

## 【原著・基礎】

## 小児急性気道感染症より分離された A 群溶血レンサ球菌の薬剤感受性と T 型別

砂押 克彦<sup>1,3)</sup>・中山 栄一<sup>2,3)</sup>・小林 玲子<sup>3)</sup>・鈴木 悦子<sup>3)</sup>・田島 剛<sup>2)</sup>・生方 公子<sup>3)</sup><sup>1</sup> 埼玉県衛生研究所臨床微生物担当\*<sup>2</sup> 博慈会記念総合病院小児科<sup>3</sup> 北里大学北里生命科学研究所感知情報学研究室

(平成 16 年 5 月 31 日受付・平成 16 年 7 月 6 日受理)

2002 年 4 月から 2004 年 3 月までの間に、小児の A 群溶血レンサ球菌性咽頭・扁桃炎例から分離された総計 533 株の A 群レンサ球菌を対象とした。これらの菌株に対する  $\beta$  ラクタム系薬 8 薬剤, macrolide (ML) 系薬 4 薬剤, clindamycin および telithromycin の計 14 薬剤の感受性を測定した。 $\beta$  ラクタム系薬の MIC<sub>90</sub> は cefditoren = cefdinir = cefcapene (0.008  $\mu$ g/mL), cefpodoxime (0.016  $\mu$ g/mL), ampicillin = amoxicillin = faropenem (0.031  $\mu$ g/mL), cefaclor (0.125  $\mu$ g/mL) の順で優れていた。本菌に対する ML 系薬の MIC<sub>90</sub> は、 $\beta$  ラクタム系薬に較べて明らかに劣っていた。Telithromycin の MIC<sub>90</sub> は、0.031  $\mu$ g/mL であった。これらの菌に対し、ML 耐性遺伝子の *ermB*, *mefA*, および *ermTR* の有無を PCR にて検索した。17 株 (3.2%) が *ermB* 遺伝子保持株, 26 株 (4.9%) が *mefA* 遺伝子保持株, 3 株 (0.5%) が *ermTR* 遺伝子保持株であった。*ermB* 保持株はすべての ML 系薬に高度耐性, *mefA* 保持株は josamycin, clindamycin を除いた薬剤に 1  $\mu$ g/mL 以上の MIC を示した。*ermTR* 保持株に対する各薬剤の抗菌力は *mefA* 保持株に近かった。

T 型別では、12 型 (32.3%) が最も多く、次いで T4 型, T1 型, T13 型, T25 型等であった。ML 耐性菌は多くの型に認められたが、その中の *mefA* 保持株はその半数以上が増加傾向にある T25 型であった。優位に分離される T 型が変化しつつあると考えられ、今後とも継続的なサーベイランスが必要と結論された。

**Key words:** *Streptococcus pyogenes*, antibiotic susceptibility, T type, macrolide-resistance gene, pharyngotonsillitis

A 群溶血レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*: A 群レンサ球菌) は、咽頭炎、扁桃炎などをはじめとする上気道感染症、劇症型溶菌菌感染症、あるいは続発性疾患としてのリウマチ熱、急性糸球体性腎炎など多彩な病態を示す菌として知られる。

市中感染症の原因菌である肺炎球菌やインフルエンザ菌が多くの抗菌薬に対して急速に耐性化していく中で、本菌のみが耐性化しがたい菌とされてきた。しかし、1970 年代には T12 型 A 群レンサ球菌の流行に際し、macrolide (ML) 高度耐性菌が分離されていたことが報告されている<sup>1,2)</sup>。その後、経口セフェム系薬の使用量の増加による相対的な ML 系薬の使用量の減少と、T12 型菌の流行の終息とが重なって、1980 年代以降には ML 耐性菌は次第に減少し、5% 以下の分離率になっていた<sup>3)</sup>。

しかし、1990 年代はじめにおける clarithromycin (CAM) や azithromycin (AZM) の登場、びまん性汎細気管支炎などに対する 14 員環 ML 系薬の長期微量投与方法など、治療面における抗菌薬以外の使用に伴い、その使用量は再び増加している。そ

れと平行するかのよう、抗菌薬としての面からみると、ML 耐性菌の出現と増加が問題となってきている。肺炎球菌のように、すでに分離菌の 70% が耐性遺伝子保持株である菌種もみられ、*Mycoplasma pneumoniae* などにおいても耐性菌出現が報告されている<sup>4,5)</sup>。そのような状況の中で、耐性菌がかわめて少ないとされてきた A 群レンサ球菌の中にも、細菌検査報告書に ML 耐性と記載される例が再び散見されるようになってきた。

共同研究者の中山ら<sup>6)</sup>が報告しているように、 $\beta$  ラクタム系薬と ML 系薬の A 群レンサ球菌性咽頭・扁桃炎に対する除菌効果の比較において、後者の除菌率は劣っていた。なかでも、ML 耐性遺伝子保持株が起炎菌であった症例に対し、ML 系薬が empiric に投与されていた例では、除菌されていなかったことが注目された。

そのようなことから、分離された A 群レンサ球菌に対する各種抗菌薬の感受性を測定し、同時に T 型別を実施して ML 耐性遺伝子保持株がどのような菌型に見いだされつつあるのか明らかにしたいと考えた。本論文においてはそれらの成績

Table 1. Primers used in this study

Primer (gene)	Sequence (5' to 3')	Primer length (mer)	Position	Length (bp)
<i>ermB</i>				
ermB-S	CGTACCTTGGATATTCACCG	20	721-740	224
ermB-R	GTAACAGTTGACGATATTCTCG	23	944-922	
<i>mefA</i>				
mefA-S	GGGACCTGCCATTGGTGTGC	20	180-199	402
mefA-R	CCCAGCTTAGGTATACGTAC	20	581-562	
<i>ermTR</i>				
TR-S	GCTACCTTATTGTAGAGAGGG	21	578-598	295
TR-R	ACATTCGCATGCTTCAGCACC	21	872-852	
<i>slo</i>				
SLO-S	AGAGAGGCTATGGCACATTAC	21	83-103	264
SLO-R	GTTGCTCATTGTGCTTGTGG	21	346-326	

について報告する。

## I. 材料と方法

### 1. 使用菌株

対象とした A 群レンサ球菌は, 6 医療機関( 斎藤小児科医院 (熊谷市), なかふかわ小児科 (広島市), 酒井医院 (千葉県白子町), 大阪労災病院小児科 (大阪市), 清恵会病院小児科 (堺市), 東京医療センター小児科 (東京)) より送付を受けた検査材料から分離された菌株, ならびに博慈会記念総合病院小児科由来の菌株については, 三菱 BCL にて分離された株を当研究室へ再送付を受け, 解析に用いた。

2002 年 4 月から 2004 年 3 月までの間に分離・収集された総計 533 株の A 群レンサ球菌が対象となった。

### 2. PCR 用 primer

PCR 用 primer としては, Table 1 に示す 4 組の primer を作製して本実験に用いた。

1 つは, 23S rRNA をジメチル化して修飾する酵素をコードしている *ermB* 遺伝子検索用 primer である<sup>7)</sup>。この遺伝子保持株では 224bp の DNA fragment が増幅される。2 つめは, 細胞内に取り込まれた ML 系薬を菌体外へ排出する膜蛋白をコードする *mefA* 遺伝子検索用である<sup>8)</sup>。この遺伝子を保持している場合には, 理論上 402bp の DNA fragment が増幅される。*ermB* と *mefA* 遺伝子はひとつのチューブ内で検索した。3 つめは, 薬剤耐性機構は *ermB* と同じであるが, 近年, 欧州で分離されている新しい耐性遺伝子の *ermTR* 遺伝子検索用 primer である<sup>9)</sup>。この DNA fragment の予測される長さは 295bp である。

その他に, A 群レンサ球菌同定用 primer として, 本菌に特有の遺伝子であるストレプトリジン  $\alpha$  (SLO) 遺伝子<sup>10)</sup>検索用 primer を作製し, 耐性遺伝子検索と併せて PCR を行った (Accession No. AB050250)。予測される DNA fragment の長さは 264bp である。当該遺伝子保持株を A 群レンサ球菌とした。

No. of strains NA191 NA135 NA275 NA299

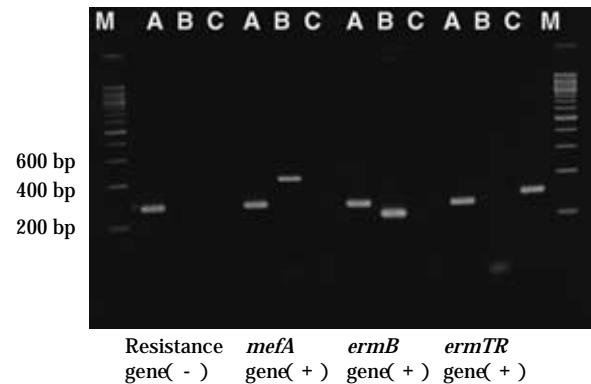


Fig. 1. Amplified DNA profiles of four genes from clinical isolates of *S. pyogenes* by PCR.

PCR の実施方法は次の通りである。血液寒天培地に塗布して一夜培養した被験菌は, 1 コロニーを 30  $\mu$ L の溶菌液<sup>11)</sup>中へ釣菌し, 60 : 20 分, さらに 94 : 5 分の溶菌操作を行い, 鑄型 DNA 液とした。次いで, その 2  $\mu$ L を各 PCR 反応チューブへ加え, DNA 変性 (94 : 2 分) 後, 94 : 15 秒, 53 : 15 秒, 72 : 15 秒の条件で, 35 サイクルの PCR を実行した。primer 以外の PCR 反応液の組成は, 既報<sup>11)</sup>に準じた。得られた PCR 増幅産物は, Fig. 1 に示すように 3% アガロースゲル電気泳動を行い, 解析した。

### 3. 薬剤感受性

A 群レンサ球菌に対する各種抗菌薬感受性は寒天平板希釈法により測定した。被験薬剤は, ampicillin (ABPC), amoxicillin (AMPC), cefaclor (CCL), cefdinir (CFDN), cefpodoxime (CPDX), cefditoren (CDTR), cefcapene (CFPN), faropenem (FRPM), erythromycin (EM), CAM, AZM, josamycin (JM), clindamycin (CLDM), telithromycin (TEL) の 14 薬剤とした。これらは, 当該企業からの分与, あるいは国立感染症研究所から購入し, 力価の

明らかな純末を使用した。

10% スキムミルクに保存しておいた菌株は、5% 綿羊脱繊維血液加 Mueller-Hinton agar (日本ベクトンディック

Table 2. Susceptibility of 8  $\beta$ -lactam antibiotics to *S. pyogenes* strains isolated from pediatric outpatients with pharyngotonsillitis (n=533)

Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	Range	50%	90%
Ampicillin	0.016 - 0.031	0.031	0.031
Amoxicillin	0.016 - 0.063	0.016	0.031
Cefaclor	0.063 - 0.25	0.125	0.125
Cefdinir	0.004 - 0.016	0.008	0.008
Cefpodoxime	0.008 - 0.031	0.016	0.016
Cefditoren	0.008 - 0.016	0.008	0.008
Cefcapene	0.008 - 0.016	0.008	0.008
Faropenem	0.016 - 0.031	0.016	0.031

キンソン)で2回継代後、寒天培地上に発育したコロニーを McFarland (MF) が 0.5 となるように 2mL の Mueller-Hinton broth 中に混釈し、接種菌液とした。

#### 4. 血清型別

被験菌の血清型別は、A 群レンサ球菌 T 型別用抗血清 (デンカ生研)を用い、対象とした総計 533 株について能書に従って T 型別を実施した。

## II. 結 果

### 1. $\beta$ ラクタム系薬感受性

Table 2 には、A 群レンサ球菌に対する  $\beta$  ラクタム系薬の ABPC, AMPC, CCL, CFDN, CPDX, CDTR, および CFPN, Faropenem のそれぞれの MIC range, MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub> 値を示す。また Fig. 2 には、それらの中の AMPC, CCL, CDTR, および CFPN の感受性分布を示す。

抗菌薬によって、その MIC に優劣は認められるものの、それぞれの  $\beta$  ラクタム系薬の感受性分布は試験管 2~3 管以内に収まり、依然として耐性菌は認められな

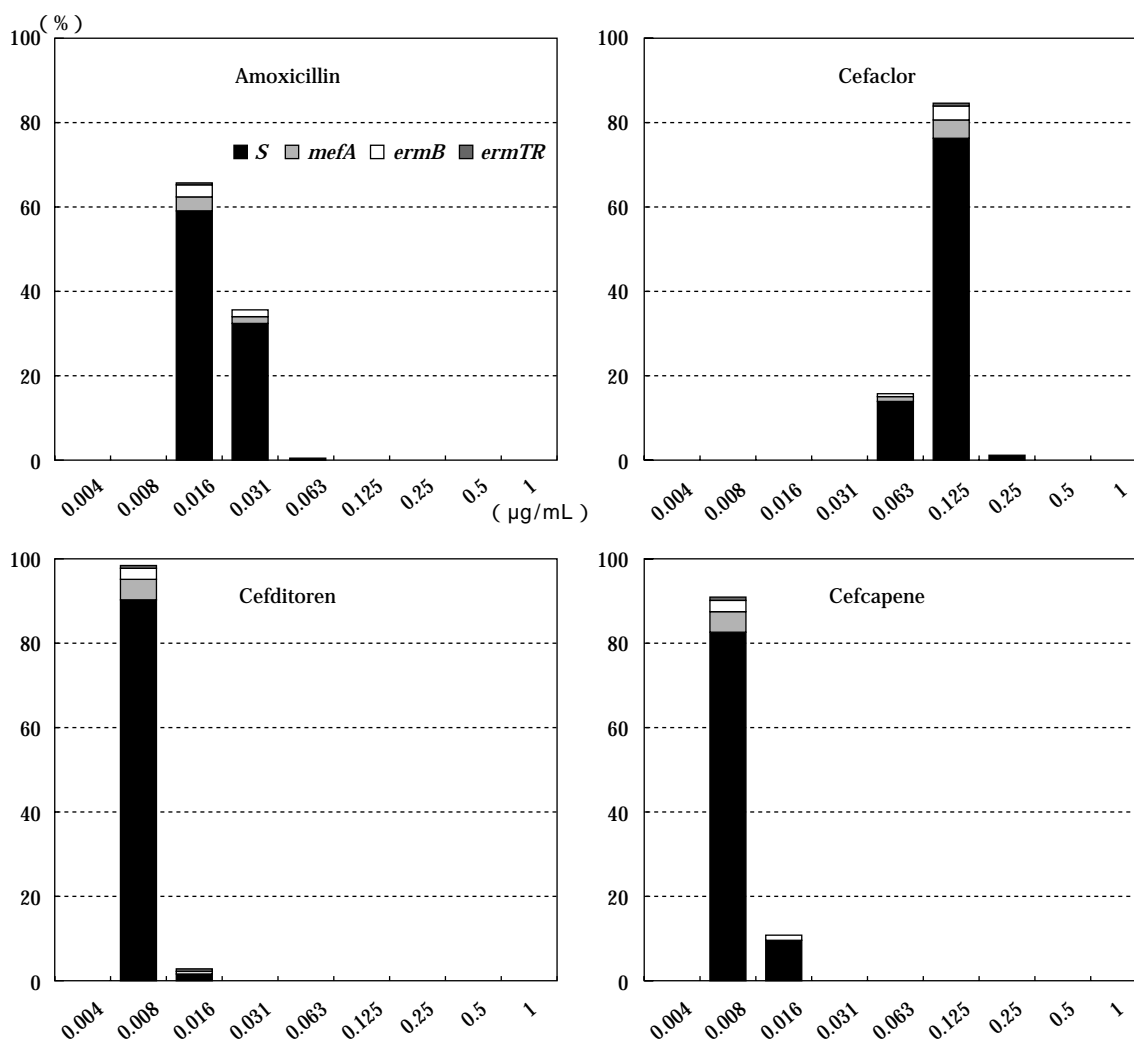


Fig. 2. Correlation between susceptibility to  $\beta$ -lactam antibiotics and macrolide-resistance genes of *S. pyogenes*.

Table 3. Macrolides, clindamycin, and telithromycin susceptibility in relation to resistance genes of *S. pyogenes* strains isolated from pediatric outpatients with pharyngotonsillitis (n=533)

Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )			Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )		
	Range	50%	90%		Range	50%	90%
<b>Erythromycin</b>				<b>Josamycin</b>			
Resistance gene ( - )	0.125 - 1	0.25	0.5	Resistance gene ( - )	0.125 - 1	0.5	1
<i>ermB</i>	2 - > 64	> 64	> 64	<i>ermB</i>	8 - > 64	> 64	> 64
<i>mefA</i>	16 - 64	16	16	<i>mefA</i>	0.25 - 1	0.25	0.5
<b>Clarithromycin</b>				<b>Clindamycin</b>			
Resistance gene ( - )	0.031 - 0.125	0.063	0.125	Resistance gene ( - )	0.063 - 0.25	0.063	0.063
<i>ermB</i>	1 - > 64	> 64	> 64	<i>ermB</i>	> 64	> 64	> 64
<i>mefA</i>	8 - 16	8	16	<i>mefA</i>	0.063 - 0.25	0.063	0.25
<b>Azithromycin</b>				<b>Telithromycin</b>			
Resistance gene ( - )	0.25 - 1	0.5	1	Resistance gene ( - )	0.016 - 0.063	0.031	0.031
<i>ermB</i>	16 - > 64	> 64	> 64	<i>ermB</i>	0.063 - > 64	> 64	> 64
<i>mefA</i>	16 - > 64	32	32	<i>mefA</i>	1	1	1

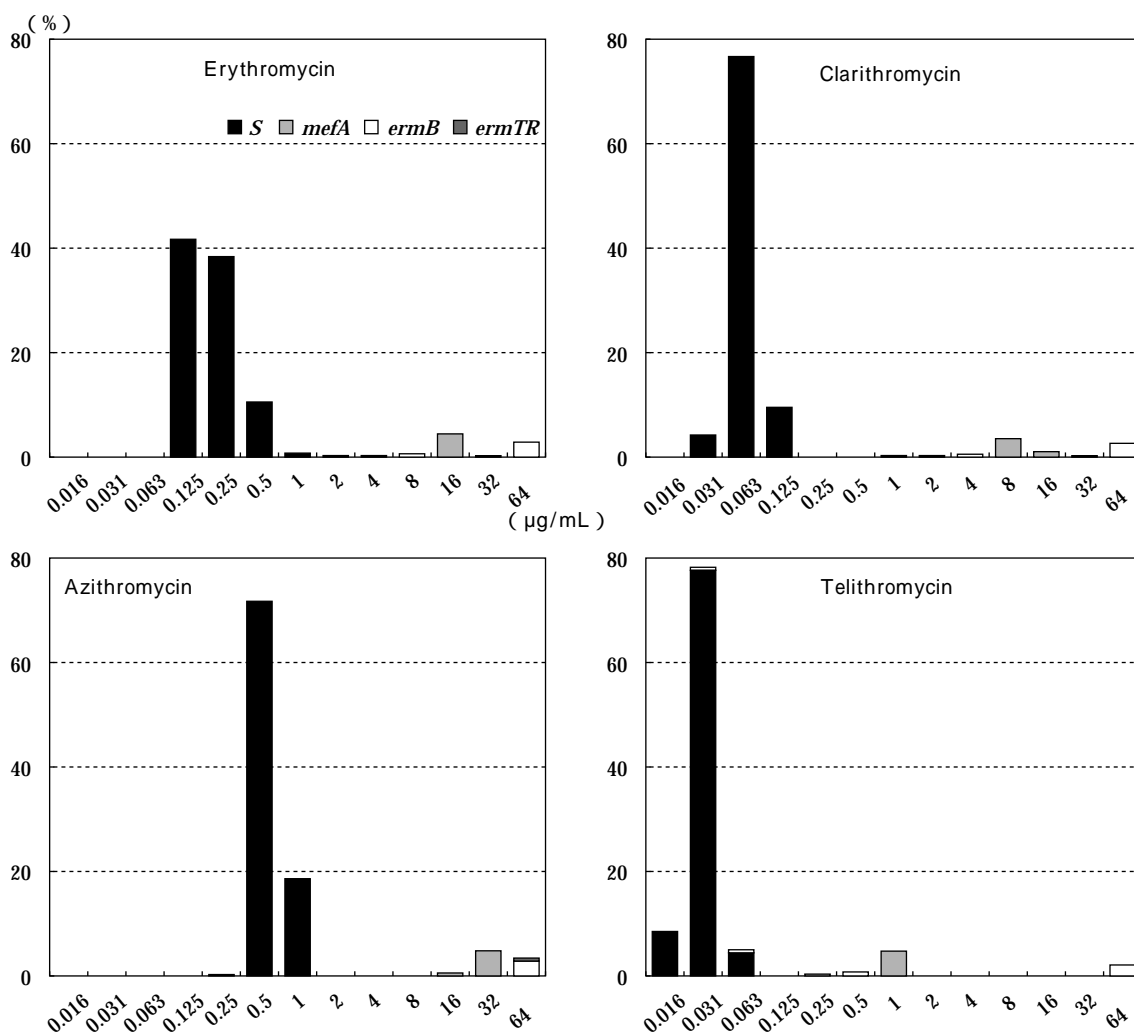
Fig. 3. Correlation between susceptibility to macrolides and telithromycin, and macrolide-resistance genes of *S. pyogenes*.

Table 4. T type distribution and macrolide-resistance genes of *S. pyogenes* strains isolated from pediatric outpatients with pharyngotonsillitis (n=533)

T type	Macrolide-resistance gene				Total	
	Negative	<i>ermB</i>	<i>mefA</i>	<i>ermTR</i>		
1	52		2		54	10.1%
2	7	1			8	1.5%
3	18				18	3.4%
4	95	5			100	18.7%
6	20	2			22	4.1%
8	2				2	0.4%
9	1				1	0.2%
11	6				6	1.1%
12	165	1	5	1	172	32.3%
13	40	2	2		44	8.2%
18	1				1	0.2%
19	1				1	0.2%
22	12				12	2.3%
25	23		17		40	7.5%
28	17	3			20	3.8%
B3264	9	3			12	2.3%
Other	7				7	1.3%
Untypable	11			2	13	2.4%
Total	487	17	26	3	533	100.0%

かった。

本菌に対する抗菌力を MIC<sub>90</sub> の優れている順に記すと, CFDN = CDTR = CFPN (0.008 μg/mL), 次いで CPDX (0.016 μg/mL), ABPC = AMPC (0.031 μg/mL) であった。ペニシリン系薬 (PCs) 薬剤の感受性は, セフェム系薬 (CEPs) に較べると試験管で 2 管ほど劣っていた。

なお β ラクタム系薬は *mefA*, *ermB* および *ermTR* の ML 耐性遺伝子保持株に対しても, 非保持株に対するのと同じレベルの抗菌力を示した。

## 2. ML 系薬, TEL および CLDM 感受性と耐性遺伝子の関係

対象とした A 群レンサ球菌の ML 耐性遺伝子の有無は, 533 株すべてについて実施した。*ermB* 遺伝子保持株は 17 株 (3.2%), *mefA* 遺伝子保持株は 26 株 (4.9%), そして *ermTR* 遺伝子保持株が 3 株 (0.5%) 分離された。

Table 3 には被験菌を耐性遺伝子の有無別に区別し, EM, CAM, AZM, JM, CLDM, および TEL に対するそれぞれの MIC range, MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub> 値を示す。Fig. 3 にはその中の EM, CAM, AZM, および TEL の感受性分布を示す。

耐性遺伝子を保持しない A 群レンサ球菌に対する MIC<sub>90</sub> は, TEL が 0.031 μg/mL と優れ, 次いで CAM = CLDM が 0.125 μg/mL, EM が 0.5 μg/mL, AZM = JM が 1 μg/mL の順で, 前述した β ラクタム系薬に較べると, TEL の抗菌力は保持されているものの, ML 系薬の抗菌力は必ずしも優れていなかった。

*ermB* 遺伝子保持株は, ほとんどの株がすべての ML

系薬に 64 μg/mL 以上の高度耐性を示した。また, TEL では 64 μg/mL 以上の明らかな耐性株が少数認められた。*mefA* 保持株では, 薬剤の系統によって感受性が異なり, EM, CAM, AZM, TEL では感性菌が示す MIC とは異なり, その MIC は明らかに耐性側へシフトしていた。しかし, JM と CLDM では感性菌と同じレベルの感受性が保持されていた。*ermTR* 保持株は 3 株と少なかったため表中には示さなかったが, これらの株に対する各薬剤の抗菌活性は *mefA* 保持株に近かった。

なお, *ermB* 保持株は東京都内の病院由来が 16 株, 大阪地区由来が 1 株の計 17 株であった。*mefA* 遺伝子保持株も東京都内由来が 25 株, 埼玉県下の医院由来が 1 株の計 26 株であった。また, *ermTR* 遺伝子保持の 3 株も東京都内由来株で, ML 耐性遺伝子保持株の分離は, 現状では特定地域に片寄っていた。

## 3. 血清型別と ML 耐性遺伝子との関係

A 群レンサ球菌の流行を把握するうえで重要な T 型別の成績と ML 耐性遺伝子との関係を Table 4 に示す。全体的にみた T 型別で最も多かったタイプは T12 型の 172 株 (32.3%), 次いで 4 型が 100 株 (18.8%), 1 型が 54 株 (10.1%), 13 型が 44 株 (8.3%), 25 型が 40 株 (7.5%) の順であった。

ML 耐性遺伝子との関係をみると, *ermB* 保持株は 17 株検出されたが, そのうち T4 型が 5 株, T28 と B3264 型がおのおの 3 株で, その他に T2, T6, T12, T13 型が認められた。一方, *mefA* 保持株は 26 株中 17 株が T25 型 (65%) で, その他に T12 型が 5 株, T1 と T13 型がそ

れぞれ2株認められた。*ermTR* 保持株は、1株が12型、残り2株は型別不能(NT)株であった。

### III. 考 察

A群レンサ球菌感染症は確実な除菌が求められる疾患であるが、近年、迅速診断キットの登場により、外来診療の場で比較的容易に診断することが可能となっている。本邦においては、本菌による感染症に対し、AMPC等のPCsが第一選択薬として推奨されてきたが、最近では抗菌力の優れた経口CEPsによる1週間程度の治療で高い除菌率が得られるとする報告も散見される<sup>12-14)</sup>。中山ら<sup>6)</sup>がβラクタム系薬4薬剤とML系薬2薬剤の計6薬剤についてその除菌率を比較した成績でも同様の結果が得られており、特にML系薬の除菌率の低さが注目された。CEPsに比べ、ML系薬の抗菌力が劣っていることもその原因の一つと考えられるが、加えてML耐性菌の存在もあると考えられる。

一方、A群レンサ球菌は一定期間で流行がみられ、その菌型が変遷することはよく知られている。わが国においては、6型、12型、そして8年前に劇症型溶レン菌感染症が問題化した時期には、T1型やT3型が優位に分離されていた<sup>15)</sup>。再びA群レンサ球菌の流行菌型が変遷し、そのタイプがML耐性菌であれば、臨床問題化するであろうことが危惧された。

結果で述べたように、βラクタム系薬は全般的に依然として優れた感受性を保持していたが、第三世代経口CEPsと呼ばれるCDTR、CFDN、およびCFPNは、PCsならびにCCLに比べ、本菌に対してさらに優れた抗菌力を示していた。このことが、臨床的にみれば高い除菌率に結びついていると推察される。

一方、ML耐性菌には遺伝子学的にみて3種類のタイプが含まれていた。すなわち、出現順に記すと、*ermB*、*mefA*、そして*ermTR* 遺伝子ということになる。*ermB*による耐性菌は1970年代には12型菌にのみ見いだされていたが、今回はそれ以外の5種のT型にも拡散していることが明らかにされた。*mefA* 遺伝子保持株はこの数年間に分離されはじめた比較的新しいタイプとみられ、T25型が最も多く、T12型、T1型、T13型にも見いだされ、しかもすでに*ermB* 保持株よりも多く分離されていたことが注目された。その他に、欧州で出現した*ermTR* 保持株がT12型と型別不能株で見いだされはじめていた。現在、これらの耐性菌の分離率は全体の10%程度であるが、耐性菌が認められる菌型の動向には今後十分な注意が必要であろう。

いずれにしても、ML系薬はA群レンサ球菌に対する抗菌力はβラクタム系薬よりもはるかに劣っていた。それに加えて、ML耐性菌の出現は、本系統の薬剤がA群レンサ球菌感染症の治療の第一選択薬としては適切ではないことを示唆していると考えられる。

なお、分離菌株の血清型別は疫学調査のうえできわめ

て重要視されているものの、世界的には病原性とかかわりのあるM型別が主流である。しかし、M型別はその維持などに難点があり、近年、遺伝子的な型別としてemm型別などが提唱されているものの、一般的とはなっていない。また、本邦においてはM型別用抗血清の入手が困難なことから、T型別がやむを得ず用いられてきているという実情がある。

T型別の変遷をみると、年次によって変わる流行株と、ある一定水準で常に分離されるT4型、T12型、T28型、B3264型等の2種類が認められる。今回の成績でも、1995年<sup>3)</sup>との比較でみるとT1型やT3型のように減少したタイプと、T4型、T13型、およびT25型のように増加した型とが認められた。河邊ら<sup>16)</sup>もT25型にML耐性株が多いことを報告しているが、おそらくそれらの多くは今回明らかにした*mefA* 遺伝子保持株であろうと推測される。「病原微生物検出情報 (<http://idsc.nih.go.jp/iasr/virus/graph/str8202.gif>)」によると、T25型は1982年から1997年にかけてはごく希にしか分離されなかった型である。しかし、1998年以降、100株を超えて分離され、増加傾向にあることが指摘されている。このことは、T25型の*mefA* 遺伝子保持株が増加する可能性を示唆している。

A群レンサ球菌については、今後とも継続的に薬剤感受性の動向とT型別などの疫学調査を実施していく必要があると考える。

### 謝 辞

本研究の遂行にあたり、ご協力を賜りました斎藤洪太先生(斎藤小児科医院(熊谷市))、大成滋先生(なかふかわ小児科(広島市))、酒井律子先生(酒井医院(千葉県白子町))、川村尚久先生(大阪労災病院小児科(大阪市))、清水公一先生(清恵会病院小児科(堺市))、岩田敏先生(国立病院機構東京医療センター小児科(東京))に感謝申し上げます。

同時に、解析にご協力いただいた感染情報学研究室の千葉菜穂子さん、長谷川恵子さんに深謝いたします。

### 文 献

- 1) 御簾納孝次郎, 平山 顕, 吉田律子: 最近猩紅熱患者から分離した溶連菌の薬剤感受性, 特にエリスロマイシン耐性菌の出現について。日本伝染病学会誌 46: 80-82, 1972
- 2) 大久保暢夫, 柏木義勝, 柴田 実, 他: 最近6年間のA群レンサ球菌の薬剤感受性の推移について(1967-1972年度)。感染症学雑誌 47: 506-509, 1973
- 3) 村木智子, 生方公子, 紺野昌俊, 他: A群溶血レンサ球菌のT型別と各種抗菌薬感受性 7施設で同時期に分離された菌株の解析。日臨微誌 5: 19-26, 1995
- 4) 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

- 5) Okazaki N, Narita M, Yamada S, et al: Characteristics of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* strains isolated from patients and induced with erythromycin in vitro. *Microbial Immunol* 45: 617 ~ 620, 2001
- 6) 中山栄一, 砂押克彦, 鈴木悦子, 他: A 群溶血レンサ球菌性咽頭炎・扁桃炎例に対する経口抗菌薬投与後の除菌率の比較. *日化療会誌* 52: 426 ~ 432, 2004
- 7) Trieu-Cuot P, Poyart-Salmeron C, Carlier C, et al: Nucleotide sequence of the erythromycin resistance gene of the conjugative transposon Tn1545. *Nucleic Acids Res* 18: 3660, 1990
- 8) Clancy J, Petipas J, Dib-Haji F, et al: Molecular cloning and functional analysis of a novel macrolide-resistance determinant, *mefA*, from *Streptococcus pyogenes*. *Mol Microbiol* 22: 867 ~ 879, 1996
- 9) Seppala H, Skurnik M, Soini H, et al: A novel erythromycin resistance methylase gene (*ermTR*) in *Streptococcus pyogenes*. *Antimicrob Agents Chemother* 42: 257 ~ 262, 1998
- 10) Ferretti J J, McShan W M, Adjic D, et al: Complete genome sequence of an M1 strain of *Streptococcus pyogenes*. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 4658 ~ 4663, 2001
- 11) Ubukata K, Muraki T, Igarashi A, et al: Identification of penicillin and other beta-lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae* by polymerase chain reaction. *J Infect Chemother* 3: 190 ~ 197, 1997
- 12) Brook I: Antibacterial therapy for acute group A streptococcal pharyngotonsillitis: short-course versus traditional 10-day oral legimens. *Paediatr Drugs* 4: 747 ~ 754, 2002
- 13) Gilbert D V, Moellering Jr R C, Sande M A, eds: The Sunford guide to Antimicrobial Therapy, 33rd edition. *Antimicrobial Therapy, USA*, 2003
- 14) 角田 修, 和泉桂子, 譜久山民子, 他: 溶連菌咽頭炎における A 群溶連菌除菌に関する臨床検討. *臨床と微生物* 18: 669 ~ 671, 1991
- 15) 五十嵐英夫: 劇症型 A 群レンサ球菌感染症の疫学. 劇症型 A 群レンサ球菌感染症 (渡辺治雄, 清水可方監修), p. 96 ~ 114, 近代出版, 東京, 1997
- 16) 河邊慎司, 西村菜穂子, 後藤研誠, 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* 15: 297 ~ 303, 2003

### Antibiotic susceptibility and T type identification of *Streptococcus pyogenes* isolated from pediatric outpatients with pharyngotonsillitis

Katsuhiko Sunaoshi<sup>1,3)</sup>, Eiichi Nakayama<sup>2,3)</sup>, Reiko Kobayashi<sup>3)</sup>,  
Etsuko Suzuki<sup>3)</sup>, Tsuyoshi Tajima<sup>2)</sup> and Kimiko Ubukata<sup>3)</sup>

<sup>1</sup>Division of Clinical Microbiology, Saitama Institute of Public Health,  
639 1 Kamiookubo, Sakura-ku, Saitama, Japan

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, Hakujuikai Memorial Hospital

<sup>3</sup>Kitasato Institute for Life Sciences and Graduate School of Infection Control Sciences, Kitasato University

Between April 2002 and March 2004, 533 *Streptococcus pyogenes* isolates were collected from pediatric outpatients with pharyngotonsillitis. The susceptibility of 14 antibiotics ( 8  $\beta$ -lactams, 4 macrolides, clindamycin, and telithromycin ) were determined against these isolates. The MIC<sub>90</sub>s of  $\beta$ -lactams were as follows: cefditoren = cefdinir = cefcapene ( 0.008  $\mu$ g/mL ) cefpodoxime ( 0.016  $\mu$ g/mL ), ampicillin = amoxicillin = faropenem ( 0.031  $\mu$ g/mL ) and cefaclor ( 0.125  $\mu$ g/mL ). The MIC<sub>90</sub> of telithromycin was 0.031  $\mu$ g/mL. Erythromycin, clarithromycin, and azithromycin of macrolides were less active than  $\beta$ -lactams. We also determined the presence or absence of macrolide-resistance genes of *ermB*, *mefA*, and *ermTR* for all isolates by PCR. Of 533 isolates, 17 strains ( 3.2% ) had the *ermB* gene, 26 strains ( 4.9% ) the *mefA* gene, and 3 strains ( 0.5% ) the *ermTR* gene. Strains having the *ermB* gene showed high resistance to all macrolides tested, and strains having the *mefA* gene were resistant to these agents with MIC<sub>90</sub>s of  $\geq 1$   $\mu$ g/mL, except for josamycin and clindamycin. The susceptibility to macrolides of strains having the *ermTR* gene was similar to that of strains having the *mefA* gene. Predominant T types were T12( 32.3% ), followed by T4( 18.8% ), T1( 10.1% ), T13( 8.3% ), and T25( 7.5% ). Macrolide-resistance strains were distributed in T types, but among strains having the *mefA* gene, more than half were T25 showing an increase. These results suggest that continuous surveillance for *Streptococcus pyogenes* is required.