原　著

妊婦由来 B 群レンサ球菌の血清型と抗体保有状況

[1)]聖マリアンナ医科大学微生物学，[2)]筑波技術短期大学衛生学・公衆衛生学
寺久保繁美[1)]　一幡　良利[2)]　竹村　　弘[1)]
山本　啓之[1)]　嶋田甚五郎[1)]　中島　秀喜[1)]

（平成 14 年 9 月 12 日受付）
（平成 14 年 11 月 14 日受理）

Key words：　group B *Streptococcus*, serotype, antibody, pregnancy

要　旨

1992 年 6 月から 2001 年 5 月までに聖マリアンナ医科大学病院産科外来を受診した妊婦 1,404 名，2,622 検体から Group B *Streptococcus*：GBS を分離・同定し血清型別を行った．

GBS 187 株が分離され，血清型は VIII（JM-9）型 59 株（31.6%），VI（NT-6）型 46 株（24.6%），III 型 19 株（10.2%），Ia 型 16 株（8.6%），V 型 16 株（8.6%），Ib 型 12 株（6.4%），II 型 3 株（1.6%）の順に多くみられた．

菌が分離された 54 名に対して，血清抗体価を細菌凝集法で測定したところ，陰性が 23 例（42.6%），2 倍で凝集が 7 例（13.0%），4 倍で凝集が 10 例（18.5%），8 倍以上で凝集が 14 例（25.9%）であった．保菌妊婦のうち 50% 以上の人は，抗体価が低いと考えられた．また，血清型の違いによって，抗体価に大きな差は認められなかったが，型別不能株が分離された例では比較的高い抗体価を示した．

母親の産道における GBS の定着や血清抗体価が，新生児に発症する髄膜炎や敗血症などの重症感染症と明らかに相関が認められていることから，その予防法を確立する上で，妊婦の GBS 保菌状況と抗体価のスクリーニングは重要だと考えられる．

〔感染症誌　77：121～126，2003〕

序　文

Group B *Streptococcus*：GBS は人の尿道，腟，腸管などの常在菌であるが，重篤な周産期感染症および新生児感染症である髄膜炎や敗血症の起炎菌ともなり，その予後が悪いことが知られている[1)2)]．欧米では GBS 感染新生児の死亡率や，髄膜炎による乳児の後遺症の頻度も高く[3)]，重大な問題とされている．特に新生児感染症の起炎菌として，GBS 血清型 Ia と III 型が問題になっている．GBS による新生児感染症は，出生直後より敗血症ないし肺炎症状で発症する早発型と，生後 1 週より 3 カ月の間に髄膜炎の症状を発症する遅発型に別けられるが，早発型では Ia および III 型が主たるもので未熟児に多く，遅発型では III 型が大多数を占めると言われている．しかし，最近の我国の疫学調査では，欧米でみられる Ia および III 型と異なり，VI および VIII 型が多く見られることが明らかになった[4)5)]．

今回，GBS 感染症の発症予防を目的として妊婦からの分離菌の検索を行い，GBS に対する抗体の

別刷請求先：（〒216-8511）神奈川県川崎市宮前区菅生 2―16―1
聖マリアンナ医科大学微生物学
寺久保繁美

平成15年 3 月20日

Table 1 Serotype distribution of GBS isolated from pregnant women (1992–1994*)

Serotype	Pregnant women in Japan (%)	Pregnant women in U.S.A. (%)
Ⅰa	6.8	37.4
Ⅰb	8.2	7.1
Ⅱ		11.4
Ⅲ	11.0	25.1
Ⅳ		
Ⅴ	4.1	17.1
Ⅵ	24.6	
Ⅶ		0.7
Ⅷ	35.6	
NT**	9.6	1.4
Total	100	100

* Serotyping at Channing Laboratory using inhibition ELISA and Ouchterlony
** Nontypable

保有状況および妊婦由来 GBS の血清型別を比較検討した.

材料と方法

1. 対象

1992 年 6 月から 2001 年 5 月までに，聖マリアンナ医科大学病院産科外来を受診した妊婦 1,404 名を対象にした．各症例は妊娠初期(14 週まで)・中期（15 週から 28 週）・末期（29 週以降）のいずれか 1 回または複数回採取し, 2,622 検体を対象にした．米国との比較は 1992 年から 1994 年に聖マリアンナ医科大学病院で分離した GBS を米国の Harvard Medical School, Channing Laboratory に送付し，日米同時期に妊婦より分離した検体の型別を行い，比較検討した[6].

2. 分離・同定

検体は腟前庭部から外陰部にかけてのスワブを用いた．2001 年の検体は腟および外陰部の 2 カ所より採取した．検体を血液寒天培地に直接塗抹すると同時に Todd Hewitt broth（THB）で増菌し，それより①血液寒天培地，② THB，③ gentamicin 8 μg/ml，nalidixic acid 15 μg/ml 添加 THB の 3 種類の培地を用いて培養した.

分離された GBS は CAMP test を行い Api Strep（日本ビオメリュー）を用いて同定した.

3. 群別と型別

日本では, GBS の群別にストレプト LA(デンカ生研)，型別には GBS 型別用免疫血清（デンカ生研)を用いた. 米国での型別には, inhibition ELISA 法および Ouchterlony 法を用いた[6].

4. 抗体価

同意の得られた 54 例の妊婦に対して採血を行い，細菌凝集反応により検出菌に対する血清中の抗体価の測定を行った.

細菌凝集反応は妊婦より採血し，血清を生理食塩水で連続 2 倍希釈し等量の熱処理死菌液（妊婦より検出した GBS を 120℃，30 分加熱処理し，比色計で 420nm，1.0 Optical Density に調整）を加え，室温で 18 時間反応させた後，凝集の有無により判定した.

成　績

1. GBS の検出率

総検体数は重複も含めて 2,622 検体で，妊婦総数は 1,404 名であった.

GBS の検出された症例は 187 例(13.3%)であった. 妊娠初期は 287 例中 36 例(12.5%), 中期は 951 例中 98 例(10.3%)，末期は 1,043 例中 115 例(11.0%）であり，妊娠各期における検出率には有意な差は認められなかった.

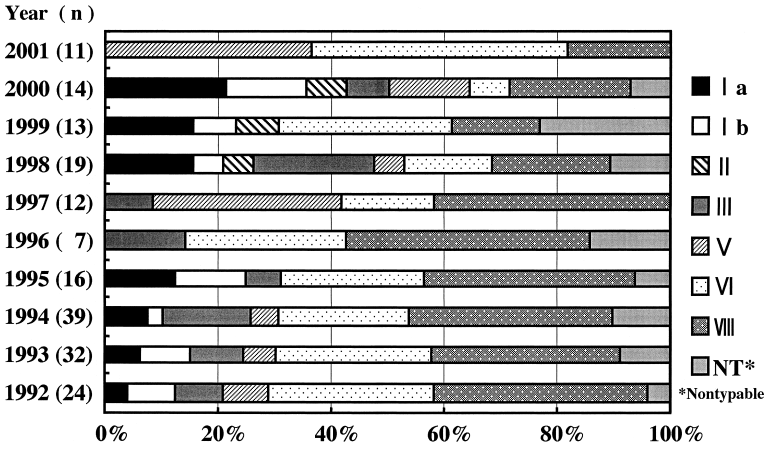
初期，中期，末期のいずれか 1 回の採取では，669 例中 64 例（9.6%）が GBS 陽性であったが，2 回採取では 593 例中 100 例(16.9%), 3 回採取では 142 例中 23 例(16.2%)で，複数回採取した方が明らかに高い分離率を示した.

Table 2　Serotype distribution of GBS isolated from pregnant women in Japan（1992–2001）

Serotype	Ⅰa	Ⅰb	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ	Ⅷ	NT*	Total
	16	12	3	19	0	16	46	59	16	187
(%)	(8.6)	(6.4)	(1.6)	(10.2)	(0)	(8.6)	(24.6)	(31.6)	(8.6)	(100)

*Nontypable

Fig. 1　Annual changes of serotype distribution of GBS isolated from 1992 to 2001



2．GBS の日米の血清型別の比較

1992 年から 1994 年の間に日本と米国の妊婦から分離された菌の血清型別を比較検討した結果，日本では VIII 型(35.6%)，VI 型(24.6%)が多く，米国の妊婦からは Ia 型（37.4%），III 型（25.1%）が多く分離され，日米間での分離菌株の血清型別の分布は明らかに異なっていた（Table 1）．

3．GBS の血清型別

今回，1992 年から 2001 年までの当院での分離菌に対して，デンカ生研の型別用免疫血清を用いて，改めて血清型別を行った(Table 2)．妊婦から分離された菌の型別は，VIII 型（31.6%），VI 型(24.6%)が多く，両者で 50% を越えていた．次いで III 型（10.2%），Ia 型（8.6%），V 型（8.6%）の順であった．この結果は Table 1 に示した 1992 年から 1994 年の結果と大きな差は認められなかった．

4．年度別血清型別と陽性率の変遷

我々が分離した GBS の血清型別の年度別の推移を検討したものを Fig. 1 に示した．1992 年から 1997 年までは VI，VIII 型が多く見られ，1997 年，2001 年は V 型が多く見られたが，1998 年以降は，特に傾向性はなく，様々な血清型の菌が分離された．Ia，III 型は比較的少なく，未検出の年も認められた．

年度別陽性率は 1992 年から 1994 年は 17.2 から 18.8% であっが，1995 年から 2000 年までは 7.9 から 11.9% に減少し，2001 年は妊婦数が少ないが 30.6% と陽性率の増加がみられた（Table 3）．

5．抗体価

Ia 型（4 例），V 型（3 例）の GBS が分離された妊婦の GBS に対する血清抗体価は全ての症例で陰性であった．型別不能株の検出された妊婦血清の抗体価は比較的高く，6 例中 3 例が 256 倍を示し，32 倍が 1 例，8 倍が 2 例だった(Table 4)．どの型の GBS においても，菌量と抗体価は相関しておらず，全体の 42.6% が抗体価陰性を示した．

考　察

新生児 GBS 感染症は決して稀な疾患ではなく，予後不良の疾患である．その予防策としては妊婦

Table 3 Annual changes of GBS colonization of pregnant women

Year	Pregnant women	Positive	Positive rate (%)
1992	131	24	18.3
1993	202	32	18.8
1994	227	39	17.2
1995	139	16	11.5
1996	63	7	11.1
1997	133	12	9.0
1998	160	19	11.9
1999	164	13	7.9
2000	149	14	9.4
2001	36	11	30.6
Total	1,404	187	13.3

が産道に本菌を保菌しているか否かを出産前に調べる事や, 妊婦の GBS に対する血清抗体価を調べることが重要であると考えられる.

従来より我国においては, 妊婦の腟内での GBS 保菌率は 10～15%[2] と報告されている. 年齢や出産回数によって顕著な差はみられないが, 検体の採取部位や採取方法によって検出率に差が見られる[7)8)]. 9 年間における今回の検討の結果では, 検出率が 13.3% で, 年次的には 7.9～30.6% と差が見られた. 特に 2001 年において 30.6% と高い検出率が得られたが, これは 1 回の採取部位を 2 カ所に増やしたためと考えられる. また, 1 回のみの採取では 9.6% の分離率であったが, 複数回の採取では 16% 以上と分離率が上がっているので, 適格な採取方法・回数を確立する必要がある. 今回の検討では, 妊婦からの GBS 分離率は従来の報告と比較しても大きな差は見られなかった[7)～9)].

日本人の腟に定着している GBS の血清型は VI, VIII 型が多いとされているが[4)5)], 我々の今回の成績も同様の結果であった. これに反して欧米では Ia 型, III 型が多く分離され, 明らかに分離される GBS の血清型に相違が認められる. しかし同じアジア圏の韓国での報告[10)]では Ia 型, Ib 型および III 型が多く, 米国と類似している. 日本でも 1991 年までは欧米と同様の血清型を示していたという報告[4)11)]があるが, 今回行った過去 9 年間の検討では, 1992 年以前に比べ, 明らかに血清型の分布に変化がみられた. このことは, 1992 年以前は V 型までしか型別されておらず, VIII 型, VI 型の血清型が存在しなかったことだけが原因ではないと思われ, 欧米と日本との差はさらに詳細な検討がなされる必要があると考える.

新生児の GBS 感染症は発症の時期により早発型と遅発型に分類され, 前者は 7 日未満の発病, 後者はそれ以後の発症を示す. 早発型では肺炎, 敗血症が多く, 遅発型は水平感染が考えられ髄膜炎が多い. 検出菌の血清型別で早発型は Ia, III 型が多く, 遅発型は III 型が多い. III 型株には, 病原因子のひとつである neuraminidase を大量に産生する菌がある. 髄膜炎の乳児から分離された菌株は III 型が多く認められる. 今回米国での分離株中, Ia 型は 37.4%, III 型は 25.1%, 両者で 62.5 %もあるが, 日本では Ia 型は 6.8%, III 型は 11.0 %で全体の 17.8% であった. このように病原性が強いとされている血清型の菌の分離率が高いので, 米国では日本よりも本菌の重要性が強調されていると考えられる.

一方, 日本においては VI, VIII 型が半数以上を占めている. これらの血清型の菌は病原性が弱い[14)]ため, 新生児の GBS 感染症が比較的少ないと考えられる. しかし, VI, VIII 型による感染症の報告が散見され[12)13)], これらの血清型の菌は分離率が高いため, 今後感染率が増加する可能性も否定できない.

実際には, 日本の GBS 感染症の発症率は保菌妊婦から産まれた児の約 1～2% とされている[2)]. 一般的予防策として, 分娩時に消毒や抗菌薬の投与による除菌が行われているが, GBS 陽性妊婦全例に抗菌薬投与を行うことは, 現実的ではないと考えられる. しかし, GBS の除菌療法を妊婦に行った場合, 新生児の GBS による敗血症の発生率が有意に低下するという報告もあり[15)16)], 今後適切な治療法の確立が望まれる.

妊婦が保菌者であっても抗体を保有していれば, 児が GBS 感染症に罹患することは少ないとする報告や, 発症児の母親は, 起炎菌に対する型特異抗体価が低値であるという報告がある[17)18)]. 母体の抗体の約半分は胎児へ移行すると考えられて

Table 4　Correlation between serotype strains of GBS and antibody levels in pregnant women serum

Serotype strains	Antibody levels									Total
	Negative	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	
Ⅰa	4									4
Ⅰb	3					1		1		5
Ⅲ	1	1	1					1		4
Ⅴ	3									3
Ⅵ	8	3	7		1					19
Ⅷ	4	3	2	1		1	1	1		13
NT*				2		1			3	6
Total	23	7	10	3	1	3	1	3	3	54

*Nontypable

おり，妊婦の腟内で検出されたGBSと同型のGBS抗体を保有していれば，経胎盤的に移行した抗体が，新生児のGBS感染症を予防しうると考えられる．最近，新生児感染症を予防するために，GBSに対する抗体価が低い妊婦に対するワクチン接種が米国では試みられている．特に血清型がⅠ～Ⅴ型ではワクチン接種が有効であると言う報告がある[19)20)]．したがって，現在のところ，妊婦が保菌者で抗体価が低値な場合は，除菌やワクチン接種などの予防処置を行うのが適当であると考えられる．

今後，GBSによる新生児感染症の予防法を確立するために，妊婦におけるGBS保菌状況と抗体価を測定し，そのデーターを集積していくことが重要であると考えられる．

会員外共同研究者

C.S. Lachenauer[1)2)], D.L. Kasper[1)], L.C. Paoletti[1)], P. Ferrieri[4)], L.C. Madoff[1)3)]

Channing Laboratory, Department of Medicine, Brigham & Women, s Hospital[1)], Division of Infectious Diseases, Children, s Hospital[2)], and Division of Infectious Diseases, Beth Israel Deaconess Medical Center[3)], Harvard Medical School, Boston, MA；and Departments of Laboratory Medicine and Pathology and Pediatrics, University of Minnesota Medical School, Minneapolis, MN[4)]

謝辞：稿を終えるに当たり，菌株の収集にご協力を頂いた聖マリアンナ医科大学産婦人科の大塚博光先生に深謝致します．

文　献

1）保科　清，門井伸暁，仁志田博司，兼子和彦，松田静治：新生児B群溶連菌(GBS)感染症の現状．日産婦会誌　1994；46：497―502.

2）松田静治：B群レンサ球菌による新生児感染症．臨床検査　1996；40：404―7.

3）CDC：Prevention of Perinatal Group B Steptococcal Disease：A Public Health Perspective. MMWR 1996；45, No RR-7；1―24.

4）滝沢慶彦，坂本祐美子，オリベラ恵，高橋俊司：札幌市におけるβ溶血レンサ球菌臨床分離株の菌型分布に関する長期的観察　II. B群溶血レンサ球菌の15年間の菌型分布について．感染症誌 2001；75：174―80.

5）Mikamo H, Sato Y, Hayasaki Y, Hua YX, Yasuda-Kawazoe K, Tamaya T：Preventive procedures against GBS infection by means of antibody Measurement. JARMAM 2000；11：33―7.

6）Lachenauer CS, Kasper DL, Shimada J, Ichiman Y, Ohtsuka H, Kaku M, *et al*.：Serotypes VI and VIII predominate among group B streptococci isolated from pregnant Japanese women. J Infect Dis 1999；179：1030―3.

7）Moyo SR, Mudzori J, Tswana SA, Maeland JA：Prevalence, capsular type distribution, anthropometric and obstetric factors of group B *Streptococcus*（*Streptococcus agalactiae*）colonization in pregnancy. Cent Afr J Med 2000；46：115―20.

8）Quinlan JD, Hill DA, Maxwell BD, Boone S, Hoover F, Lense JJ：The necessity of both anorectal and vaginal cultures for group B *streptococcus* screening during pregnancy. J Fam Pract 2000；49：447―8.

9）Stoll BJ, Schuchat A：Maternal carriage of group B streptococci in developing countries. Pediatr Infect Dis J 1998；17：499―503.

平成15年3月20日

10）Lee K, Shin J W, Chong Y, Mikamo H：Trends in serotypes and antimicrobial susceptibility of group B streptococci isolated in Korea. J Infect Chemother 2000；6：93―7.
11）宮沢広文，若井智世，土志田健，山本優美子，太田美智男：母児間におけるB群溶血性連鎖球菌の保菌状態の検討．感染症誌　1992；66：1416―21.
12）小田隆晴，三浦明香，森亜紀子，早坂　直，木原香織，小宮雄一：切迫流早産妊婦における頚管内B群溶連菌のnew serotype（JM-9型，NT-6型）の臨床的意義に関する研究．日産婦会誌　1999；51：1134―40.
13）保科　清，仁志田博司，鈴木葉子，兼子和彦，松田静治，門井伸暁：最近のB群溶血性レンサ球菌感染症の動向．日新生児会誌　2001；37：11―7.
14）早崎　容，三鴨廣繁，佐藤泰昌，和泉孝治，川添香子，玉舎輝彦：B群連鎖球菌（GBS）の血清型による病原性の差異に関する検討．感染症誌　1999；73：835―6.
15）Gilson GJ, Christensen F, Romero H, Bekes K, Silva L, Qualls CR：Prevention of group B *streptococcus* early-onset neonatal sepsis：comparison of the Center for Disease Control and prevention screening-based protocol to a risk-based protocol in infants at greater than 37 weeks 'gestation. J Perinatol 2000；20：491―5.
16）丹後正紘，川原領一，松山　毅，長柄一夫，瀬戸俊夫：新生児B群溶連菌感染症防止について．産婦人科の実際　2000；49：805―9.
17）Christensen KK, Christensen P, Dahlander K, Faxelius G, Jacobson B, Svenningsen N：Quantitation of serum antibodies to surface antigens of group B streptococci types Ia, Ib, and III：low antibody levels in mothers of neonatally infected infants. Scand J Infect Dis 1980；12：105―10.
18）Vogel LC, Boyer KM, Gadzala CA, Gotoff SP：Prevalence of type-specific group B streptococcal antibody in pregnant women. J Pediatr 1980；96：1047―51.
19）Kasper DL, Paoletti LC, Wessels MR, Guttormsen H-K, Carey VJ, Jennings HJ, *et al*.：Immune Response to Type III Group B Streptococcal Polysaccharide-Tetanus Toxoid Conjugate Vaccine. J Clin Invest 1996；98：2308―14.
20）Berg S, Trollfors B, Lagergard T, Zackrisson G, Claesson BA：Serotypes and clinical manifestations of group B streptococcal infections in western Sweden. Clin Microbiol Infect 2000；6：9―13.

Serotypes and Antibody levels of Group B Streptococci in Pregnant Women

Shigemi TERAKUBO[1)], Yoshitoshi ICHIMAN[2)], Hiromu TAKEMURA[1)], Hiroyuki YAMAMOTO[1)], Jingoro SHIMADA[1)] & Hideki NAKASHIMA[1)]
[1)]Department of Microbiology, St. Marianna University School of Medicine
[2)]Department of Hygiene and Public Health, Tsukuba College of Technology

Group B *Streptococcus* were isolated from 1404 pregnant out-patient women in the Department of Obstetrics and Gynecology, St. Marianna University School of Medicine, from June 1, 1992 to May 31, 2001. Serotype of 187（13.3%）fresh isolates of GBS was determined by using hemolytic streptococcus-typing immune sera（Denka Seiken, Tokyo, Japan）. With these strains there were 59（31.6%）, 46（26.6%）, 19（10.2%）, 16（8.6%）, 16（8.6%）, 12（6.4%）and 3（1.6%）indicating that their types were VIII, VI, III, Ia, V, Ib and II respectively. Also, bacterial agglutination reaction was employed for detection of titer to GBS in pregnant women serum. Positive reaction showed in 31（57.4%）samples but 23（42.6%）samples were not seen in this assy. It is assumed that the high antibody levels in pregnant women serum plays an important role as an in vivo defence factor in neonatal infection by GBS.