

関東地方で分離された *Neisseria gonorrhoeae* の抗菌薬感受性とセファロスポリン感受性の低下

大神田敬¹, 眞野容子², 後藤美江子³, 古谷信彦^{1,2}

¹ 文京学院大学大学院 保健医療科学研究科

² 文京学院大学 保健医療技術学部 臨床検査学科

³ 東京大学附属病院

要旨

本研究は2005年11月～2010年5月までに関東地方で分離された *Neisseria gonorrhoeae* 100株の薬剤感受性の測定とcephalosporin系薬に対する感受性の経年的変化の検討を行った。Penicillin G, tetracycline, ciprofloxacin, levofloxacinの感受性率はそれぞれ2%, 7%, 12%, 14%と低く, これら4薬剤は有効性が低いことが示唆された。CefiximeのMIC₅₀, MIC₉₀は, 1997～1999年では $\leq 0.015 \mu\text{g/ml}$, $0.06 \mu\text{g/ml}$ であったのに対し, 2007～2010年には $0.125 \mu\text{g/ml}$, $0.5 \mu\text{g/ml}$ と約10年間でMIC₅₀が低感受性, MIC₉₀が耐性まで上昇していた。Ceftriaxoneでは2005～2006年は $0.03 \mu\text{g/ml}$, $0.125 \mu\text{g/ml}$, 2007～2010年には $0.125 \mu\text{g/ml}$, $0.25 \mu\text{g/ml}$ とMICの上昇が認められ, 同薬に対する耐性株も1株分離された。今回, 近年の関東地方における *N. gonorrhoeae* のceftriaxoneに対する感受性の低下と耐性株の分離が確認されたことにより, 淋菌感染症治療がさらに困難になる可能性が示唆された。

キーワード

Neisseria gonorrhoeae, 薬剤感受性, cefixime, ceftriaxone

序論

近年, 淋菌感染症は大きな変貌を遂げており, その要因の1つに感染部位の問題が挙げられている。これまでの淋菌感染症は, 男性では尿道炎, 女性では子宮頸管炎が一般的であった。しかし近年, 咽頭をはじめとする様々な部位への感染や, 全身感染によって関節に感染する播種性淋菌症が見られるようになった。淋菌感染症が拡散している要因に性行為の多様化が挙げられており, 特にオーラルセックス(口腔性交)の氾濫による口腔内の感染が問題視されている。男性感染者の多くが性風俗店で働いている女性(commercial sex worker: CSW)から感染しており, オーラルセックスでの感染率は40%を占めている。また, “CSWではない”女性の咽頭からも60%の割合で淋菌が検出されたとの報告もある¹⁾。厚生労働

省と国立感染症研究所が行っている感染症発生動向調査によると, 我が国における淋菌感染症は2002年をピークに年々減少傾向にあり, 男性では20代後半, 女性では20代前半を中心に感染・分離されている²⁾。しかし, 女性感染者の多くには自覚症状がなく, 治療行為を行わずに保菌者として他のパートナーに感染させてしまうことが問題となっている。*Neisseria gonorrhoeae*は他の菌種に比べ薬剤耐性を獲得しやすく, これまでにペニシリンやテトラサイクリンなど治療の中心とされていた薬剤に対する耐性菌が出現してきた³⁻⁷⁾。近年, fluoroquinolone-resistant *N. gonorrhoeae* (QRNG)の増加, azithromycin (AZM)高度耐性株の出現, さらには第三世代経口セフェムで最も抗菌力の強いcefixime (CFIX)の感受性低下も報告されており, 治療薬選択の幅が極端に制限されている^{8, 9)}。これらの背景により, 日本の性感染症診断・治療

ガイドラインは ceftriaxone (CTR), ceftazidime (CDZM), spectinomycin (SPCM) の非経口抗菌薬3剤を推奨している¹⁰⁾。しかし、2009年に京都のCSWの咽頭からCTRに高度耐性(2µg/ml)を示すH041株が世界で初めて分離され、2010年にはフランスの男性間性交渉者(Men who have sex with men: MSM)からもCTR高度耐性株(F89株)の分離が報告された^{11, 12)}。CTR高度耐性株(MIC: CTR 1-2µg/ml, CFIX 4-8µg/ml)の出現と拡散は淋菌感染症治療を極めて困難にすることが危惧されており、それらのMICの動向を調査することは今後の淋菌感染症治療において重要である。

今回我々は2005年11月から2010年5月に関東近郊の検査センターで分離された*N.gonorrhoeae*の各種抗菌薬感受性を測定し、各種耐性株の分離状況の検討を行うとともに、CFIXおよびCTR感受性の経年的変化を検討した。

材料と方法

1. 使用菌株

2005年11月から2010年5月までの約6年間に関東地方の検査センターで分離された*N.gonorrhoeae* 100株(2005年10株, 2006年29株, 2007年33株, 2008年13株, 2009年9株, 2010年6株)を対象とした。

2. 使用抗菌薬

ペニシリン系の penicillin G (PCG, MPバイオメディカルズ ジャパン株式会社, 東京), セフェム系の CFIX (藤沢薬品工業株式会社, 東京), CTR (シグマ アルドリッチ ジャパン株式会社, 東京), アミノグリコシド系の SPCM (シグマ アルドリッチ ジャパン株式会社), マクロライド系の AZM (LKT ラボラトリーズ株式会社, アメリカ), テトラサイクリン系の tetracycline (TC, 和光純薬株式会社, 東京), フルオロキノロン系の ciprofloxacin (CPFX, 和光純薬株式会社), levofloxacin (LVFX, LKT ラボラトリーズ株式会社) を用いた。

3. 薬剤感受性試験

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) の標準法¹³⁾に基づき、1% Iso VitaleX (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社 BD, 東京) を含む GC agar base (BD) を用いた寒天平板希釈法にて最少発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) を測定した。接種菌量は 10⁴CFU/spot とし、5% 炭酸ガス下 35℃ にて培養し、24 時間後と 48 時間後の 2 回判定を行った。さらに、アシドメトリー法にて β-lactamase 産生の有無を検討した。測定成績は CLSI の MIC Interpretive Standards¹⁴⁾ に基づ

き、各薬剤感受性を算出した。また、調査期間を 2005 年-2006 年 (n=39), 2007-2010 年 (n=61) に区切り、過去に検討した 1997-1999 年 (n=56) と 2003-2004 年 (n=57) を加えて、CFIX と CTR の抗菌薬感受性の経年的変化を検討した。

結果

1. 背景

男女比は男性 6 : 女性 3 で、年齢は 10 代, 20 代, 30 代, 40 代, 50 代, 不明がそれぞれ 8%, 47%, 14%, 12%, 9%, 10% であり、その大半を 20 代が占めていた。検査材料は膣分泌物, 尿, 尿道分泌物, その他がそれぞれ 36%, 34%, 29%, 1% であった。

2. 薬剤感受性試験

今回分離された 100 株の各薬剤に対する成績を Fig.1 に示した。PCG に対して感受性, 低感受性, 耐性を示した株の頻度はそれぞれ 2%, 37%, 61% とほとんどの株が低感受性から耐性であった。また、PPNG の検出頻度は 4% と低かった。セフェム系薬の CFIX, CTR に対しては感受性がそれぞれ 45%, 57%, 低感受性が 38%, 42%, 耐性が 17%, 1% であった。SPCM に対して 1 株のみ低感受性を示したが、その他は全て感受性であった。AZM に対しては 51% が感受性, 37% が低感受性, 12% が耐性であった。TC に対しては 7% が感受性, 20% が低感受性, 73% が耐性と PCG 同様ほとんどの株が低感受性から耐性であった。フルオロキノロン系薬の CPFX, LVFX に対して耐性を示した株の頻度はそれぞれ 88%, 85% と今回検討した抗菌薬の中で一番高かった。

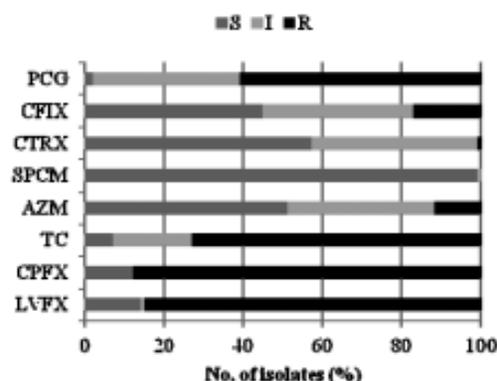


Fig.1 Percentage of antimicrobial agents susceptibility of *N.gonorrhoeae* isolates (n=100)

3. 経年的変化

CFIX の MIC₅₀ は 1997-9 年 $\leq 0.015 \mu\text{g/ml}$, 2003-4 年 $0.06 \mu\text{g/ml}$, 2005-6 年 $0.06 \mu\text{g/ml}$, 2007-10 年 $0.125 \mu\text{g/ml}$ であり, MIC₉₀ は 1997-9 年 $0.06 \mu\text{g/ml}$, 2003-4 年 $0.25 \mu\text{g/ml}$, 2005-6 年 $0.25 \mu\text{g/ml}$, 2007-10 年 $0.5 \mu\text{g/ml}$ と 10 年ほどで MIC₅₀ は低感受性に, MIC₉₀ は耐性にまで上昇していた (Table 1). また, 同薬に対し感受性を示す株の頻度は 2005-6 年 51.3%, 2007-10 年 41.0%, 低感受性は 2005-6 年 35.6%, 2007-10 年 39.3%, 耐性は 2005-6 年 13.1%, 2007-10 年 19.7% であり, 低感受性および耐性株の増加がみられた (Fig.2). CTRX の MIC₅₀ は 2005-6 年 $0.03 \mu\text{g/ml}$, 2007-10 年 $0.125 \mu\text{g/ml}$ であり, MIC₉₀ は 2005-6 年 $0.125 \mu\text{g/ml}$, 2007-10 年 $0.25 \mu\text{g/ml}$ とわずか 6 年で両者とも低感受性まで上昇していた (Table 1). また, 同薬に対し感受性を示す株の頻度は 2005-6 年 66.7%, 2007-10 年 49.2%, 低感受性は 2005-6 年 33.3%, 2007-10 年 49.2%, 耐性は 2005-6 年 0%, 2007-10 年 1.6% であり, 低感受性株の増加と耐性株の出現がみられた (Fig.2).

考察

フルオロキノロン系薬は 1999 年に推奨薬から除外されたが, 2000 年以降も QRNG は増加傾向を示し, 近年では

80% 以上の株が耐性を獲得している^{15, 16)}. 今回の検討でも CPFIX, LVFX 耐性株の頻度は 88%, 85% と極めて高く, その MIC も $16 \mu\text{g/ml}$ 以上と高値であった. さらに, QRNG はわが国のみならず世界各国でも問題になっており, 特に東南アジアでは 67 ~ 83%, ヨーロッパでは 42 ~ 52%, オーストラリアでは 38% と高い分離頻度が報告されている¹⁷⁻¹⁹⁾.

このようなことから, 淋菌感染患者の受診数が多い第一線の性感染症クリニックの外来では, 現在推奨されている注射薬より使用しやすい CFIX などの経口セフェム系薬の使用頻度が増加していることが考えられる. その結果, 経口セフェム系薬に対する耐性化が進行し新たな問題となっている^{15, 16, 20)}. 今回の検討でも CFIX に感受性であった株は 45% と低く, 1997 ~ 1999 年には MIC₅₀, MIC₉₀ ともに感受性であったが, 年々 MIC が上昇し, わずか 10 年で MIC₅₀ が低感受性, MIC₉₀ が耐性にまで上昇していた. 現在 CTRX が初期治療薬として最も多く選択されているが, 今回その MIC₉₀ は 2005 ~ 2006 年にはすでに低感受性を示しており, わずか 5 年で MIC₅₀ も低感受性にまで上昇していることが認められ, さらに CTRX 耐性株 (MIC: $0.5 \mu\text{g/ml}$) が 1 株分離された. 近年 CTRX 耐性株の検出頻度の増加や MIC の上昇が報告されているため, 同薬に対する耐性化にも十分な注意を払う必要がある^{11, 21, 22)}.

Table 1 Susceptibility of *N. gonorrhoeae* to cefixime and ceftriaxone

	CFIX MICs ($\mu\text{g/mL}$)			CTRX MICs ($\mu\text{g/mL}$)		
	50%	90%	Range	50%	90%	Range
1997-9 (n=56)	≤ 0.015	0.06	$\leq 0.015-0.125$	ND	ND	ND
2003-4 (n=57)	0.06	0.25	$\leq 0.015-0.5$	ND	ND	ND
2005-6 (n=39)	0.06	0.5	$\leq 0.015-0.5$	0.03	0.125	$\leq 0.015-0.25$
2007-10 (n=61)	0.125	0.5	$\leq 0.015-2$	0.125	0.25	$\leq 0.015-0.5$

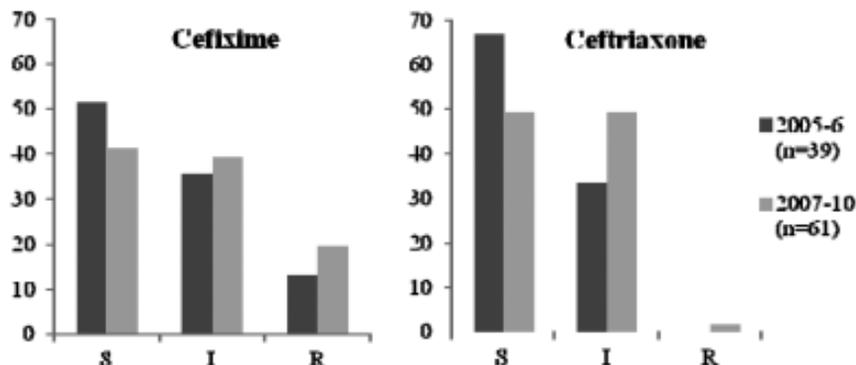


Fig.2 Percentage of antimicrobial agents susceptibility to cefixime and ceftriaxone

CFIX と CTRX の耐性化について米国疾患予防センター (CDC) は、2007 年にキノロン系薬への耐性化が進行したときと類似していると分析しているが、現在の治療方針を超える効果のある治療の選択肢がないことが懸念されている。CDC は、セファロスポリン系薬は今後も引き続き第一選択薬として使用可能であるが、治療不成功例の出現に十分注意し、発生が確認された場合は直ちに報告するよう医療関係者に呼びかけている^{23, 24)}。また、国立感染症研究所の大西真らは、近い将来 CTRX 耐性株は本物のスーパーバグとなり治療不可能な淋菌感染症が出現すると憂慮し、新しい治療薬の開発を提言している²⁵⁾。

セカンドラインとして使用されることの多い AZM は 2g 単回投与で咽頭感染でも有効性が高いとされているが、同時に高度耐性株の分離も報告されている^{9, 15, 26)}。今回の検討でも耐性株が 12% 分離され、感受性株は全体の半数のみであった。また、AZM はクラミジアとの重複感染治療薬に推奨されているため、同薬に対する感受性に関しても他の薬剤同様、今後も注意深く観察する必要があることが示唆された。

WHO と CDC は、*N. gonorrhoeae* に対する感受性が 95% 未満の抗菌薬は、初期治療として使用すべきではないとの勧告をしているため²⁷⁾、今回検討した 8 薬剤で確実に初期治療に用いることの出来る抗菌薬は SPCM のみであることが示唆された。しかし、SPCM は唾液移行性が悪く治療域に達しないため、咽頭感染には用いることが出来ない。近年の多剤耐性淋菌の出現に伴い、有効とされる抗菌薬は CDZM, CTRX, SPCM の 3 薬剤のみであるとされているが、今回の検討で CTRX に対する感受性率はすでに 60% を下回っており、治療前に必ず感受性の確認を行う必要があることが示唆された。そして今後、これらの抗菌薬に対する耐性株の出現または増加の可能性も否定出来ない。淋菌感染症の拡大ならびに新たな薬剤耐性株の出現を防止するうえでも、抗菌薬の適切な投与や本人のみならず、セックス・パートナーを含めた治療が望まれる。

引用文献

- 1) 松本哲朗：変貌する淋菌感染症。三菱化学メディエンス Forum 2008 特別号。
- 2) 感染症情報、性感染症報告数、厚生労働省ホームページ <http://www.mhlw.go.jp/topics/2005/04/tp0411-1.html>
- 3) Muratani T, Akasaka S, Kobayashi T, *et al*: Outbreak of cefozopran (penicillin, oral cepheims, and aztreonam)

- resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 3603-6.
- 4) Akasaka S, Muratani T, Yamada Y, *et al*: Emergence of cephem- and aztreonam-high-resistant *Neisseria gonorrhoeae* that does not produce β -lactamase. *J Infect Chemother* 2001; 7: 49-50.
- 5) Tanaka M, Nakayama H, Notomi T, *et al*: Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Japan, 1993—2002: continuous increasing of ciprofloxacin-resistant isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 24 (Suppl 1) : S15-22.
- 6) Ito M, Yasuda M, Yokoi S, *et al*: Remarkable increase in central Japan in 2001-2002 of *Neisseria gonorrhoeae* isolates with decreased susceptibility to penicillin, tetracycline, oral cephalosporins, and fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 3185-7.
- 7) Ito M, Deguchi T, Mizutani K, *et al*: Emergence and spread of *Neisseria gonorrhoeae* clinical isolates harboring mosaic-like structure of penicillin-binding protein 2 in central Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 137-43.
- 8) Ochiai S, Ishiko H, Yasuda M, *et al*: Rapid detection of the mosaic structure of the *Neisseria gonorrhoeae penA* gene, which is associated with decreased susceptibilities to oral cephalosporins. *J Clin Microbiol* 2008; 46: 1804-10.
- 9) Bignell C, Garley J: Azithromycin in the treatment of infection with *Neisseria gonorrhoeae*. *Sex Transm Infect* 2010; 86: 422-6.
- 10) 性感染症 診断・治療ガイドライン 2011. 日本性感染症学会誌 2011; 22 (Supplement) : 6-13.
- 11) Ohnishi M, Saika T, Hoshina S, *et al*: Ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae*, Japan. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 148-9.
- 12) Unemo M, Golparian D, Nicholas R, *et al*: High-level cefixime- and ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in France: novel penA mosaic allele in successful international clone causes treatment failure. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56 (3) : 1273-80.
- 13) Clinical and Laboratory Standards Institute: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard-Eighth Edition. M07-A8. Wayne, PA, 2009.
- 14) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth informational supplement. M100-S20.

- Wayne, PA, 2010.
- 15) 小野寺昭一, 清田浩, 遠藤勝久・他: 男子淋菌性尿道炎由来 *N. gonorrhoeae* の各種抗菌薬に対する感受性と cefixime 低感受性 *penA* 遺伝子の解析. 日本化学療法学会誌 2011; 59: 17-24.
 - 16) 田中正利, 霧島正浩, 雑賀威・他: 日本全国から分離された淋菌の抗菌薬感受性に関する調査. 日本感染症学会誌 2011; 85: 360-5.
 - 17) WHO Western Pacific and South East Asian Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme: Surveillance of antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the WHO Western Pacific and South East Asian regions, 2007-2008. *Commun Dis Intell* 2010; 34: 1-7.
 - 18) Cole MJ, Chisholm SA, Hoffmann S, *et al*: European Surveillance of Sexually Transmitted Infections Network. European surveillance of antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Sex Transm Infect* 2010; 86: 427-32.
 - 19) Tapsall JW, Limnios EA, Murphy D: Analysis of trends in antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Australia, 1997-2006. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61: 150-5.
 - 20) Vanessa G. A, David J. F, Anuradha R, *et al*: Molecular Analysis of Antimicrobial Resistance Mechanisms in *N. gonorrhoeae* Isolates from Ontario, Canada. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 703-12.
 - 21) Tapsall J, Read P, Carmody C, *et al*: Two cases of failed ceftriaxone treatment in pharyngeal gonorrhoea verified by molecular microbiological methods. *J Med Microbiol* 2009; 58: 683-7.
 - 22) R Kirkcaldy, E Murray, C Del Rio, *et al*: Cephalosporin susceptibility of isolates in the USA, 2000-2010. *Sex Transm Infect* 2011; 87: A26 doi: 10.
 - 23) Sexually Transmitted Diseases (STDs), Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Home Page. <http://www.cdc.gov/std/Gonorrhoea/>.
 - 24) Update to CDC's 2010 Sexually Transmitted Disease Treatment Guidelines: Oral Cephalosporins No Longer Recommended Treatment for Gonococcal Infections. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, Vol.61, 31, August 10, 2012.
 - 25) Ohnishi M, Daniel G, Shimuta K, *et al*: Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhoea?: detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 3538-45.
 - 26) Dan M, Poch F, Amitai Z, *et al*: Pharyngeal gonorrhoea in female sex workers: Response to a single 2g dose of azithromycin. *Sex Transm Dis* 2006; 33: 512-5.
 - 27) Workowski, K. A., *et al*: Emerging antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: urgent need to strengthen prevention strategies. *Ann. Intern. Med.* 148: 606-613, 2008.

Antimicrobial Susceptibility and Decreased Cephalosporins Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* Isolates in the Kanto Region, Japan

Takashi Okanda¹, Yoko Mano², Mieko Goto³, Nobuhiko Furuya^{1, 2}

¹Graduate School of Health Care Science, Graduate School of Bunkyo Gakuin University

²Department of Clinical Laboratory Medicine, Faculty of Health Science Technology,
Bunkyo Gakuin University

³University of Tokyo Hospital

Abstract

We performed antimicrobial susceptibility testing of 100 *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Kanto, Japan from November 2005 to May 2010. Susceptible to penicillin G, tetracycline, ciprofloxacin, and levofloxacin, were 2%, 7%, 12%, and 14%, respectively. These results indicate that efficacy of the 4 agents were very low. The MIC₅₀ and MIC₉₀ to cefixime was $\leq 0.015 \mu\text{g/ml}$ and $0.06 \mu\text{g/ml}$ in 1997-1999, but increased $0.125 \mu\text{g/ml}$ and $0.5 \mu\text{g/ml}$ in 2007-2010. Also, MIC₅₀ of ceftriaxone increased from $0.03 \mu\text{g/ml}$ in 2005-2006 to $0.125 \mu\text{g/ml}$ during 2007-2010, and MIC₉₀ increased from $0.125 \mu\text{g/ml}$ to $0.25 \mu\text{g/ml}$. These results observed that emergence of resistant strains and reduced susceptibility to CTRX, and suggest gonococcal infection treatment may be more difficult in future.

Key words ——— *Neisseria gonorrhoeae*, Antimicrobial susceptibility, cefixime, ceftriaxone

Bunkyo Journal of Health Science Technology vol.5: 1-6