

表1 検索対象とした呼吸器系ウイルス反応

ウイルス	核酸	増幅する目的遺伝子
1. Adenovirus (AdV)	DNA	ヘキソン (hexon)
2. Influenza virus A (FluA)	RNA	非構造タンパク (NS1)
3. Influenza virus B (FluB)	RNA	核タンパク質 (NP)
4. RSV subgroup A (RSV-A)	RNA	F タンパク (F)
5. RSV subgroup B (RSV-B)	RNA	F タンパク (F)
6. Parainfluenza virus 1 (PIV1)	RNA	ヘマグルチニン・ノイラミニダーゼ (HN)
7. Parainfluenza virus 2 (PIV2)	RNA	ヘマグルチニン・ノイラミニダーゼ (HN)
8. Parainfluenza virus 3 (PIV3)	RNA	ヘマグルチニン・ノイラミニダーゼ (HN)
9. Rhinovirus (RV)	RNA	非翻訳領域 (5' NCR)
10. Enterovirus (EV)	RNA	非翻訳領域 (5' NCR)
11. Human metapneumovirus (hMPV)	RNA	核タンパク質 (NP)
12. Human bocavirus (HBoV)	DNA	非構造タンパク (NP1)
13. Pdm (H1N1) 2009 virus	RNA	非構造タンパク (NS1)

AdV は 16/51 血清型を増幅する。EV は coxsackie A9, A16, B5, B6, echo 6, 11, 30, entero 71 を増幅する。新型インフルエンザは単独で検出し、その他のウイルスは組み合わせてマルチプレックスで検出している。

(文献7より改変)

(RSV-A), ⑤ respiratory syncytial virus subgroup B (RSV-B), ⑥ parainfluenza virus 1 (PIV1), ⑦ parainfluenza virus 2 (PIV2), ⑧ parainfluenza virus 3 (PIV3), ⑨ rhinovirus (RV), ⑩ enterovirus (EV), ⑪ human metapneumovirus (hMPV), ⑫ human bocavirus (HBoV), および ⑬ pdm (H1N1) 2009 virus である。

新型インフルエンザウイルス用検索遺伝子は、季節性インフルエンザと同じ非構造タンパク (NS1) であるが、それぞれに特異的なプライマーとプローブを設計し、季節性インフルエンザと区別している。AdV と EV についてはタイプが多いため、それぞれの中のおもなタイプのみ検索できる。

3. DNA/RNA 抽出とリアルタイム PCR の操作

検査材料処理から報告までのプロトコールは図 2 に示す。ルーチンへ応用するには、DNA と RNA の抽出操作が大事で、いかに効率良く簡単に短時間で行うことができるのかがポイントである。

細菌とウイルスを網羅的に検索することを考えると、検査材料には常在菌が少ない上咽頭ぬぐい液が適しており、また、検体採取後は PCR 開始まで 4℃ に保存しておくことが望ましい。さらに、ウイルス検索の場合、検体採取のタイミングが PCR に大きく影響する。発症 2~4 病日頃までの陽性率が高いが、発症 1 病日、あるいは 5 病日以降は陽性率が著しく低下する。また、ウイルスの分離培養を実施する場合には、BD ユニバー

Flu B (influenza virus B)

RSV-B (respiratory syncytial virus subgroup B)

PIV2 (parainfluenza virus 2)

RV (rhinovirus)

hMPV (human metapneumovirus)

NS1 (非構造タンパク)

40 (780)

RSV-A (respiratory syncytial virus subgroup A)

PIV1 (parainfluenza virus 1)

PIV3 (parainfluenza virus 3)

EV (enterovirus)

HBoV (human bocavirus)

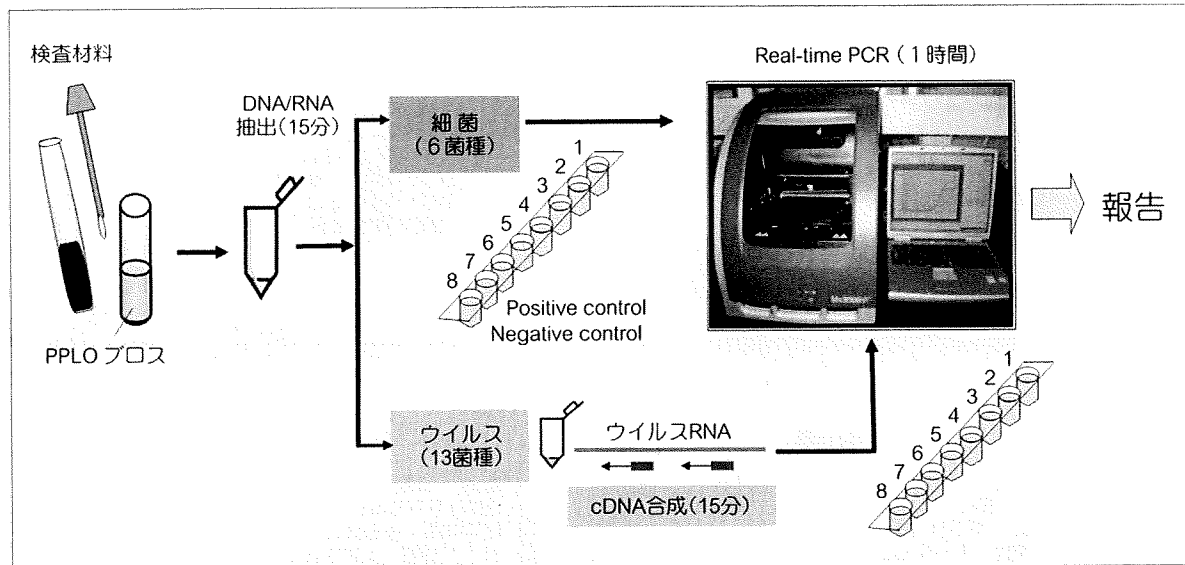


図2 リアルタイム PCR による細菌/ウイルスの迅速検索プロトコール

検査材料を受け付けてから約2時間で結果が得られる。

PCR：ポリメラーゼ連鎖反応、PPLO：Pleuropneumonia-like organisms

(筆者作成)

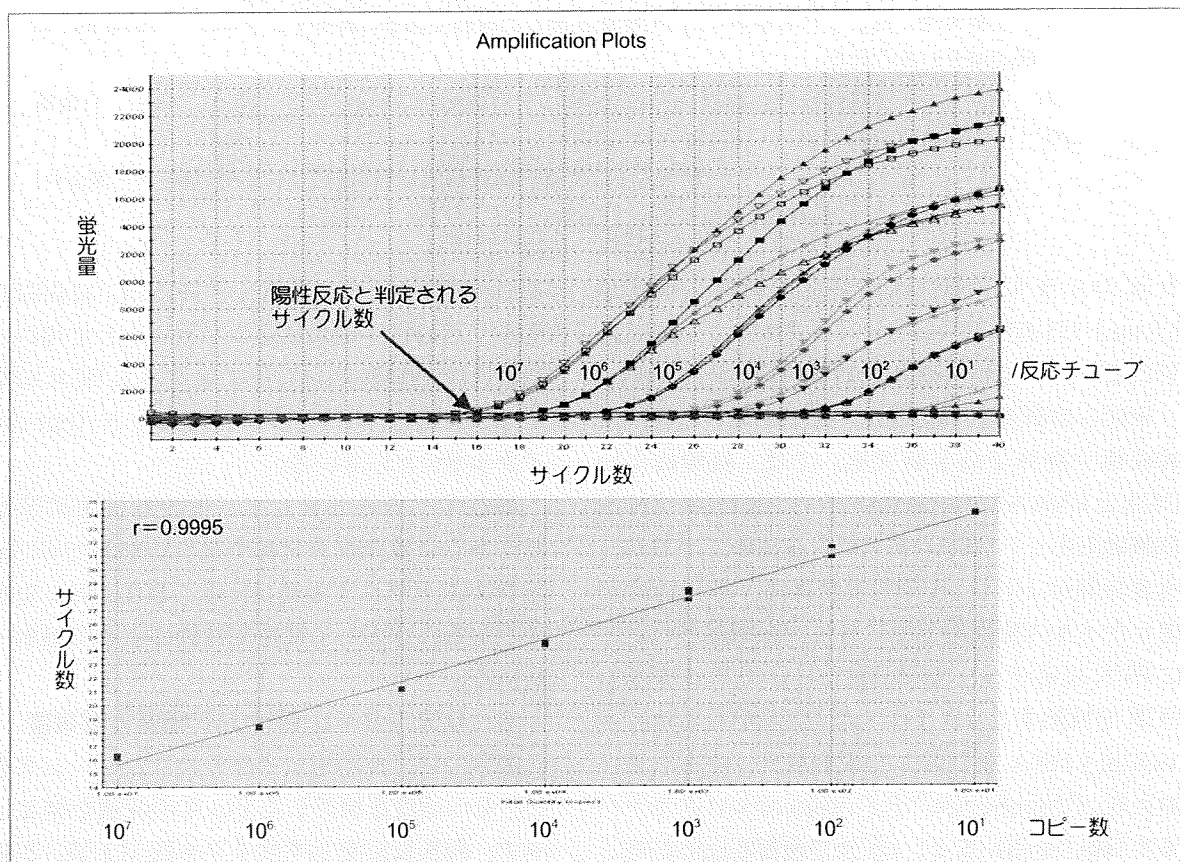


図3 Influenza virus A の感度

反応チューブ当たり目的遺伝子が10コピー存在すれば、陽性反応を示す感度となっている。

(筆者作成)

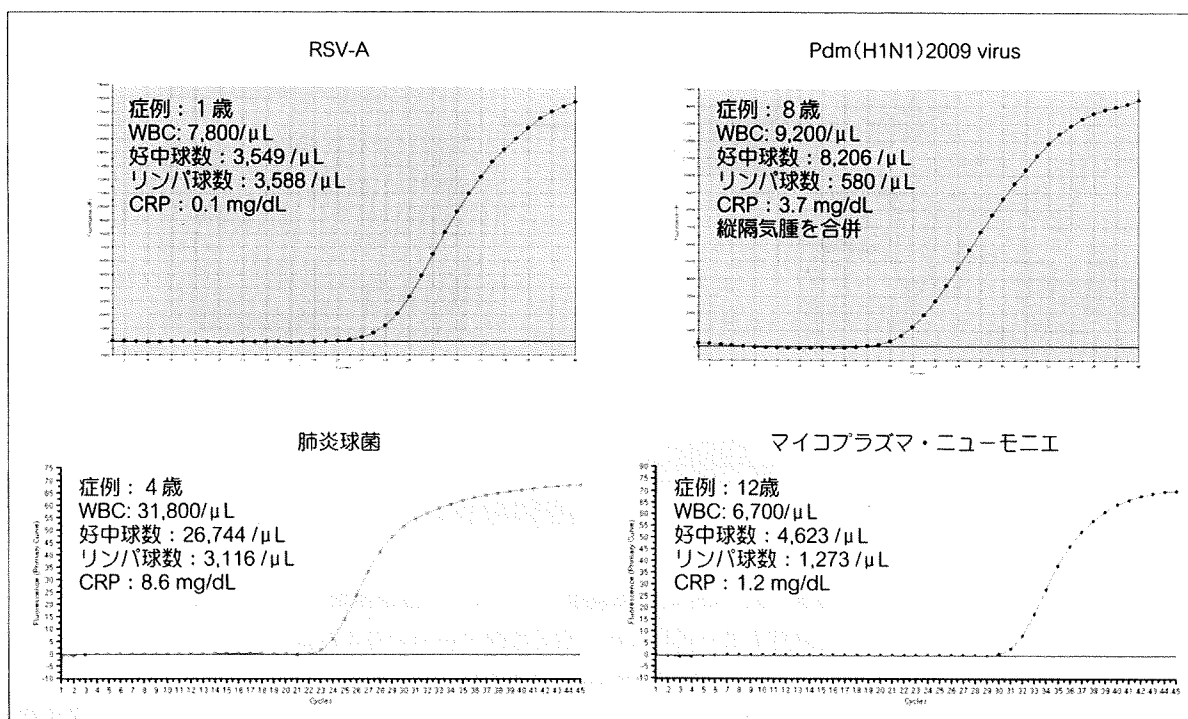


図4 リアルタイム PCR による小児肺炎例の原因微生物検索

市中小児肺炎例に対してリアルタイム PCR を実施した成績である。新型インフルエンザの症例ではリンパ球の減少がみられた。

PCR：ポリメラーゼ連鎖反応，RSV-A：respiratory syncytial virus subgroup A，WBC：白血球
CRP：C反応性タンパク

(日本大学医学部付属練馬光が丘病院小児総合診療科データより)

サルバイラルトランスポート検体輸送用培地 (3mL)「日本ベクトン・ディッキンソン (株)」を用いると、ウイルスの分離効率がきわめて良い。

筆者らの研究室 (北里大学北里生命科学研究所病原微生物分子疫学研究室) では、核酸抽出に DNA と RNA を同時に抽出できる EXTRAGEN II 核酸抽出キット「東ソー (株)」を用いているが、所要時間は 10 ～ 15 分程度である。抽出液は細菌とウイルス検出用とに二分し、細菌用はただちに PCR 反応チューブに分注して、リアルタイム PCR を開始する。ウイルスは RNA から complementary DNA (cDNA) 合成のステップを一工程加える。PrimeScript™ RT reagent kit「タカラバイオ (株)」を用いると、15 分で逆転写反応が終了し、次いで cDNA をウイルス用 PCR 反応チューブへ分注して、リアルタイム PCR を開始する。

細菌とウイルス用の PCR 試薬類は、あらかじめ

め 96 穴のウェルに分注し、 -20°C に保存しておき、用時に症例数に応じてカットして用いる。これまでの経験から、リアルタイム PCR の増幅サイクル数は 40 サイクルをリミット (cut off サイクル数) としている。

留意すべきこととして、前投与抗菌薬等があり、さらに無菌検査材料ではない材料での 35 サイクル以上で示す陽性反応は、目的 DNA の増幅か否かを、念のために電気泳動によって慎重に判断する。

4. リアルタイム PCR 法の感度と特異度

図 3 には、標的遺伝子部分のクローニングを行い、その感度を検討した Flu A の成績を例として示す。陽性反応を示すサイクル数 (Ct 値) と目的遺伝子のコピー数は、 $10^1 \sim 10^7$ の範囲で $r = 0.9995$ と相関性が高く、反応チューブ当たり、数コピー存在すれば、35 サイクル前後で陽性反

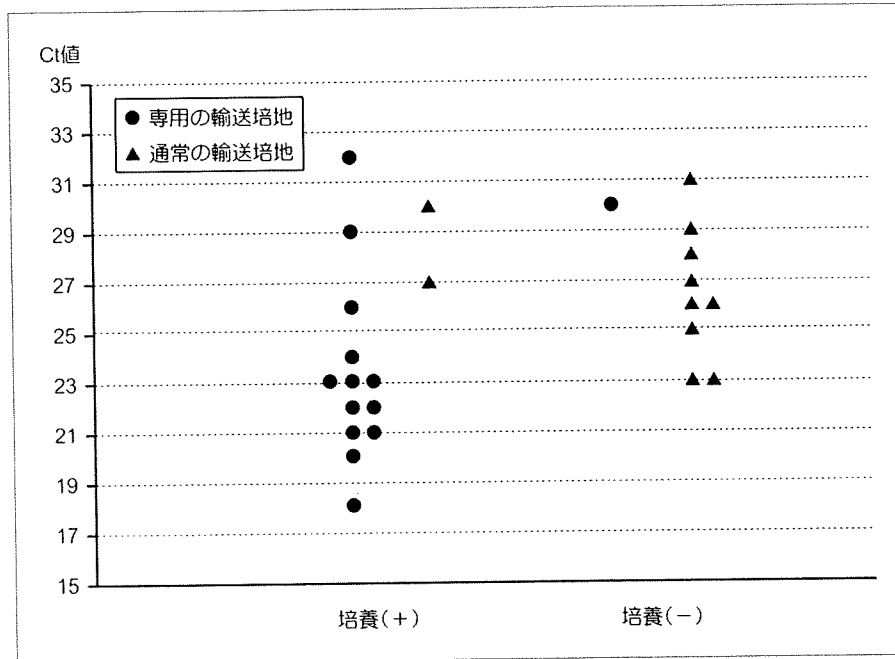


図5 新型インフルエンザの Ct 値と培養の関係

ウイルス分離専用の輸送培地を用いて検体を採取すれば、分離効率が良い。
Ct 値：陽性反応を示すサイクル数

(筆者作成)

応を示す感度となっている。ここには示さないが、その他のウイルスや細菌においても、反応チューブ当たり 1～10 コピーの該当遺伝子が存在すれば、32～36 サイクルで陽性反応を示す感度に設定されている。

Ⅲ 小児肺炎 (CAP) 例への応用

図4には、日本大学医学部付属練馬光が丘病院小児総合診療科へ入院となった市中肺炎例の成績を示す。RSV, pdm (H1N1) 2009 ウイルス, 肺炎球菌, マイコプラズマの陽性例について、それぞれの症例の年齢, WBC (白血球), 好中球数, リンパ球数, CRP (C反応性タンパク) とともに PC 上の画面を示している。pdm (H1N1) 2009 ウイルス陽性例は縦隔気腫を合併した肺炎例であったが、16 サイクルと早い段階で陽性反応を示している。PCR 法で pdm (H1N1) 2009 ウイルス陽性と判定された例のうち、30%は迅速診断キッ

ト陰性であった。リアルタイム PCR による検索は、キットに比べ、検出感度ははるかに高い。

ちなみに、小児の入院 CAP 例に限ると、PCR によってその 50%が何らかのウイルスに陽性であることが示されている。他方、成人 CAP 例のウイルス陽性率は 7%程度ときわめて低い。成人例では、病日が経過してから検体が採取されている例、採取時にすでに抗菌薬が投与されている例が多い。細菌検索では前投与薬の有無が大きく影響し、特に注射薬の前投与歴があると、PCR といえども起炎菌を推定できない。検体採取時にはこれらに対する留意が必要である。また、ウイルスには季節的流行がみられ、RSV は 9～1 月、PIV3 は 5～7 月、hMPV-HBoV は 2～7 月に陽性例が多い。ウイルス検索には季節性の考慮も必要となる。

Pdm (H1N1) 2009 ウイルス流行時には MDCK 細胞を用いたウイルス分離を試みている。その際

WBC (白血球)

CRP (C反応性タンパク)

のリアルタイム PCR の Ct 値と培養成績を図 5 に示す。前述したウイルス分離用の専用輸送培地で送付された検査材料からは効率良くウイルスが分離され、Ct 値が 30 サイクル以下であればウイルスが分離できている。

IV おわりに

院内感染のみならず、市中感染を惹起する細菌においても耐性化が急速に進行し^{10)~12)}、抗菌薬の適正使用が強く求められている。本来、感染症の治療には、原因微生物を網羅的に検索し、それに基づいて抗菌薬療法を行うか否か判断するのがあるべき姿である。また、医療コストの面からも起炎菌を迅速に推定できれば、不必要な抗菌薬投与が避けられ、さらに入院期間の短縮も期待される。

本稿で述べた網羅的リアルタイム PCR 法は、多種類のウイルスと細菌を検索でき、小児から成人の CAP 例に対して使用可能である。PCR の結果と、症例の胸部レ線所見、臨床症状、臨床検査値とを併せれば、入院当日に「正確な診断に基づいた治療抗菌薬の選択」という、21 世紀における感染症診断のパラダイムシフトへと繋がるであろう。

文 献

- Hasegawa M, Hashimoto K, Morozumi M, et al : Spontaneous pneumomediastinum complicating pneumonia in children infected with the 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus. *Clin Microbiol Infect* **16** : 195-199, 2010
- Hasegawa M, Inamo Y, Fuchigami T, et al : Bronchial casts and pandemic (H1N1) 2009 virus infection. *Emerg Infect Dis* **16** : 344-346, 2010
- Coiras MT, Aguilar JC, Garcia ML, et al : Simultaneous detection of fourteen respiratory viruses in clinical specimens by two multiplex reverse transcription nested-PCR assays. *J Med Virol* **72** : 484-495, 2004
- Espy MJ, Uhl JR, Sloan LM, et al : Real-Time PCR in Clinical Microbiology : Applications for Routine Laboratory Testing. *Clin Microbiol* **19** : 165-256, 2006
- Grondahl B, Puppe W, Hoppe A, et al : Rapid identification of nine microorganisms causing acute respiratory tract infections by single-tube multiplex reverse transcription-PCR : feasibility study. *J Clin Microbiol* **37** : 1-7, 1999
- Bonzel L, Tenenbaum T, Schrotten H, et al : Frequent detection of viral coinfection in children hospitalized with acute respiratory tract infection using a real-time polymerase chain reaction. *Pediatr Infect Dis J* **27** : 589-594, 2008
- Hamano-Hasegawa K, Morozumi M, Nakayama E, et al : Comprehensive detection of causative pathogens using real-time PCR to diagnose pediatric community-acquired pneumonia. *J Infect Chemther* **14** : 424-432, 2008
- Morozumi M, Nakayama E, Iwata S, et al : Simultaneous detection of pathogens in clinical samples from patients with community-acquired pneumonia by real-time PCR with pathogen-specific molecular beacon probes. *J Clin Microbiol* **44** : 1440-1446, 2006
- Nakayama E, Hasegawa K, Morozumi M, et al : Rapid optimization of antimicrobial chemotherapy given to pediatric patients with community-acquired pneumonia using PCR techniques with serology and standard culture. *J Infect Chemther* **13** : 305-313, 2007
- Hasegawa K, Yamamoto K, Chiba N, et al : Diversity of ampicillin-resistance genes in *Haemophilus influenzae* in Japan and the United States. *Microb Drug Resist* **9** : 39-46, 2003
- Morozumi M, Iwata S, Hasegawa K, et al : Increased macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in pediatric patients with community-acquired pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* **52** : 348-350, 2008
- Ubukata K, Iwata S, Sunakawa K : *In vitro* activities of new ketolide, telithromycin, and eight other macrolide antibiotics against *Streptococcus pneumoniae* having *mefA* and *ermB* genes that mediate macrolide resistance. *J Infect Chemother* **9** : 221-226, 2003

原 著

小児における B 群溶連菌感染症の臨床的検討

旭川厚生病院小児科

坂 田 宏

(平成 20 年 5 月 27 日受付)

(平成 20 年 7 月 15 日受理)

Key words: group B *Streptococcus*, meningitis, bacteremia, susceptibility, serotype

要 旨

1998 年から 2007 年までに当院に入院した 12 名の B 群溶連菌 (GBS) 感染症の児について臨床的に検討した。診断は敗血症が 8 名、髄膜炎が 4 名であった。発症日は齢生後 7 日未満が 3 名、7 日から 27 日が 4 名、28 日から 141 日が 5 名であった。早発型感染症の頻度は出生 1,000 人あたり 0.4 であった。予後は 3 名で神経学的後遺症を認めた。母体の GBS 保菌状況は 11 名で調べられており、4 名が陽性であった。陽性者のうち 2 名は分娩時に静注で抗菌薬を投与していたが、児は GBS 感染症を発症した。

血清型は III 型が 7 名で最も多く、ついで Ia 型と Ib 型が 2 名ずつ、II 型が 1 名であった。薬剤感受性では MIC90 の値でみると、panipenem と imipenem が 0.015 μ g/mL、meropenem が 0.03 μ g/mL、cefotaxime と ceftriaxone が 0.06 μ g/mL、ampicillin が 0.12 μ g/mL であった。

2007 年 5 月から 2008 年 2 月までに GBS を保菌していた妊婦 28 名、新生児 11 名、小児 19 名、成人 30 名から検出された株についても血清型と抗菌薬感受性を測定した。III 型の頻度について、GBS 感染症群と妊婦および成人の間で有意差を認めた ($p < 0.05$)。抗菌薬感受性は感染症群とほぼ同様であった。

〔感染症誌 82: 633~637, 2008〕

はじめに

B 群溶連菌 (group B *Streptococcus*, GBS) は新生児や生後 4 カ月までの乳児の敗血症、髄膜炎、肺炎の主要な原因菌である。中でも、生後 7 日未満で発症する早発型は母体からの垂直感染により肺炎や敗血症をきたし、現在でも予後不良となる例が少ないため、その対応は産婦人科、小児科にとって重要な問題となっている。米国 CDC では 1996 年以降 GBS を保菌している妊婦に対して抗菌薬を投与して、垂直感染を防止する試みが行われ、早発型 GBS 感染症が減少し、効果をあげている¹⁾。本邦では、感染防止のための対策は施設ごとに異なっていると思われるが、2008 年に日本産婦人科学会から診療ガイドラインが出され²⁾、今後の動向が注目されている。

今回、最近 10 年間に当院で診療した新生児・乳児の GBS 感染症をまとめ、さらにこれらの児から検出された GBS と、健常妊婦および新生児・乳児以外の臨床検体から分離された GBS について血清型と抗菌薬感受性を検討したので、報告する。

対象および方法

1998 年 1 月から 2007 年 12 月までに当院 NICU および小児科病棟に入院した 12 名の GBS 感染症の児について、診療録を調査した。GBS 感染症の定義は感染症を示唆する症状および臨床検査が認められ、血液または髄液から GBS が検出された例とした。症状があっても、胃液や胎脂から GBS が検出された例は除外した。早発型は出生後 7 日未満に発症した例、遅発型はそれ以降に発症した例とした。

これらの患者から分離された後、凍結乾燥して保存していた 12 株の GBS と 2007 年 5 月から 2008 年 2 月までに当院の臨床検体から検出された GBS について血清型と抗菌薬感受性を検討した。

さらに、2007 年 5 月から 2008 年 2 月までに GBS を保菌していた妊婦 28 名、新生児 11 名、小児 19 名、成人 30 名から検出された株についても血清型と抗菌薬感受性を測定した。分離された検体は妊婦がすべて膈分泌物、新生児は便 5 株、胎脂 4 株、胃液 1 株、気道 1 株、小児が便 10 株、尿 5 株、気道 3 株、胃液 1 株、成人が便 14 株、喀痰 6 株、尿 5 株、創傷部位 3 株、膈 1 株、皮膚 1 株であった。

別刷請求先: (〒078-8211) 旭川市 1 条通 24 丁目
旭川厚生病院小児科 坂田 宏

平成 20 年 11 月 20 日

Table 1 Group B *Streptococcus* (GBS) patient profiles

Year	Diagnosis	Initial symptom	Age (days)	Antenatal GBS screening	Sequelae	Serotype
1998	meningitis	fever	16	unknown	cerebral palsy, epilepsy	III
2002	sepsis	fever	16	negative	none	III
2002	meningitis	fever	131	negative	none	Ia
2003	meningitis	apnea	37	negative	none	III
2004	sepsis	hypoglycemia	0	positive	none	Ia
2005	meningitis	fever	6	negative	none	III
2006	sepsis	respiratory distress	0	positive#	mental retardation	II
2007	sepsis	shock	7	negative	cerebral palsy	Ib
2007	sepsis	fever	17	negative	none	III
2007	sepsis	irritability	42	positive#	none	Ib
2007	sepsis	fever	49	positive*	none	III
2007	sepsis	fever	103	negative	none	III

#: intrapartum intravenous antibiotic prophylaxis

*: prepartum oral antibiotic administration

抗菌薬感受性は ampicillin (ABPC), cefotaxime (CTX), ceftriaxone (CTRX), meropenem (MEPM), panipenem (PAPM), gentamicin (GM) について最小発育阻止濃度 (minimal inhibitory concentration, MIC) の測定を日本化学療法学会の微量液体希釈法に準じて行った³⁾。血清型の判定は GBS 型別用免疫血清 (デンカ生研) を用いて実施した。

有意差の検定は StatMateIII for Macintosh (アトムス) によりカイ二乗検定を行い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

成 績

Table 1 に 12 名の概要を示した。2006 年以降に 6 名が発症していた。全例生後 4 カ月未満の児で、生後 1 カ月未満の新生児が 7 名であった。診断は髄膜炎が 4 名、敗血症が 8 名、早発型は 3 名、遅発型 9 名であった。早発型では低血糖、呼吸障害、発熱と初発症状は異なっていたが、遅発型では発熱が 6 名で多かった。急激なショックで発症した児も認めた。早発型の 3 名のうち 2 名は院内出生であった。対象である 10 年間の当院の分娩数は 4,773 件、出生児 4,980 名であり、早発型の頻度は出生 1,000 人あたり 0.4 であった。予後は 3 名で神経学的後遺症を認めた。

母体の保菌状況は 11 名で調べられており、7 名は陰性、4 名は陽性であった。陽性のうち 1 名は抗菌薬投与なく出生、1 名は経口抗菌薬内服し、分娩直前の培養で陰性を確認、2 名は分娩中に抗菌薬を非経口投与して出生した。

感染経路として、出生直後に低出生体重や呼吸障害のため入院した後、皮膚・糞便・気道の検体で GBS が検出されていなかったにもかかわらず、遅発型感染症をきたした児が 3 名認められた。ただし、これらの児が入院している間の他の入院中の児で GBS 陽性者がいなかったことから、厳密な感染経路は不明である。今回の検討では母子ともに GBS が検出されたのは 1 組

だけであり、血清型はともに VI 型であり、母胎から児への移行が確認された。

血清型は GBS 感染症の児 12 名中、III 型が 7 名で最も多く、ついで Ia 型と Ib 型が 2 名ずつ、II 型が 1 名であった (Table 2)。薬剤感受性では MIC₉₀ の値でみると、PAPM と IPM が 0.015 μg/mL、MEPM が 0.03 μg/mL、CTX と CTRX が 0.06 μg/mL、ABPC が 0.12 μg/mL であった。GM は全て 16 μg/mL であった (Table 3)。

新生児から検出された GBS の血清型は敗血症・髄膜炎を発症した児と同様に III 型が多かった。妊婦の腔分泌物では VI 型と VIII 型、小児では Ia 型と V 型、成人では Ib 型、VI 型、VIII 型が多いというように、各群で優位な血清型が異なっていた。III 型の頻度については、GBS 感染症の児と妊婦および成人の間で有意差を認めた ($p < 0.05$)。抗菌薬感受性では、感染症群とほぼ同様であった。

考 案

新生児・乳幼児の GBS 感染症から分離された菌については、以前に当院および他院患者についてまとめた既報¹⁾があるが、8 株中 4 株が当院の症例であった。今回はその症例も含めた 12 例であるが、薬剤感受性試験は今回新たに実施した成績である。

新生児および乳児早期の GBS 感染症の頻度は、分娩時の抗菌薬の非経口投与を推奨している米国では、2004 年に出生 1,000 人あたり早発型が 0.34、遅発型が 0.38 としている³⁾。新生児の GBS 感染症の予防対策が提唱された 1996 年以前では、早発型は出生 1,000 人あたり 1.7 であった³⁾ので、著明に減少していたが、遅発型には効果は認められていない。本邦での頻度については松原ら⁶⁾が 2000 年から 2004 年までの 28 施設でのアンケート調査から早発型は 0.1 と推定しているのが唯一の報告である。この成績と著者の成績から考えると、現在の米国のレベル程度と推測される。

Table 2 Group B *Streptococcus* serotype

	Ia	Ib	II	III	V	VI	VII	VIII	other	total	p*
newborn or infant with GBS infection	2 (16.7)	2 (16.7)	1 (8.3)	7 (58.3)	0	0	0	0	0	12	—
newborn without GBS infection	2 (18.2)	1 (9.1)	1 (9.1)	3 (27.3)	2 (18.2)	2 (18.2)	0	0	0	11	0.2801
pregnant women (23 to 43 years)	4 (14.3)	4 (14.3)	2 (7.1)	3 (10.7)	3 (10.7)	5 (17.9)	0	5 (17.9)	2 (7.1)	28	0.0053
infants and children (3 months to 8 years)	5 (26.3)	3 (15.8)	2 (10.5)	3 (15.8)	4 (21.1)	1 (5.3)	0	1 (5.3)	0	19	0.0381
adults (19 to 93 years)	4 (13.3)	9 (30.0)	1 (3.3)	1 (3.3)	2 (6.7)	6 (20.0)	0	6 (20.0)	1 (3.3)	30	0.0002
total	17 (17.0)	19 (19.0)	7 (7.0)	17 (17.0)	11 (11.0)	14 (14.0)	0	12 (12.0)	3 (3.0)	100	

*: statistical analysis in serotype III frequency between group of newborn or infants with GBS infection and each group
(): percentage

Table 3 MIC90 of group B *Streptococcus*

	no of strains	MIC90 (µg/mL)						
		ampicillin	cefotaxime	ceftriaxone	imipenem	panipenem	meropenem	gentamicin
newborn or infants with GBS infection	12	0.12	0.06	0.06	0.015	0.015	0.03	16
newborn without GBS infection	11	0.12	0.06	0.06	0.015	0.015	0.03	32
pregnant women (23 to 43 years)	28	0.12	0.06	0.06	0.015	0.015	0.03	32
infants and children (3 months to 8 years)	19	0.12	0.06	0.06	0.015	0.015	0.03	32
adults (19 to 93 years)	30	0.12	0.06	0.06	0.015	0.015	0.03	32
total	100	0.12	0.06	0.06	0.015	0.015	0.03	32

本邦では2008年に日本産婦人科学会のガイドライン²⁾が公開された。その中で、1) 妊娠33~37週に膈周辺の培養検査を行う、2) 以下の妊婦には経膈分娩中、ペニシリン系薬静注による母子感染予防を行う、①前児がGBS感染症(今回のスクリーニングが陰性であっても)、②GBS陽性妊婦(破水/陣痛のない予定帝王切開中の予防は必要なし)、3)スクリーニングを行っている施設にあって、未検査あるいは検査結果が判明していない妊婦は原則としてGBS陽性妊婦として取り扱う。このガイドラインが普及して、GBSを保菌している妊婦を対象に分娩中に静注で抗菌薬を投与することで、早発型感染症が減少することが期待される。しかし、遅発型の頻度は変わらないことと、著者の症例に含まれていたようにガイドライン通りに抗菌薬を投与してもGBS感染症が発症する児がいることに注意が必要である。

本邦における新生児・乳児のGBS感染症について、保科ら⁷⁾が1998年から2003年までの症例を全国195施設のアンケート調査によりまとめている。この報告は458名を集計しているが、血液や髄液以外の無菌的ではない部位からGBSが検出されたような疑い例も含めている。敗血症が132名、肺炎131名、髄膜炎65名であり、この3疾患において早発型が75.6%を占めていた。血液・髄液から菌が検出された例に限ると、敗血症76名、髄膜炎65名となり、髄膜炎例の66%は遅発型、敗血症例の84%は早発型と明らかな差が認められた⁸⁾。血液・髄液から菌が検出された例に限った予後では、死亡および後遺症例は早発型の21%、遅

発型の30%を占めていた⁹⁾。著者の成績でも、死亡はなかったが後遺症を残した例が3名(25%)認め、いまだ発症すると予後が不良となる頻度が高い疾患である。

成人を含めたGBS感染症の調査を生方ら⁹⁾が行っているが、その成績では小児の血液・髄液から分離された28株の中で、15株がIII型で最も多く、次いでIa型、Ib型、II型であり、それ以外の型はなかった。早発型と遅発型で血清型の頻度が異なっているかについては著者の成績では早発型の3名は血清型が異なっていたが、全国の症例をまとめた保科らの成績では、早発型においてはIII型が38.4%と最も多く、ついでIa型が17.0%であった。遅発型ではIII型が77.6%を占めていた¹⁰⁾。一方、成人では123株の中で最も多いのがIb型、次いでV型で、小児とは様相が異なっていた。Darbarら¹¹⁾は侵襲性感染症の原因と判定されたGBSの血清型を検討し、小児ではIII型が半数以上を占め、成人ではIa型が最も多く、次いでIII型、V型となり、小児と成人ではIII型とV型の分布に有意差を認めたとしている。

本邦における妊婦から検出されたGBSの血清型では、2002年から2006年の大阪での成績¹²⁾で、最も多かったのがIb型で19.1%、次いでVI型18.4%、VIII型14.0%であった。この5年間の変動では、Ib型が増加、VI型とVIII型は減少傾向にあるとしている。札幌での2000年から2004年の成績¹³⁾ではVI型が最も多く、30.3%を占め、次いでVIII型で20.8%、III型14.6%となっており、原因が時間的な差によるの

か地域的な差によるのかは不明だが大阪の成績とは少し異なっていた。

これらの成績から、垂直感染でも妊婦で多い血清型と新生児で感染症をきたしやすい血清型が異なっていることが明らかになった。また、新生児や乳児早期におこるGBS感染症と成人のGBS感染症は菌の特性が異なっている可能性がある。

薬剤感受性試験では、新生児の髄膜炎・敗血症で推奨されている、ABPCとCTX, CTRXに耐性は認められなかったが、GMは耐性であった。しかし、carbapenem系であるPAPM, IPMはこれらの薬剤よりMICが低かった。生方らの成績⁹⁾でも、carbapenem系薬の感受性が優れていた。Carbapenem系薬は、新生児領域での使用が認可されていない。しかし、新生児で重大な副作用が発生したことによるものではなく、使用経験が乏しいことによる。現在のGBS感染症に主に用いられるABPC, CTXで治療していても、予後不良が少なくないことから、GBS感染症では抗菌力が優れたcarbapenem系薬の使用を考慮すべきである。

本研究は厚生労働省の新興・再興感染症研究事業である「新規に発生しているレンサ球菌による劇症型感染症の臨床的・細菌学的解析と診断・治療に関する研究(H19—新興—一般—002:研究代表者砂川慶介)の分担研究として行われた。

文 献

- 1) Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, Schuchat A: Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC. *MMWR Recomm Rep* 2002; 51 (RR-11): 1—22.
- 2) 日本産科婦人科学会・日本産婦人科医会: 産婦人科診療ガイドライン—産科編2008. 日本産科婦人科学会事務局, 東京, 2008.
- 3) 日本化学療法学会抗菌薬感受性測定法検討委員会: 微量液体希釈によるMIC測定法(微量液体希釈法)—日本化学療法学会標準法—. *Chemotherapy* 1990; 38: 102—5.
- 4) 坂田 宏, 小久保雅代, 白井 勝, 梶野真弓, 高瀬雅史, 岡本年男, 他: 敗血症・髄膜炎の乳児から分離された大腸菌とB群溶血連鎖球菌の薬剤感受性. *日児誌* 2005; 109: 22—5.
- 5) Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Early-onset and late-onset neonatal group B streptococcal disease. -United States, 1996-2204. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2005; 54: 1205—8.
- 6) 松原康策, 金岡裕夫, 奥村光洋, 黒須英雄, 前田真治, 濱口賢子, 他: 2000年~2004年の早発型・遅発型B群溶連菌感染症頻度の推定—未熟児新生児医療研究会調査から—. *新生児誌* 2007; 43: 701—5.
- 7) 保科 清, 鈴木葉子, 仁志田博司, 門井伸暁: 最近6年間のB群レンサ球菌(GBS)感染症についてのアンケート調査結果. *新生児誌* 2006; 42: 7—11.
- 8) 保科 清: B群溶連菌(GBS)感染症. *新生児誌* 2007; 43: 817—21.
- 9) 生方公子: 新規に発生しているレンサ球菌による劇症型感染症の臨床的・細菌学的解析と診断・治療法に関する研究. 平成19年度全国疫学研究のまとめ. 北里大学北里生命科学研究所, 東京, 2008.
- 10) Hoshina K, Suzuki Y, Nishida H, Kaneko K, Matsuda S, Kobayashi M, *et al.*: Trend of neonatal group B streptococcal infection during the last 15 years. *Pediatr Int* 2002; 44: 641—6.
- 11) Darbar AA, Gilbert GL: Phenotypical and genotypical characteristics of invasive group B Streptococcus isolates in Western Sydney 2000-2005. *Pathology* 2007; 39: 589—93.
- 12) 藤原 太, 稲岡千佳子, 片山 徹, 宮道 徹, 中山雅弘: 妊婦のStreptococcus agalactiae (B群溶血連鎖球菌GBS) 保菌と血清型動向. 大阪府立母子保健総合医療センター雑誌 2007; 23: 34—6.
- 13) 滝沢慶彦, オリベラ恵, 関亜希子, 菅野のぞみ, 与田京子, 仁科明美, 他: 一総合病院におけるB群レンサ球菌. *市立札幌病院誌* 2005; 65: 63—8.

Clinical Study of Group B Streptococcal Infection in Children

Hiroshi SAKATA

Department of Pediatrics, Asahikawa Kosei Hospital

We evaluated 12 children infected with group B *Streptococcus* (GBS) at Asahikawa Kosei Hospital, in Japan between 1998 and 2007. The diagnosis was bacteremia in 8 and meningitis in 4. Infection occurred before day 7 in 3 patients, between days 7 and 28 in 4, and between days 29 and 131 in 5. The incidence of early onset GBS infection was 0.4 cases/1,000 live births. Four of 11 mothers were found to have GBS in antenatal culture screening. Although 2 underwent intrapartum antibiotic prophylaxis, infants suffered GBS infection. No patients with GBS infection died, but sequelae seen in 3 patients involved epilepsy and developmental delay of varying severity. The most frequent serotypes were III in 7 patients, followed by Ia in 2, Ib in 2, and II in 1. The MIC₉₀ was 0.015 μ g/mL in panipenem and imipenem, 0.03 μ g/mL in meropenem, 0.06 μ g/mL in cefotaxime and ceftriaxone, and 0.12 μ g/mL in ampicillin.

Serotypes and MICs were measured in 28 strains from pregnant women, 11 from newborns, 19 from children, and 30 from adults between May 2007 and December 2008. The frequency of serotype III in patients with GBS infection was significantly more than that in pregnant women or adults ($p < 0.05$). The MIC₉₀ in these strains was the same as those of patients with GBS infection.

溶連菌感染症を反復した児から検出された A 群溶血連鎖球菌における *emm* 型別と PFGE パターン解析

旭川厚生病院小児科
坂 田 宏

(平成 21 年 4 月 10 日受付)

(平成 21 年 8 月 18 日受理)

Key words: group A *streptococcus*, recurrent infection, carrier, streptococcal infection, *Emm* type

要 旨

2006 年 6 月から 2008 年 12 月までに、A 群溶血連鎖球菌 (GAS) 感染症が疑われ、咽頭培養から GAS が検出されることを 2 回以上認めた例を GAS 反復感染例とし、それらの児から得られた GAS について T 血清型と *emm* 遺伝子型別、PFGE 解析を実施して、その相同性を検討した。21 名の小児で、43 回の GAS 感染症を確認した。2 回感染が 20 名、3 回感染が 1 名であった。3 回感染の 1 名では 2 回目と 3 回目も比較したが、菌の *emm* 型および PFGE パターンが一致した例は 11 名、一致しなかった例も 11 名であった。初回と 2 回目 (1 名は 2 回目と 3 回目) の感染の期間は一致例が 29.1 ± 17.1 日、不一致例が 215.2 ± 187.8 日で有意差を認めた ($p = 0.0013$)。初回感染後 8 週以内の再発例 12 名中一致例は 10 例であり、8 週以降では 10 名中 1 名であり、有意差を認めた ($p = 0.0028$)。

[感染症誌 83: 647~651, 2009]

はじめに

A 群溶血連鎖球菌 (Group A *Streptococcus*, GAS) による咽頭炎・扁桃炎は小児科では日常的に診療する機会が多い疾患である。しかし、GAS 感染後に非化膿性合併症であるリウマチ熱や糸球体腎炎が発症することもあり、その対応には注意が必要とされている。

GAS 感染症を反復する児は少なくないが、医師によって対応が異なるのが現状である。今回、著者は GAS 感染症を反復した児から検出された GAS について T 血清型、*emm* 遺伝子解析による型別および pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) を実施して、分離菌が同一であったか否かを検討したので報告する。

対象および方法

1. 対象

2006 年 6 月から 2008 年 12 月までに、旭川厚生病院小児科、カケハシ小児科医院、丘のうえこどもクリニックを受診し、発熱・咽頭痛の症状と咽頭の所見から、GAS 感染症が疑われ、咽頭培養から GAS が検出された例を GAS 感染例とした。対象期間中に、同様

の所見が得られた児を GAS 反復感染例とした。無症状で検出された例は、抗菌薬による除菌失敗例、あるいは保菌者として除外した。

2. T 型別および *emm* 型別

GAS 感染反復例から得られた GAS について T 血清型別と *emm* 遺伝子解析による型別を実施した。T 血清型別は A 群溶血レンサ球菌 T 型別用免疫血清「生研」(デンカ生研)を用いて測定した。*emm* 型別は Beall ら¹⁾の方法に準じ、M 蛋白をコードする遺伝子を PCR で増幅し、その増幅産物の 5'末端側の塩基配列を決定した後、300bp の配列を CDC レファレンスセンターへ送信し、CDC のデータベースとのマッチングにより型別した。

3. PFGE 解析

PFGE 解析は 37°C で一夜培養した被験液の 1mL 遠心後、その沈渣を PettIV solution (1M NaCl, 10mM EDTA (pH8.0)) に懸濁した後、等量の 2% 低融点アガロスを加え混和し、ただちにプラグモールドに注入して寒天を固化させサンプルプラグを作成した。サンプルプラグはマイクロチューブに移し、achromopeptidase (4mg/mL) および lysozyme (1mg/mL) 添加 lysis solution [1M NaCl, 0.1M EDTA (pH8.0),

別刷請求先: (〒078-8211) 旭川市 1 条通 24 丁目

旭川厚生病院小児科

坂田 宏

平成 21 年 11 月 20 日

Table 1 Properties of isolates from children with recurrent Group A streptococcal infection

not-coincident								coincident							
Case No	Gender	Age (years)	Duration between 1st and 2nd episodes (days)	T type in 1st episode	T type in 2nd episode	Emm type in 1st episode	Emm type in 2nd episode	Case No	Gender	Age (years)	Duration between 1st and 2nd episodes (days)	T type in 1st episode	T type in 2nd episode	Emm type in 1st episode	Emm type in 2nd episode
1	F	8	185	12	6	12	6	3	F	6	58	12	12	12	12
2	M	6	221	4	1	4	1	4	M	6	29	28	28	28	28
5	M	4	212	12	B3264	12	89	6	M	7	31	12	12	12	12
7	M	11	79	12	28	12	28	8	M	9	41	12	12	12	12
10	M	7	19	no typable	1	102	1	9	M	6	47	1	1	1	1
11	M	6	32	1	28	1	28	12	F	5	46	1	1	1	1
13	M	6	451	B3264	1	89	1	16*	M	5	16	4	4	4	4
14	F	5	500	4	28	4	28	17	M	6	22	12	12	12	12
15	M	4	510	1	4	1	4	20	F	8	14	25	25	75	75
18	M	7	66	3	11	3	11	21	F	7	9	B3264	B3264	89	89
19	M	9	92	28	1	77	1	22	M	10	7	25	25	75	75
Average		6.6 ± 2.1	215.2 ± 187.8#					Average		6.8 ± 1.6	29.1 ± 17.1				

*: same case with No 15 (2nd and 3rd episodes)

#: p = 0.013

10mM Tris-HCl, 0.5% Brij58, 0.2% sodium deoxycholate, 0.5% sodium N-dodecanoyl-sarcosinate] 中にて 35°C で一晩反応させた。マイクロチューブから lysis solution を除去し、次いで proteinase K (1mg/mL) 添加 ES solution [0.25M EDTA (pH8.0), 1% sodium N-dodecanoyl-sarcosinate] を加え、50°C で一晩反応させた。マイクロチューブから ES solution を除去し、phenylmethyl sulphonyl fluoride 添加 TE [10mM Tris-HCl, 1mM EDTA (pH8.0)] を加え、室温で約 3 時間反応させた後、サンプルプラグを TE で洗浄した。制限酵素処理を行ったサンプルは CHEF-DRIII (Bio-Rad) を用いて、PFGE を行った。電気泳動後のアガロースゲルはゲルスター (タカラバイオ) を用いて染色した後、トランスイルミネーターを用いて写真撮影を行った。症例番号 1~19 のサンプルは制限酵素 *Sma*I を用いて 30°C で 8 時間処理を行い、initial time 3.0, final time 60.0 agarose 濃度 1.0%、電圧 6V/cm の条件下で 18 時間電気泳動を行った。症例番号 20 から 22 は上記の方法では、鮮明な DNA パターンが得られなかったため、制限酵素 *Sfi* I を用いて 50°C、8 時間処理を行い、initial time 20.0, final time 70.0, agarose 濃度 1.0%、電圧 6V/cm の条件下で 22 時間電気泳動を行った。

4. 有意差検定

有意差検定は StatMateIII for Macintosh (アトムス) により Mann-Whitney 検定、またはカイ二乗検定を行い、p < 0.05 を有意差ありとした。

成 績

1. 21 症例から分離された GAS 株の T 型別と emm 型別からみた同一性

対象期間中に、小児 21 名における合計 43 回の GAS 感染症を確認した。Table 1 には症例の年齢、性別、初回感染 (初回エピソード) と 2 回目感染 (2 回目エピソード) との期間、T 型別と emm 型別との成績を示した。3 回の感染エピソードがみられた症例については、初回と 2 回目、2 回目と 3 回目の成績をそれぞれ示した。

2 回の感染エピソード例が 20 名、3 回の感染がみられた例が 1 名認められた。このうち、T 型別および emm 型別が 2 回のエピソードとも一致していた症例は 11 例、不一致であった症例は 11 例であった。Emm 型が一致していた症例の内訳は、emm12 型が 4 例、emm1 型と emm75 型がそれぞれ 2 例、その他に emm4 型、emm28 型、および emm89 型が各 1 例ずつであった。

2. 21 症例から分離された GAS 株の PFGE パターン解析

Fig. 1 には症例番号 1~19 より分離された GAS 株を *Sma*I 酵素で処理したサンプルの PFGE による DNA パターン、Fig. 2 には症例番号 20~22 より分離された GAS 株を *Sfi* I 酵素で処理したサンプルの同様の成績を示す。それぞれのサンプルは初回エピソードと 2 回目エピソードの菌はペアで泳動されている。

2 回のエピソードから菌が分離され、emm 型が一致

Fig. 1 PFGE patterns of Group A *Streptococcus* strains isolated from children (Cases 1 to 19) with recurrent infection at initial (left) and recurrent (right) visit. M: marker

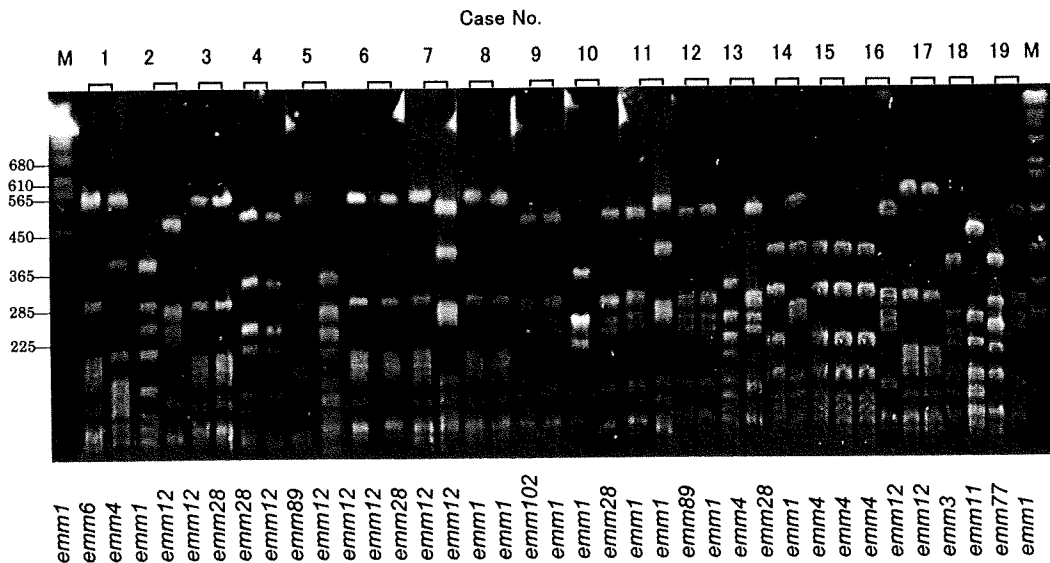
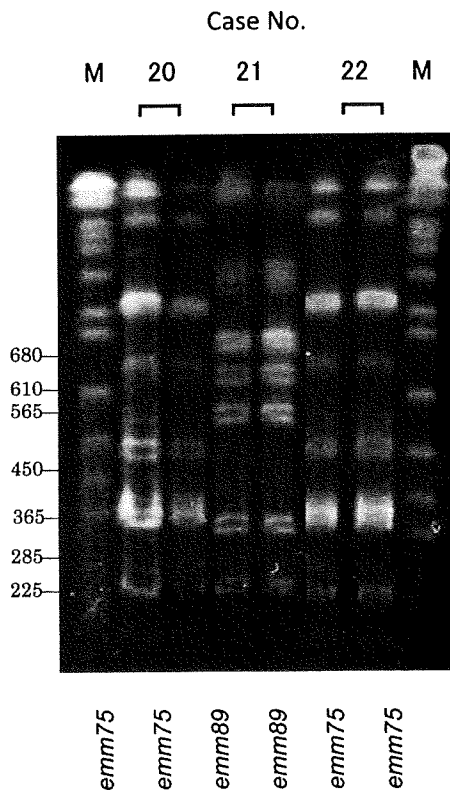


Fig. 2 PFGE patterns of Group A *Streptococcus* strains isolated from children (Cases 20, 21 and 22) with recurrent infection at initial (left) and recurrent (right) visit. M: marker



していた症例サンプルのDNAパターンは明らかに同一で11例認められた。これに対し、*emm*型が不一致であった症例では、DNAパターンも明らかに異なっており、11例が認められた。

なお、異なった症例間においても、同一の*emm*型を示すGAS株が分離されていた際のDNAパターンは、ほぼ同一と思われるパターンを示していた。一致例の平均年齢は 6.8 ± 1.6 歳、不一致例は 6.6 ± 2.1 歳で有意差を認めなかった。

3. エピソード間隔と菌の*emm*型およびPFGEパターンの関連

初回発症のエピソードと2回目エピソードに分離された菌の*emm*型あるいはPFGEの成績が同一であった場合は「同一菌株による再燃、あるいは一度消失した菌もよる再感染（菌株一致例）」、それらが異なっていた場合には「異なった菌株による新たな感染（再感染：菌株不一致例）」とみなし、それぞれの症例におけるエピソード間隔（期間）とそれらの関係を比較した。

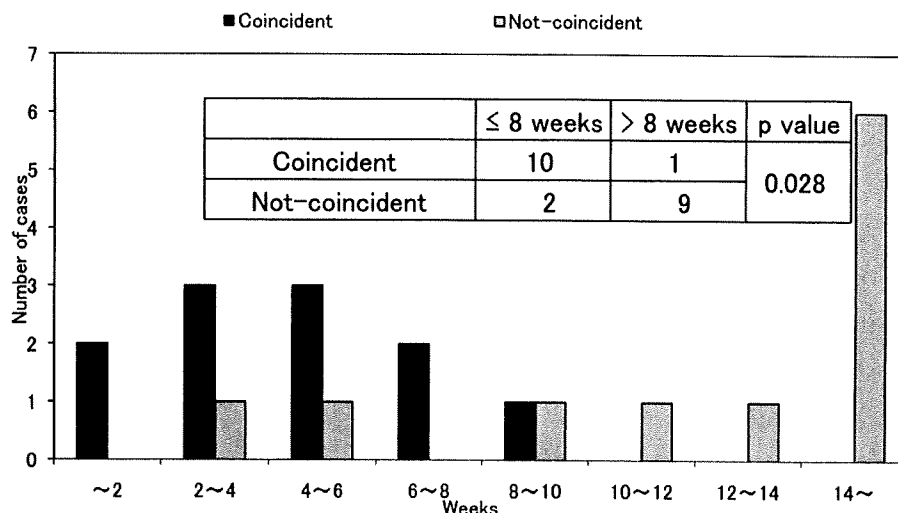
Fig. 3にはそれらの成績を示したが、初回8週以内に再び発症した例では、12症例中10例が一致例であった。これに対し、8週以降に再び発症した例では一致例は10症例中1例のみであり、両者間には有意な差が認められた ($p=0.0028$)。

なお、初回エピソードと2回目エピソードとの間隔期間を日数換算すると、一致例の平均は 29.1 ± 17.1 日、不一致例の平均は 215.2 ± 187.8 日となり、明らかな有意差を認めた ($p=0.013$)。

考 案

GAS感染症を反復する場合、抗菌薬投与によっても除菌されなかった株が感染を起こす再燃と新たに獲得した株が感染を起こす再感染に分けられる。それに加えて、保菌しているだけの例が、なんらかの感染症に罹患して、咽頭の検査が行われて、GASが検出されるという、みかけ上のGAS感染症がある。これら

Fig. 3 Relationship between duration of recurrent Group A streptococcal infection and strain properties



を厳密に識別することは困難であるが、それぞれの株の性状が異なれば再感染である。同一の場合では再燃と考えられるが、GAS感染症が流行している集団に属していると、同一の株を再獲得することもあるので、厳密に再燃と再感染とを分けることはできない。

GAS感染症に有効な抗菌薬を投与しても、GASが除菌できない例は、すくなく認められる。理由として、コンプライアンスが大きな問題として考えられるが、それ以外に咽頭の常在菌叢を構成する菌が産生するβ-lactamaseがペニシリン薬を分解する²⁾、抗菌薬によって咽頭の常在菌叢が変動し、病原菌を抑制する機能を低下している³⁾、抗菌薬投与によって菌の増殖は抑制されるが、殺菌しえないため抗菌薬が中止されると再び増殖を始める tolerance 現象による⁴⁾、集団から菌を獲得する ping-pong 感染をおこす⁵⁾、菌が細胞内に侵入する⁶⁾、感染ではなく保菌状態であるため抗菌薬の効果が低い⁷⁾、などがあげられている。しかし、その機序はいまだに明らかになっていない。

Martinら⁸⁾は4年間を観察期間として、学童の咽頭からのGASの検出状況を検討した。1年間に48~100名の小児に10月から5月まで月に2回の定期的な咽頭スワブの採取を行い、それに加えて、上気道炎症状を呈した時にも検体を採取し、計5,658の検体について培養検査を行った。検出されたGASはPFGEとemm型別で同一性を検討した。保菌者ではなく、GAS感染症として抗菌薬治療を受けたのはのべ209名であった。全体のうちの878(15.5%)検体からGASが検出され、13のemm型に識別された。1年ごとに評価していた成績であるが、4年間でGAS非検出者38~46%、保菌者27~32%、1回感染者18~21%、反復感染者6~14%とほぼ一定していた。また、保菌者

でも菌は常に同じemm型ではなく、同一のemm型の菌を平均10.8週検出し、その後異なったemm型を獲得していた。反復感染した30例では同じemm型が15例、違ったemm型が15例と同数であった。

Gerberら⁹⁾は113名のGAS感染症のうち44名が6カ月以内に反復し、その多くは治療終了4日から2カ月であった。そして、同じ血清型は15名、異なったのが29名で、異なった株が多かった。著者の成績では8週を境にして、菌株の性状が異なり、再獲得したと思われる例が多かった。Martinら⁸⁾、Gerberら⁹⁾と著者の成績から、GAS感染症を反復する例であっても、常に同一の株が反復して感染をきたしているのではなく、8~12週で再獲得したGASによる炎症症状が起こっていると考えられた。GAS感染症後8週間以内に、GAS感染症を発症した場合には、同一性状の株が原因である可能性が高いと思われる。

したがって、8週以内にGAS感染症が発症した場合には、感染した株がなんらかの理由から投与した抗菌薬の効果が充分ではなく残存したと考えられるので、同様の治療では有効性が低いと思われるため、異なる薬剤または投与期間で治療すべきと思われる。それとは対照的に8週以降の発症では再獲得されたGASによる可能性が大きいため、1回目のエピソード時と同様な治療方法を選択しても問題ないと考えられる。

謝辞

emm型別を行っていただいた、北里大学北里生命科学研究所病原微生物分子疫学研究室生方公子先生と研究室の皆さまに深謝いたします。

GAS患者の診療とGASの収集に御協力をいただきました。カケハシ小児科医院院長 梯 仁志先生、丘の

うえこどもクリニック院長坂田葉子先生、旭川厚生病院小児科沖潤一先生、白井勝先生、高瀬雅史先生、梶野真弓先生、土田悦司先生、五十嵐加弥乃先生、新宅茂樹先生、石羽澤映美先生に感謝いたします。

本研究は厚生労働省の新興・再興感染症研究事業である「新規に発生しているレンサ球菌による劇症型感染症の臨床的・細菌学的解析と診断・治療に関する研究 (H19-新興—一般-002: 研究代表者 砂川慶介) の分担研究として行われた。

文 献

- 1) Beall B, Facklam R, Thompson T : Sequencing *emm*-specific PCR products for routine and accurate typing of group A streptococci. J Clin Microbiol 1996 ; 34 : 953—8.
- 2) Brook I : The role of beta-lactamase-producing bacteria in the persistence of streptococcal tonsillar infection. Rev Infect Dis 1984 ; 6 : 601—7.
- 3) Sanders CC, Nelson GE, Sanders WE Jr : Bacterial interference IV. Epidemiological determinants of the antagonistic activity of the normal throat flora against group A streptococci. Infect Immun 1977 ; 16 : 599—603.
- 4) van Asselt GJ, Mouton RP, van Boven CP : Penicillin tolerance and treatment failure in group A streptococcal pharyngotonsillitis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996 ; 15 : 107—15.
- 5) Falck G, Holm SE, Kjellander J, Norgren M, Schwan A : The role of household contacts in the transmission of group A streptococci. Scand J Infect Dis 1997 ; 29 : 239—44.
- 6) Osterlund A, Popa R, Nikkilä T, Scheynius A, Engstrand L : Intracellular reservoir of *Streptococcus pyogenes in vivo*: a possible explanation for recurrent pharyngotonsillitis. Laryngoscope 1997 ; 107 : 640—7.
- 7) Kaplan EL, Gastanaduy AS, Huwe BB : The role of the carrier in treatment failures after antibiotic for group A streptococci in the upper respiratory tract. J Lab Clin Med 1981 ; 98 : 326—35.
- 8) Martin JM, Green M, Barbadora KA, Wald ER : Group A streptococci among school-aged children: clinical characteristics and the carrier state. Pediatrics 2004 ; 114 : 1212—9.
- 9) Gerber MA, Randolph MF, DeMeo KK, Kaplan EL : Lack of impact of early antibiotic therapy for streptococcal pharyngitis on recurrence rates. J Pediatr 1990 ; 117 : 853—8.

A Study of Group A *Streptococcus* Strains Isolated from Children with Recurrent Group A Streptococcal Infection

Hiroshi SAKATA

Department of Pediatrics, Asahikawa Kosei Hospital

Recurrent Group A *Streptococcus* (GAS) infection was defined as a case in which GAS infection was suspected during June 2006~December 2008 and GAS was detected more than 2 times by throat culture. T serotype and *emm* genotype were investigated for GAS bacteria isolated from children with recurrent GAS infection. Bacteria gene homology was studied using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). Of the 43 cases of GAS infection in 21 children used as subjects, 20 had GAS infection 2 times and one 3 times. A comparison of the first and second infection in subjects (and the second and third for the child with 3), bacteria isolated from 11 cases had coincident properties and those from the remaining 11 not-coincident. The mean period of first and second infections (second and third for the child with 3) was 29.1 ± 17.1 days for the coincident group and 215.2 ± 187.8 days for the not-coincident group. A significant group difference in period was seen ($p = 0.0013$). Ten of 12 children with recurrent GAS infection within 8 weeks of the first infection and one of 10 who had it more than 8 weeks after that were included in the coincident group, indicating a significant difference ($p = 0.0028$).

近年の小児の溶連菌感染後急性糸球体腎炎の実態調査

旭川厚生病院小児科

坂田 宏

要 旨

2005年から2007年の3年間の北海道道北・道東地域における15歳未満の小児の溶連菌感染後急性糸球体腎炎(PSAGN)の発症頻度について、小児科を標榜する施設にアンケート調査を行った。PSAGNの定義は1)肉眼的血尿や浮腫などの明らかな臨床症状があること、2)一過性の低補体価血症が認められていること、3)溶連菌感染がASOの有意な変動や培養成績で確認されていることの3点すべてを認めた例とした。14の小児の入院施設がある施設すべてと24の小児科診療所のうちの12か所から16名の児が集積された。患者の年齢は4歳から13歳までで、平均年齢は6.9歳であった。小児の人口10万人あたりの1年間の発症率は4.0であった。16名のうち10名に先行感染が認められ、診断は上気道炎が8名、肺炎が1名、溶連菌感染症が1名であった。また、8名で何らかの抗菌薬投与がされていたが、3名は溶連菌に有効な抗菌薬を5日間以上内服していた。16名はすべて8週間以内に回復した。さらに、同じ対象期間に当院小児科における溶連菌感染後の尿検査の異常の頻度を検討した。溶連菌感染症と診断したのべ270名のうち、尿検査のために再診した児はのべ211名で、その中で顕微鏡的血尿や無症候性蛋白尿を認めたのは5名(2.4%)であった。いずれも全身状態良好で、1～2週間後に尿の異常所見は消失した。

キーワード：急性糸球体腎炎、A群溶連菌感染症、合併症、尿検査

はじめに

A群溶連菌(group A streptococcus, GAS)感染症の非化膿性合併症にリウマチ熱と溶連菌感染後急性糸球体腎炎(post-streptococcal acute glomerulonephritis, PSAGN)がある。最近、先進国ではリウマチ熱は激減しており、PSAGNも減少傾向にあるとされている。従来、GAS感染症の際には、10日間のペニシリン系薬での予防投与と尿検査がルーチン的に行われてきた。しかし、GAS感染症後の非化膿性合併症が減少している中で、最近の本邦における小児のPSAGNの発症頻度に関する報告はないので、PSAGNの発症頻度や具体的な所見の動向を検討する必要がある。今回、著者はPSAGNの実態を調査するために、北海道道北・道東地域の小児科施設にアンケート調査を行ったので、その成績を報告する。

対象と方法

2005年から2007年までに発症したPSAGNの患者について、北海道道北・道東地域の小児科施設にアンケートを依頼した。アンケートの質問項目は発症年、年齢、性別、発症1か月前の先行感染の有無、抗菌薬

投与の有無、発見の契機などである。患者の年齢は発症率算定の基となる国勢調査における小児人口が15歳未満となっているため、15歳未満までの児とした。

対象地域と2005年の国勢調査による人口を図1に示した。面積は北海道のほぼ3分の1、人口は約5分の1に相当する地域である。この地域に、小児科医が常勤していて、小児の入院が可能な施設は14、常勤小児科医による外来のみが行われている施設は24施設があり、その中の入院施設のすべてと外来施設12施設から回答を得た。PSAGNの定義は、1)肉眼的血尿や浮腫などの明らかな臨床症状があること、2)一過性の低補体価血症が認められていること、3)GAS感染がASOの有意な変動や培養成績で確認されていることの3点すべてを認めた例とした。PSAGN発症率は3年間の患者数から1年間における人口10万人あたりの比率を算定した。

また、上記の定義に該当しない微小な尿の異常の頻度を検討するために、同じ期間に旭川厚生病院小児科で診療したGAS感染症の児270名に抗菌薬を5～10日間投与したうえで、発症後1～2週間目に尿の一般検査を行った。

成 績

3年間でPSAGNの小児は16名が報告された。患者の概要を表1に示した。患者の年齢範囲は4歳から13

(平成20年12月19日受付)(平成21年6月17日受理)

別刷請求先：(〒078-8211) 旭川市1条通24丁目

旭川厚生病院小児科 坂田 宏

表1 溶連菌感染後急性糸球体腎炎の患者の概要

	年齢	性別	受診時症状	抗菌薬投与歴	先行感染症	高血圧
1	4	女	乏尿・浮腫・血尿	無	無	有
2	4	男	乏尿・血尿	AMPC 10日間	溶連菌感染症	有
3	5	男	浮腫・血尿	CFTM-PI 7日間	上気道炎	無
4	5	男	血尿	無	無	無
5	6	男	血尿(学校検尿)	無	無	無
6	6	女	乏尿・浮腫・血尿	無	無	有
7	6	男	乏尿・血尿	AZM 4日間	肺炎	有
8	6	女	浮腫	CDTR-PI 4日間	上気道炎	無
9	6	女	血尿	CAM 3日間	上気道炎	無
10	8	男	浮腫・血尿	薬名不明数日間	上気道炎	無
11	8	男	嘔吐	無	上気道炎	無
12	8	男	浮腫・血尿	CDTR-PI 5日間	上気道炎	無
13	8	男	乏尿・浮腫	無	無	有
14	8	女	乏尿・血尿	薬名不明数日間	上気道炎	有
15	9	女	乏尿・血尿	無	無	有
16	13	男	乏尿・浮腫	無	上気道炎	無

表2 溶連菌感染後急性糸球体腎炎の発症頻度

	15歳未満の 小児人口	対象期間中の 患者数	小児10万人あたりの 年間発症率
上川	67,596	9	4.4
網走	42,298	4	3.2
北空知	4,904	2	13.6
宗谷	9,755	1	3.4
留萌	7,319	0	0.0
計	131,872	16	4.0

設での患者数が少ない理由は、補体価の低値が確認できない軽度の検尿所見の異常は除外したので、ほとんどの患者は入院施設に紹介されているためと思われる。また、小児科がない施設に、小児の急性腎炎が入院する可能性を否定できないが、この地域でのこれまでの慣習からは考えにくい。したがって、今回の成績は最近のPSAGNの発症頻度や臨床所見を正確に反映していると考えられる。

1980年から2000年までの11の疫学的報告から、CarapetisがPSAGNの頻度を先進国で人口10万人あたり6.6、発展途上国では24.3と推定し、リウマチ熱とともに減少傾向にあることを報告¹⁾している。本邦での成績としては、1975年から2005年までの31年間を追跡した武田らの報告²⁾では、小さなピークは認められるがPSAGNの患者数は著しく減少していた。松山³⁾も30年間で同様にPSAGNの発症が減少していることを報

告している。門脇らはPSAGNの発症頻度について北海道内の小児の入院施設にアンケート調査を行い、1980年には12であったが、1982年から激減し、1987年には2であったと報告⁴⁾している。今回の成績とは地域範囲やアンケート回収率に差があり、単純な比較は困難であるが、PSAGNの発症頻度は、2~5程度と推測される。この値はCarapetis¹⁾による先進国での発症頻度からも妥当と思われた。

リウマチ熱と異なって、抗菌薬がPSAGNの発症を予防できることを明らかにした報告はない。しかし、武田ら²⁾はPSAGNの症例は先行感染時に抗菌薬を投与していないか2~3日程度の不十分な投与期間の児であったとして、抗菌薬を十分な期間投与を行うことでPSAGNの予防の可能性があるとしている。著者らの成績では、GAS感染症と診断されていた小児は10日間のAMPCを内服したが、PSAGNを発症した。8

名は、発熱や咳などを主訴に医療機関を受診し、GAS 検査は行われていないので、GAS 感染症であったかは不明であるが、7名が抗菌薬の投与を受けていた。先行感染といっても発熱や咽頭痛などの GAS 感染を疑うほどの所見がなかった例は半数を占めていた。セフェム系薬を5日間以上投与された2名は、セフェム系短期間投与の有効性³⁾から考えると、GAS 感染症であっても有効な治療が行われたと考えられる。つまり、先行感染が認められた10名中3名(30%)は内服も確実にしており、GAS 感染症に有効な抗菌薬投与がされていて発症しており、抗菌薬投与後も PSAGN の発症には注意が必要と思われた。また、16名中6名(37.5%)は先行感染と思われる所見は全くなかったことから、PSAGN の発症を抑制することの難しさを感じさせた。

16名中14名は、肉眼的血尿や浮腫で発見された。1名は嘔吐で受診した際に血尿が認められた。1名は学校検尿で血尿を指摘されて、医療機関を受診して PSAGN であることが判明した。統計をとっているわけではないが、今回の対象地域では当院を含めて GAS 感染症後には検尿を行っている施設がほとんどと思われるが、GAS 感染症後の経過観察で行われる検尿の異常で発見された児は認めなかった。GAS 感染後に微小な尿所見の異常が低補体価を認める頻度について、Sagel ら⁶⁾は248名の GAS 感染症の小児を6週間にわたって1週間ごとに追跡した結果、54名(21.8%)で軽度な尿の異常を認め、1名(0.4%)で浮腫を認めたとしている。当院での成績では2.4%であり、Sagel らの報告⁶⁾とは追跡した期間や観察方法が異なるため単純な比較はできないが、大きく異なっていた。

辻ら⁷⁾が、GAS 感染症後の検尿の必要性について小児科医52名にアンケート調査を行ったところ、GAS 感染症後に検尿を1回行うという回答は92.3%に達していたが、検尿を施行する時期は1週間以内5.8%、2週間以内44.2%、3週間以内26.9%、4週間以内21.2%、4週間以上1.9%と分かれていた。

検尿の必要性を肯定する大きな理由の一つとして PSAGN は予後良好な疾患ではあるが、中には腎不全⁸⁾や緊急透析⁹⁾を要するような重症例もあるので、その発見が可能になることである。さらに、重症例でなくても早期発見をすることで適切な対応が行えると思われる。一方、否定的な意見では多くの小児が無症状にもかかわらず、受診のため休学・休園を余儀なくされ、さらに保護者も仕事を休まなければならないという社会的な問題がある。加えて、受診することで病院感染をうける危険性がある。このようなことも近年では重要な問題である。

著者は PSAGN の患者数は減少しているが、軽症化

していない²⁾と考えられている以上、GAS 感染症後も経過をみることは妥当と考えている。しかし、GAS 感染症の児の多くは当院での検討症例のように合併症を発症せずに経過することも事実である。PSAGN やリウマチ熱が多かった時期に確立された治療や管理方法を、合併症が減少した現在でも適切かどうかを見直す必要性は感じる。通常の PSAGN の頻度だけでなく、腎不全をきたすような重症例の頻度を明らかにして、その上で GAS 感染後1~2週間してからの1回の検尿で、初期の PSAGN を発見することが可能か、早期発見をすれば重症化を防ぐことができるかといった検討も必要と思われる。

著者らが対象とした地域や人口は全国から見ると小規模ながら最近の PSAGN の状況を把握する上で有用と思われる成績を示した。今後、他の地域からあるいは全国的な大規模な調査が行われて、GAS 感染症後の適切な治療や管理方法が作成されることを期待する。

謝辞 本研究は以下の方々のご協力に基づくものであり、ここに深く感謝します(順不同敬称略)。古谷野伸、井関憲一、小西貴幸、中嶋雅秀、小林一郎、室野晃一、平野至規、吉河道人、石岡 透、立花幸見、竹田津原野、大崎雅也、関 公平、角谷不二雄、藤保洋明、須貝理香、飛世千恵、草野 孝、林 朋子、土田 晃、梯 仁志、小倉克彦、金 竜一、長野奈緒子、坂田葉子、佐々木一弘、高木 朗、高橋幸枝、杉森真由美、沖 潤一、白井 勝、高瀬雅史、梶野真弓、小久保雅代

文 献

- 1) Carapetis JR, Steer AC, Mulholland EK, et al. The global burden of group A streptococcal diseases. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 685-694.
- 2) 武田修明, 桑門克治, 藤原充弘, 他. 溶連菌感染後急性糸球体腎炎の最近の動向と発症予防の可能性. *小児科臨床* 2007; 60: 1003-1008.
- 3) 松山壯一郎. 溶連菌感染後急性糸球体腎炎の臨床的観察. *小児科臨床* 2002; 55: 933-939.
- 4) 門脇純一, 星井桜子, 五十嵐千春, 他. 溶連菌感染後糸球体腎炎と特発性ネフローゼ症候群の北海道における年次推移. *小児科診療* 1991; 54: 1537-1541.
- 5) Casey JR, Pichichero ME. Meta-analysis of short course antibiotic treatment for group A streptococcal tonsillopharyngitis. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24: 909-917.
- 6) Sagel I, Treser G, Ty A, et al. Occurrence and nature of glomerular lesions after group A streptococci infections in children. *Ann Intern Med* 1973; 79: 492-499.
- 7) 辻祐一郎, 阿部祥英, 三川武志, 他. A 群β溶血性連鎖球菌感染後の検尿についてのアンケート調査結果. *日本小児腎臓病学会雑誌* 2007; 20: 105-110.

- 8) 田中恭子, 牛嶋 正, 古瀬昭夫, 急性腎不全を合併した溶連菌感染後急性糸球体腎炎の1例. 日本小児腎臓病学会雑誌 2001; 14: 71-75.
- 9) 高橋勇弥, 庄司圭介, 佐藤英利, 他. 血液透析に至った溶連菌感染後糸球体腎炎の1例. 鶴岡市立荘内病院医学雑誌 2007; 17: 47-50.

Clinical Characteristics and Incidence of Acute Post-streptococcal Glomerulonephritis in Children :
A Study in a Northern District in Japan

Hiroshi Sakata

Department of Pediatrics, Asahikawa Kosei Hospital

Here we report on an incidence of acute post-streptococcal glomerulonephritis (PSAGN) in children less than 15 years in the northern district of Japan from 2005 to 2007. The data were collected from the questionnaire sheets obtained from pediatricians in major pediatric institutions of this area. The definitions of PSAGN in this study were as follows : 1) apparent clinical symptoms such as macroscopic hematuria, edema, etc., 2) hypocomplementemia, and 3) preceding streptococcal infection confirmed by a high level of serum ASO value or a positive result of streptococcal culture. Sixteen patients were diagnosed as having PSAGN : the age of patients ranged from 4 to 13 years old, and the average age was 6.9 years old. The incidence of PSAGN per 100,000 was 4.0. The preceding infections were recognized in 10 out of 16 patients : 8 patients were diagnosed as having upper respiratory infection, 1 patient was as having pneumonia, and 1 patient was isolated Group A *streptococcus* from pharyngeal swab. All 16 patients had recovered from PSAGN within 8 weeks.
