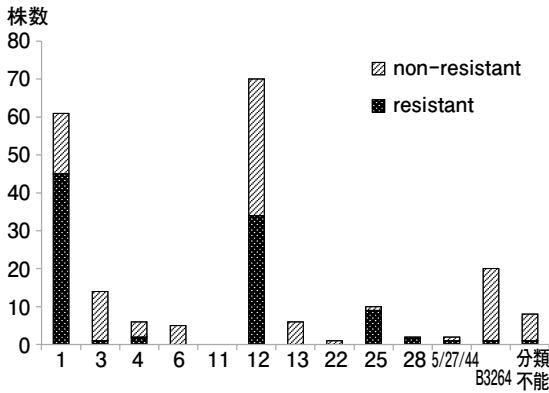


図3 2012年検討群のT血清型別とマクロライド(EM)耐性

年検討群ではT4型は3%のみであったが、2009年検討群においては、T1型、T12型に加えてT4型(36%)の占める割合が大きく、この3種の血清型で62%を占めた。2012年検討群のT血清型別とマクロライド耐性(EM耐性)の関係を示す(図3)。本検討で全体の64%を占めていたT1型とT12型において、それぞれ75%、50%と高い割合でマクロライド耐性株だった。また、T25型は90%(9/10株)で、T28型は100%(2/2株)でマクロライド耐性を認めた。高度耐性株($\geq 16 \mu\text{g/ml}$)のうち84.2%(59株/70株)がT1型およびT12型であった。

III. 考 察

急性GAS性咽頭・扁桃炎の治療で除菌や再発まで視野に入れた場合、ペニシリン系薬とセフェム系薬のどちらが優れているかは議論の最中であるが、いずれにしても β ラクタム系薬がfirst lineとなる。しかし、ペニシリンに対してアレルギー症状を呈する患者の場合、セフェム系を含めた β ラクタム系薬全般を避ける傾向にあるため、通常はマクロライド系薬を選択することとなる。

国内では1970年代後半にマクロライド耐性GASの割合が60%以上となり、流行が問題視された。その後、減少に転じ1990年にはほぼ0%となったが、2000年に入り再度マクロライド耐性株の増加が目立ってきている⁴⁾。これまでにマクロライド耐性株が17%(2004年)であったことが

中山ら⁵⁾により報告されている。われわれの過去の検討でも2004年、2006年の検討で増加傾向にあった。今回の検討では、2009年検討群および2012年検討群のいずれもEM耐性株が40%を大きく超えて急激な上昇がみられた。2つの群のEMにおけるMIC₅₀およびMIC₉₀は、2009年検討群が0.5 $\mu\text{g/ml}$ 、128 $\mu\text{g/ml}$ 、2012年検討群が0.25 $\mu\text{g/ml}$ 、 $\geq 128 \mu\text{g/ml}$ であり、MIC₅₀は2012年検討群のほうが低かった。しかし、MIC値の分布は明らかに2012年検討群で高い株が多く、いまだマクロライド耐性株が増加傾向にあるといえる。

マクロライド耐性のメカニズムとして、3種類の耐性遺伝子の関与が知られている。*mef(A)* 遺伝子は、菌体内に一度取り込まれたマクロライド系薬を能動的に排出することにより14員環、15員環マクロライド系薬に耐性を示す。また*erm(A)*、*erm(B)* 遺伝子は、蛋白合成を司るリボソームを修飾(ジメチル化)し、その活性を抑えることでマクロライド耐性を示す。一般的に*mef(A)*を有する株は*erm(B)*を有する株と比較してマクロライドに対するMIC値が低い傾向にある⁶⁾。今回の検討で、CLDMに対する耐性は16.5%であり、マクロライド系薬と比較すると耐性率が低かった。ペニシリンアレルギーのGAS患者に対し、マクロライド系薬の治療により効果が乏しい場合、CLDMも選択薬の一つになると考えられる。しかし、*erm(B)*を有する株は16員環を含めたすべてのマクロライド系薬およびCLDMに対して耐性を示すため、これらの抗菌薬使用の際は臨床経過の観察が重要である。

また、高度耐性株($\geq 16 \mu\text{g/ml}$)のうち84.2%がT1型およびT12型であった。迅速キットを用いてT血清型を調べることで、簡便に高度耐性株か否かを推測し、臨床に役立てることは可能かもしれない。

マクロライド系薬は直接的な抗菌作用のみならず、免疫調整作用やバイオフィーム抑制作用、抗炎症効果などを有している。そのため、マイコプラズマやクラミジア感染症に対する治療のほか、慢性副鼻腔炎に対する少量長期投与や、気道粘膜の免疫応答増強を狙ってインフルエンザウイルス感染症の際に使用される動きもある。小児のウイ

ルス性上気道炎などに対し安易に処方されているケースも多い。

マクロライド耐性 GAS の割合は国や地域により異なるが、海外においても 2000 年以降、マクロライド耐性 GAS の報告は増加し、ドイツ 14% (2003)⁷⁾、スペイン 32.8% (2006)⁸⁾、フランス 22.4% (2004)⁹⁾と報告されている。マクロライド使用量増加とマクロライド耐性株増加の関係は以前から指摘されており¹⁰⁾、今回のわれわれの検討における耐性株の急激な上昇もまたマクロライド使用量の増加に起因している可能性が高い。ただし、近年はドイツ 2.6% (2011)¹¹⁾、フランス 3.2% (2012)¹²⁾のように耐性株の割合が再度減少に転じたとの報告が散見されており、その原因としてマクロライド使用量の減少¹⁰⁾のほか、マクロライド耐性の *emm28* 型株の減少などが考えられている¹²⁾。今後抗菌薬の適正使用によりマクロライド使用量が減少すれば、わが国においても耐性株が減少に転ずる可能性がある。

今回、われわれは GAS に対する TFLX の MIC についても検討を行った。フルオロキノロン系抗菌薬は、一般的に広域なスペクトラムと強い抗菌活性を有しており、主に成人の各種領域の感染症に使用されている。TFLX は 2010 年 1 月に小児の肺炎・中耳炎に適応を有する国内初の小児用ニューキノロン系細粒剤として販売され、小児診療の場では外来における呼吸器感染症に対し広く使用されている。2003~2004 年に分離された GAS に対する MIC 値はフルオロキノロン系抗菌薬のうち TFLX が最も低く、MIC₅₀ 0.12 μg/ml、MIC₉₀ 0.5 μg/ml (MIC range : ≤0.06~0.5) であったと報告されている¹³⁾。今回のわれわれの検討において TFLX の MIC は、MIC₅₀ 0.25 μg/ml、MIC₉₀ 0.5 μg/ml (MIC range : ≤0.063~2) であり、MIC ≥4 μg/ml の株はみられなかったことから、この 10 年近くの間 GAS の TFLX に対する耐性は進んでいないことが推測される。しかし、これまでにフルオロキノロン耐性 *Streptococcus pneumoniae* の出現が報告されており¹⁴⁾、GAS についても今後の監視が必要である。

結 語

今回の検討において、マクロライド耐性 GAS は依然として 40% を超えていた。みかけ上は耐性株の割合は頭打ちになっているが、耐性株の MIC 値の分布状況から耐性が進んでいると考えられる。今後は耐性遺伝子の保有状況や *emm* 遺伝子型についても明らかにし、その経年的変化や MIC との関連について検討していきたい。

本論文の論旨は、第 44 回日本小児感染症学会 (平成 24 年 11 月、北九州) において発表した。

日本小児感染症学会の定める利益相反に関する開示事項はありません。

文 献

- 1) 小児呼吸器感染症診療ガイドライン作成委員会：小児呼吸器感染症診療ガイドライン 2011, 2011
- 2) American Academy of Pediatrics : Group B streptococcal infections. Red Book 2012 Report of the Committee on Infectious Diseases, 29th (Pickering LK, et al ed). 2012, 668-680
- 3) Clinical and Laboratory Standards Institute : CLSI Approved Standard seventh edition., Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, 2006, M7-A7
- 4) 藤田晃三, 他 : 最近 10 年間の A 群溶連菌感染症と分離株の血清型・薬剤感受性. 感染症誌 68 : 1229-1236, 1994
- 5) 中山栄一, 他 : 溶連菌咽頭炎における各種経口抗菌薬の追跡検討および EM 耐性について. 感染症誌 78 : 206, 2004
- 6) Farrell DJ, et al : Molecular characterisation of macrolide resistance mechanisms among *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* isolated from the PROKET 1999-2000 study. J Antimicrob Chemother 52 : 39-47, 2002
- 7) Reinert RR, et al : Molecular characterisation of macrolide resistance mechanisms of *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* isolated in Germany, 2002-2003. Int J Antimicrob Agents 24 : 43-47, 2004
- 8) Rubio-López V, et al : Molecular epidemiology,

- antimicrobial susceptibilities and resistance mechanisms of *Streptococcus pyogenes* isolates resistant to erythromycin and tetracycline in Spain (1994–2006). *BMC Microbiol* 12 : 125, 2012
- 9) Bingen E, et al : Emergence of macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* strains in France children. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 48 : 3559–3562, 2004
- 10) Bergman H, et al : Effect of macrolide consumption on erythromycin resistance in *Streptococcus pyogenes* in Finland in 1997–2001. *Clin Infect Dis* 38 : 1251–1256, 2004
- 11) Farmand S, et al : Significant decline in the erythromycin resistance of group A streptococcus isolates at a German paediatric tertiary care centre. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31 : 707–710, 2012
- 12) d’Humières C, et al : Decline in macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* isolates from French children. *Int J Med Microbiol* 302 : 300–303, 2012
- 13) 佐藤弓枝, 他 : 2003 年以降に分離された各種臨床分離株に対する tosofloxacin の抗菌活性. *日本化学療法学会雑誌* 53 (6) : 364–370, 2005
- 14) 前川仁子, 他 : *Streptococcus pneumoniae* に対する tosofloxacin と各種抗菌薬の抗菌活性の経年変化. *Jpn J Antibiotic* 56 : 27–35, 2003

Epidemiology about the macrolide resistance of *Streptococcus pyogenes* in Fukuoka

Yuhei TANAKA¹, Mariko TERAMACHI¹, Kazuhisa ISHIMOTO¹, Kenji GOTOH¹,
Hidenobu HIDAHA¹, Yasushi OHTSU¹, Kenji MASUNAGA¹, Naoki TSUMURA¹,
Kensuke NAGAI², Shizuo SHINDO³

¹Department of Pediatrics, Kurume University

²Nagai Children’s clinic

³Shindo Children’s clinic

The aim of this study was to reveal annual changes in antibiotic susceptibility of Group A beta-hemolytic *Streptococcus* (GAS), especially macrolide in southwestern Japan. The strains of macrolide resistant GAS have been increasing for the last 10 years. Two hundred and eighty six GAS strains were isolated from pharyngitis patients in each period of between 2007 and 2009 (group 1) and 2011 and 2012 (group 2). The MIC and T-type test of these strains were investigated. The rate of erythromycin resistant strains in group 1 was 49.3%, with 24.7% having especially high resistance (MIC \geq 16 μ g/ml). In group 2, these rates were 45.8% and 34.1%, respectively. Compared with the author’s previous study in 2006, the rate of macrolide resistant rates has increased by approximately 4 times in both groups in this study. The rate of macrolide high resistant strains is increasing yearly, thus suggesting that macrolide resistance of GAS is progressing. Regarding T-serotypes, T-1, T-4, and T-12 were comprised in 62% of group 1. On the other hand, T-1 and T-12 were comprised in 64%, and T-4 in only 3% of group 2. It is likely that a relationship was not seen between T-type and macrolide resistance.

(受付 : 2013 年 12 月 2 日, 受理 : 2014 年 1 月 16 日)

* * *