

## 〈資 料〉

# 奨励賞受賞後10年を経て

木村幸司

名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学准教授

(2021年1月26日受付)

## はじめに

私が、2011年度 第13回日本感染症医薬品協会奨励賞を受賞させていただき、10年が経過致しました。受賞タイトルは、「ペニシリン低感受性B群連鎖球菌(Group B streptococci with reduced penicillin susceptibility, PRGBS)の臨床分離、流行株の解析」で、現在まで続くPRGBS研究をご支援していただき心から感謝しております。本稿では、現在では国内外の教科書に紹介していただくに至ったPRGBS研究が、奨励賞受賞後、どのように発展したかを概説させていただきます。

## PRGBS研究の始まり

2006年の46th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC) でPRGBSに関する研究を初めて発表し、公にしました<sup>1)</sup>。

B群レンサ球菌(Group B *Streptococcus*, GBS, *Streptococcus agalactiae*)は、新生児の敗血症、髄膜炎の筆頭原因菌であると共に、高齢者や糖尿病などの基礎疾患のある方に侵襲性感染症を引き起こすことが知られている菌です<sup>2)</sup>。GBS感染症に対するヒト用のワクチンは、現在、海外で臨床治

験が進行中であり、私の知る限り、未だ世界的にみて承認されたものはありません。1940年代のペニシリンの臨床導入以来、我々の報告以前は、臨床分離される、GBSを含む $\beta$ 溶血(完全溶血)レンサ球菌群は、すべて $\beta$ -ラクタム系薬に感性であると考えられてきました<sup>3,4)</sup>。そのため、GBS感染症の予防、治療の第一選択薬は、 $\beta$ -ラクタム系薬、特にペニシリン系薬と考えられていることが多いです<sup>4)</sup>。

そのような中、我々は、ペニシリンの最小発育阻止濃度(Minimum inhibitory concentration, MIC)が、Clinical and laboratory standards institute (CLSI)の定める感性のブレイクポイントを上回る0.25–1  $\mu\text{g/ml}$ を示すPRGBSを臨床分離しました。PRGBSは、ペニシリン結合タンパク質(Penicillin-binding protein, PBP) 2Xにアミノ酸置換を有しており、PRGBSの大部分は、V405A, Q557Eのキー変異のどちらか一方ないしは両方を有していました<sup>5)</sup>。この報告<sup>5)</sup>が、GBSを含む $\beta$ 溶血レンサ球菌群の中で、PBPにアミノ酸置換を獲得して $\beta$ -ラクタム系薬低感受性となった世界で初めての報告に当たります。2008年、我々の報告の数週間後に米国Centers for disease control and prevention (CDC)を中心としたグループからも米国でのPRGBSの分離が報告されました<sup>6)</sup>。さらに我々は、別の医療施設からのPRGBSの臨

床分離<sup>7,8)</sup>やディスク拡散法によるPRGBS検出法の開発<sup>9)</sup>, PRGBSのMulti-locus sequence typing (MLST)による分子疫学解析<sup>10)</sup>を行い, これらの研究を評価していただき, 奨励賞を受賞させていただきました。

## 受賞後の我々のPRGBS研究

奨励賞を受賞させていただき, その後, さらにPRGBS研究を展開させていきました。まず, PRGBSは, ペニシリン低感受性のみならず, 他の機構によって同時にフルオロキノロン系薬耐性, マクロライド系薬耐性であることが多く, 多剤耐性傾向があること<sup>11)</sup>を見出し, そのような多剤耐性PRGBSの院内拡散事例を2件<sup>12,13)</sup>, 信州大学の長野則之教授とともに発表しました。また, 長野教授が中心になって, ペニシリンには感性であるが, PBPにアミノ酸置換を有し, 一部のセファロスポリン系薬のMIC値が上昇した株を報告しました<sup>14)</sup>。これらの株やPRGBSを含め, PBPにアミノ酸置換を有し, 1薬剤でも $\beta$ -ラクタム系薬のMIC値が上昇した株を, 新たにGroup B *Streptococcus* with reduced  $\beta$ -lactam susceptibility, GBS-RBSと呼ぶように提唱しました<sup>15)</sup>。そして, PBPのアミノ酸置換のパターンによってGBS-RBSを分類する分類法を考案しました<sup>15)</sup>。また, PRGBS, 多剤耐性PRGBS, GBS-RBSの分離率を明らかにし, 本邦は, GBS-RBSの報告のある国の中でもっとも高い分離率であることを明らかにしました<sup>16,17)</sup>。このうち, 関らの論文<sup>16)</sup>は, 米国CDCのホームページで紹介されています。

PRGBSに対するペニシリンのMIC値は, CLSIの定める感性のブレイクポイントに近接するため, 大規模医療施設の細菌検査室でよく用いられている自動薬剤感受性装置が正しくPRGBSをペニシリン低感受性と判定できるかが疑問であったため, 実際にPBPにアミノ酸置換を有することを

確認済みのPRGBSを用いて検討したところ, およそ半数のPRGBSがペニシリン感性と誤判定され, 医療現場において, PRGBSが見逃されている可能性を指摘しました<sup>18)</sup>。このPRGBSの検出の問題点を改善するために, 上述のPRGBSを検出できるディスク拡散法の開発<sup>9)</sup>に加え, PRGBS選択培地の開発<sup>19)</sup>, MRSA選択培地でPRGBSを選択培養できる可能性を報告しました<sup>20)</sup>。また, GBS自体の検出を簡便にする目的でGBSを検出できるLAMP法を開発しました<sup>21)</sup>。

さらに, PRGBSの出現時期を推定するため, 1977–2005年の臨床分離GBSをスクリーニングしたところ, 現在のところ, 最古のPRGBSは, 1995年に臨床分離された株であることが分かりました<sup>22)</sup>。また, PBP2XのみならずPBP1Aにもアミノ酸置換を獲得することでセファロスポリン系薬に高度耐性となった株を臨床分離しました<sup>23)</sup>。このことは, 今後, 複数のPBPにアミノ酸置換を獲得し, より幅広い範囲の $\beta$ -ラクタム系薬により高い耐性で低感受性になりうることを示唆しています。また, 羊血液寒天培地上で小型で低溶血性のコロニーを形成し, 検出が難しい多剤耐性PRGBSを臨床分離しました<sup>24,25)</sup>。この株は, 慢性感染や感染の再燃に関わると考えられているSmall colony variantと呼ばれる細菌種の亜群の, 臨床分離GBS初の報告に当たります<sup>24,25)</sup>。

PRGBSは, 主に高齢者の呼吸器系検体から分離されることが多く, 呼吸器系検体由来のペニシリン感性のGBSとの分子疫学的比較解析も実施しました<sup>26)</sup>。また, GBSは, 腔等に同菌を保菌する妊婦から新生児への分娩時の垂直感染が問題になりますので, 妊婦由来のGBSにPRGBSが含まれているかが大きな関心事となりますが, 2013年に報告した調査<sup>27)</sup>ではPRGBSは認められませんでした, 2019年に報告した調査<sup>28)</sup>では, ペニシリンには感性ですが, 一部のセファロスポリン系薬のMIC値が上昇したGBS-RBS 5株が妊婦腔

表1. 74株のPRGBSと80株のPSGBSに対する22種類の抗菌薬・化合物のMIC範囲とMIC<sub>50</sub>とMIC<sub>90</sub>

	AMP	CFZ	CTX	CRO	IPM	MEM	DOR	BIPM	TBPM	FRPM	VAN	TEC	GEN	ABK	LVX	Q/D	DAP	TGC	LZD	NB	API	AUR
PRGBS (n=74)	MIC range (mg/L)	0.06- 0.5	0.03- 1	≤0.015- 1	0.015- 0.06	0.06- 0.25	0.015- 0.12	0.03- 0.5	≤0.007- 0.03	0.03- 0.12	0.25- 0.5	0.06- 0.25	32- >256	64- 256	0.5- 256	0.06- 1	0.25- 1	0.06- 0.25	0.5- 2	0.5- 4	>256	1- 4
	MIC <sub>50</sub> (mg/L)	0.25	0.25	0.5	0.03	0.12	0.06	0.06	0.03	0.06	0.5	0.25	128	128	64	0.25	0.5	0.12	2	2	>256	2
	MIC <sub>90</sub> (mg/L)	0.5	1	1	0.06	0.25	0.12	0.12	0.03	0.12	0.5	0.25	256	256	128	0.5	1	0.25	2	4	>256	4
PSGBS (n=80)	MIC range (mg/L)	0.03- 0.25	0.03- 0.5	0.03- 0.25	≤0.007- 0.03	0.03- 0.25	0.015- 0.06	0.015- 0.12	≤0.007- 0.06	0.015- 0.12	0.5- 1	≤0.03- 0.25	32- 256	64- 512	0.5- 128	0.06- 1	0.25- 2	0.06- 0.5	0.5- 2	0.5- 16	256- >256	1- 4
	MIC <sub>50</sub> (mg/L)	0.12	0.25	0.06	0.015	0.06	0.03	0.03	0.015	0.03	0.5	0.25	128	256	1	0.25	1	0.12	2	4	>256	2
	MIC <sub>90</sub> (mg/L)	0.25	0.25	0.12	0.03	0.06	0.03	0.06	0.015	0.06	1	0.25	128	256	64	0.5	1	0.25	2	4	>256	4

PRGBS (PEN MIC >0.12 mg/L), PSGBS (PEN MIC ≤0.12 mg/L)

略語: PRGBS, group B streptococcus with reduced penicillin susceptibility; PSGBS, penicillin susceptible group B streptococcus; PEN, penicillin G; AMP, ampicillin; CFZ, ceftazolin; CTX, cefotaxime; CRO ceftriaxone; IPM, imipenem; MEM, meropenem; DOR, doripenem; BIPM, biapenem; TBPM, tebipenem; FRPM, faropenem; VAN, vancomycin; TEC, teicoplanin; GEN, gentamicin; ABK, arbekacin; LVX, levofloxacin; Q/D, quinupristin/dalfopristin; DAP, daptomycin; TGC, tigecycline; LZD, linezolid; NB, novobiocin; API, apigenin; AUR, auranofin.

(参考文献 31 Kitamura M, Kimura K, Ido A, et al. Relatively high rate of cefotaxime- and ceftriaxone-non-susceptible isolates among group B streptococci with reduced penicillin susceptibility (PRGBS) in Japan. J Antimicrob Chemother. 2019; 74: 931-4. doi: 10.1093/jac/dky542. から著者が改変し引用)

より分離されました。この報告は、世界初の妊婦由来GBS-RBSの分離報告となります。

また、PRGBSは、本邦でよく使用されているアンピシリンで殺菌されるのに時間のかかる株が多いこと<sup>29)</sup>、in vitroで $\beta$ -ラクタム系薬によりPRGBSが誘導されうること<sup>30)</sup>、PRGBSの中には、細菌性髄膜炎の治療で用いられることが多いセフトキシム、セフトリアキソンに非感性の株が少なからず含まれていること<sup>31)</sup>を報告しました。さらに治療上の参考としていただきたいと思ひ、PRGBSに対してもMIC値が上昇していない薬剤を明らかにし、報告させていただきました<sup>31,32)</sup> (表1)。

## GBS-RBS研究の国際的な動向

我々の2008年のPRGBSの報告<sup>5)</sup>以降、米国<sup>6,33)</sup>、カナダ<sup>34,35)</sup>、イタリア<sup>36)</sup>、ドイツ<sup>37)</sup>、モザンビーク<sup>38)</sup>、中国<sup>39)</sup>、香港<sup>40)</sup>、韓国<sup>41)</sup>から、PBPにアミノ酸置換を確認されたPRGBSを含むGBS-RBSが報告されています。特にモザンビークの例は、米国CDCとの共同研究で、世界初の新生児侵襲性GBS感染症からのPRGBSの分離事例です。我々のPRGBSの論文は、米国CDCが発行している新生児GBS感染症の予防に関するガイドラインや、医学生向けの教科書、標準微生物学(医学書院)や国際的な教科書Manual of Clinical Microbiology (ASM Press)やHuman Emerging and Re-emerging Infections (Wiley Blackwell)などに引用され、紹介されています。また、米国Food and drug administration (FDA)も連邦官報でPRGBSについて注意を促してくれております。

また、我々の研究が契機になり、海外では、他の $\beta$ 溶血レンサ球菌である*Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (SDSE)<sup>42)</sup>や*Streptococcus pyogenes* (GAS)<sup>43,44,45)</sup>においても、PBP2Xにアミノ酸置換

を獲得し、一部の $\beta$ -ラクタム系薬のMIC値が上昇した株が臨床分離され始めてきました。今後、国内の状況<sup>46)</sup>の把握が重要になってくると考えられます。

## 最後に

これ以外にもリンコサミド耐性GBSの解析も報告させていただきました<sup>47)</sup>。

自らが筆頭著者として発表させていただいた2008年の最初のPRGBSの論文<sup>5)</sup>から、多くの先生方のご支援、研究費のご支援などをいただき、国内外の教科書に紹介されるまでPRGBS研究を進展させることができました。関係された多くの先生方に感謝申し上げます。特に、最初のPRGBS株を分離された黒川博史先生、一緒に世界にPRGBS研究を発信し続けてきた長野則之先生、ご指導いただいた荒川宜親先生に深謝いたします。

今後も一つでも多く、教科書に記載される仕事、医療現場に還元できる仕事を推進していきたいと思っております。

## 参考文献

- 1) Kimura K, Wachino J, Kurokawa H, *et al.*: Emergence of penicillin-resistant group B streptococci. In: *Abstracts of the Forty-sixth Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA, 2006*. Abstract C2-1286, p. 128. American Society for Microbiology, Washington, DC, USA.
- 2) Baker CJ: Group B Streptococcal Infections. In: Stevens DL, Kaplan EL, eds. *Streptococcal infections. Clinical aspects, microbiology, and molecular pathogenesis*. Oxford: Oxford University Press, 2000; 222-37.
- 3) Clinical and Laboratory Standards Institute: *Performance Standards for Antimicrobial*

- Susceptibility Testing: Twenty-seventh Informational Supplement M100-S27*. CLSI, Wayne, PA, USA, 2017.
- 4) Schrag S, Gorwitz R, Fultz-Butts K, *et al.*: Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC. *MMWR Recomm Rep*. 2002; 51: 1–22.
  - 5) Kimura K, Suzuki S, Wachino J, *et al.*: First molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52(8): 2890–7.
  - 6) Dahesh S, Hensler ME, Van Sorge NM, *et al.*: Point mutation in the group B streptococcal *pbp2x* gene conferring decreased susceptibility to  $\beta$ -lactam antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52: 2915–8.
  - 7) Nagano N, Nagano Y, Kimura K, Tamai K, Yanagisawa H, Arakawa Y: Genetic heterogeneity in *pbp* genes among clinically isolated group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52(12): 4258–67.
  - 8) Nagano N, Kimura K, Nagano Y, Yakumaru H, Arakawa Y: Molecular characterization of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility recurrently isolated from a sacral decubitus ulcer. *J Antimicrob Chemother*. 2009; 64(6): 1326–8.
  - 9) Kimura K, Wachino J, Kurokawa H, *et al.*: Practical disk diffusion test for detecting group B streptococcus with reduced penicillin susceptibility. *J Clin Microbiol*. 2009; 47(12): 4154–7.
  - 10) Kimura K, Nagano N, Nagano Y, *et al.*: Predominance of sequence type 1 group with serotype VI among group B streptococci with reduced penicillin susceptibility identified in Japan. *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66(11): 2460–4.
  - 11) Kimura K, Nagano N, Nagano Y, *et al.*: High frequency of fluoroquinolone- and macrolide-resistant streptococci among clinically isolated group B streptococci with reduced penicillin susceptibility. *J Antimicrob Chemother*. 2013; 68(3): 539–42.
  - 12) Nagano N, Nagano Y, Toyama M, *et al.*: Nosocomial spread of multidrug-resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility belonging to clonal complex 1. *J Antimicrob Chemother*. 2012; 67(4): 849–56.
  - 13) Nagano N, Koide S, Hayashi W, *et al.*: Population-level transition of capsular polysaccharide types among sequence type 1 group B *Streptococcus* isolates with reduced penicillin susceptibility during their long-term hospital epidemic. *Int J Antimicrob Agents*. 2019; 53(3): 203–10.
  - 14) Nagano N, Nagano Y, Toyama M, Kimura K, Shibayama K, Arakawa Y: Penicillin-susceptible group B streptococcal clinical isolates with reduced cephalosporin susceptibility. *J Clin Microbiol*. 2014; 52(9): 3406–10.
  - 15) Kimura K, Nagano N, Arakawa Y: Classification of group B streptococci with reduced  $\beta$ -lactam susceptibility (GBS-RBS) based on the amino acid substitutions in penicillin-binding proteins (PBPs). *J Antimicrob Chemother*. 2015; 70(6): 1601–3.
  - 16) Seki T, Kimura K, Reid ME, *et al.*: High isolation rate of multi-drug resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility in Japan. *J Antimicrob Chemother*. 2015; 70(10): 2725–8.
  - 17) Banno H, Kimura K, Seki T, *et al.*: High isolation rate and multidrug resistance tendency of penicillin-susceptible group B *Streptococcus* with reduced ceftibuten susceptibility in Japan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018; 37(8): 1511–9.
  - 18) Kimura K, Nagano N, Nagano Y, Wachino J, Shibayama K, Arakawa Y: Ability of the VITEK<sup>®</sup> 2 system to detect group B streptococci with reduced penicillin susceptibility (PRGBS). *J Antimicrob Chemother*. 2013; 68(6): 1442–4.
  - 19) Kamiya C, Kimura K, Doyama Y, *et al.*: Ceftibuten-containing agar plate for detecting group B streptococci with reduced penicillin susceptibility (PRGBS). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015; 82(4): 269–73.
  - 20) Fukigai S, Morimoto M, Kimura K, *et al.*: Effectual detection of group B streptococci with

- reduced penicillin susceptibility (PRGBS) by commercially available methicillin-resistant-*Staphylococcus aureus* (MRSA)-selective agar. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016; 85 (3): 309–12.
- 21) Kimura K, Yanagisawa H, Wachino J, Shibayama K, Arakawa Y: Rapid and reliable loop-mediated isothermal amplification method for detecting *Streptococcus agalactiae*. *Jpn J Infect Dis.* 2013; 66 (6): 546–8.
  - 22) Kimura K, Nishiyama Y, Shimizu S, *et al.*: Screening for group B streptococci with reduced penicillin susceptibility (PRGBS) in clinical isolates obtained between 1977 and 2005. *Jpn J Infect Dis.* 2013; 66 (3): 222–5.
  - 23) Kimura K, Wachino J, Kurokawa H, *et al.*: High cephalosporin resistance due to amino acid substitutions in PBP1A and PBP2X in a clinical isolate of group B streptococcus. *J Antimicrob Chemother.* 2013; 68 (7): 1533–6.
  - 24) Banno H, Kimura K, Tanaka Y, *et al.*: Characterization of multi-drug-resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility (PRGBS) forming small non- $\beta$ -hemolytic colonies on sheep blood agar plates. *J Clin Microbiol.* 2014; 52 (6): 2169–71.
  - 25) Banno H, Kimura K, Tanaka Y, *et al.*: Analysis of multidrug resistant group B streptococci with reduced penicillin susceptibility forming small, less hemolytic colonies. *PLoS ONE* 2017; 12 (8): e0183453.
  - 26) Yamada R, Kimura K, Nagano N, *et al.*: Comparative analysis of penicillin-susceptible and non-susceptible isolates in group B streptococci by multilocus sequence typing. *Jpn J Infect Dis.* 2015; 68 (4): 326–9.
  - 27) Kimura K, Matsubara K, Yamamoto G, Shibayama K, Arakawa Y: Active screening of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility and altered serotype distribution, isolated from pregnant women in Kobe, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2013; 66 (2): 158–60.
  - 28) Moroi H, Kimura K, Kotani T, *et al.*: Isolation of group B Streptococcus with reduced  $\beta$ -lactam susceptibility from pregnant women. *Emerg Microbes Infect.* 2019; 8 (1): 2–7.
  - 29) Taniguchi R, Kimura K, Miyazaki A, *et al.*: High rate of slowly-killed-by-ampicillin phenotype among group B streptococci with reduced penicillin susceptibility (PRGBS). *J Antimicrob Chemother.* 2017; 72 (3): 941–2.
  - 30) Koide S, Hayashi W, Taniguchi Y, *et al.*: Potential effect of selective pressure with different  $\beta$ -lactam molecules on the emergence of reduced susceptibility to  $\beta$ -lactams in group B *Streptococcus*. *Microbiol Immunol.* 2019; 63 (2): 65–76.
  - 31) Kitamura M, Kimura K, Ido A, *et al.*: Relatively high rate of cefotaxime- and ceftriaxone-non-susceptible isolates among group B streptococci with reduced penicillin susceptibility (PRGBS) in Japan. *J Antimicrob Chemother.* 2019; 74: 931–4. doi: 10.1093/jac/dky542.
  - 32) Ushino T, Jin W, Wachino J, Arakawa Y, Kimura K: Daptomycin susceptibility of group B *Streptococcus*. *Jpn J Infect Dis.* 2020; doi: 10.7883/yoken.JJID.2020.371.
  - 33) Metcalf BJ, Chochua S, Gertz RE Jr, *et al.*: Short-read whole genome sequencing for determination of antimicrobial resistance mechanisms and capsular serotypes of current invasive *Streptococcus agalactiae* recovered in the USA. *Clin Microbiol Infect.* 2017; 23: 574.e7–574.e14
  - 34) Gaudreau C, Lecours R, Ismaïl J, *et al.*: Prosthetic hip joint infection with a *Streptococcus agalactiae* isolate not susceptible to penicillin G and ceftriaxone. *J Antimicrob Chemother.* 2009; 65: 594–5.
  - 35) Longtin J, Vermeiren C, Shahinas D, *et al.*: Novel mutations in a patient isolate of *Streptococcus agalactiae* with reduced penicillin susceptibility emerging after long-term oral suppressive therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011; 55: 2983–5.
  - 36) Piccinelli G., G. Carlentini, F. Gargiulo, *et al.*: Analysis of point mutations in the *pbp2x*, *pbp2b*, and *pbp1a* genes of *Streptococcus agalactiae* and their relation with a reduced susceptibility to cephalosporins. *Microb Drug Resist.* 2017; 23: 1019–24.
  - 37) van der Linden M, Mamede R, Levina N, *et al.*:

- Heterogeneity of penicillin-non-susceptible group B streptococci isolated from a single patient in Germany. *J Antimicrob Chemother.* 2020; 75 (2): 296–9. doi: 10.1093/jac/dkz465.
- 38) Sigaúque B, Kobayashi M, Vubil D, *et al.*: Invasive bacterial disease trends and characterization of group B streptococcal isolates among young infants in southern Mozambique, 2001–2015. *PLoS One.* 2018; 13 (1): e0191193. doi: 10.1371/journal.pone.0191193. eCollection 2018.
- 39) Hu Y., Y. Kan, Z. Zhang, *et al.*: New mutations of penicillin-binding proteins in *Streptococcus agalactiae* isolates from cattle with decreased susceptibility to penicillin. *Microb Drug Resist.* 2018; 24: 1236–41.
- 40) Li C, Sapugahawatte DN, Yang Y, Wong KT, Lo NWS, Ip M: Multidrug-Resistant streptococcus agalactiae strains found in human and fish with high penicillin and cefotaxime non-susceptibilities. *Microorganisms.* 2020; 8 (7): 1055. doi: 10.3390/microorganisms8071055.
- 41) Yi A, Kim C-K, Kimura K, *et al.*: First case in Korea of group B *Streptococcus* with reduced penicillin susceptibility harboring amino acid substitutions in penicillin-binding protein 2X. *Ann Lab Med.* 2019; 39 (4): 414–6.
- 42) Fuursted K, Stegger M, Hoffmann S, *et al.*: Description and characterization of a penicillin-resistant *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* clone isolated from blood in three epidemiologically linked patients. *J Antimicrob Chemother.* 2016; 71 (12): 3376–80. doi: 10.1093/jac/dkw320.
- 43) Southon SB, Beres SB, Kachroo P, *et al.*: Population genomic molecular epidemiological study of macrolide-resistant *Streptococcus pyogenes* in Iceland, 1995 to 2016: Identification of a large clonal population with a *pbp2x* mutation conferring reduced *in vitro*  $\beta$ -lactam susceptibility. *J Clin Microbiol.* 2020; 58 (9): e00638-20.
- 44) Musser JM, Beres SB, Zhu L, *et al.*: Reduced *in vitro* susceptibility of *Streptococcus pyogenes* to  $\beta$ -lactam antibiotics associated with mutations in the *pbp2x* gene is geographically widespread. *J Clin Microbiol.* 2020; 58 (4): e01993-19. doi: 10.1128/JCM.01993-19.
- 45) Vannice KS, Ricaldi J, Nanduri S, *et al.*: *Streptococcus pyogenes pbp2x* mutation confers reduced susceptibility to  $\beta$ -lactam antibiotics. *Clin Infect Dis.* 2020; 71 (1): 201–4. doi: 10.1093/cid/ciz1000.
- 46) Suzuki T, Kimura K, Suzuki H, *et al.*: Have group A streptococci with reduced penicillin susceptibility emerged? *J Antimicrob Chemother.* 2015; 70 (4): 1258–9.
- 47) Moroi H, Kimura K, Ido A, *et al.*: Erythromycin-susceptible but clindamycin-resistant phenotype of *ermB*-PCR-positive clinical group B streptococci having IS1216E-inserted *ermB*. *Jpn J Infect Dis.* 2019; 72 (6): 420–2. doi: 10.7883/yoken.JJID.2019.015.
-