

感染症 TODAY

塩野義製薬株式会社



2016年1月20日放送

「ペニシリン低感受性 B 群レンサ球菌の細菌学的特長と臨床的意義」

名古屋大学大学院 分子病原細菌学・耐性菌制御学分野講師

木村 幸司

B 群レンサ球菌(GBS)

1933年にアメリカの Rebecca C. Lancefield 博士が、血清学的に β 溶血性レンサ球菌を分類し、その分類は、現在でも Lancefield 分類として知られています¹。そのうちの B 群抗原を持つ B 群レンサ球菌(Group B *Streptococcus*, GBS)は、グラム染色では青紫色に染まるグラム陽性の球菌であり、臨床分離される GBS のほとんどすべてが *Streptococcus agalactiae* であると考えられています。GBS は、新生児の敗血症、髄膜炎の主要な原因菌であり、GBS による新生児髄膜炎は高い死亡率と高頻度で視覚障害や聴覚障害などの後遺症を残すことが知られています^{2,3}。GBS は、症状なく腸管、膣等に保菌されていることがあり、妊婦の 10%-30%程度が膣等から GBS が分離されると言われおり、新生児 GBS 感染症の一部は母体からの垂直感染であると考えられています。米国の CDC 等は、新生児 GBS 感染症を減少させるために、GBS を膣等に保菌する妊婦に対して、分娩時にペニシリン等の抗菌薬を投与することを推奨し、新生児 GBS 感染症のうちの生後一週間以内に発症する早発性 GBS 感染症と呼ばれる群が減少傾向にあることを報告しています³。現在、この分娩時の予防的化学療法は、日本を含め多くの先進国で実施されています。

また、GBS は、新生児以外にも、高齢者や糖尿病等の基礎

Group B *Streptococcus* (GBS)



グラム陽性球菌

Rebecca C Lancefield (1895-1981)
Lancefield Group B *Streptococcus* (*Streptococcus agalactiae*)
B群レンサ球菌

新生児の敗血症、髄膜炎の主要な原因菌。一部は母体からの垂直感染
高い死亡率。生存児に視覚、聴覚障害等が頻発。
先進国ではIntrapartum chemoprophylaxis 分娩時予防的化学療法(ペニシリン、
エリスロマイシン等)

成人の侵襲的感染症の原因菌 (高齢者、糖尿病等の基礎疾患)
第一選択薬はペニシリン



疾患を有する成人に肺炎や侵襲性感染症を引き起こすことが知られており²、成人 GBS 感染症は増加傾向にあると考えられています。

臨床分離される GBS は、すべて一様にペニシリンを含むβラクタム系薬に感性であると考えられ、GBS 感染症の予防、治療の第一選択薬はペニシリン系薬を含むβラクタム系薬とされています^{2,3}。また、GBS 感染症に対するワクチンは、現在、研究段階であり、世界的に見ても未だ承認を受けたものはありません⁴。

ペニシリン低感受性 B 群レンサ球菌 (PRGBS)

1940 年代からペニシリンが臨床現場で使用されるようになりましたが、近年まで、臨床分離される GBS は、すべて一様にペニシリンを含むβラクタム系薬に感性であると考えられてきました^{2,3,5}。しかしながら、我々は、2008 年にペニシリン低感受性 B 群レンサ球菌 (PRGBS) の存在を報告致しました⁶。CLSI は、ペニシリン感性のブレイクポイントを MIC 0.12 mg/L 以下と定めておりますが⁵、PRGBS に対するペニシリンの MIC は、これを上回る 0.25-1 mg/L となっております⁶。さらに PRGBS は、オキサシリン、セフトゾキシム、セフトブテンの著明に高い MIC 値を示す特徴を持っています^{6,7}。耐性機構として、PRGBS は、βラクタム系薬の標的分子であり、細胞壁ペプチドグリカンの合成に寄与するペニシリン結合タンパク群 (Penicillin-binding proteins, PBPs) のうちの PBP2X という分子にアミノ酸変異を獲得しており、この PBP2X におけるアミノ酸変異がペニシリン低感受性の主たる要因であると考えられています⁶。我々の PRGBS の報告⁶以後、日本の我々以外のグループ⁸、米国 CDC を含むグループ⁹、カナダの二つのグループ^{10,11} からも PBP に変異があることが確認された PRGBS の報告がなされています。

ペニシリン低感受性 B 群レンサ球菌 (PRGBS)

ペニシリン感性のブレイクポイント(0.12 mg/L以下)を上回るペニシリンMIC(0.25-1 mg/L)

オキサシリン、セフトゾキシム、セフトブテンの高いMIC値

βラクタム系薬の標的分子の一つであるペニシリン結合タンパク(PBP)2Xにアミノ酸変異を獲得

(K Kimura et al. AAC 2008, K Kimura et al. JCM 2009)



PRGBS の多剤耐性傾向

PRGBS は、ペニシリン系薬及び一部のセファロsporin系薬に低感受性であるのみならず、他の耐性機構により、同時にマクロライド系薬及びフルオロキノロン系薬に非感性であることが多く、多剤耐性傾向があることが知られています¹²。また、このような多剤耐性の PRGBS の院内拡散事例が、すでに報告されています¹³。また、多剤耐性の PRGBS の中で、典型的な GBS とは異なり、ヒツジ血液寒天培地上に小型で非溶血性のコロニーを形成する株が分離されており、これらの株については、細菌検査室での検出同定に注意が必要であると思われます¹⁴。また、ペニシリンには感性で、セファクロル、セフト

ブテンの MIC 値が上昇した株が出現してきています¹⁵。これらの株は、セフトリブテン耐性ペニシリン感性 GBS と呼ばれ、PBP2X にアミノ酸変異を有していますが、PRGBS の PBP2X のアミノ酸変異とは若干、異なることが明らかになっています¹⁵。さらに、PRGBS のうちで、PBP2X に加え PBP1A にアミノ酸変異を獲得し、セフトリブテン系薬のセフトリゾキシムに高度耐性を獲得した株が出現しており¹⁶、PRGBS が、今後、ペニシリン耐性肺炎球菌 (PRSP) のように、複数の PBP に次々とアミノ酸変異を獲得し、βラクタム系薬の MIC 値を上昇させていくことも懸念され、注意が必要です。

PRGBSは、同時にレボフロキサシン、エリスロマイシンに非感性である頻度が高い (K Kimura et al. JAC 2013)

多剤耐性のPRGBS院内拡散事例 (N Nagano et al. JAC 2012)

小型かつ非溶血性コロニーを形成する多剤耐性PRGBS (I1 Bunno et al. JCM 2014)

セフトリブテン耐性ペニシリン感性GBS (N Nagano et al. JCM 2014)

PBP2Xに加えPBP1Aにも変異を獲得したセフトリゾキシム高度耐性PRGBS (K Kimura et al. JAC 2013)



PRGBS の検出

PRGBS に対するペニシリンの MIC は、先ほど述べましたように 0.25-1 mg/L であり、CLSI の定めるペニシリンのブレイクポイント 0.12 mg/L 以下に近接しており、我々の検討では、A 社の自動薬剤感受性測定装置では、約半数の PRGBS がペニシリン感性と誤判定されるという結果を得ています¹⁷。これを補完し、PRGBS の検出をより可能にするために、二つの PRGBS 検出法を考案致しました。一つは、ディスク拡散法で、オキサシリン、セフトリゾキシム、セフトリブテンの各ディスクを用いますと、各ディスクの周りの増殖阻止円の直径が PRGBS ではペニシリン感性株よりも縮小し、このことにより PRGBS が検出できることを明らかにしました⁷。もう一つは、これまでに報告のあった GBS 選択培地に 128 mg/L のセフトリブテンを加えることで、感度 100%、特異度 81.6% で PRGBS を検出できる PRGBS 選択培地¹⁸を考案しました。今後、更なる検討が必要であると考えられますが、これらの方法により、より簡便に PRGBS が検出できるようになることが期待されます。

PRGBS検出法

PRGBSを検出できるディスク拡散法
PRGBSでは、オキサシリン、セフトリゾキシム、セフトリブテンの各ディスクの周りの増殖阻止円が縮小
(K Kimura et al. JCM 2009, 特許4956721号)

PRGBS選択培地
これまでに報告のあるGBS選択培地にセフトリブテン(Final 128 mg/L)を加えた。
感度100%、特異度 81.6%
(C Kamiya et al. DMID 2015)

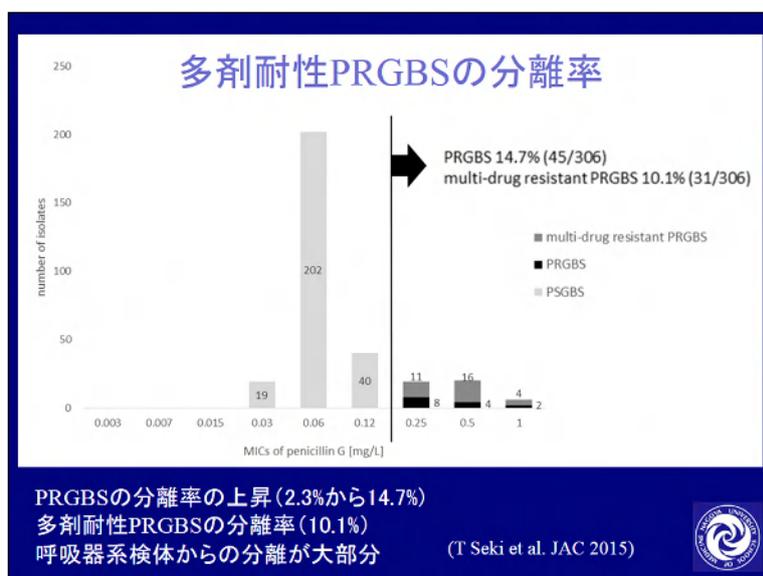


PRGBS の分離検体と分離率

PRGBS の分離検体は、喀痰などの呼吸器系検体が非常に多く^{6, 13, 19, 20}、次に尿検体、

時に褥瘡²¹、関節液¹⁰、血液^{9, 14}などから分離されることがあります。PRGBS が分離された患者は、高齢者が多く、新生児の侵襲性 GBS 感染症由来の PRGBS 及び妊婦膈分泌物由来の PRGBS の報告は、私が把握している範囲では、現在のところ、ない²²とされていますが、今後、これらの検体から PRGBS が分離される可能性がありますので、注意を払う必要があると考えています。

PRGBS の国内での分離率については、2005 年から 2006 年では臨床分離 GBS 株中の 2.3%²⁰であったのに対し、2012 年から 2013 年では、臨床分離 GBS306 株中の 14.7%が PRGBS、臨床分離 GBS306 株中の 10.1%が多剤耐性の PRGBS との結果¹⁹を得ており、近年、PRGBS が多剤耐性傾向を保持しつつ、分離率が上昇していることが示唆されます。



PRGBS に関する今後の課題

米国 CDC は、2010 年に新生児 GBS 感染症の予防に関するガイドラインを改訂し、その中で PRGBS を紹介しています³が、PRGBS に関しては、いくつかの課題が挙げられると思います。代表的なものとしては、PRGBS がどの程度の病原性を有し、どのような感染症を引き起こした際に、どのβラクタム系薬による治療に抵抗性を示すのか?という知見が不足しており、より積極的に PRGBS を検出し、さらに臨床的知見を蓄積していくことが重要であると思います。

参考文献

1. R. C. Lancefield (1933)
“A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci”
The Journal of Experimental Medicine 57(4): 571-95.
2. C. J. Baker (2000)
“Group B Streptococcal Infections” p. 222-237. *In* D. L. Stevens, and E. L. Kaplan. Streptococcal infections. Clinical aspects, microbiology, and molecular pathogenesis. Oxford University Press, Oxford, England.
3. J. R. Verani, L. McGee, S. J. Schrag (2010)
“Prevention of perinatal group B streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010.
Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) Recommendations and Reports 59(RR-10): 1-36.
4. A. K. Johri, L. C. Paoletti, P. Glaser, M. Dua, P. K. Sharma, G. Grandi, R. Rappuoli (2006)
“Group B Streptococcus: global incidence and vaccine development”
Nature Review Microbiology 4: 932-42.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (2006)
“Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Sixteenth informational supplement M100-S16” **26**:138-40.
6. K. Kimura, S. Suzuki, J. Wachino, H. Kurokawa, K. Yamane, N. Shibata, N. Nagano, H. Kato, K. Shibayama, Y. Arakawa (2008)
“First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility”
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 52(8): 2890-7.
7. K. Kimura, J. Wachino, H. Kurokawa, S. Suzuki, K. Yamane, N. Shibata, Y. Arakawa (2009)
“Practical disk diffusion test for detecting group B streptococcus with reduced penicillin susceptibility”
Journal Clinical Microbiology 47(12): 4154-7.
8. S. Y. Murayama, C. Seki, H. Sakata, K. Sunaoshi, E. Nakayama, S. Iwata, K. Sunakawa, K. Ubukata; Invasive Streptococcal Disease Working Group (2009)
“Capsular type and antibiotic resistance in *Streptococcus agalctiae* isolates from patients, ranging from newborns to the elderly, with invasive infections”
Antimicrobial Agents and Chemotherapy 53: 2650-3.
9. S. Dahesh, M. E. Hensler, N. M. Van Sorge, R. E. Gertz, Jr., S. Schrag, V. Nizet, B. W. Beall (2008)
“Point mutation in the group B streptococcal *pbp2x* gene conferring decreased

susceptibility to β -lactam antibiotics”

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 52: 2915–8.

10. C. Gaudreau, R. Lecours, J. Ismaïl, S. Gagnon, L. Jetté, and M. Roger (2009)

“Prosthetic hip joint infection with a *Streptococcus agalactiae* isolate not susceptible to penicillin G and ceftriaxone”

The Journal of Antimicrobial Chemotherapy 65: 594–5.

11. J. Longtin, C. Vermeiren, D. Shahinas, G. S. Tamber, A. McGeer, D. E. Low, K. Katz, D. R. Pillai (2011)

“Novel mutations in a patient isolate of *Streptococcus agalactiae* with reduced penicillin susceptibility emerging after long-term oral suppressive therapy”

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 55: 2983–5.

12. K. Kimura, N. Nagano, Y. Nagano, S. Suzuki, J. Wachino, K. Shibayama, Y. Arakawa (2013)

“High frequency of fluoroquinolone- and macrolide-resistant streptococci among clinically isolated group B streptococci with reduced penicillin susceptibility”

The Journal of Antimicrobial Chemotherapy 68(3): 539–42.

13. N. Nagano, Y. Nagano, M. Toyama, K. Kimura, T. Tamura, K. Shibayama, Y. Arakawa (2012)

“Nosocomial spread of multidrug-resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility belonging to clonal complex 1”

The Journal of Antimicrobial Chemotherapy 67(4): 849–56.

14. H. Banno, K. Kimura, Y. Tanaka, H. Kitanaka, W. Jin, J. Wachino, K. Yamada, K. Shibayama, Y. Arakawa (2014)

“Characterization of multi-drug-resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility (PRGBS) forming small non- β -hemolytic colonies on sheep blood agar plates”

Journal Clinical Microbiology 52(6): 2169–71.

15. N. Nagano, Y. Nagano, M. Toyama, K. Kimura, K. Shibayama, Y. Arakawa (2014)

“Penicillin-susceptible group B streptococcal clinical isolates with reduced cephalosporin susceptibility”

Journal Clinical Microbiology 52(9): 3406–10.

16. K. Kimura, J. Wachino, H. Kurokawa, M. Matsui, S. Suzuki, K. Yamane, N. Nagano, K. Shibayama, Y. Arakawa (2013)

“High cephalosporin resistance due to amino acid substitutions in PBP1A and PBP2X in a clinical isolate of group B streptococcus”

The Journal of Antimicrobial Chemotherapy 68(7): 1533–6.

17. K. Kimura, N. Nagano, Y. Nagano, J. Wachino, K. Shibayama, Y. Arakawa (2013)

“Ability of the VITEK® 2 system to detect group B streptococci with reduced penicillin susceptibility (PRGBS)”

The Journal of Antimicrobial Chemotherapy 68(6): 1442-4.

18. C. Kamiya, K. Kimura, Y. Doyama, A. Miyazaki, M. Morimoto, H. Banno, N. Nagano, W. Jin, J. Wachino, K. Yamada, Y. Arakawa (2015)

“Ceftibuten-containing agar plate for detecting group B streptococci with reduced penicillin susceptibility (PRGBS)”

Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 82(4): 269-73.

19. T. Seki, K. Kimura, M. E. Reid, A. Miyazaki, H. Banno, W. Jin, J. Wachino, K. Yamada, Y. Arakawa (2015)

“High isolation rate of multi-drug resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility in Japan”

The Journal of Antimicrobial Chemotherapy 70(10): 2725-8.

20. N. Nagano, Y. Nagano, K. Kimura, K. Tamai, H. Yanagisawa, Y. Arakawa (2008)

“Genetic heterogeneity in *pbp* genes among clinically isolated group B streptococci with reduced penicillin susceptibility”

Antimicrobial Agents and Chemotherapy 52(12): 4258-67.

21. N. Nagano, K. Kimura, Y. Nagano, H. Yakumaru, Y. Arakawa (2009)

“Molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility recurrently isolated from a sacral decubitus ulcer”

The Journal of Antimicrobial Chemotherapy 64(6): 1326-8.

22. K. Kimura, K. Matsubara, G. Yamamoto, K. Shibayama, Y. Arakawa (2013)

“Active screening of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility and altered serotype distribution, isolated from pregnant women in Kobe, Japan”

Japanese Journal of Infectious Diseases 66(2): 158-60.