1991 年と 2001 年～2002 年に分離された A 群溶血性レンサ球菌の 血清型、遺伝子型および薬剤耐性の比較

¹⁾徳島県保健環境センター微生物科,

²⁾徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部生体システム栄養科学部門栄養医科学講座予防環境栄養学分野,

*現：徳島県食肉衛生検査所, **現：徳島県徳島保健所

清水 俊夫^{1)*} 立石ひとみ^{1)**} Ahmed SHERIN²⁾

太田 房雄²⁾

(平成 15 年 2 月 18 日受付)

(平成 16 年 10 月 6 日受理)

Key words : group A streptococci, drug resistance, T serotype,
pyrogenic exotoxin genes, pulsed-field gel electrophoresis

要 旨

2001 年 8 月から 2002 年 6 月の間 (以下 2001～2002) に分離された A 群溶血性レンサ球菌 62 株について、T 血清型別、発赤毒遺伝子および薬剤耐性を調査し、1991 年 4 月から 12 月の間に分離され、当所で保存していた臨床由来株 61 株と比較した。

T 血清型別では、1991 年には T4 型が 18 株と最も多く、次いで T12 型と T1 型が 15 株ずつ分離された。これらの 3 血清型で全体の 78.7% を占めていた。2001～2002 年には T28 型が 13 株、T1 型 12 株、T4 型 7 株等が検出された。

発赤毒遺伝子については、検査したすべての菌株が *spe B* 遺伝子を有し、1991 年、2001～2002 年ともに過半数の菌株が *spe B* と *spe C* の二つの遺伝子を有していた。

1991 年分離菌株のうち、T4 血清型で *spe B* と *spe C* (以下 *speB*, *C*) を有する株が 15 株、T12 型で *spe B*, *C* を有するものが 11 株、T1 型で *spe A*, *B* が 9 株 (14.8%) あった。2001～2002 年には、T28 型で *spe B*, *C* が 11 株、T1 型で *spe B*, *C* が 6 株、T4 で *spe B*, *C* と T12 で *spe B*, *C* が 5 株ずつ分離された。

Sma I 処理・パルスフィールド電気泳動法による制限酵素切断パターンの解析により、2001～2002 年の T4 型 *spe B*, *C* 及び T12 型 *spe B*, *C* のバンドパターンは 1991 年に分離されたそれぞれのバンドパターンの一つと同じであることが分った。

過去 10 年間にマクロライド耐性菌が 1 株 (1.6%) から 11 株 (17.7%) に、TC (テトラサイクリン) 耐性菌は 23 株 (37.7%) から 32 株 (51.6%) に、多剤耐性菌は 9 株 (14.7%) から 14 株 (22.5%) にそれぞれ増加した。

[感染症誌 78:1006～1015, 2004]

序 文

A 群溶血性レンサ球菌 (以下、「溶連菌」という.) は古くから小児の咽頭炎、扁桃炎などの気道感染症や猩紅熱の原因として知られ、1992 年に我

別刷請求先: (〒770-0063) 徳島市不動本町 2 丁目
140-3

徳島県食肉衛生検査所 清水 俊夫

国で始めて劇症型溶血性レンサ球菌感染症 (TSLS: Toxic Shock-like Syndrome) が報告されて以来¹⁾, その発生が増加している。また, 近年集団食中毒の発生も報告されている^{2)~4)}。今回, 徳島県内の医療機関と衛生検査所の協力を得て, 臨床由来溶連菌の T 血清型別, 発赤毒遺伝子及び薬剤耐性について検討し, 1991 年の調査結果と比較した。また, 一部の菌株についてパルスフィールド電気泳動法 (PFGE) による制限酵素切断パターンの比較も併せて実施したので報告する。

材料と方法

1 供試菌株

2001 年 8 月 21 日から 2002 年 6 月 10 日の間に徳島県内の 6 医療機関と 1 衛生検査所で咽頭拭い液などの上部気道由来の検体から分離され当所に提供された 62 菌株を供試した。1991 年の菌株は同年 4 月 15 日から 12 月 11 日の間に県内の 4 医療機関と 1 衛生検査所で分離され, 当所で同定し保存していた 61 株を用いた。これらの菌株は保存当時に群別, T 型別及び薬剤感受性試験を実施していたが, 当時実施していなかった発赤毒遺伝子の試験を行い, 薬剤感受性試験にいくつかの薬剤を追加した。

2 同定, 群別及び T 血清型別

提供された菌株は常法⁵⁾に従って同定し, Prolex Streptococcal Grouping Latex Kit (Pro-Lab Diagnosis, Canada) を用いて群別を行った。T 血清型別は A 群溶血性レンサ球菌 T 型別用免疫血清「生研」(デンカ生研, 東京) を用いて実施した。

3 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は KB ディスク (栄研化学): ペンジルペニシリン (PCG, 10U), アンピシリン (ABPC, 10 μ g 力価), エリスロマイシン (EM, 15 μ g 力価), クラリスロマイシン (CAM, 15 μ g 力価), クリンダマイシン (CLDM, 2 μ g 力価), テトラサイクリン (TC, 30 μ g 力価), クロラムフェニコール (CP, 30 μ g 力価), バンコマイシン (VCM, 30 μ g 力価), オフロキサシン (OFLX, 5 μ g), レボフロキサシン (LVFX, 5 μ g) のディスクと 5% ヒツジ脱繊維素血液加「感性ディスク用培地-N培地」(日水製薬, 東京) を用いて,

NCCLS, M2-A7 に準じて実施した。

4 A 群溶連菌発赤毒 (Streptococcal pyrogenic exotoxin) 遺伝子検索

A 群溶連菌が保有するシステインプロテアーゼの遺伝子である *speB*, スーパー抗原性毒素活性を有する *speA* および *speC* 遺伝子の検出を PCR 法で行った。被検菌をトリプトソーヤ寒天培地で 37 $^{\circ}$ C, 一夜培養後その 1 白金耳を滅菌蒸留水に浮遊し, 95 $^{\circ}$ C, 10 分間加熱して溶菌し, 遠心後その上清を PCR サンプルとした。岸下ら (1992)⁶⁾ の *speA*, *B*, *C* 用のプライマーを用い, PCR の条件は熱変性 94 $^{\circ}$ C, 1 分, アニール 52 $^{\circ}$ C, 1.5 分, 伸長反応 72 $^{\circ}$ C, 1.5 分, 30 サイクルで実施した。得られた PCR 産物を 2% アガロース上で電気泳動し, エチジウムブロマイドで染色して紫外線下で観察される特異的バンド (*speA* 393bp, *speB* 1,113bp, *speC* 624bp) の有無により判定した。

5 PFGE による制限酵素切断パターン

被検菌を Todd-Hewitt ブイヨンで一夜培養した菌液 1ml を遠心分離して, 上清を捨て滅菌蒸留水 200 μ l を加えて懸濁液を調整し, 等量の 1.2% 低融点アガロースを加えてプラグモールドに入れ, 冷却固化しゲルブロックを作成した。ゲルブロックを mutanolysin (20 μ g/ml) 37 $^{\circ}$ C, 5~6 時間

Table 1 T serotype distribution of group A streptococcal strains

T-serotype	No. strains in 1991	No. strains in 2001-2002
1	15 (24.6)	12 (19.4)
2	0	1 (1.6)
4	18 (29.5)	7 (11.3)
8	1 (1.6)	1 (1.6)
11	1 (1.6)	3 (4.8)
12	15 (24.6)	5 (8.1)
13	2 (3.3)	2 (3.2)
14/49	1 (1.6)	0
21	0	1 (1.6)
25	0	2 (3.2)
28	2 (3.3)	13 (21.0)
B3264	2 (3.3)	5 (8.1)
limp19	0	2 (3.2)
Untyped	4 (6.6)	8 (12.9)
Total	61	62

(): %

Fig. 1 Distribution of *speA*, *speB* and *speC* genes of group A streptococcal isolates

Fig. 2 Association of T serotypes with toxin genotypes of group A streptococcus isolates

震盪処理し、さらに proteinaseK (50μg/ml) 50℃、一夜処理して溶菌した後、制限酵素 *Sma* I (30U/sample, ニッポンジーン) で一夜酵素処理した。ゲルブロックを 1% アガロースにアプライし、CHEF-DRIII (Bio-Rad) を使用して、泳動バッファー: ×0.5TBE, 6.0V/cm, スイッチタイム 5~15 秒: 11 時間, 15~45 秒: 13.5 時間, 泳動温度 14℃ で電気泳動を行った。泳動後ゲルをエチジウムブロマイドで染色、紫外線下で撮影し、バンドパターンを比較した。パターンの異同は Tenover ら (1995)⁷⁾ に従って判定し、任意のローマ数字を付けて比較した。

成 績

1 T 血清型 (Table1)

1991 年には、9 種の T 血清型の菌株が検出され、T4 型が 18 株 (29.5%)、T12 型および T1 型が 15 株 (24.6%) で、この 3 血清型で全体の 78.7% を占めた。他の T 血清型は 1 株または 2 株ずつ検出されただけであった。2001~2002 年には 12 種の T 血清型が検出され、1991 年に 2 株しかなかった T28 が 13 株 (21.0%) に増加した。一方、T4 は 7 株 (11.3%)、T12 は 5 株 (8.1%) に減少した。

2 発赤毒遺伝子 (Fig.1)

検査した 123 株すべてが *spe B* 遺伝子を保有していた。1991 年 31 株 (50.8%)、2001~2002 年 33 株 (53.2%) と *spe B* と *spe C* の両方の遺伝子を有する株 (以下、「BC」型と記す) が過半数を超えていた。1991 年にはこれに次いで *spe A* (以下「A」

Table 2 Antibiotic resistance of group A streptococcal strains

antibiotic resistant pattern		No. of strains (1991)	No. strain (2001-2002)
1 drug	VCM	4	6
	TC	10	10
	OFLX	1	1
	LVFX	4	
	CP	3	
	CLM	1	3
Total		23	20
2 drugs	TC, VCM	1	1
	TC, EM	1	1
	TC, CAM		2
	TC, OFLX	2	
	TC, LVFX		2
	TC, CP		2
	TC, CLM	1	
	LVFX, CLM	1	
Total		9	8
3 drugs	TC, VCM, OFLX	1	
	TC, VCM, LVFX	2	1
	TC, VCM, CP	1	
	TC, VCM, CLM	2	
	TC, OFLX, LVFX	1	1
	TC, CP, LVFX		1
	TC, LVFX, CLM		1
	TC, EM, OFLX		1
Total		7	5
4 drugs	TC, CP, OFLX, VCM	1	
	TC, CP, VCM, LVFX	1	
	TC, CP, VCM, CLM		1
	TC, EM, CAM, LVFX		1
	TC, EM, CAM, CLM		1
Total		2	3
5 drugs	TC, CP, OFLX, VCM, LVFX		1
Total		0	1
6 drugs	TC, CP, EM, VCM, CAM, CLM		2
	TC, CP, EM, CAM, LVFX, CLM		1
	TC, CP, OFLX, VCM, CAM, LVFX		1
	TC, EM, VCM, CAM, LVFX, CLM		1
Total		0	5
Total		38 (62.3%)	42 (67.7%)

型と記す)と *spe B* の二つの遺伝子を有する AB 型が 17 株 (27.9%), *spe B* のみを保有する B 型が 10 株 (16.4%) あったが, 2001~2002 年には A, B 型が 8 株 (12.9%) に減少し, B 型が 21 株 (33.9%) に増加していた。1991 年に 3 株分離された ABC

型は, 2001~2002 年には検出されなかった。

3 T 血清型別と発赤毒素遺伝子の組合わせによる型別 (Fig. 2)

1991 年に血清型 T4 で *spe B* と *spe C* の遺伝子を持つ T4:BC 型が 15 株 (24.6%), T12:BC

Fig. 3 Relative frequency of antibiotic resistance of group A streptococcal isolates

Table 3 Drug resistance, genotypes and T serotypes of streptococcus strains

T serotype : genotype	year	No. of isolates	No. of antibiotic resistant iso- lates	No. of multiple resistant iso- lates	No. of TC resis- tant isolates	No. of MIs resis- tant isolates
T1 : AB	1991	9	3 (33.3)	1 (11.1)	1 (11.1)	1 (11.1)
	2001-2002	4	2 (50.0)	1 (25.0)	1 (25.0)	0
T1 : BC	1991	0	0	0	0	0
	2001-2002	6	4 (66.7)	1 (16.7)	2 (33.3)	0
T4 : BC	1991	15	10 (66.7)	4 (26.7)	9 (60.0)	0
	2001-2002	5	5 (100)	0	4 (80.0)	1 (20.0)
T12 : BC	1991	11	7 (63.6)	1 (9.1)	3 (27.3)	0
	2001-2002	5	2 (40.0)	2 (40.0)	2 (40.0)	1 (20.0)
T28 : BC	1991	2	1 (50.0)	1	0	0
	2001-2002	11	6 (54.5)	5 (45.5)	5 (45.5)	4 (36.0)
Others	1991	24	17 (70.8)	2 (8.3)	10 (41.7)	0
	2001-2002	31	23 (74.2)	5 (16.1)	19 (61.2)	5 (16.1)
Total	1991	61	38 (62.3)	9 (14.8)	23 (37.7)	1 (1.6)
	2001-2002	62	42 (67.7)	14 (22.6)	32 (51.6)	11 (17.7)

() : %

型が11株(18.0%), T1:AB型が9株(14.8%)分離され, これらの3タイプで57.4%を占めていた。2001~2002年には, 1991年に2株しか分離されなかったT28:BC型が11株(17.7%)と最も多く, T1:BC型が6株(9.7%), T4:BC型とT12:BC型が5株ずつあった。

4 薬剤感受性

Table 2に薬剤感受性試験の結果を示した。1991年に分離された61株中38株(62.3%)が何れかの薬剤に耐性を示し, その内1剤のみに耐性を示したものが23株(耐性菌の60.5%), 3剤以上に耐性を示す多剤耐性菌が9株(耐性菌の23.6%)

Table 4 T- serotype : genotype, pulsotype and antibiotic resistant pattern of group A streptococcal strains

	pulsotype	year	Strain No.	antibiotic resistant pattern
T4 : BC	Ia	1991	GP-95	
			GP-110	
	Ib	1991	GP-92	TC
			GP-118	TC, OFLX
			GP-126	TC, OFLX, LVFX
			GP-127	TC, VCM, LVFX
			GP-129	LVFX
			GP-133	TC, LVFX, VCM
			GP-143	
		2001-2002	GP-356	TC, EM
			GP-357	TC, LVFX
			GP-406	VCM
T12 : BC	II	1991	GP-85	TC
			GP-91	TC, CLM
			GP-93	TC, VCM, CLM
	III	1991	GP-96	
			GP-114	
			GP-136	LVFX
			GP-141	
		2001-2002	GP-353	
			GP-363	TC, CP, EM, CAM, LVFX, CLM
			GP-368	
			GP-381	
			GP-403	TC, CP
	IV	1991	GP-99	LVFX, CLM
			GP-132	VCM
			GP-134	VCM
	V	1991	GP-131	

あった。2001～2002年には62株中42株(67.7%)が薬剤耐性を示し、1剤耐性菌が20株(耐性菌の47.6%)に減少し多剤耐性菌が14株(耐性菌の33.3%)に増加していた。また、1991年には検出されなかった5・6剤耐性菌が6株分離された。

それぞれの抗菌剤に対する耐性菌の分離菌株に対する比率をFig. 3に示した。PCG及びABPCのペニシリン系耐性菌は検出されなかった。

OFLXを除いた薬剤に対する耐性菌が増加し、特にマクロライド系(以下「MIs」という。)耐性菌については1991年にはEM耐性菌1株のみであったが、2001～2002年にはEMとCAMの両方に耐性のものが6株、どちらか一方に耐性のもの

が5株、計11株(17.7%)あった。TC耐性菌も23株(37.7%)から32株(54.6%)に増加していた。

T血清型と遺伝子型を組合わせた「型」と薬剤耐性の関係をTable 3に示した。1991年に最も多く分離されたタイプのT4:BC型では、耐性菌の割合は全体での比率と変わらなかったが、TC耐性株9株(60%)と明らかに多く、多剤耐性株も4株(26.7%)と全体の2倍近い割合で観察された。2001～2002年分離のT4:BC型菌株でも、5株すべてが薬剤耐性であり、そのうち4株がTC耐性であった。

2001～2002年に最も多かったT28:BC型で

Fig. 4 PFGE banding patterns of T4:BC and T12:BC group A streptococcal isolates

※L.L.: Lambda Ladder

は、薬剤耐性菌は6株(54.5%)あったが、その5株(45.4%)が多剤耐性であり、さらにそのうちの4株までが6剤耐性であった。

5 PFGEによる制限酵素切断パターン (Table 4)

T4:BC型12株(1991年9株, 2001~2002年3株)とT12:BC型16株(1991年11株, 2001~2002年5株)のPFGEを実施した。すべての菌株が9~11のバンドを形成し、分類できたI~VのパターンをFig.4に示した。1991年のT4:BC型は4バンド違いで関連があると見られるIaとIbの2タイプが認められ、2001~2002年にはIbだけであった。タイプIaの2株は薬剤感受性であったが、Ibでは10株中8株が何らかの薬剤に耐性であった。

T12:BC型は1991年にはII~Vの4タイプが見られ、2001~2002年にはタイプIIIのみが検出された。タイプII, IVはすべての株が何らかの薬剤に対して耐性を示し、特にタイプIIではどの菌株もTC耐性であった。一方、タイプIIIではその多く(1991年3/4, 2001~2002年3/5)が薬剤感受性であった。

考 察

1991年にはT4, T12及びT1の3血清型が主であり、これらの血清型だけで分離された溶連菌の78.7%を占めた。同年の全国の地研及び保健所集計⁸⁾によればT4が36.2%, T12が25.9%, T1が14.8%であり、安岡ら⁹⁾による高知県の報告ではT12が24.5%, T1が24.2%, T4が22.6%で、順位や比率に違いはあるもののいずれの調査でも、これらの3つの血清型が主であり、全体の70%以上を占めている。

2001年の全国の状況¹⁰⁾でも1991年と同様にT1(26.3%), T12(23.9%), T4(12.1%), の3型が上位を占め、T28は前年から増加傾向にあるとはいえ、7.3%に過ぎない。一方、本県においてはT28が21.0%と最も多く、T4(11.3%)及びT12(8.1%)の検出が全国状況や本県における1991年の検出率と比較して少なかった。

発赤毒遺伝子に関する岸下ら(1995)¹¹⁾の報告によるとBC型が64.5%, B型が20.3%, AB型とABC型がともに7.5%であった。加野ら(2000)¹²⁾の報告でも、最も多いのはBC型で全体の68.8%であるが、これに次いでAB型が19.6%, B型が6.3%, ABC型が5.3%であった。本県でも1991年, 2001~2002年ともにBC型が最も多く検出されたが、その割合は彼らの報告よりも10%以上も低く、50%程度であった。1991年にはAB型が、2001~2002年にはB型がBC型に次いで多かった。

T血清型と発赤毒の両方を調査した報告は少ないが、加野ら¹²⁾の報告によるとT12:BC型が26.4%, T4:BC型が13.8%, T28:BC型が13.2%などである。彼らによるとT血清型と発赤毒遺伝子の関係はある程度一定であり、血清型から発赤毒の遺伝子型を推測できると述べている。今回の

研究でも、T4, T12, T28 では BC 型が 80% 以上を占めており、血清型 B3264 では B 型のみであるなど、同様の傾向が認められた。しかし、彼らの報告では T1 では AB 型が 100% であったが、今回の調査ではそれが、48.1% であるなど、異なる点もあり、今後、より多くの菌株あるいは年次について検討する必要がある。

溶血性レンサ球菌の薬剤感受性の研究は古くから行われている。しかし、検査方法の違い、MIC 判定基準の違いなどにより、比較することが難しい場合がある。

分離菌の TC 耐性についてみると、本県では MIC $\geq$ 8 μ g/ml を示す菌株が 1991 年に 37.7% あり、それが 2001~2002 年には 51.6% に増加していた。我々の調査より高い MIC 濃度 (MIC $\geq$ 25 μ g/ml) で判定した遠藤ら¹³⁾によれば、35.9% が本剤に耐性であった。また、安岡ら⁹⁾の調査 (MIC $\geq$ 25 μ g/ml) でも 35.4% が耐性であった。さらに奥野ら (1995)¹⁴⁾ (MIC $\geq$ 25 μ g/ml) の調査によれば、31.8% (1993 年) および 25.0% (1994 年) が本剤に耐性を示した。一方、今回と同程度の判定基準による加野らの調査 (1994~1997)¹²⁾によると、TC 耐性株は 5.9~18.7% (平均 14.1%) であり、田中らの調査 (1999 年、富山県)¹⁵⁾ ($\geq$ 16 μ g/ml) ではそれが 18.8% であった。これらの結果は TC 耐性株が年により、また地域により大きく変動していることを示唆している。

MIs 耐性菌についてみると、1986~1988 年の遠藤らの調査¹³⁾では、1.4% であり、前述の安岡らの 1990~1991 年の調査⁹⁾では 0%、奥野ら¹⁴⁾の 1993~1994 年の報告でも、EM 耐性菌は 1% 以下であった。一方、牧野ら¹⁶⁾が千葉市の 1 病院で行った調査では、EM 耐性率は毎年増加し、1998 の 3.8% から 2001 年 7 月には 15.7% となっている。また、前述の田中ら¹⁵⁾の 1999 年の調査でも EM および CAM の耐性率はともに 9.4% である。これらのことから 1980 年代後半から 1990 年台前半に減少していた MIs 耐性菌が、1990 年代中盤を境に全国的に増加していることが推測される。本県においても、1991 年には EM 耐性菌 1 株 (1.6%) であった MIs 耐性菌が、2001~2002 年には EM 耐性が

12.9%、CAM 耐性が 14.5% となっている。1991 年に保険適用になった CAM 耐性菌が 10 年間に急激に増加したことで明らかのように、薬剤耐性菌の推移は臨床での抗菌剤の使用を反映しているものと思われた。

T 血清型と発赤毒に加えて、PFGE を実施したことにより、T4:BC 型、T12:BC 型ともに 1991 年に検出されたタイプのうちの 하나가 2001~2002 年に地方病的に残っていることが分かった。また、検出年代の違いにかかわらず同じタイプの菌株では薬剤感受性の傾向も類似していた。

溶連菌の型別には T 血清型別以外に M 血清型別や DNA レベルでの M 型別である (*emm*) シーケンシング、また遺伝子の多形性に基づく、PFGE やリボタイピング、RAPD などが行われている。*Sma* I 消化による PFGE は広く行われている方法であるが³⁾¹⁷⁾¹⁸⁾、Tenover ら⁷⁾は少なくとも 10 以上のバンドが形成されなければ、彼らの近縁度の基準が適用できないと述べている。今回検出されたバンドは 9~11 で、その境界にあり、遺伝子 *finger print* と言えるほどの解析力はないと思われる。しかしながら、T 血清型や発赤毒と組み合わせることにより疫学的比較に耐える情報が得られたものと考えられる。

文 献

- 1) 清水可方, 大山晃弘, 笠間和典, 宮崎増美, 大江健二, 大河内康実: A 群溶血性連鎖球菌による Toxic shock like syndrome の 1 例. 感染症誌 1993; 67: 236-9.
- 2) 池田嘉子, 椿本 亮, 財津修一, 石北隆一, 村田建夫, 太田耿三: 弁当が原因と考えられる A 群連鎖球菌の集団感染—福岡市. 病原微生物検出情報 1997; 18: 264.
- 3) 山口克枝, 増子京子, 根本治育, 藤咲 登, 平岡洋典, 村田 明: 仕出し弁当による A 群連鎖球菌の集団感染事例—茨城県. 病原微生物検出情報 1998; 19: 279.
- 4) 本田れい子, 阿蘇品早苗, 松岡由美子, 中村 勉, 下田和代: サンドイッチによる A 群連鎖球菌集団感染事例—熊本市. 病原微生物検出情報 1999; 20: 115-6.
- 5) 厚生省監修: 微生物検査必携, 細菌・真菌検査第 3 版, (財) 日本公衆衛生協会, 東京, 1993; F-28.

- 6) 岸下雅通, 山崎伸二, 竹田美文: A 群溶連菌の産生する発赤毒遺伝子の PCR による型別判定. 日本臨床 1992; 50: 326—36.
- 7) Fred C Tenover, Robert D Arbeit, Richard V Goering, Patricia A Mickelsen, Barbara E Murray, David H Persing, *et al.*: Interpreting Chromosomal DNA Restriction Patterns Produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain typing. J Clin Microbiol 1995; 33: 2233—9.
- 8) 国立予防衛生研究所, 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課: <特集> 溶連菌感染症 1995 現在. 病原体検出情報 1997; 18: 25—6.
- 9) 安岡富久, 武田正子, 出口祐男, 脇口明子, 倉繁迪, 浜田義文: 高知県における A 群溶連菌の菌型と薬剤感受性について (1990-1991 年). 高知県衛研報 1992; 38: 37—44.
- 10) 溶血性連鎖球菌レファレンスセンター会議: 第 23 回衛生微生物協議会溶血レンサ球菌レファレンスセンター会議資料. 2002.
- 11) 岸下雅通, 竹田美文, 南出和喜夫, 藤田晃三: ヒト咽頭由来レンサ球菌における発赤毒遺伝子の分布. 感染症誌 1995; 69: 568—71.
- 12) 加野成明, 木村尚志: 北九州市における溶血レンサ球菌感染症の流行: 原因菌の分離状況および性状 (1994 年-1997 年). 感染症誌 2000; 74: 511—7.
- 13) 遠藤美代子, 柏木義勝, 奥野ルミ, 天野祐次, 小野川尊: 臨床材料および健康学童から分離された A 群溶血連鎖球菌の薬剤感受性と菌型について (1986—1988). 感染症誌 1991; 65: 919—27.
- 14) 奥野ルミ, 遠藤美代子, 柏木義勝, 五十嵐英夫: 1993 年および 1994 年に分離された A 群レンサ球菌の薬剤感受性について. レンサ球菌感染症研究会第 28 回学術講演会抄録集. 1995.
- 15) 田中大祐, 清水美和子, 細呂木志保, 磯部順子, 刑部陽宅, 香取幸治, 他: 富山県における溶血連鎖球菌分離株の菌型と薬剤感受性. 富山県衛研年報 2001; 24: 116—9.
- 16) 牧野 功, 黒崎知道: Group A Streptococcus の薬剤感受性について—特にエリスロマイシン耐性. 感染症誌 2002; 76: 483.
- 17) Heather A Haukness, Robert R Tanz, Richard B Thompson Jr, Deidre K Pierry, Edward L Kaplan, Bernard Beal, *et al.*: The Heterogeneity of Endemic Community Pediatric Group A Streptococcal Pharyngeal Isolates and Their Relationship to Invasive Isolates. J Infect Dis 2002; 185: 915—20.
- 18) Anne Bouvet, Pierre Geslin, Paula Kriz-Kuzemenska, Veronique Blanc, Catherine Devine, Francine Grimont: Restricted Association between Biotypes and serotypes within Group A Streptococci. J Clin Microbiol 1994; 32: 1312—7.

Serotypes, Genotypes and Drug Resistance of Group A Streptococcal Strains Isolated
in 1991, 2001 and 2002 in Tokushima Prefecture —Comparison after Decade—

Toshio SHIMIZU^{1)*}, Hitomi TATEISHI^{1)**},
Ahmed SHERIN²⁾ & Fusao OTA²⁾

¹⁾Department of Microbiology, Institute of Public Health
and Environmental Sciences, Tokushima Prefecture

²⁾Department of Preventive Environment & Nutrition Institute of Health Biosciences, Graduate Schools,
The University of Tokushima

Sixty two strains of Group A streptococcus were isolated between August 2001 and June 2002. They were examined for T serotypes, pyrogenic exotoxin genes and resistance against antibiotics. The results were compared with those for 61 isolates of the same species collected between April and December 1991.

Among the strains isolated in 1991, T4 was the dominant serotype (18 strains) followed by T12 and T1 (each 15 strains). These three serotypes represented 78.7% of the total number. In contrast, among the strains isolated in 2001 and 2002 T28 (13 strains) was the dominant serotype followed by T1 (12 strains) and T4 (7 strains). Examination of these isolates for pyrogenic exotoxin gene revealed that all carried *speB* and more than half of the strains isolated in 1991, 2001 and 2002 carried both *speB* and *speC*.

Regarding the combination of T type and toxin genotype, out of the isolates in 1991 fifteen T4 strains were associated with B and C, eleven T12 types with B and C, and nine T1 strains with A and B, while out of the strains isolated in 2001 and 2002 eleven T28 strains were associated with B and C, six T1 strains with B and C, and both five T4 and T12 types with B and C.

Sma I Pulsed-field gel electrophoresis analysis revealed that PFGE patterns of T4 : *spe B* and C and T12 : *spe B* and C strains in 2001 and 2002 are same as one of those in 1991, respectively.

On the other hand, during the decade strains resistant to macrolide increased from 1 strain (1.6%) to 11 strains (17.7%) and those to tetracycline increased from 23 strains (37.7%) to 32 strains (41.6%). During the same period the incidence of multiple resistance increased from 9 strains (14.7%) to 14 strains (22.5%).