

【原著・臨床】

男子淋菌性尿道炎由来淋菌の各種抗菌薬に対する感受性

1999～2004年分離株の比較

各務 裕¹⁾・遠藤 勝久²⁾・鈴木 博雄³⁾・清田 浩¹⁾・小野寺昭一¹⁾・東京 STD 懇話会¹⁾東京慈恵会医科大学泌尿器科学講座(現 東京慈恵会医科大学附属青戸病院泌尿器科*)²⁾JR 東京総合病院泌尿器科³⁾立正佼成会附属佼成病院泌尿器科

(平成17年7月1日受付・平成17年7月20日受理)

1999年から2004年までに東京慈恵会医科大学附属病院ならびに首都圏の関連病院を受診した男子淋菌性尿道炎患者の尿道から分離された *Neisseria gonorrhoeae* 277株と咽頭から分離された4株、計281株の cefixime(CFIX), ceftam pivoxil(CFTM-PI), ceftriaxone(CTR), cefodizime(CDZM), spectinomycin(SPCM), levofloxacin(LVFX)に対する抗菌薬感受性を測定し、年次的推移を検討した。さらに、これらのうちCFIXに対するMICが0.5 μg/mL以上の10株を対象として、その遺伝子パターンを pulsed-field gel electrophoresis(PFGE)により解析した。2004年における各抗菌薬に対する耐性菌の割合はCFIXでは5.9%, CFTM-PIでは20.8%そしてLVFXでは80.2%であったが、CTR, CDZMそしてSPCMに対する耐性株はなかった。2004年に分離された淋菌に対する各抗菌薬のMIC₉₀は2003年と比較してほぼ変化がなく、経口セフェム系薬の耐性も特に進んでいなかった。咽頭由来淋菌4株のMICは尿道由来株と比較して1管程度高い値であった。β-lactamase産生菌は1999年には2.4%, 2003年には5.2%, 2004年には5.0%に認められた。CFIX耐性株のPFGEの解析では、4種類のパターンが認められ、このうち同じパターンが10株中7株を占めたが、分離年度あるいは分離地域に特定の傾向を認めなかったため、CFIX耐性株は同じクローンのアウトブレイクではないと考えられた。

Key words: *Neisseria gonorrhoeae*, male urethritis, drug-susceptibility, pulsed-field gel electrophoresis(PFGE)

近年、わが国をはじめとして東アジア地域を中心に淋菌のフルオロキノロン系薬に対する耐性化が大きな問題となってきた。フルオロキノロン系薬耐性淋菌の増加後は経口セフェム系薬が淋菌感染症の重要な治療薬として推奨された¹⁾。しかし、この経口セフェム系薬に対する耐性淋菌が認められ、治療失敗例も報告されつつある²⁾。さらに、性風俗の多様化に伴い口腔性交を介する感染者が増加していることも淋菌感染症の蔓延の一因となっている。そこで、今回われわれは1999年から2004年に淋菌性尿道炎患者から分離された淋菌に対する各種抗菌薬の最小発育阻止濃度(MIC)を測定し、その年次推移について検討した。さらにこれらの臨床分離株のうち、CFIX低感受性株の遺伝子パターンを pulsed-field gel electrophoresis(PFGE)により解析し、疫学的傾向の有無を検討したので報告する。

I. 対象と方法

1. 対象淋菌株

1999年から2004年までの間に東京慈恵会医科大学附属病院ならびに首都圏の関連病院を受診した男子淋菌性

尿道炎患者から分離された淋菌281株を対象とした。分離された時期は、1999年41株、2000年57株、2001年24株、2003年58株そして2004年101株である。これらのうちの4株は2004年に咽頭から分離され、そのうちの3株については同一症例の尿道からも淋菌が分離された。

2. 検討項目

1) 抗菌薬感受性試験

分離された男子尿道炎由来淋菌株に対する各種抗菌薬の最小発育阻止濃度(minimally inhibitory concentration: MIC)をClinical Laboratory Standards Institute(CLSI)法に準じた寒天平板希釈法³⁾で行った。対象とした抗菌薬はcefixime(CFIX), ceftam pivoxil(CFTM-PI), ceftriaxone(CTR), cefodizime(CDZM), spectinomycin(SPCM)そしてlevofloxacin(LVFX)の6薬剤で、それらのNCCLSによるbreak pointはCFIX, CFTM-PI,そしてCTRが0.25 μg/mL, CDZMおよびLVFXが0.125 μg/mL,そしてSPCMが32 μg/mLである。なお、薬剤

Table 1. Distribution of MICs of each antimicrobial agent against *N. gonorrhoeae*

agent	year	No. of strains	MIC range (µg/mL)	MIC ₅₀ (µg/mL)	MIC ₉₀ (µg/mL)	breakpoint	rate of susceptible strains (%)
cefixime	1999	41	0.002 - 0.12	0.008	0.03	0.25	100
	2000	57	0.001 - 0.5	0.008	0.25		93.0
	2001	24	0.004 - 0.25	0.03	0.25		100
	2003	58	0.002 - 0.5	0.002	0.25		96.6
	2004	101	0.002 - 0.5	0.015	0.25		94.1
cefteram-pivoxil	1999	41	0.002 - 0.5	0.06	0.12	0.25 *	92.7
	2000	57	0.004 - 0.5	0.015	0.5		87.7
	2001	24	0.002 - 0.25	0.06	0.25		100
	2003	58	0.008 - 1	0.12	0.5		77.6
	2004	101	0.002 - 2	0.06	0.5		79.2
ceftriaxone	1999	41	0.001 - 0.06	0.008	0.015	0.25	100
	2000	57	0.001 - 0.06	0.004	0.06		100
	2001	24	0.001 - 0.06	0.015	0.03		100
	2003	58	0.002 - 0.12	0.03	0.12		100
	2004	101	0.002 - 0.12	0.015	0.06		100
cefodizime	1999	41	0.002 - 0.25	0.03	0.06	0.5 **	100
	2000	57	0.002 - 0.12	0.015	0.06		100
	2001	24	0.002 - 0.12	0.01	0.06		100
	2003	58	0.002 - 0.12	0.03	0.12		100
	2004	101	0.002 - 0.25	0.03	0.12		100
spectinomycin	1999	41	4 - 16	8	16	32	100
	2000	57	2 - 8	2	4		100
	2001	24	4 - 16	16	16		100
	2003	58	2 - 16	8	16		100
	2004	101	2 - 16	8	8		100
levofloxacin	1999	41	0.002 - 16	0.5	8	0.125 **	41.5
	2000	57	0.004 - 8	0.5	4		38.6
	2001	24	0.008 - > 8	4	> 8		12.5
	2003	58	0.004 - 16	4	8		17.2
	2004	101	0.004 - 16	2	8		19.8

* breakpoint of cefixime was substituted

** breakpoint of cefotaxime was substituted

** twice value of breakpoint of ofloxacin

耐性淋菌の定義は米国疾病管理予防センター (Centers for Disease Control and Prevention: CDC) の淋菌抗菌薬感受性サーベイランスプロジェクト⁴⁾に準じた。

2) β-lactamase の検出

β-lactamase の検出はニトロセフィン法で行った。

3) PFGE 解析

今回の臨床分離株のうちで、CFIX の MIC が 0.5 µg/mL 以上であった 10 株について、この遺伝子パターンを pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) により解析した。方法は菌をアガロースゲルに包埋後、lysozyme を用いて溶菌し、proteinase k により蛋白分解した後、制限酵素 *SpeI* (Takara) で 35, 8 時間処理をした。泳動は、パルスフィールドゲル電気泳動システム (CHEF-DR II, Bio-Rad Laboratories) を用い、1% アガロースゲル、パルスタイム 5~15 秒、電圧 200V で 20 時間行い、泳動後のゲルをエチジウムブロマイドで染色し、泳動パターンを比較した。

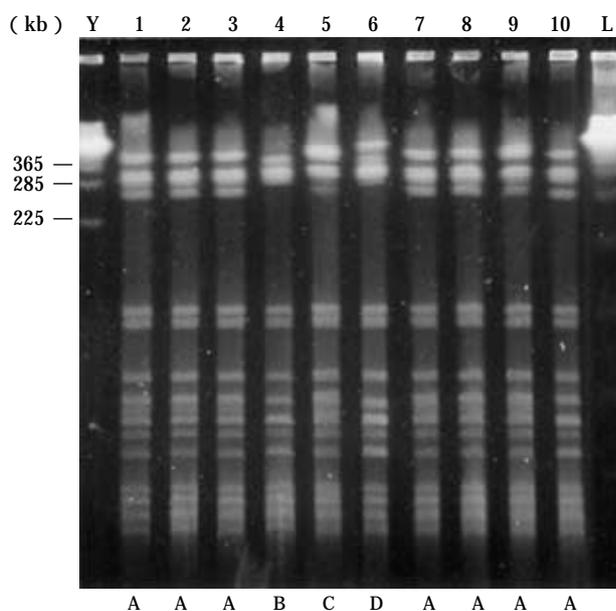
II. 結 果

1. 淋菌の抗菌薬感受性の推移

1999 年から 2004 年にかけての各抗菌薬の MIC および感受性についての結果を示す (Table 1)。CFIX に関しては、1999 年から 2000 年にかけて MIC₉₀ が 0.03 µg/mL から 0.25 µg/mL に上昇したものの、それ以降は変動せず、MIC₅₀ も 1999 年以降大きな変動は認められず、感受性率は 90% 以上を維持していた。CFTM-PI も CFIX 同様 1999 年から 2000 年にかけて MIC₉₀ は 0.12 µg/mL から 0.5 µg/mL に上昇したが、それ以降は大きな変化はなく、MIC₅₀ もほぼ一定であった。しかし、CFTM-PI に対する感受性率は 2003 年以降に 70% 台にまで低下した。CTRX は 1999 年から 2000 年にかけて MIC₉₀ が 0.015 µg/mL から 0.06 µg/mL に上昇したが、それ以降はほぼ一定であり、MIC₅₀ は 1999 年には 0.008 µg/mL であったものが 2003 年には 0.03 µg/mL まで上昇したが 2004 年には 0.015 µg/mL となっていた。CTRX の MIC₉₀ は 1999 年以降上昇傾向にあるが breakpoint より低値であり 2004 年

Table 2. Comparison of MICs of each antimicrobial agent against *N. gonorrhoeae* strain isolated from urethra and pharynx

Case No.	Sample	antimicrobial agent						-lactamase
		Cefixime	Cefterampivoxil	Ceftriaxone	Cefodizime	Spectinomycin	Levofloxacin	
9	urine	0.015	0.06	0.015	0.03	8	2	
	pharynx	0.015	0.06	0.015	0.03	8	4	
17	pharynx	0.015	0.12	0.03	0.06	16	4	
29	urine	0.008	0.06	0.008	0.015	8	2	
	pharynx	0.008	0.06	0.015	0.03	16	2	
35	urine	0.25	0.5	0.06	0.06	4	2	
	pharynx	0.25	0.5	0.06	0.06	8	4	

Fig. 1. PFGE patterns of CFIX-resistant *N. gonorrhoeae* strains.

の時点ではまだ CTRX 耐性淋菌は認められなかった。CDZM は 1999 年以降 MIC₅₀, MIC₉₀ とともにほぼ一定であり, CDZM 耐性淋菌は 2004 年の時点では認めなかった。SPCM の MIC₅₀ と MIC₉₀ も CDZM と同様に 1999 年以降変化を認めず, 2004 年の時点で SPCM 耐性淋菌は認められなかった。LVFX の MIC₅₀ と MIC₉₀ はともに調査した 5 年間を通じて高値であり, 感受性率は 2001 年以降 10% 台まで低下した。

咽頭由来の淋菌は 4 株あり, 同一症例の尿道から分離された 3 株との各抗菌薬に対する感受性の比較を行ったところ, 両者はほぼ同等であった (Table 2)。

β -lactamase 産生菌は 9 株認め, すべて尿道からの分離株であった。分離年度別では, 1999 年が 1 株 (2.4%), 2003 年が 3 株 (5.2%), 2004 年が 5 株 (5.0%) であった。

2. CFIX 耐性淋菌の PFGE パターン

CFIX に対する MIC が 0.5 μ g/mL 以上の CFIX 耐性株

の遺伝子パターンを PFGE により解析したが, その結果 Fig. 1 に示すように, A~D の 4 パターンが認められ, このうちパターン A が 7 株と最も多かった。A パターンの年度別内訳は 1999 年が 2 株, 2000 年が 3 株そして 2003 年が 2 株であり, 特定の年度に集中することはなかった。さらに, この A パターンは特定の地域に偏ることなく東京 23 区および横浜地区の広範囲に分布していた。また, PFGE パターンと抗菌薬感受性には相関性が認められなかった (Table 3)。

III. 考 察

近年, 性活動の若年化や多様化に伴い淋菌感染症やクラミジア感染症をはじめとした性感染症の増加が問題視されている。1988 年以來行われている厚生労働省 STD 定点動向調査⁵⁾では淋菌感染症は 1991 年から 1994 年にかけて一度減少したものの, 1995 年から再び増加傾向にある。田中らは福岡市において 1994 年から 2000 年にかけて男性の淋菌感染症は 3.6 倍に増加していると報告している⁶⁾。このようなわが国における淋菌感染症の蔓延の原因としては口腔性交を介した感染者の増加やフルオロキノロン系薬耐性をはじめとする薬剤耐性淋菌の増加が指摘されている⁷⁾。近年の検討ではペニシリン系薬に関し, β -lactamase 産生淋菌 (penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*: PPNG) は非常に少なく, そのほとんどが CDC の淋菌抗菌薬感受性サーベイランスプロジェクト⁸⁾で定義されている染色体性ペニシリン系薬耐性淋菌であった。フルオロキノロン系薬耐性淋菌の出現は 1993 年に岡崎らが報告⁹⁾して以来増加傾向にある。1980 年代に登場したフルオロキノロン系薬は, 当時ペニシリン系薬耐性淋菌やテトラサイクリン系薬耐性淋菌にも強い抗菌力を示しただけでなく, 同時期に非淋菌性尿道炎の起炎菌として明らかとなった *Chlamydia trachomatis* に対しても有効であったため, 淋菌性尿道炎に対する第一選択薬として使用されるようになった。しかし, このようなフルオロキノロン系薬の繁用がフルオロキノロン系薬耐性淋菌を蔓延させ¹⁰⁾, 1999 年に日本性感染症学会の淋菌感染症に対するガイドライン¹¹⁾ではフル

Table 3 PFGE patterns of CFIX-resistant *N. gonorrhoeae* strains and their drug-susceptibility

No	year of isolation	PFGE pattern	MIC ($\mu\text{g/mL}$)					
			CFIX	CFTM-PI	CTRX	CDZM	LVFX	SPCM
1	2000	A	0.5	0.5	0.06	0.06	8	4
2	2000	A	0.5	0.5	0.12	0.12	8	4
3	2000	A	0.5	0.5	0.06	0.06	8	4
4	2000	B	0.5	0.5	0.06	0.06	4	4
5	2000	C	0.5	0.5	0.06	0.12	0.5	4
6	1999	D	0.5	0.5	0.06	0.06	4	4
7	1999	A	0.5	1	0.06	0.06	0.25	4
8	1999	A	0.5	0.5	0.06	0.06	8	4
9	2003	A	0.5	1	0.12	0.12	16	8
10	2003	A	0.5	0.5	0.12	0.12	8	8

オロキノロン系薬は淋菌感染症の治療薬として推奨されず経口薬ではセフェム系薬が推奨されている。その後、経口セフェム系薬耐性菌も徐々に増加しつつあり、2004年の性感染症診断・治療ガイドライン¹²⁾ではSPCM 2.0 g単回投与、CTRX 1.0 g単回投与、CDZM 1.0 g単回投与が推奨されており、経口セフェム系薬に関してはCFIX 400 mg 1~3日投与も代替治療法として提示されているが、投与後に淋菌の消失を確認することを奨めている。今回のわれわれの検討でも淋菌に対して調査した5年間を通じて100%の感受性を示したものは、CTRX、CDZM、SPCMの3薬剤であったが、これらのうちCTRXはそのMIC₉₀が徐々に上昇しつつあり、CTRX耐性淋菌の出現が懸念される。

欧米先進諸国と比べてわが国でフルオロキノロン系薬耐性をはじめとする抗菌薬耐性淋菌が蔓延している理由として淋菌感染症に対する薬剤の投与量ならびに投与方法に問題があるためと考えられる。CDCでは淋菌感染症の治療には注射薬、経口薬いずれの場合にも単回投与での治療を推奨している¹³⁾。単回で十分量を投与することで確実に淋菌を除菌するということである。一方、わが国では経口抗菌薬を1日2~3回に分けて7~14日間連続投与する方法が一般的であったため、服薬の忘れや自己判断による服薬中断などにより、その結果生き残った淋菌が薬剤耐性を獲得し蔓延していったとの指摘もある¹⁴⁾。今回の検討により、ガイドラインにあるように単回投与で確実に除菌する方法を普及させていく必要があると考えられた。咽頭に存在する淋菌は抗菌薬の種類によっては抗菌化学療法に対して抵抗性を示すことが少なくないといわれており¹⁵⁾、性器と咽頭に淋菌が同時に感染している患者に対しては治療により性器の淋菌は消失しても咽頭の淋菌は残存して潜伏感染する可能性がある¹⁶⁾。このような理由により特に風俗女性が無自覚のまま口腔性交を介して淋菌を拡散していることも考えられ

る。エイズ予防キャンペーンの影響によりソープランド女性においてはコンドームの使用頻度が増加し、これらの女性における淋菌およびクラミジア感染率が有意に減少しており、コンドームの適正使用などの啓蒙活動は重要かつ意義のあるものと考えられる¹⁷⁾。今後われわれ医療従事者は口腔性交による感染者が減少するよう、STDの危険性を患者に説明することはいうまでもなく、口腔性交のみでもSTDに感染することを社会一般へも啓蒙していくことが重要であると考えられた。

今回、CFIXに対するMICが0.5 $\mu\text{g/mL}$ 以上の10株のPFGEタイプには4パターンが認められたがこのうちAパターンが10株中7株に認められ、分離された年度に特定の傾向を認めず、東京23区および横浜地区の広範囲に分布し、CFIX以外の薬剤感受性パターンも一定ではなかった。したがって、これらのCFIX耐性淋菌は同一クローンによるアウトブレイクではないと考えられた。雑賀ら¹⁸⁾は特定の一地域に存在する株と、地域に関係なく広く分布している株も存在し、これは人の流動形態が関与しているであろうと示唆している。今後は抗菌薬耐性淋菌の分布状況を把握するうえで、抗菌薬耐性株の分布率と遺伝子パターンの解析をさらに進めていくことが重要であると考えられた。

本論文の要旨は日本性感染症学会第17回学術大会(2004年12月5日、東京)において発表した。

文 献

- 1) 日本性感染症学会 編：性感染症診断・治療ガイドライン 2002。日性感染症会誌 13: 26~30, 2002
- 2) 前田真一, 久保田恵章, 玉木正義, 他：男子淋菌性尿道炎に対するセフィキシム 400 mg, 分2, 3日間投与の細菌学的効果の検討。日性感染症会誌 14: 121~124, 2003
- 3) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically four edi-

- tion. Approved standard M7-A4. NCCLS, Pennsylvania, 1997
- 4) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing: Eleventh informational M100-S11. NCCLS, Wayne. Pa., 2001
 - 5) 熊本悦明, 塚本泰司, 西谷 巖, 他: 本邦における性感染症流行の実態調査(疾患, 性, 年令別, 10万人・年対罹患率), 1998年度報告。日性感染症会誌 10: 40~60, 1999
 - 6) 田中正利, 江頭稔久, 津江裕昭, 他: 淋菌感染症の治療に関する臨床のおよび基礎的検討。西日泌尿 64: 324~337, 2002
 - 7) 田中正利: 薬剤耐性淋菌, ニューキノロン耐性を中心に。福岡医誌 90: 371~376, 1999
 - 8) Fox K K, Knapp J S, Holmes K K, et al: Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the United States, 1988-1994: The emergence of decreased susceptibility to the fluoroquinolones. J Infect Dis 175: 1396~1403, 1997
 - 9) 岡崎武二郎, 町田豊平, 小野寺昭一, 他: ニューキノロン耐性淋菌の検出。日性感染症会誌 4: 88~95, 1993
 - 10) 米田尚生, 藤本佳則, 宇野雅博, 他: 男子尿道炎由来淋菌の薬剤感受性の年次推移。日化療会誌 52: 31~34, 2004
 - 11) 日本性感染症学会 編: 性感染症診断・治療 guideline (日本性感染症学会 1999年度版)。日性感染症会誌 10: 13~38, 1999
 - 12) 日本性感染症学会 編: 性感染症診断・治療ガイドライン 2004。日性感染症会誌 15: 8~13, 2004
 - 13) Gonococcal infections. Sexually Transmitted Disease Treatment Guidelines: CDC: MMWR Recommendations and Reports Vol. 51 No. RR-6, 36~42, 2002
 - 14) 根岸壮治, 水野智弥, 大村 稔, 他: STD(性行為感染症)の推移と問題点 多剤耐性淋菌感染症の治療。埼玉県医学会雑誌 38: 571~576, 2002
 - 15) 田中正利: STDと薬剤耐性 淋菌。日性感染症会誌 13: 44~58, 2002
 - 16) 三嶋廣繁, 二宮望祥, 玉舎輝彦: 難治化する淋菌感染症~咽頭部への淋菌感染。感染と抗菌薬 5: 267~269, 2002
 - 17) Tanaka M, Nakayama H, Sakumoto M, et al: Reduced chlamydial infection and gonorrhoea among commercial sex workers in Fukuoka City, Japan. Int J Urol 5: 471~475, 1998
 - 18) 雑賀 威, 伊与田貴子, 金山明子, 他: 川崎市および福岡市で分離された *Neisseria gonorrhoeae* の各種抗菌薬感受性および疫学的検討。日性感染症会誌 14: 111~116, 2003

Drug-susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* strains isolated from male patients with gonococcal urethritis against antimicrobial agents

Their comparisons from 1999 to 2004

Yutaka Kagami¹⁾, Katsuhisa Endo²⁾, Hiroo Suzuki³⁾, Hiroshi Kiyota¹⁾,
Shoichi Onodera¹⁾ and Tokyo STD study group

¹⁾Department of Urology, The Jikei University School of Medicine

(Present: Department of Urology, The Jikei University affiliated Aoto Hospital, 6-41-2 Aoto Katsushika-ku, Tokyo, Japan)

²⁾Department of Urology, JR Tokyo General Hospital

³⁾Department of Urology, Kosei Hospital

We investigated drug-susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* strains, which were isolated from the urethras and pharynx of the male patients with urethritis between 1999 and 2004, against cefixime(CFIX), cefteram pivoxil(CFTM-PI), ceftriaxone(CTRX), cefodizime(CDZM), spectinomycin(SPCM), levofloxacin(LVFX). Among these strains, 10 strains, which were highly resistant to CFIX (MIC = 0.5 μ g/mL), were analyzed their gene pattern using pulsed-field gel electrophoresis(PFGE). Drug-resistant rates in 2004 against CFIX, CFTM-PI, CTRX, CDZM, SPCM and LVFX were 5.9%, 20.8%, 0%, 0%, 0%, and 80.2%, respectively. MICs 90 against the strains isolated in 2004 did not change compared to those in 2003. MICs against four strains isolated from pharynx were twice higher than those from urethras. The incidences of β -lactamase producing strain were 2.4% in 1999, 5.2% in 2003, 5.0% in 2004, respectively. From gene analysis using PFGE, four gene patterns were recognized. Among them, 7 had the same gene pattern, which was detected from the strains isolated in each year and from different areas, indicating that this appearance of CFIX-resistant strains was not due to an outbreak of the same clone.