

都内小児科定点医療機関において検出されたA群溶血性レンサ球菌の型別成績

(2010年～2014年)

内谷 友美^a, 久保田 寛顕^a, 奥野 ルミ^a, 畠山 薫^a, 新開 敬行^a, 貞升 健志^b

東京都では小児におけるA群溶血性レンサ球菌感染症の発生状況を把握する目的で、A群溶血性レンサ球菌のT血清型別および発熱性毒素産生性の調査を実施している。今回は、2010年1月より2014年12月までに、都内小児科病原体定点医療機関で採取された咽頭ぬぐい液より分離したA群溶血性レンサ球菌138株および、都内医療機関より送付された菌株212株を合わせた計350株について、T血清型別および発熱性毒素産生性を調査した。

その結果、350株中317株が15のT血清型に分類された。T血清型は、多い順から1型、12型、4型、B3264型、28型であり、B3264型および6型は、5年間で増加傾向にあった。

T血清型と発熱性毒素産生性との関連性に注目すると、劇症型レンサ球菌感染症由来株で多く認められる1型におけるSPE-A+B産生株の割合は、2010年以前の調査で24%であったものが、今回の調査では52%に増加した。SPE-A産生株の割合が高い1型、6型については劇症型溶血性レンサ球菌感染症との関連も視野に入れ、今後も注視していく必要があると考えられた。

キーワード: A群溶血性レンサ球菌, 溶連菌, 咽頭炎, T型, 発熱性毒素, SPE

はじめに

A群溶血性レンサ球菌は、急性咽頭炎をはじめとした、膿痂疹、蜂窩織炎、肺炎、中耳炎、猩紅熱など多様な感染症の原因となるグラム陽性球菌である。旧感染症法では猩紅熱は法定伝染病に指定され、重篤な感染症として恐れられていたが、抗生剤の発見により治療が可能となった。A群溶血性レンサ球菌咽頭炎は感染症法における感染症発生動向調査で、五類感染症小児科定点把握疾患に指定されており、その発生件数は高い水準で推移している。さらに、続発症として糸球体腎炎などに発展する場合もあり、適切な治療を行う必要がある。また、A群溶血性レンサ球菌は、急速に多臓器不全や敗血症性ショックなどの病態を呈し、極めて短時間で感染者を死に至らしめる「劇症型溶血性レンサ球菌感染症（以下劇症型）」の主たる原因菌でもあり、このような劇症型患者の報告数も数年前から著しく増加している¹⁾。

当センターにおいては感染症法施行以前の1993年から、小児におけるA群溶血性レンサ球菌発生状況を調査する目的で、咽頭ぬぐい液や菌株を収集して調査を行っている。今回、2010年1月より2014年12月までの5年間の成績をまとめたので報告する。

実験方法

1. 検査材料

2010年1月より2014年12月までに都内の小児科病原体定点医療機関16施設から搬入された咽頭ぬぐい液236件につ

いてA群溶血性レンサ球菌の菌分離および型別試験を実施した(表1)。また、都内医療機関から送付された患者由来A群溶血性レンサ球菌菌株212件(咽頭由来210株、鼻腔由来1株、尿由来1株)についても、同様に型別試験を実施した(表2)。

2. 方法

1) 分離培養

咽頭ぬぐい液を5%馬血液加トリプトソイ寒天培地に塗抹後、5%CO₂の存在下で36°C、一晚培養を行った。培養後、β溶血を示すコロニーを選択し、ユニブルー

(OXOID)を用いてLancefield分類に基づいた群別試験を行い、A群と判定されたコロニーをA群溶血性レンサ球菌と決定した。

2) 型別試験

A群溶血性レンサ球菌と決定した菌株を、Brain Heart Infusion Broth (BD)に接種し、5%CO₂の存在下で36°C、24時間培養した。その培養液を1,700xGで10分間遠心分離し、沈渣はT血清型別(以下T型)に、上清は発熱性毒素(SPE: Streptococcal pyrogenic exotoxin) A, B, Cの検出に用いた。T型別は、T抗原型別用抗血清(デンカ生研)を用いて決定し、SPEの検出には高比重ラテックスを用いた逆受身ラテックス凝集反応(RPLA法)を用いてSPE型を決定した。

^a 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科
169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター微生物部

表1. 都内小児科病原体定点医療機関患者の咽頭ぬぐい液検査成績(2010年～2014年)

	調 査 年					総数
	2010	2011	2012	2013	2014	
検査件数	8	67	57	46	58	236
A群溶血性レンサ球菌 分離株数	5	35	35	28	35	138
分離率 (%)	62.5	52.2	61.4	60.9	60.3	58.5

表2. 都内医療機関から収集したA群溶血性レンサ球菌の菌株数 (2010年～2014年)

調査年	2010	2011	2012	2013	2014	総数
菌株数	46	55	38	33	40	212

表3. A群溶血性レンサ球菌のT型別成績 (2010年～2014年)

年	T 型															総数
	1	2	3	4	6	9	11	12	13	22	25	28	B3264	他*	UT	
2010	13	2	1	3	1		1	8	3			8		2	9	51
2011	30	1		7	3		1	10	3	1	4	11	7		12	90
2012	8			6	5			23			5	13	7		6	73
2013	6			16	5	1	5	10				4	10		4	61
2014	10			18	11	1	3	12				2	16		2	75
総数	67	3	1	50	25	2	10	63	6	1	9	38	40	2	33	350
(%)	19.1	0.9	0.3	14.3	7.1	0.6	2.9	18.0	1.7	0.3	2.6	10.9	11.4	0.6	9.4	100

* : 3/13型, 13/B3264型, 各1株

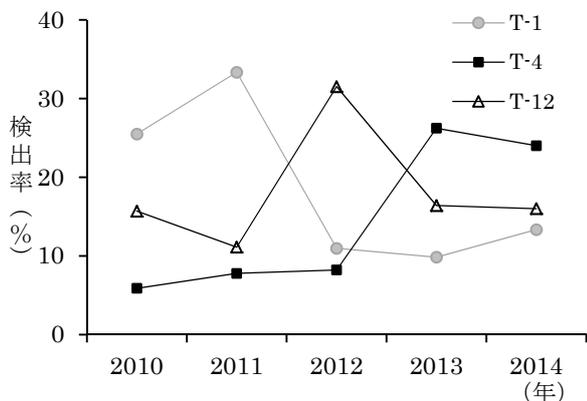


図1. A群溶血性レンサ球菌 T-1, 4, 12型
検出率の年次別推移

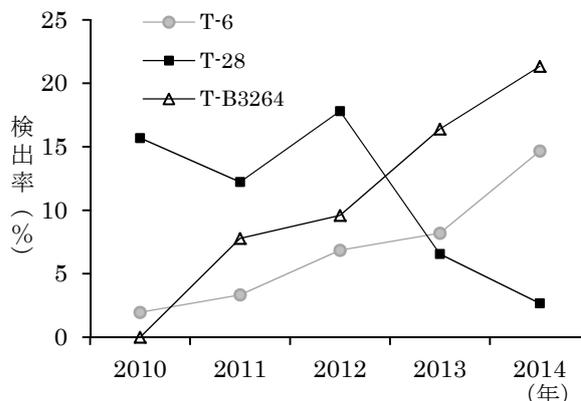


図2. A群溶血性レンサ球菌 T-6, 28, B3264型
検出率の年次別推移

表4. A群溶血性レンサ球菌のT型別成績と毒素産生性(2010年～2014年)

毒素型	T 型															総数	(%)
	1	2	3	4	6	9	11	12	13	22	25	28	B3264	他*	UT		
A												1				1	(0.3)
B	31			7		2		26	3		1	2	19	2	7	100	(28.6)
C				1			1									2	(0.6)
A+B	35		1		1										1	38	(10.9)
B+C	1	3		42	17		8	37	3	1	8	35	21		25	201	(57.4)
A+B+C					7		1									8	(2.3)
総数	67	3	1	50	25	2	10	63	6	1	9	38	40	2	33	350	(100)

*: 3/13型, 13/B3264型, 各1株

結 果

1. 年次別分離状況

2010年から2014年に搬入された咽頭ぬぐい液236件からのA群溶血性レンサ球菌検査成績を表1に示した。分離されたA群溶血性レンサ球菌は138株で、分離率は58.5%であった。供試したA群溶血性レンサ球菌の総菌株数は、菌株として搬入された212株と合わせて350株であり、年次別では2011年の90株が最多で2010年の51株が最少であった。

2. T型別結果

A群溶血性レンサ球菌の年次別T型別結果を表3に示した。全350株中317株が15のT型に分類され、33株は型別不能であった。主なT型では、1型が67株(19.1%)と最も多く、次いで12型が63株(18.0%)、4型が50株(14.3%)、B3264型が40株(11.4%)、28型が38株(10.9%)、6型が25株(7.1%)等の順であった。B3264型を除くこれらの型は毎年継続して分離された。最多であった1型は2010年に13株(25.5%)、2011年に30株(33.3%)と高い検出率が続くが、2012年以降は検出率が低下し、その後も10%前後を維持していた。一方、4型は2010年から2012年までは検出率が10%以内を推移していたが、2013年は16株(26.2%)、2014年では18株(24.0%)と急増し、それぞれ年次別で最多となった(図1)。一方、B3264型は2010年には分離されなかったが、2011年には7株(7.8%)、2012年は7株(9.6%)、2013年は10株(16.4%)、2014年には16株(21.3%)が分離された。B3264型の検出率は年次毎に上昇し、2014年には2番目に多く検出された型となった。また、6型は2010年は1株(2.0%)であったが、検出率は年次毎に上昇し、2014年には11株(14.7%)となった(図2)。

3. 発熱性毒素産生性(SPE型別)

A群溶血性レンサ球菌の毒素産生性を表4に示した。発熱性毒素として、A, B, Cの3種類の発熱性毒素産生性について検査した結果、BおよびCの2種類の発熱性毒素を産生する株(SPE-B+C型)は201株(57.4%)と最も多く、次いでB単独産生(SPE-B型)は100株(28.6%)、Aおよ

びB産生株(SPE-A+B型)は38株(10.9%)の順であり、A, BおよびCすべて産生株(SPE-A+B+C型)は、8株(2.3%)であった。

4. T型とSPE型の関連性

主要なT型とSPE型の関係をT型別にみると、T-1型では、SPE-A+B型が67株中35株(52.2%)と最も多く、次いでSPE-B型が31株(46.2%)であった。T-12型では、SPE-B+C型が63株中37株(58.7%)と最も多く、次いでSPE-B型が26株(41.3%)であった。T-4型では、SPE-B+C型が50株中42株(84.0%)と最も多く、T-B3264型では、SPE-B+C型が40株中21株(52.5%)、SPE-B型が19株(47.5%)であった。T-28型では、SPE-B+C型が38株中35株(92.1%)と最も多かった。

一方、SPE型別では、SPE-B+C型はT-1型以外の主要なT型(12型, 4型, B3264型, 28型, 6型)でいずれも過半数を占めたが、T-1型では1株(1.5%)のみであった。また、SPE-A+B型38株のうち35株(92.1%)のT型が1型であり、またSPE-A+B+C型8株のうち7株(87.5%)のT型が6型であった。

考 察

A群溶血性レンサ球菌感染症の発生动向を調査する目的で当センターでは1993年から咽頭ぬぐい液から菌分離を実施してきた。遠藤ら²⁾、藤元ら³⁾の報告によると、咽頭ぬぐい液の検査件数は1993年の調査開始から1994年の642検体を最多として漸減傾向が続いており、2010年では8検体と最少となった。しかし、2011年からは再び増加し、2014年まで50検体前後で推移している。検査件数が大幅に異なるため年次ごとの分離率を単純に比較することはできないが、1993年から2003年までの調査期間における分離率は10.0%、2004年から2009年では35.1%となったのに対し、今回の調査期間である2010年から2014年の分離率は58.5%であり、顕著な上昇傾向が認められた。当センターにおける検体搬入および分離培養の手順は、調査開始当初からほとんど変更されていないため、本菌の迅速検査キット等が

臨床現場に普及し、検査陽性の検体を効率よく搬入できるようになったことが分離率上昇の一因であると考えられた。

T型の経年変化をみると、2010年から2011年にT-1型が、2012年にはT-12型、2013年から2014年にはT-4型が多く分離された。これらの型は以前の調査でも主要な型として多く分離され、周期的な変化を繰り返している^{2,3)}。

一方、2010年以前におけるT-B3264型の検出率は約4%であったが、今回の調査における検出率は年次ごとに上昇し、2014年には21.3%と2番目に多い型となった。T-B3264型は全国的にも増加しているだけでなく、劇症型患者から分離された菌の血清型としても増加傾向にあるため⁴⁾、今後も注視していく必要がある。

T-6型は1950年代に50~60%分離された後、1970年代からはおおむね10%以下で推移し、1980年代前半および1990年代後半に再び検出率が20%前後になる小流行が認められたものの、その後は5%前後で推移していた⁵⁻⁷⁾。今回の調査では、2012年頃から再び増加に転じて、2014年には14.7%に達している。

T-3型は1950年代後半には約40%分離されていたが、その後減少し、1970年代半ばおよび1990年代前半に小流行が報告されている^{6,7)}。当センターの調査においては、調査開始年の1993年は19.3%であり、その後徐々に減少し、1997年と1998年には分離がなかったものの再び増加に転じ、2002年には検出率は19.0%になった。しかしその後再度減少を続け、今回の調査では2010年の1件を最後に4年間分離されていない。このように個々のT型の分離率はこれまで数年から10年単位で大きく変動してきたが、今後もこのような傾向が続いていくものと考えられた。

T型とSPE型の関連性に着目すると、T-1型の約半数の株がSPE-A+B型であり、T-6型の約30%の株がSPE-A+B+C型およびSPE-A+B型であった。Lappinら⁸⁾によると、SPE-AおよびSPE-Cはスーパー抗原活性を持ち、MHCクラスIIとTCRを架橋しサイトカインを大量に放出させることによって組織を傷害する。また、Stevens⁹⁾によると、A群溶血性レンサ球菌の産生するSPE-Aには細胞毒性があり、直接的に心筋に作用し機能を低下させる。奥野ら¹⁰⁾によると、劇症型溶血性レンサ球菌感染症由来菌株では劇症型以外の分離株より、SPE-A産生株が多いことが判明している。SPE-AおよびSPE-C産生能の保有は菌の病原性の高さを反映している可能性が考えられた。

今回の調査ではT-1型でSPE-Aを産生する株（SPE-A型、SPE-A+B型、SPE-A+B+C型の合計）は52.2%であったが、1993年から2003年の期間は30.7%、2004年から2010年の期間は24.2%であった^{2,3)}。また、すべてのT型において、SPE-Aを産生する株は、1993年から2003年の期間は11.3%、2004年から2010年の期間は7.4%であったが^{2,3)}、今回は、13.4%であり、SPE-Aを産生する株の割合が上昇していた。SPE-A産生株の割合が高いT-1型、T-6型については劇症型溶血性レンサ球菌感染症との関連も視野に入れ、今後も注視していく必要がある。またSPE-A産生株は認められな

かったものの、劇症型においても近年急増しているT-B3264型の動向にも注意してかなければならない。

文 献

- 1) 発生動向調査年別報告数一覧（全数把握）
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/survei/2085-idwr/ydata/5195-report-ja2013-30.html>（2015年7月15日現在、なお本URLは変更または抹消の可能性がある）
- 2) 遠藤美代子, 奥野ルミ, 畠山薫, 他：東京都健康安全研究センター研究年報, 55, 31-34, 2004.
- 3) 藤元琢也, 奥野ルミ, 畠山薫, 他：東京都健康安全研究センター研究年報, 61, 132-137, 2010.
- 4) 衛生微生物協議会溶血性レンサ球菌・レファレンスセンター会議資料, 2010-2014.
- 5) 飯村達, 永瀬金一郎：感染症学雑誌, 56, 1092-1102, 1982.
- 6) 勝川千尋, 原田七寛, 中曽根智恵：感染症学雑誌, 63, 1257-1263, 1989.
- 7) 滝沢慶彦, 坂本裕美子, オリベラ恵, 他：感染症学雑誌75, 167-173, 2001.
- 8) Lappin E, Ferguson AJ: Lancet Infect. Dis., 9, 281-290, 2009.
- 9) Stevens DL: Clin. Infect. Dis., 14, 2-11, 1992.
- 10) 奥野ルミ, 遠藤美代子, 下島優香子, 他：感染症学雑誌, 78, 10-17, 2004.

Characteristics of Group A Haemolytic Streptococci Isolated from Patients in Sentinel Pediatric Clinics in Tokyo during 2010–2014

Yumi UCHITANI^a, Hiroaki KUBOTA^a, Rumi OKUNO^a, Kaoru HATAKEYAMA^a,
Takayuki SHINKAI^a, and Kenji SADAMASU^a

Group A streptococci (GAS) cause a broad range of infections, and they are major causes of acute bacterial pharyngitis and dermatitis. In total, 350 GAS strains isolated from sentinel pediatric clinics in Tokyo were characterized by serotyping (T-type) and streptococcal pyrogenic exotoxin (SPE) typing during the 5-year period from 2010 to 2014. Finally, 317 isolates were divided into 15 T-types, but the other 33 isolates were untypable. T1, T4, and T12 were the main T-types; a finding that was previously reported. TB3264 increased from 0% to 21% and was the second most dominant T-type in 2014, whereas a previous study reported a low isolation rate for TB3264 (approximately 5%). T6 also increased from 2% to 15%. The predominant T-type isolated from the strains that caused streptococcal toxic shock syndrome was T1. The results showed that among all the T1 isolates, the proportion of strains that produced exotoxin A as well as B increased to 52% in the present study compared to 24% that was reported in a previous study. T1 and T6 were highly abundant among SPE A-producers and they should be closely monitored.

Keywords: *Streptococcus pyogenes*, pharyngitis, T-type, streptococcal pyrogenic exotoxin

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan