

最近 10 年間の A 群溶血性連鎖球菌における薬剤感受性、 とくにマクロライド耐性の年次推移について

¹⁾千葉市立海浜病院小児科, ²⁾同 検査科, ³⁾千葉大学大学院医学研究院小児病態学

荻田 純子¹⁾³⁾ 黒崎 知道¹⁾ 藤崎 和仁²⁾
牧野 巧²⁾ 石和田稔彦³⁾ 河野 陽一³⁾

(平成 17 年 6 月 9 日受付)

(平成 17 年 8 月 25 日受理)

Key words : *Streptococcus pyogenes*, antibiotic susceptibility, macrolide resistance, child

要 旨

1995 年 1 月から 2004 年 12 月までの 10 年間に千葉市立海浜病院小児科において口腔より臨床分離された A 群溶血性連鎖球菌の薬剤感受性の年次推移, 除菌失敗率について検討した。

755 株が分離され, 薬剤感受性試験では penicilin G (PCG), cefotaxim (CTX), cefaclor (CCL) に全株が感受性であった。erythromycin (EM) 耐性株はこの 10 年間で増加し, 耐性率は 2001 年以降各年 10% を越え, 2004 年は 19% だった。特に MIC 16 μ g/mL 以上の高度耐性株が増加していた。

ペニシリン系薬による治療後の除菌失敗は調査期間中 118 株 (15.6%) で, この 10 年間で明らかな増加傾向は認めなかった。

近年, 細胞内侵入能を有する A 群溶血性連鎖球菌の存在が明らかになり, β ラクタム系抗菌薬による除菌失敗の原因のひとつとして考えられている。これらの A 群溶血性連鎖球菌に対しては細胞内への移行性の良いマクロライド系薬が選択肢となりうる。しかし, 近年マクロライド耐性株が増加しており, その使用に際しては細菌培養を行い, 感受性に注意を払うことが重要である。

[感染症誌 79 : 871~876, 2005]

はじめに

近年, 呼吸器感染症における薬剤耐性株の増加が問題となっている。A 群溶血性連鎖球菌 (以下 A 群溶連菌) においては, 我が国で 1970 年代後半に erythromycin (EM) 耐性率が 60% を越えたが¹⁾²⁾, 1980 年代に入り減少し, 1986 年以降 1990 年まではほぼ 0% に近かったと報告されている³⁾。

今回, 我々は 1995 年以降 10 年間ににおける A

群溶連菌の薬剤感受性の年次推移および除菌失敗率を明らかにすることを目的として検討を行った。

対象と方法

1995 年 1 月から 2004 年 12 月までの 10 年間に千葉市立海浜病院小児科において, 口腔より臨床分離された A 群溶連菌 755 株を対象とした。年度ごとの分離株数は Table 1 に示した。

分離は 5% 羊血液寒天培地 (日研生物医学研究所) および A 群レンサ球菌選択 5% ヒツジ血液寒天培地 (ssA, BD), SEB 培地 (ニッピ) を用いて

別刷請求先 : (〒261-0012) 千葉市美浜区磯辺 3-31-1

千葉市立海浜病院小児科 荻田 純子

平成17年11月20日

48時間培養した。群別はセロアイデンストレプトキット‘栄研’(栄研化学)を用いて同定した。全例に対して微量液体希釈法を用いてpenicilin G (PCG), cefotaxim (CTX), cefaclor (CCL), EMの最小発育阻止濃度 (minimal inhibitory concentration, MIC) を測定し, その年次推移を検討した。A群溶連菌の同定および薬剤耐性の判定は米国臨床検査標準化委員会 (National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS) の方法に基づき, 当院細菌検査室で行った。

Table 1 Number of *Streptococcus pyogenes* isolated in Chiba Municipal Kaihin Hospital from 1995 through 2004

Year	No. of Isolates
1995	66
1996	64
1997	75
1998	41
1999	84
2000	92
2001	87
2002	65
2003	81
2004	100
Total	755

当院では治療の第1選択としてbenzylpenicilin benzathine または amoxicillin の10日間の内服を行い, 抗菌薬内服後, 約1週間後に咽頭培養で除菌を確認している。1エピソードにつき1株として, 初回抗菌薬治療後の除菌失敗率を年毎に集計し, 年次と除菌失敗率の相関をみるため回帰分析を行った。なお, 有意水準は5%とした。

結 果

薬剤感受性の結果, 検討期間中PCG, CTX, CCLに対して100%が感受性であった。EMの感受性の結果をFig. 1に示す。調査期間全体ではEM耐性株は69株(9.1%)であった。年次推移をみると, 感受性株は減少傾向にあり, 耐性株が増加していた。耐性率の年次推移と耐性株のMICをFig. 2に示す。耐性率は1995年から1999年までは5%以下であったが, 2001年以降は増加し各年10%を越え, 2004年は19%であった。耐性株のなかでも, 特にMIC 16 μ g/mL以上の高度耐性株が増加していた。

また, ペニシリン系薬を用いた治療で, 除菌失敗は118株(15.6%)であった。118株のうちEM耐性株は12株(10.2%)であった。年次毎の除菌失敗率をFig. 3に示す。回帰分析を行ったが, 年次と除菌失敗率に関係は認めず(回帰係数0.57, $p=0.056$), 明らかな増加傾向はなかった。

Fig. 1 Annual changes in susceptibility of *Streptococcus pyogenes* to EM from 1995 through 2004

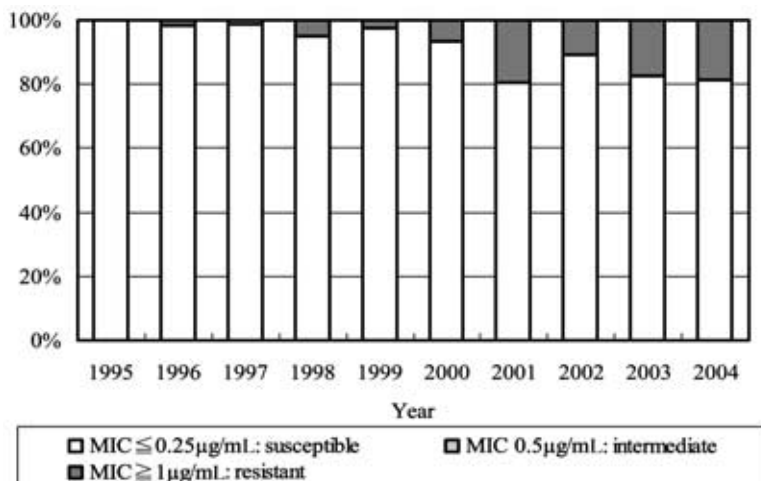


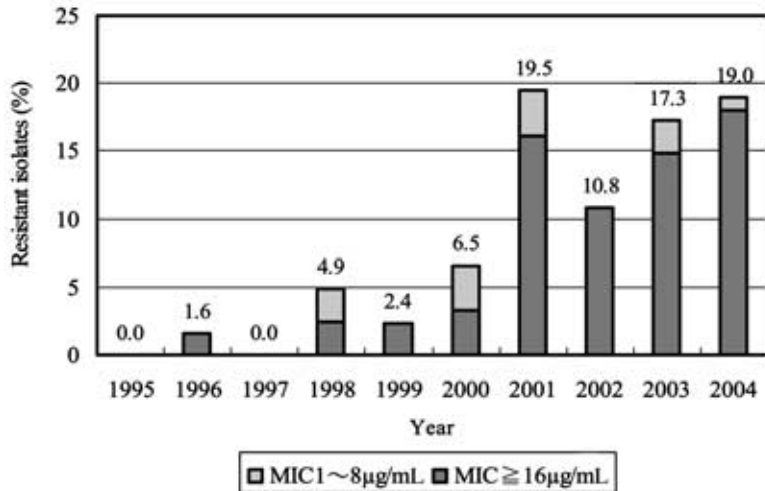
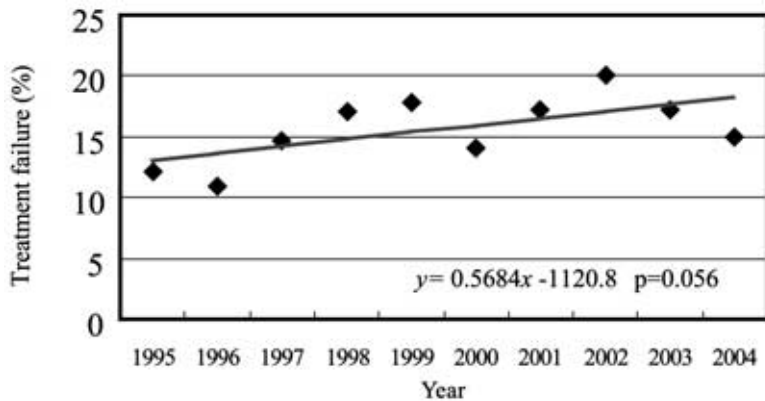
Fig. 2 Frequency of *Streptococcus pyogenes* resistance to EM from 1995 through 2004

Fig. 3 Annual changes of in treatment failure and simple linear regression line



考 察

A 群溶連菌は小児における咽頭扁桃炎の起炎微生物としてよく知られている。現在、A 群溶連菌に対する第 1 選択としてはペニシリン系薬が、ペニシリンアレルギーに対してはマクロライド系薬が推奨されている⁴⁾。

第 1 選択となるペニシリン系薬に対する耐性株の報告はなく、今回の調査においても耐性株は認めなかった。

これに対して、マクロライド耐性株はイタリア 38%⁵⁾、スペイン 29%⁶⁾、フランス 22%⁷⁾、ドイツ

14%⁸⁾、ポーランド 12%⁹⁾、韓国 33%¹⁰⁾など各国から報告されている。本邦においては河邊ら¹¹⁾、中山ら¹²⁾がそれぞれ 13%、17% とマクロライド耐性株の増加を報告している。

今回我々の検討結果では、1990 年代後半まではマクロライド耐性株の増加を認めなかったが、2001 年に 19.5% と増加し、以降毎年 10% を越え、この 10 年におけるマクロライド耐性株の上昇が示された。

マクロライド耐性機序としては、薬剤標的部位的修飾によるものと、薬剤の排出機構によるもの

の2つが考えられている。薬剤標的部位の修飾は、*erm* (B) および *erm* (A) subclass *erm* (TR) 遺伝子にコードされたメチル化酵素によるとされ、この酵素がマクロライド、リンコサミド、ストレプトグラミン B の結合を阻害し、耐性を付与することから MLS_B 耐性と呼ばれる^{7)8)13)~15)}。一方、薬剤の排出機構が関与した耐性は、膜貫通型汲み出し蛋白をコードする *mef* (A) 遺伝子によるとされ、14 および 15 員環マクロライドにのみ耐性を付与することから M 耐性と呼ばれる。各国で耐性遺伝子の割合は異なり、スペイン、ドイツでは *mef* (A) が 91.6%¹⁴⁾、93.9%⁸⁾ と優位に報告されているのに対し、韓国、フランスでは *erm* (B) が 75.6%¹⁰⁾、69.4%⁷⁾ と報告されている。我が国で分離された株での検討は Billal¹⁵⁾ らによりなされており、*mef* (A) 75.9%、*erm* (B) 6.9%、*erm* (TR) 17.2% と報告がされている。なお、一般的に *mef* (A) を有する株は通常 *erm* (B) を有する株よりもマクロライドに対する MIC が低い傾向にある (MIC 1~8 μg/mL)¹³⁾ とされる。

今回我々の調査では MIC 16 μg/mL 以上の高度耐性株が増加していた。*mef* (A) 株でも MIC 32 μg/mL の株の報告や、*mef* 遺伝子、*erm* 遺伝子をとともに持つ株なども報告されており、表現型と遺伝子型は必ずしも一致しない¹³⁾が、MIC の結果から推測すると *erm* 遺伝子を有する株が多い可能性が考えられた。

マクロライド耐性株増加の背景とし Bergman¹⁶⁾ は、呼吸器感染症におけるマクロライド使用量の増加との関係を指摘している。1997 年から 2001 年にフィンランドにおける 18 施設で分離された A 群溶連菌 50,875 株を対象として、地域ごとの EM 耐性率と、その地域における前年および前 2 年のマクロライド使用量を検討したところ、それぞれに相関関係を認めたと報告している。フィンランドでは、EM の使用量の増加に伴い、1988 年に 4~5% であった EM 耐性率が 1990 年に増加し、同年 12 月には 20~31% まで増加した¹⁷⁾。しかし、その後 EM の使用を抑えたところ、1996 年には 8.6% まで減少し¹⁸⁾、2001 年は 7.4% であった¹⁶⁾。

本邦においても呼吸器感染症においてマクロライド系薬を使用する頻度が増えており、A 群溶連菌のマクロライド耐性株の背景として懸念される。呼吸器感染症におけるマクロライド系薬の安易な使用は A 群溶連菌の耐性率増加につながる可能性があり、使用に際しては十分な選択を行うことが重要と考える。

ペニシリン耐性株が存在しないにも関わらず、A 群溶連菌による咽頭扁桃炎の除菌失敗率は 20% 程度と報告されており⁴⁾、今回の調査でも同様の結果であった。ペニシリン系薬での除菌失敗の原因として、家族内・集団内での感染・保菌、コンプライアンスの問題⁴⁾などが言われてきた。

これに加え、最近、細胞内侵入能を有する一部の A 群溶連菌の存在¹⁹⁾が明らかとなり、除菌失敗の原因のひとつとして考えられている。A 群溶連菌が細胞内に侵入する機序としては、*prtF1*/*Sfb1* 遺伝子にコードされたフィブロネクチン結合蛋白である F1/*Sfb1* 蛋白が上皮細胞への接着、侵入に関与すると報告されている^{20)~22)}。これら侵入能を有する A 群溶連菌に対しては細胞内への移行性の低い β ラクタム系抗菌薬では除菌失敗につながる事が予想される。実際、β ラクタム系抗菌薬による治療後に除菌できず保菌状態となった例で、有意に *prtF1* 遺伝子を有する率が高かった²³⁾との報告もある。今回我々は除菌失敗例における *prtF1* 遺伝子保有率については検討を行っていないが今後の課題と考えている。

β ラクタム系抗菌薬で除菌失敗を繰り返す症例に対しては、細胞内侵入能を有する A 群溶連菌の関与の可能性があり、マクロライド系薬が選択肢となりうる。しかし、我々の示したように、近年マクロライド耐性株が増加しており、その使用に際しては細菌培養を行い、感受性に注意を払うことが重要である。実際、我々の調査でもペニシリン系薬で除菌失敗した 118 株のうち 12 株 (10.2%) が EM 耐性株であった。

今後、細胞内侵入能を有し、かつマクロライド耐性を持つ A 群溶連菌に対しては、新たな抗菌薬療法を検討する必要がある。

本論文の要旨は第 169 回日本小児科学会千葉地方会

(2004.9) において発表した。

文 献

- 1) Nakae M, Murai T, Kaneko Y, Mituhashi S : Drug resistance in *Streptococcus pyogenes* isolated in Japan. *Antimicrob Agents and Chemother* 1977 ; 12 : 427—8.
- 2) Maruyama S, Yoshioka H, Fujita K, Takimoto M, Satake Y : Sensitivity of group A streptococci to antibiotics. *Am J Dis Child* 1979 ; 133 : 1143—5.
- 3) 藤田晃三, 吉河道人, 室野晃一, 村井貞子, 岸下雅通, 山崎伸二, 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* 1994 ; 68 : 1229—36.
- 4) Behrman R, Kliegman R, Jenson H : Nelson Textbook of pediatrics-16th edition, W.B. Saunders company, 2000 ; p. 802—10.
- 5) Basetti M, Manno G, Collidà A, Ferrando A, Gatti G, Ugolotti E, *et al.* : Erythromycin resistance in *Streptococcus pyogenes* in Italy. *Emerging Infectious Disease* 2000 ; 6 : 180—3.
- 6) Granizo J, Aguilar L, Casal J, Dal-Ré R, Baquero F : *Streptococcus pyogenes* resistance to erythromycin relation to macrolide consumption in Spain (1986—1997). *J Antimicrob Chemoter* 2000 ; 46 : 959—64.
- 7) Bingen E, Bidet P, Mihaila-Amrouche L, Doit C, Forcet S, Brahimi N, *et al.* : Emergence of macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* strains in French children. *Antimicrob Agents and Chemoter* 2004 ; 48 : 3559—62.
- 8) Reinert R, Franken C, Linden M, Lütticken R, Cil M, Al-Lahham A : Molecular characterization of macrolide resistance mechanisms of *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* isolated in Germany, 2002—2003. *Int J Antimicrob Agents* 2004 ; 24 : 43—7.
- 9) Szczypa K, Sadowy E, Izdebski R, Hryniewicz W : A rapid increase in macrolide resistance in *Streptococcus pyogenes* isolated in Poland during 1996—2002. *J Antimicrob Chemoter* 2004 ; 54 : 828—31.
- 10) Kim H, Uh Y : Macrolide resistance in β -hemolytic streptococci : Changes after implementation of separation of prescribing and dispensing of medications policy in Korea. *Yonsei Medical Journal* 2004 ; 45 : 591—7.
- 11) 河邊慎司, 西村直子, 後藤研誠, 宮川恵子, 山口千絵, 矢崎雄彦, 他 : A 群レンサ球菌感染症の臨床的および細菌学的検討. *小児感染免疫* 2003 ; 15 : 297—303.
- 12) 中山栄一, 田島 剛, 伊東宏明, 百村芽衣, 舟木尚美, 飯塚雄俊, 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* 2004 ; 78 (2) : 206.
- 13) Farrell D J, Morrissey I, Bakker S, Felmingham D : Molecular characterization of macrolide resistance mechanisms among *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes* isolated from the PROKET 1999—2000 study. *J Antimicrob Chemoter* 2002 ; 50 : *Suppl. S1*, 39—47.
- 14) Betriu C, Culebras E, Rodríguez-Avial, Gómez M, Sánchez B A, Picazo J J : In vitro activities of tigecycline against erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus agalactiae* : mechanisms of macrolide and tetracycline resistance. *Antimicrob Agents and Chemoter* 2004 ; 48 : 323—5.
- 15) Billal D S, Hotomi M, Yamauchi K, Fujihara K, Tamaru S, Kuki K, *et al.* : Macrolide-resistance genes of *Streptococcus pyogenes* isolated from the upper respiratory tract by polymerase chain reaction. *J Antimicrob Chemoter* 2004 ; 10 : 115—20.
- 16) Bergman M, Huikko S, Pihlajämaki M, Laippala P, Palva E, Huovinen P, *et al.* : Effect of macrolide consumption on erythromycin resistance in *Streptococcus pyogenes* in Finland in 1997—2001. *CID* 2004 ; 38 : 1251—6.
- 17) Seppälä H, Nissinen A, Järvinen H, Houvinen S, Henriksson T, Herva E, *et al.* : Resistance to Erythromycin in group A streptococci. *N Engl J Med* 1992 ; 326 : 292—7.
- 18) Seppälä H, Klaukka T, Vuopio-Varkila J, Muotiala A, Helenius H, Lager K, *et al.* : The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A streptococci in Finland. *N Engl J Med* 1997 ; 337 : 441—6.
- 19) LaPenta D, Rubens C, Chi E, Cleary P : Group A streptococci efficiently invade human respiratory epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci* 1994 ; 91 : 12115—9.
- 20) Hanski E, Caparon M : Protein F, afibronectin-binding protein, is an adhesin of group A streptococcus *Streptococcus pyogenes*. *Proc Natl Acad Sci* 1992 ; 89 : 6172—6.
- 21) Jadoun J, Ozeri V, Burstein E, Skutelsky E, Hanski E, Sela S : Protein F1 is required for efficient entry of *Streptococcus pyogenes* into epithelial cells. *J Infect Dis* 1998 ; 178 : 147—58.
- 22) Moliari G, Talay S, Valentin-Weigand P, Rohde M, Chhatwal G : The fibronectin-binding protein of *Streptococcus pyogenes*, Sfb1, is involved in the

ternalization of Group A Streptococci by epithelial cells. *Infect Immun* 1997 ; 65 : 1357—63.

- 23) Neeman R, Kellere N, Barzilai A, Korenman Z, Sela S : Prevalence of internalisation-associated

gene, prtF1, among persisting group-A streptococcus strains isolated from asymptomatic carriers. *Lancet* 1998 ; 352 : 1974—7.

Annual Changes in Antimicrobial Susceptibility and Macrolide Resistance of *Streptococcus pyogenes* from 1995 through 2004

Junko OGITA^{1,3)}, Tomomichi KUROSAKI¹⁾, Kazuhito FUJISAKI²⁾, Takumi MAKINO²⁾, Naruhiko ISHIWADA³⁾ & Yoichi KOHNO³⁾

¹⁾Department of Pediatrics, Chiba Municipal Kaihin Hospital

²⁾Department of Clinical Laboratory, Chiba Municipal Kaihin Hospital

³⁾Department of Pediatrics, Graduate School of Medicine Chiba University

This aim of this study was to reveal annual changes in antibiotic susceptibility, especially the macrolide susceptibility of *Streptococcus pyogenes*. A total of 755 strains of *S. pyogenes* were clinically isolated from throat swabs of children from 1995 through 2004 in Chiba Municipal Kaihin Hospital. All isolates were fully susceptible to benzylpenicillin, cefotaxim and cefaclor. The rate of resistance to erythromycin (EM) was over 10% every year after 2001 and 19% in 2004, and the rate of high resistance (MIC \geq 16 μ g/mL) has been increasing. A significant increase in EM resistance was observed over a 10-year period. There were 118 strains (15.6%) that persisted after treatment with β -lactams. In the past few years it has been discovered that some *S. pyogenes* can be internalized by human cells of respiratory tract origin and survive within them. Since β -lactams do not reach high intracellular concentrations, this ability of *S. pyogenes* may be related to treatment failure. Since macrolides can enter eukaryotic cells and remain active in intracellular compartments, they will be effective for these *S. pyogenes*. In case of pharyngitis which against treatment with β -lactams, there is a possibility macrolides are effective. Macrolides may be effective in pharyngitis resistant to treatment with β -lactams. However, macrolide resistance is not rare, susceptibility must be tested.