

[症例報告]

増菌培養により感染経路が推定できた遅発型 B 群溶血性レンサ球菌髄膜炎の一例

小林延行¹⁾・櫻田 穰²⁾・酒井好幸³⁾・土田晃輔³⁾・川口谷充代⁴⁾・小林宣道⁴⁾

¹⁾ 市立函館病院中央検査部検査情報センター

²⁾ 市立函館病院薬剤科

³⁾ 市立函館病院小児科

⁴⁾ 札幌医科大学医学部衛生学講座

(令和 2 年 2 月 5 日受付, 令和 2 年 11 月 9 日受理)

B 群溶血性レンサ球菌 (GBS) は新生児髄膜炎の原因菌の一つである。産婦人科診療ガイドラインでは、垂直感染予防を目的に母体の保菌検査と、その培養に選択培地が推奨されているが、コスト面などの問題から普及が十分とはいえない状態である。今回我々は、遅発型 GBS 感染児の母体臍培養を実施し、選択培地のみで GBS が同定され、感染経路の特定ができた症例を経験した。患者は日齢 32 の乳児で、発熱と活気不良のため当院に入院した。脳脊髄液中の細胞増多、脳脊髄液培養と血液培養から GBS を認めた結果、GBS 髄膜炎と診断された。妊娠 36 週の母体臍培養は陰性であったため、改めて臍と乳汁の細菌培養を実施した。その結果、臍培養では羊血液寒天培地で陰性、選択培地のみで GBS が分離されたが、乳汁培養はともに陰性であった。検出した母の GBS 株は、児からの分離株と同一であり母からの水平感染を示唆する結果となった。妊娠時の GBS 保菌検査には、選択培地の使用が有用である。

Key words: *Streptococcus agalactiae*, 遅発型, 感染経路, 選択培地, 母児感染

序 文

β 溶血性レンサ球菌は、Lancefield の分類により A~V 群 (I と J は欠番) まで細分されているが、B 群に該当されているのは *Streptococcus agalactiae* のみである。そのため、B 群レンサ球菌 (*Streptococcus agalactiae*, Group B streptococci: 以下 GBS) と称されている¹⁾。

GBS は、臍内や腸管内の常在菌であり成人女性の約 10~30% は保有している²⁾。保菌妊婦から 30~42% の割合で新生児へ伝搬し、そのうち 1~2% に早発型新生児 GBS 感染症を発生する³⁾。新生児 GBS 感染症は、生後 1 週間以内に発症する早期型とそれ以降に発症する遅発型に分けられている。早期型は、妊娠中または分娩時に母体から感染する垂直感染が多く、遅発型は、生後の環境状態から感染する水平感染が多い⁴⁾。

新生児の GBS 感染症を予防するために日本産科婦人科学会・日本産婦人科医会刊行の産婦人科診療ガイドライン—産科編 2017 では、妊娠 35-37 週に GBS 培養検査を行うことが定められている⁵⁾。培養方法に関しては、選択培地の使用が推奨されているが、各施設独自の方法で GBS スクリーニング検査を実施しているのが現状である。一般的には、臍内を拭ったスワブを直接血液寒天培地等に塗布して培養する直接

法が用いられている⁶⁾。

今回我々は、産前の GBS スクリーニング検査では GBS の発育が認められていなかったが、生後 32 日の患児が GBS 増菌培養により感染経路が推定できた遅発型 B 群溶血性レンサ球菌髄膜炎の一例を報告する。

症 例

1. 患者

日齢 32, 男児, 第一子

2. 主訴

発熱, 活気不良, 大泉門膨隆

3. 周産期歴, 既往歴

近医産婦人科において在胎 40 週 6 日体重 2,994 g の正常経産分娩で出生し、その後問題なく経過していた。妊娠 36 週時点の臍培養検査は、GBS は陰性であった。出生後から発症までの栄養方法は完全母乳であった。母体合併症、感染兆候はなかった。

4. 現病歴

入院当日の昼頃から活気不良となり、自宅で経過観察していたが、夜に発熱を認めたため近医を受診した。大泉門の軽度膨隆を認め、髄膜炎の疑いで当院紹介となった。

5. 入院時現症

体重 4,600 g, 身長 53 cm, 体温 39.6℃, 脈拍数 226 bpm, 血圧 102/58 mmHg, 呼吸数 34 回/min, 経皮的動脈血酸素飽和度 98%。咽頭発赤なし, 心音・呼吸音に異常なし, 腹部は平坦で軟, 大泉門は軽度膨隆, 末梢冷感あり, 啼泣は弱々しく, 活気なし。

著者連絡先: (〒078-8510) 北海道旭川市緑ヶ丘東 2 条 1 丁目 1 番 1 号
旭川医科大学病院臨床検査・輸血部
小林延行
TEL: 0166-65-2111 (代表)
E-mail: nobu-kobayashi@asahikawa-med.ac.jp

表 1. 入院時検査結果

血算		生化学検査		感染症検査	
WBC	35×10 ² /μl	TP	5.1 g/dl	グラム染色 (脳脊髄液)	
RBC	350×10 ⁴ /μl	Alb	3.6 g/dl	陽性桿菌	—
Hb	11.5 g/dl	T-Bil	2.9 mg/dl	陽性球菌	少数
Hct	33.1 %	AST	25 U/L	陰性桿菌	—
PLT	23.7×10 ⁴ /μl	ALT	14 U/L	陰性球菌	—
髄液検査		LD	265 U/L	真菌	—
細胞数	4800 /μl	BUN	6.4 mg/dl	コメント	数が少なく形態判定困難
単核球数	450 /μl	Cre	0.15 mg/dl	迅速抗原検査	
多核球数	4350 /μl	Ca	9.4 mg/dl	インフルエンザウイルス (鼻腔)	陰性
糖定量	55 mg/dl	Na	131 mEq/L	RS ウイルス (鼻腔)	陰性
Cl	114 mEq/L	K	4.4 mEq/L	アデノウイルス (咽頭)	陰性
潜血反応	2+	Cl	101 mEq/L	ヒトメタニューモウイルス (鼻腔)	陰性
蛋白定量	788.2 mg/dl	CRP	0.68 mg/dl	A 群溶連菌 (咽頭)	陰性

表 2. 薬剤感受性検査結果

薬剤名	静脈血	
	MIC (μg/ml)	判定
Penicillin G	≤0.06	S
Ampicillin	≤0.12	S
Meropenem	0.03	S
Ceftriaxone	≤0.06	S
Cefepime	≤0.06	S
Chloramphenicol	2	S
Clarithromycin	1	R
Azithromycin	4	R
Clindamycin	0.12	S
Vancomycin	1	S
Levofloxacin	1	S
Linezolid	1	S
Sulfamethoxazole - trimethoprim	≤5	S

※脳脊髄液, 膿培養も同様の感受性結果であった。

6. 入院時検査所見

血液検査では, 白血球数が低下, 血清 CRP が軽度上昇, 低 Na 血症 (Na : 131 mEq/L) を認めた。髄液検査では多核球優位の細胞増多ならびに髄液糖/血糖比が 0.37 と低下を認めた。各種迅速抗原検査は陰性だった (表 1)。頭部エコーにて異常は認めなかった。また胸部 X 線では明らかな浸潤影は認めなかった。

7. 微生物学的検査

提出検体: 髄液, 小児ボトル (1 セット) が提出された。(髄液は 3,000 rpm, 10 分遠心した沈渣物を検体として使用した。)

グラム染色所見: 髄液のグラム染色ではグラム陽性球菌をごく少数認め, 明らかな連鎖やブドウ状形態は認めなかった。連鎖球菌よりも大きな形態を示し推定菌の判定は困難だったが, 年齢的に GBS を疑った。

提出された血液培養 1 セット 1 本 (好気ボトル) は, 6 時間で陽転化し連鎖状のグラム陽性球菌を認めた。

同定検査: 遠心した髄液を NAD 添加羊血液寒天培地/BTB 培地 (日本 BD) とチョコレート寒天培地 (日本 BD)

に塗布した。血液ボトルは, NAD 添加羊血液寒天培地/BTB 培地 (日本 BD) に塗布し, 35°C 18 時間 CO₂ 培養を行った。

翌日, NAD 添加羊血液寒天培地/BTB 培地 (日本 BD) に溶血環の小さいコロニーの発育を認めた。菌株を質量分析装置 (bioMerieux : VITEK-MS) にて *Streptococcus agalactiae* (同定確率 99.9%) と同定した。ストレプト LA 「生研」 (デンカ生研) にて感作ラテックス B に凝集を認め同定報告を行った。

薬剤感受性検査: 薬剤感受性装置 (栄研化学 : DPS192iX) にて測定し, 結果報告を行った (表 2)。

追加検査: 産前の GBS スクリーニング検査陰性であること, GBS 治療中に髄膜炎が再燃したことから, 主治医が母乳感染の可能性を考え, 母親の同意を得て膿培養, 乳汁, 乳房皮膚ぬぐい培養を実施した。乳汁・乳房皮膚ぬぐいを NAD 添加羊血液寒天培地/BTB 培地 (日本 BD) と K1.H チオグリコレート培地 (日本 BD) にて増菌を行ったが, GBS は検出しなかった。また, 膿培養検査でも, CO₂ 培養した NAD 添加羊血液寒天培地/BTB 培地 (日本 BD) から GBS は確認できなかったが, 好気培養した GBS 増菌培地 (極東製薬) では黄変し, 増菌培地から CA 加羊血液寒天培地 (極東製薬) に分離培養した結果 GBS を検出した。

血液培養から検出された GBS と母親の膿培養から検出された GBS を既報の方法⁷⁾⁸⁾に基づいて札幌医科大学衛生学講座にて解析を行った。PCR およびシークエンスによる遺伝子解析を行った結果, この 2 つの GBS は血清型 III 型に属し, 多座位配列型別法 (MLST 法) ではシークエンスタイプ 27 (ST27) であった。

8. 入院後経過

臨床結果と培養検査結果から, GBS 髄膜炎と診断された。入院当日外来にて ceftriaxone (CTRX) 250 mg/day による治療が開始された。入院後, meropenem (MEPM) 180 mg/day + ampicillin (ABPC) 300 mg/day に変更された。入院 2 日目は, MEPM 180 mg × 3 回/day + CTRX 270 mg × 2 回/day が投与され, 入院 3 日目は, 薬剤感受性検査の結果から ABPC 450 mg × 3 回/day に変更された。

4 日目に撮影した頭部単純 MRI で異常所見は認められなかったが, 発熱と解熱を繰り返したため薬剤熱も否定できず,

表3. 再燃時検査結果

血算		生化学検査	
WBC	119×10 ² /μl	TP	5.4 g/dl
RBC	312×10 ⁴ /μl	Alb	3.1 g/dl
Hb	9.6 g/dl	T-Bil	0.4 mg/dl
Hct	28.2 %	AST	21 U/L
PLT	67.6×10 ⁴ /μl	ALT	11 U/L
髄液検査		LD	296 U/L
細胞数	2130 /μl	BUN	4.2 mg/dl
単核球数	530 /μl	Cre	0.13 mg/dl
多核球数	1600 /μl	Ca	9.7 mg/dl
糖定量	22 mg/dl	Na	135 mEq/L
Cl	116 mEq/L	K	4.9 mEq/L
蛋白定量	446.8 mg/dl	Cl	102 mEq/L
		CRP	0.55 mg/dl

13日目に抗菌薬を cefotaxime (CTX) 450 mg×3回/day に変更された。細菌性髄膜炎のガイドライン⁹⁾に準じて21日間抗菌薬 CTX が継続される方針となったが、24日目に発熱があり、頭部撮影 MRI にて髄膜の肥厚、複数の部位に造影効果を認めた。また髄液検査でも細胞数が上昇した結果から髄膜炎の再燃と判断された(表3)。血液培養1セットが提出されたが、髄液検査とともに細菌は認められなかった。

髄膜炎の再燃を受け MEPM 200 mg×3回/day+CTX 450 mg×3回/day を投与された。小児感染症専門医と協議し、37日目より MEPM 220 mg×3回/day 単独投与に変更され、57日目に MEPM 250 mg×3回/day へ投与量が増量され72日目まで投与された。その後、神経学的後遺症なく、再燃兆候なく入院から82日目に退院となった。

入院中に主治医が母親へ各種培養検査結果の報告と次回出産時の注意点について説明した。

考 察

GBS は、新生児の侵襲性感染症の主な原因菌の一つである。早発型・遅発型に関する世界的に発表された研究分析では、発生推定頻度が1000出生児あたり0.53、死亡率が9.6%であると報告されている¹⁰⁾。一方で国内の遅発型 GBS 感染症では、発生推定頻度が1000出生児あたり0.12、死亡率が約4.4%であると報告されている¹¹⁾。また新生児に対して重症化しやすく後遺症を残すことも報告されていることから、感染予防のためにも出生前の GBS スクリーニング検査は非常に重要である。

日本産科婦人科学会の産婦人科診療ガイドライン—産科編2017では、妊娠35~37週に GBS 選択培地を用いたスクリーニング検査を推奨しており、CDC のガイドラインでは、妊娠35~37週に Todd Hewitt Broth に colistin と nalidixic acid を添加した Lim Broth 等による増菌培養を推奨している⁵⁾¹²⁾。今回使用した GBS 増菌培地(極東製薬)は、GBS の発育により糖が分解され培地中のプロムクレゾールパープルが PH の低下により紫色から黄色に変化する。黄色に変化した場合、CA 加羊血液寒天培地等に塗抹を行い GBS の確認を行うが、我が国の微生物検査室では、各施設が独自の方法で GBS スクリーニング検査を実施しているのが現状である⁶⁾。

本症例では、産前の GBS スクリーニング検査を5%羊血液寒天培地のみで判定を行っていた。血液寒天培地と Todd Hewitt Broth に抗菌薬を添加した培地の比較では、Todd Hewitt Broth に抗菌薬を添加した培地が検出率1.9倍に増加し、抗生物質を含む血液寒天培地と Todd Hewitt Broth に抗菌薬を添加した培地を使用した方法との比較では、Todd Hewitt Broth に抗菌薬を添加した培地が検出率1.5倍に増加したという報告がある¹³⁾。この結果から、選択培地を使用することによってコストが上がることに加え操作も煩雑にはなるが、抗菌薬の添加によりグラム陰性桿菌の増殖が抑制され、GBS の検出感度が高まり感染予防に繋がる。

近年の疫学調査では、早発型の106例中80例がスクリーニング陰性の母親から生まれたという報告がある¹¹⁾。本症例も同様に産前のスクリーニングが陰性であった。分娩前の陰性に影響を与える要因としては、検体採取部位、培養方法、採取時期が挙げられる。検体採取部位については、膣のみ検体採取した場合と膣・直腸から検体採取した比較では、膣・直腸からの検体採取が検出率1.4%増加したという報告がある¹³⁾。日本産科婦人科学会の産婦人科診療ガイドライン—産科編2017でも、膣入口部ならびに肛門内から採取することを推奨している。このことから検体採取部位は GBS の検出率に関して大きな影響を与え、検査前準備として検体採取は非常に重要であり、出生後の児の管理に影響すると考えられる。採取時期については、妊婦の保菌状態が変化することがあり陽性と陰性を繰り返すことがあると報告されている¹⁴⁾。妊婦の保菌状態以外の採取時期に注意する点としては、スクリーニング検査が出産前5週間以内であれば GBS 検出感度が87%であるが、6週間以上経過すると検出感度が43%まで低下したという報告がある¹⁵⁾。

妊婦から GBS の有無を確実に検出する方法は現在のところ確立されていない。新生児 GBS 感染症は、死亡率も高く予後不良であるが、分娩時の抗生剤投与により予防効果があることから、GBS の保菌状態を正確に診断することが重要である。そのためには GBS 増菌培地もしくは GBS 選択培地を使用することが必要であり、それにより検出率の向上や感染のリスクを減らすに繋がると考えられる。CDC や日本産科婦人科学会の産婦人科診療ガイドライン—産科編2017を遵守しつつスクリーニング検査法の統一化や迅速性の高い培地の開発等が望まれる。

GBS の型別には10種の莢膜血清型(Ia, Ib, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX)と ST で表される遺伝子型がある。世界の膣や直腸から検出されている血清型は I~V 型で98%を占めている¹³⁾。一方、日本での新生児 GBS 感染症発症例の血清型は、Ia, Ib, III で94%を占めている¹⁶⁾。共通することは、遅発型髄膜炎と診断された血清型は III 型が大部分を占めている¹⁶⁾。今回検出された GBS の莢膜血清型も III 型であり遅発型髄膜炎の診断も一致していた。また、MLST 法に基づく GBS のシーケンスタイプは ST27 であった。Morozumi らが2006年から2011年に調査した報告では、III 型の ST には、ST17(50%)、ST19(26.1%)、ST335(18.2%)、ST27(4.5%)、ST1(1.1%)が報告されている¹⁶⁾。今回、患児から検出した GBS と母親の膣培養の再検査で増菌培地から検出した GBS は莢膜血清 III 型・ST27 と一致した結果で

あり家族からの水平感染が示唆された。患児の日齢での髄膜炎発症が遅いことから垂直感染の可能性は低いと考えられる。よって出生後の髄膜炎発症の可能性が高いと考えた。また乳汁や乳房表面からの GBS が未検出である結果から、母乳に関連した感染は低いと考えられる。垂直感染の可能性が低い一方で、GBS を検出した臍培養の結果から手指を介した水平感染の可能性が高いと考えた。日常の育児の中での手洗いなどに注意する必要があるとの指摘もある¹⁷⁾。今後、出産後の注意点として指導していく必要があると考える。

ST を検査することは、日常検査で実施することは困難であるが、新生児髄膜炎の予防や治療後の再発予測等の疫学の解明に重要であると考えられる。

産前の GBS スクリーニング検査を行い、保菌者に分娩時抗菌薬を予防使用することは早発型の GBS の予防に有効的であるが¹⁸⁾、遅発型において有効性は乏しく現在予防方法は無いと言われている。最も有効な手段として期待されているのがワクチンの開発である。海外では、臨床試験が行われており、ワクチンにより早発型、遅発型の両方に対して効果が期待されている¹⁹⁾。国内においても安全性が十分確認され、ワクチン導入が進み遅発型 GBS 髄膜炎の発生率低下に大きく寄与すると考えられる。

結 語

妊娠 36 週で GBS 培養検査陰性の母体から出生した乳児における GBS 髄膜炎を経験した。

感染経路の推定には増菌培養が有効であった。

利益相反：申告すべき利益相反なし

文 献

- 1) 中山浩次. 2007. p. 469-480, 戸田新細菌学 (改訂 33 版), 南山堂.
- 2) 保坂好恵, 中村文子, 佐野麻衣, 他. 2019. 新規の選択培地である ViGBS 寒天培地による臍および肛門部からの *Streptococcus agalactiae* の検出性能. 医学検査 68 (1): 49-55.
- 3) 船越 徹. 2007. 妊婦の GBS (B 群溶血性連鎖球菌) の管理. 産婦人科治療 95: 26-30.
- 4) 脇本寛子, 矢野久子, 生田克夫, 他. 2002. Group B streptococcus (GBS) による垂直感染に関する文献的考察—助産学の観点からの感染予防, GBS 保菌妊産褥婦へのケアについて. 名古屋市立大学看護学部紀要 2: 11-19.
- 5) 日本産科婦人科学会/日本産婦人科医会. p. 341-342, 産婦人科診療ガイドライン—産科編 2017, 日本産科婦人科学会.
- 6) 渋谷理恵, 山下知成, 渋谷俊介, 他. 2009. 臍スワブを検体とした B 群レンサ球菌の保菌調査における選択増菌培地の有用性. 感染症学雑誌 83: 52-55.
- 7) Imperi, M., M. Pataracchia, G. Alfarone, et al. 2010. A multiplex PCR assay for the direct identification of the capsular

- type (Ia to IX) of *Streptococcus agalactiae*. J. Microbiol. Methods. 80: 212-214.
- 8) Jones, N., J.F. Bohnsack, S. Takahashi, et al. 2003. Multilocus sequence typing system for Group B streptococcus. J. Clin. Microbiol. 41: 2530-2536.
- 9) 日本神経学会, 日本神経治療学会, 日本神経感染症学会. p. 98-111, 細菌性髄膜炎診療ガイドライン 2014, 南江堂.
- 10) Edmond, K.M., C. Kortsalioudaki, S. Scott, et al. 2012. Group B streptococcal disease in infants aged younger than 3 months: systematic review and meta-analysis. Lancet. 379: 547-556.
- 11) Matsubara, K., K. Hoshina, M. Kondo, et al. 2017. Group B streptococcal disease in infants in the first year of life: a nationwide surveillance study in Japan, 2011-2015. Infection. 45: 449-458.
- 12) Verani, J.R., L. McGee, S.J. Schrag. 2010. Division of bacterial diseases, national center for immunization and respiratory diseases, centers for disease control and prevention (CDC): Prevention of perinatal group B streptococcal disease—revised guidelines from CDC. MMWR Recomm. Rep. 59 (RR-10): 1-36.
- 13) Russell, N.J., A.C. Seale, M.O. Driscoll, et al. 2017. Maternal colonization with Group B streptococcus and serotype distribution worldwide: systematic review and meta-analyses. Clin. Infect. Dis. 65: S100-S111.
- 14) Hansen, S.M., N. Uldbjerg, M. Kilian, et al. 2004. Dynamics of *Streptococcus agalactiae* colonization in women during and after pregnancy and in their infants. J. Clin. Microbiol. 42: 83-89.
- 15) Yancey, M.K., A. Schuchat, L.K. Brown, et al. 1996. The accuracy of late antenatal screening cultures in predicting genital group B streptococcal colonization at delivery. Obstet Gynecol. 88: 811-815.
- 16) Morozumi, M., T. Wajima, Y. Kuwata, et al. 2013. Associations between capsular serotype, multilocus sequence type, and macrolide in *Streptococcus agalactiae* isolates from Japanese infants with invasive infections. Epidemiol. Infect. 142: 812-819.
- 17) 赤松 洋, 川上 義, 関 和男, 他. 1988. Nosocomial infection による GBS 敗血症 and/or 髄膜炎. 小児科臨床 41: 391-396.
- 18) Centers for control Disease and prevention. 2002. Prevention of perinatal Group B streptococcal disease. Revised Guidelines from CDC. MMWR Recomm. Rep. 51 (RR-11): 1-22.
- 19) Melin, P., A. Efstratiou. 2013. Group B streptococcal epidemiology and vaccine needs in developed countries. Vaccine. 31 (Suppl 4): D31-42.

Case of late-onset group B streptococcal meningitis in which the transmission route was estimated from an enrichment culture

Nobuyuki Kobayashi¹⁾, Minoru Sakurada²⁾, Yoshiyuki Sakai³⁾, Kousuke Tsuchida³⁾,
Mitsuyo Kawaguchiya⁴⁾, Nobumichi Kobayashi⁴⁾

¹⁾ Department of Clinical Laboratory, Hakodate Municipal Hospital

²⁾ Department of Pharmacy, Hakodate Municipal Hospital

³⁾ Department of Pediatrics, Hakodate Municipal Hospital

⁴⁾ Department of Hygiene, Sapporo Medical University

Group B *Streptococcus* (GBS) is a pathogenic bacterium that causes meningitis in newborns. Obstetrics and gynecological clinical practice guidelines recommend maternal colonization tests cultured on selective media to prevent vertical transmission, but these tests are not sufficiently widespread due to problems such as cost. Here, we present a case in which we took a vaginal culture from the mother of a baby infected with late-onset GBS. We identified GBS only via the selective medium, thus allowing us to determine the infection route. The patient was a 32-day-old infant admitted to the hospital for a fever and lack of vigor. Upon confirming GBS based on pleocytosis in the cerebrospinal fluid as well as cerebrospinal fluid and blood cultures, the patient was diagnosed as having GBS meningitis. However, because the vaginal culture taken from the mother during the 36th week of pregnancy was negative, we performed additional bacterial cultures from another vaginal swab and from her breast milk. The vaginal culture yielded a negative result on the sheep blood agar, and GBS was isolated only from the selective medium. Both breast-milk cultures were negative. The GBS strain detected from the mother was the same as that of the isolate from her infant, suggesting horizontal transmission from the mother. Thus, selective media are useful for GBS carriage testing during pregnancy.