

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血清型別 および薬剤感受性状況 (2015年～2022年)

奥野 ルミ^a, 内谷 友美^a, 有吉 司^a, 田淵 優里^a, 鈴木 淳^a, 貞升 健志^b
(外部機関査読者: 池辺 忠義^c)

A群溶血性レンサ球菌咽頭炎は、感染症法において五類の小児科定点把握疾患である。東京都健康安全研究センターでは患者から分離された*Streptococcus pyogenes*について、T血清型別等の調査を実施している。今回、2015年～2022年に感染症発生動向調査として病原体定点で採取された咽頭ぬぐい液より分離された560株についてT血清型別を行い、そのうちの558株について薬剤感受性試験を実施した。

分離された菌株数を年次別にみると、例年に比べ2020年は半減し、さらに2021年及び2022年は例年の10%以下に激減していた。理由としては、新型コロナウイルス感染症の影響によりA群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者が激減したことに伴って、当センターへの搬入検体が減少したためと考えられた。T血清型別では、13種類のT血清型に分類され、多い順に1型、12型、4型、B3264型、28型等であった。薬剤感受性試験は、9薬剤について微量液体希釈法にて実施した結果、βラクタム系薬剤に対する耐性は見られず、テトラサイクリン耐性は8.5%、クロラムフェニコール耐性は1株であった。マクロライド系薬剤であるエリスロマイシンおよびクラリスロマイシンに対する耐性は共に27.2%であり、クリンダマイシンに対する耐性は8.1%であった。T血清型別結果について、劇症型溶血性レンサ球菌感染症由来株と比較してみると、咽頭炎で多く見られる型(1型やB3264型)とほとんど見られない型(4型や12型)があることが分かった。今後も、調査を継続し動向を注視する必要がある。

キーワード: A群溶血性レンサ球菌, 咽頭炎, T血清型, 薬剤感受性

はじめに

A群溶血性レンサ球菌咽頭炎は、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律(感染症法)の五類定点把握疾患であり、起因菌は*Streptococcus pyogenes*である。グラム陽性球菌である*S. pyogenes*は、Lancefieldの血清学的分類によりA群に属するβ溶血性のレンサ球菌であり、急性咽頭炎の他、肺炎、丹毒、猩紅熱、リウマチ熱等多様な感染症を引き起こす¹⁾。また、本菌は感染症法の五類全数把握疾患である致死率の高い劇症型溶血性レンサ球菌感染症を引き起こすこともある。

東京都健康安全研究センターでは、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の流行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。現在は感染症発生動向調査事業として、都内の病原体定点医療機関における本菌のサーベイランス調査を実施し、その結果を報告してきた²⁻⁴⁾。今回は、2015年1月から2022年12月末までの8年間のT血清型別および9薬剤に対する薬剤感受性結果をまとめたので報告する。

実験方法

1. 検査材料

2015年1月から2022年12月の8年間に、都内の小児科病原体定点医療機関を受診したA群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者の咽頭ぬぐい液から分離された*S. pyogenes* 560株を供試菌株としT血清型別を実施した。また、薬剤感受性試験用培地に発育しなかった2株を除いた558株について薬剤感受性試験を行った。

2. 方法

1) 分離培養

咽頭ぬぐい液を5%馬脱繊維血液加トリプトソイ寒天培地(栄研化学)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)またはストレプトLA(デンカ生研)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(*S. pyogenes*)と決定した。

2) T血清型別

供試菌株をTodd Hewitt Broth(BD)に接種し、5%CO₂の存在下で30°C、24時間培養した培養液を3,000 rpm、10分間遠心分離した沈渣を用いて、T抗原型別用抗血清(デンカ生研)により決定した。

^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
^c 国立感染症研究所

3) 薬剤感受性試験

使用薬剤は、βラクタム系4薬剤（アンピシリン：ABPC，セフジニル：CFDN，セファレキシン：CEX，セフトレン：CDTR，テトラサイクリン：TC，クロラムフェニコール：CP，マクロライド系2薬剤（エリスロマイシン：EM，クラリスロマイシン：CAM）およびクリンダマイシン（CLDM）の計9薬剤である。βラクタム系薬剤については、0.008～1 μg/mL，TC，CPおよびマクロライド系2薬剤については、0.008～64 μg/mL，CLDMについては、0.5～4 μg/mLの範囲で測定した。

薬剤感受性試験は微量液体希釈法で行い、ドライプレート（オーダープレート）TNE4（栄研化学）を用いてClinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)の試験実施基準に基づき実施した。

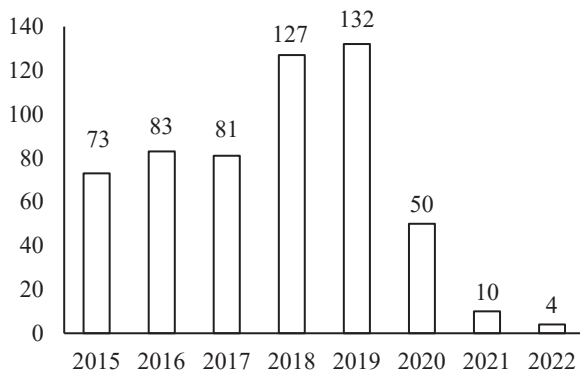


図1. A群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者から分離された*S. pyogenes*の年次別菌株数（2015年～2022年）

結 果

1. 年次別分離状況結果

2015年～2022年までに分離された菌株数の推移をみると、2019年までは73株から132株あったが、2020年は50株と半減し、さらに2021年が10株、2022年は4株と激減した（図1）。

2. T血清型別結果

*S. pyogenes*560株について年次別T型別の結果は、13種類の型に分類され、19株は型別不能であった（表1）。主なT型では、1型が126株（22.5%）と最も多く、次いで12型が97株（17.3%）、4型が8株（14.6%）、B3264型が78株（13.9%）、28型が59株（10.5%）等の順であった。

また、主なT血清型について年次別にみると、1型及びB3264型は8年間通して検出され、4型及び12型は菌株数が少なかった2022年を除く7年間で認められた。3型は、2015年に73株中14株（19.2%）、2016年に83株中14株（16.9%）であったが、その後は10%以下であった。また、28型は2018年に127株中16株（12.6%）、2019年に132株中29株（22.0%）、2020年に50株中7株（14.0%）等であった。

3. 薬剤感受性試験結果

薬剤感受性試験結果については、表2に示したようにABPCに対するMIC値は0.008～0.06 μg/mLであり、中央値は0.015 μg/mLであった。CFDNおよびCDTRは、0.004～0.015 μg/mLであり、中央値は0.008 μg/mLであった。CEXは、0.06～0.5 μg/mLであり、中央値は0.25 μg/mLであった。βラクタム系4薬剤については、いずれも良好な感受性を示した。

また、TCに対するMIC値は0.06～64 μg/mL、中央値は0.25 μg/mLであり、8 μg/mL以上の耐性株は全体で8.5%（47株/558株）であった。CPに対するMIC値は0.5～32 μg/mL、中央値は2 μg/mLであり、16 μg/mL以上の耐性株は2015年に分離された1株のみであった。

EMに対するMIC値は0.03～64 μg/mL、中央値は0.12 μg/mL、CAMに対するMIC値は0.03～>16 μg/mL、中央値は0.06 μg/mLであった。EMおよびCAMのMIC値が1 μg/mL以上の耐性株は、いずれも27.2%（152株/558株）であった。CLDMに対するMIC値は≤0.5～>4 μg/mL、中央値は≤0.5 μg/mLであり、1 μg/mL以上の耐性株は8.1%（45株/558株）であった。

考 察

A群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者の定点報告数は、2020年以降激減している（図2）。その要因としては、2020年に増加した新型コロナウイルス感染症対策のために実施されたマスク着用、うがい、手洗いやソーシャルディスタンスを取るなどの励行等の影響が考えられる。A群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者激減に伴い、*S. pyogenes*の分離菌株数も激減した。

一方で、五類全数把握疾患である劇症型溶血性レンサ球菌感染症東京都における届出数は、2019年まで増加傾向にあり、2020年及び2021年はやや減少したものの2022年は増加に転じている^{5,6)}（図3）。また、感染症法に基づく東京都の積極的疫学調査事業において、劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者から分離された菌株の収集も行っており、2015年～2022年に収集した劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者由来*S. pyogenes*は、増減はあるもののA群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者由来株のように激減することはなかった。

A群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者由来株の主要T血清型別である1型（22.5%）やB3264型（13.9%）は、劇症型でも1型（30.9%）、B3264型（13.6%）と割合が高くなっている（表3）。一方、4型や12型は、咽頭炎由来株ではそれぞれ14.6%、17.3%であるが、劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者由来株では、それぞれ1.8%、7.9%と低かった（表3）。また、咽頭炎由来株では見られなかった22型は、2019年から劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者由来株で見られるようになり⁵⁾、2015年～2022年の8年間では、15株（5.4%）であった（表3）。

さらに、型別不能株はA群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者由来株では全体で3.4%であり、最も多かった2018年でも127株中8株（6.3%）であった（表1）。しかし、劇症型溶

表1. A群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者から分離された*S. pyogenes* のT血清型別結果 (2015年～2022年)

年	T 型														総数
	1	2	3	4	6	9	11	12	25	28	B3264	14/49	5/27/44	型別不能	
2015	11		14	26	3		1	9	1	4	3			1	73
2016	18	2	14	19	1		1	16	1		9			2	83
2017	16	2	2	15	1		2	21	3	2	13	1	1	2	81
2018	26	1	3	7	4	1	4	28	3	16	25	1		8	127
2019	34	1	3	10	10			20	4	29	17			4	132
2020	18	1		4	3	1		2	7	7	5			2	50
2021	2		1	1				1		1	4				10
2022	1						1				2				4
菌株数	126	7	37	82	22	2	9	97	19	59	78	2	1	19	560
(%)	(22.5)	(1.2)	(6.6)	(14.6)	(3.9)	(0.4)	(1.6)	(17.3)	(3.4)	(10.5)	(13.9)	(0.5)	(0.2)	(3.4)	(100)

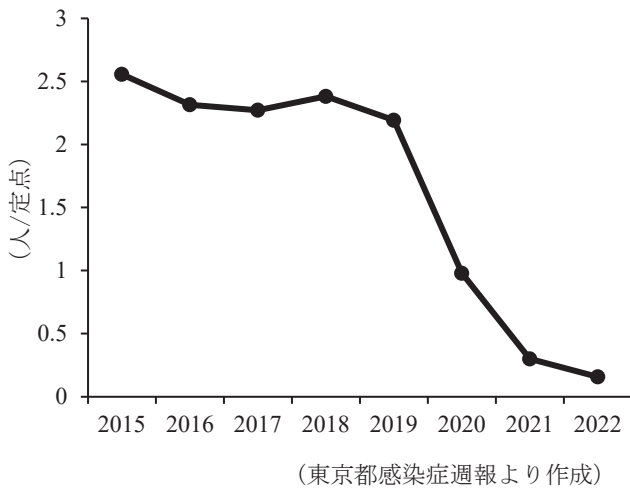


図2. A群溶血レンサ球菌咽頭炎患者の定点当たりの報告数 (2015年～2022年)

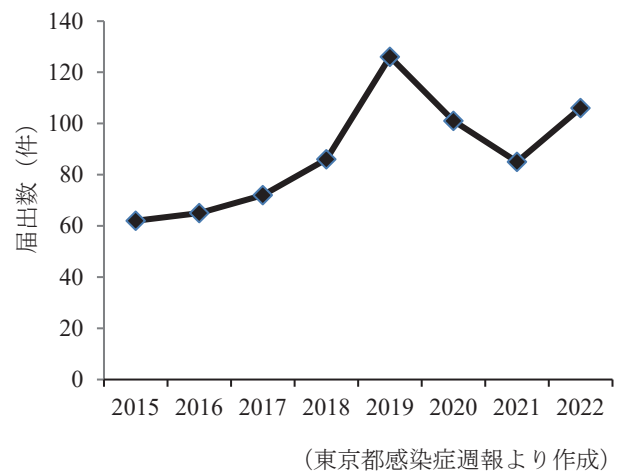


図3. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症発生届出数の年次推移 (2015年～2022年)

表2. A群溶血性レンサ球菌咽頭炎患者から分離された*S. pyogenes* の薬剤感受性 (2015年～2022年)

MIC ($\mu\text{g/mL}$)	ABPC (%)	CFDN (%)	CEX (%)	CDTR (%)	TC (%)	CP (%)	EM (%)	CAM** (%)	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	CLDM (%)
>64							33 (5.9)			
64					11 (2.0)		13 (2.3)			
32					34 (6.1)	1 (0.2)		50 (8.9)		
16					2 (0.4)		65 (11.7)	29 (5.2)		
8							37 (6.6)	50 (8.9)	>4	42 (7.5)
4						146 (26.1)	4 (0.7)	21 (3.8)	4	1 (0.2)
2						343 (61.5)		1 (0.2)	2	2 (0.4)
1						66 (11.8)		1 (0.2)	1	
0.5			206 (36.9)		45 (8.0)	2 (0.4)			≤ 0.5	513 (91.9)
0.25			339 (60.7)		333 (59.7)					
0.12			11 (2.0)		130 (23.3)		166 (29.8)	75 (13.4)		
0.06	1 (0.2)		2 (0.4)		3 (0.5)		231 (41.4)	310 (55.6)		
0.03	249 (44.6)						9 (1.6)	21 (3.8)		
0.015	300 (53.8)	11 (2.0)			1 (0.2)					
0.008	8 (1.4)	525 (94.1)			507 (90.8)					
≤ 0.004		22 (3.9)			50 (9.0)					
計 (%)	558 (100)	558 (100)	558 (100)	558 (100)	558 (100)	558 (100)	558 (100)	558 (100)	計 (%)	558 (100)

耐性：実線（—）以上，感性：点線（---）以下

※CAM 32 : >16

表3. 都内医療機関の劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者から分離された*S. pyogenes*のT血清型別結果 (2015年～2022年)

T型	1	3	4	6	9	11	12	13	22	25	28	B3264	14/49	型別不能	総数
菌株数	86	3	5	6	2	15	22	5	15	1	14	38	6	60	278
(%)	(30.9)	(1.1)	(1.8)	(2.2)	(0.7)	(5.4)	(7.9)	(1.8)	(5.4)	(0.4)	(5.0)	(13.6)	(2.2)	(21.6)	(100)

血性レンサ球菌感染症患者由来株は全体で278株中60株(21.6%)であり, 2021年は26株中16株(62.0%)と半数を超えていた. 2021年の劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者由来株の型別不能株は, Mタンパクをコードする遺伝子型である*emm*型をみると, 81型が6株(37.5%)と最多であった. *emm*81型は, T血清型では22型や14/49型に見られる型であり, 咽頭炎由来株ではほとんど見られない型であった⁵⁾.

劇症型溶血性レンサ球菌感染症株の起因は未だ明らかにされていない. しかし, *S. pyogenes*のT血清型別や*emm*型等を行うことで, 劇症型溶血性レンサ球菌感染症の原因菌の侵入が咽頭の場合とそれ以外の皮膚等に由来する可能性があることが考えられた^{7, 8)}. A群溶血性レンサ球菌咽頭炎由来株と劇症型溶血性レンサ球菌感染症由来株の血清型や*emm*型を比較することで劇症型の起因解明の一助となる可能性がある. そのため, 今後も本調査を継続し, その動向を注視していくことが必要である.

文 献

- 1) 塩川優一, 吉岡守正, 浜田茂幸(編集): レンサ球菌感染症【中】, 517-613, 1992, 廣川書店.
- 2) 遠藤美代子, 奥野ルミ, 畠山 薫, 他: 東京健安七 年 報, **55**, 31-34, 2004.
- 3) 藤元琢也, 奥野ルミ, 畠山 薫, 他: 東京健安七 年 報, **61**, 132-137, 2010.
- 4) 内谷友美, 久保田寛顕, 奥野ルミ, 他: 東京健安研七 年 報, **61**, 132-137, 2010.
- 5) 東京都微生物検査情報(月報), **43**, 8月号, 2022
- 6) 東京都感染症週報 2022年第52週
- 7) Ikebe, T., Okuno, R., Kanda, Y., *et al.*: *In. J. Med. Micro.* **311**, 151496, 2021.
- 8) Ikebe, T., Tominaga, K., Shima, T., *et al.*: *Epidemiol. Infect.*, **143**, 864-872, 2015.

Serotyping and Drug Susceptibility Status of Group A Hemolytic Streptococci Isolated from Patients at Sentinel Pediatric Clinics in Tokyo (2015–2022)

Rumi OKUNO^a, Yumi UCHITANI^a, Tsukasa ARIYOSHI^a, Yuri TABUCHI^a, Jun SUZUKI^a and Kenji SADAMASU^a
(Reviewed by Tadayoshi Ikebe^b)

This study investigated the T serotypes of *Streptococcus pyogenes* isolated from patients with pharyngitis at medical institutions in Tokyo, Japan. This study performed T serotyping on 560 strains isolated from throat swabs from 2015 to 2022. Furthermore, 558 strains underwent antimicrobial susceptibility tests. The number of isolated strains was half in 2020, and <10% in 2021 and 2022. The decreased number of patients with group A streptococcal pharyngitis under the influence of coronavirus-2019 may have caused these results. The T serotyping revealed 13 classifications. The most prominent were type 1, followed by types 12, 4, B3264, and 28. The broth microdilution method was used for nine antimicrobial susceptibility tests on 558 strains. Resistance was not observed against beta-lactam antibiotics. Tetracycline resistance was observed in 8.5% of the strains and chloramphenicol resistance in one strain. The resistance rates to macrolide antibiotics erythromycin and clarithromycin were 27.2% and that to clindamycin was 8.1%.

Some types (type 1 and B3264) were prominent in pharyngitis, whereas others (type 4 and 12) were rarely seen, compared with strains derived from severe invasive streptococcus infections. The investigation and monitoring of this trend should be continued in the future.

Keywords: *Streptococcus pyogenes*, pharyngitis, T-type, drug susceptibility

a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan
b National Institute of Infectious Diseases