Neisseria gonorrhoeae 臨床分離株の薬剤感受性の検討

東邦大学医学部付属大森病院臨床検査部[1)]，東邦大学医学部微生物学教室[2)]，
東邦大学医学部付属佐倉病院泌尿器科[3)]
村上日奈子[1)]　松本　哲哉[1)2)]　鈴木　九里[3)]　樫谷　総子[2)]
古谷　信彦[1)2)]　舘田　一博[1)2)]　山口　惠三[1)2)]

（平成 12 年 12 月 11 日受付）
（平成 13 年 4 月 5 日受理）

Key words：　*Neisseria gonorrhoeae*, drug susceptibility, fluoroquinolone

要　旨

東邦大学医学部付属大森病院において 1994 年 1 月より 1998 年 12 月までの 5 年間に，泌尿生殖器由来の検体から分離された *Neisseria gonorrhoeae* 98 株の各種抗菌薬に対する感受性を年次推移を含めて比較検討した．β-lactamase 産生株は 98 株中 4 株（4.1%）とわずかであった．β-lactam 系抗菌薬においては全体的にペニシリン系に比べてセフェム系に対して良好な感受性を示し，特に ceftriaxone は全株の MIC が≦0.06μg/ml と今回検討を行った薬剤の中で最も高い抗菌活性を示した．マクロライドに対しては 1 株のみ erythromycin と clarithromycin に対して 64μg/ml と高い MIC を示す株が存在したが，他の株は MIC が全て≦2μg/ml と良好な感受性を示した．今回検討対象とした菌株からは minocycline に対する耐性株は認めなかった．キノロン系では ciprofloxacin に対する MIC が≧1μg/ml と耐性を示す株が 10 株（10.2%）認められ，これらの耐性株は他の 4 種のキノロン系抗菌薬に対しても耐性を示した．キノロン耐性株は 1994 年，1995 年には 1 株も認めなかったが 1996 年に 5.3%，1997 年に 29.4% と増加傾向を認めたことから，今後もキノロン耐性を含めた耐性菌の動向を注意深く観察していく必要があると考えられた．

〔感染症誌　75：551～556，2001〕

序　文

淋菌感染症は *Neisseria gonorrhoeae* の感染により発症する代表的な Sexually Transmitted Diseases（STD）のひとつである．淋菌感染症は 1980 年代に AIDS がマスコミで騒がれた影響などにより減少傾向がみられていたが，ここ数年で再び増加傾向にあることが報告されている[1)]．薬剤感受性については従来までペニシリナーゼ産生 *N. gonorrhoeae*（PPNG）の存在が問題となっていたが，最近では世界的にキノロン耐性 *N. gonorrhoeae* の分離頻度の増加が注目されるようになってきた[2)～5)]．特にアジア地域を中心として高い頻度でキノロン耐性株が分離されており[5)～7)]，本邦でもキノロン耐性淋菌の増加を示唆する報告がみられるようになってきた[8)9)]．そこで今回我々は，わが国における *N. gonorrhoeae* の薬剤感受性状況を明らかにし，各種耐性菌に対して有効な抗菌薬を調べることを目的として 1994 年から 5 年間に東邦大学医学部付属大森病院において淋菌性尿道炎の患者から分離された *N. gonorrhoeae* の薬剤感受性について年次推移を含めて検討を行った．

別刷請求先：（〒143-8541）東京都大田区大森西 6―11―1
東邦大学医学部付属大森病院臨床検査部
村上日奈子

平成13年 7 月20日

対象と方法

1. 使用菌株

使用菌株は1994年1月より1998年12月までの5年間に東邦大学医学部付属大森病院において94例の淋菌感染症患者（男性90症例，女性4症例）の泌尿生殖器由来検体から分離された *N. gonorrhoeae* 98株を用いた．98株の内訳は尿道分泌物由来89株，尿由来5株，膣分泌物由来4株であった．また精度管理用として *N. gonorrhoeae* ATCC 49226株を用いた．

2. 対象抗菌薬

対象抗菌薬はNational Committee for Clinical Laboratory Standards（NCCLS）のガイドライン[10]および各種文献[1)3)6)11)12)]等を参考に選択した．ペニシリン系抗菌薬としてampicillin（ABPC）およびclavulanic acid/amoxicillin（CVA/AMPC），セフェム系抗菌薬としてcefotaxime（CTX），ceftazidime（CAZ），ceftriaxone（CTRX）およびflomoxef（FMOX），テトラサイクリン系抗菌薬としてminocycline（MINO），マクロライド系抗菌薬としてerythromycin（EM），azithromycin（AZM）およびclarithromycin（CAM），キノロン系抗菌薬としてlevofloxacin（LVFX），tosufloxcin（TFLX），ciprofloxacin（CPFX），sparfloxacin（SPFX）およびfleroxacin（FLRX）の以上15薬剤を用いた．

3. 薬剤感受性測定法

薬剤感受性の測定はNCCLSに準じ[10]，寒天平板希釈法にて行った．被検菌をチョコレートII寒天培地（BBL）で24時間前培養後，生理食塩水でMcFarland 0.5相当に調製し，さらに10倍希釈を行った．GC Agar Base（BBL）に1%のIsoVitaleX Enrichment（BBL）と各種濃度の抗菌薬を添加して薬剤含有のGC寒天培地を作成し，ミクロプランター（佐久間製作所）にて10^4CFU/spotとなるように接種した．培養条件は35℃，5%CO_2の条件下で20～24時間培養後に判定を行った．

4. β-lactamaseの検出

β-lactamaseの検出は菌の同定を兼ねて，IDテスト・HN20-ラピッド「ニッスイ」（日水製薬）を用いてアシドメトリー法により判定を行った．

成　績

1. 当施設における *N. gonorrhoeae* の年次別分離頻度の推移

今回対象とした98株の年次ごとの分離状況は，1994年に15株（15.3%），1995年に15株（15.3%），1996年に19株（19.4%），1997年に17株（17.3%），および1998年に32株（32.7%）と1998年を除くと年間の分離株数はほぼ横ばいであった．

2. β-lactamaseの産生株の分離頻度

N. gonorrhoeae の薬剤耐性として重要視されていたペニシリナーゼ産生について検討を行ったところ，PPNGは1994年から1997年までそれぞれ1年間に1株づつ認めたが1998年には1株も存在せず全体として98株中4株（4.1%）しか認めなかった．

3. 薬剤感受性成績

β-lactam系抗菌薬に対する薬剤感受性累積分布をFig. 1に示した．全体的にペニシリン系抗菌薬に比べてセフェム系抗菌薬の方がより良好な抗菌活性を示し，中でもCTRXに対しては全ての株が≦0.06μg/mlと最も高い感受性を認めた．β-lactamaseインヒビターとの合剤であるCVA/AMPCおよびABPCの2剤に対する感受性を比較してみると全体的に両者に明らかな差は認められなかった．しかし，データには示していないがPPNGの4株についてはABPCとCVA/AMPCでは2管以上の差が認められた．

Fig. 1 Cumulative distribution of MICs in 98 clinical isolates of *N. gonorrhoeae* against β-lactams. Drug susceptibilities were evaluated by agar dilution method

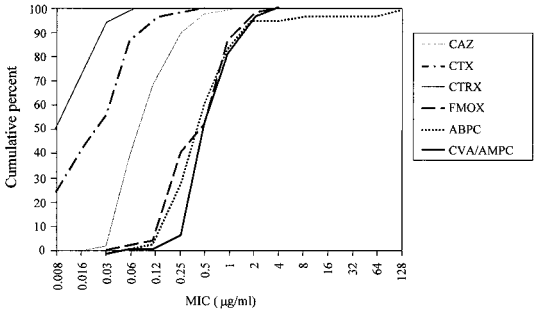


Fig. 2 Cumulative distribution of MICs in 98 clinical isolates of *N. gonorrhoeae* against minocycline and macrolides. Drug susceptibilities were evaluated by agar dilution method

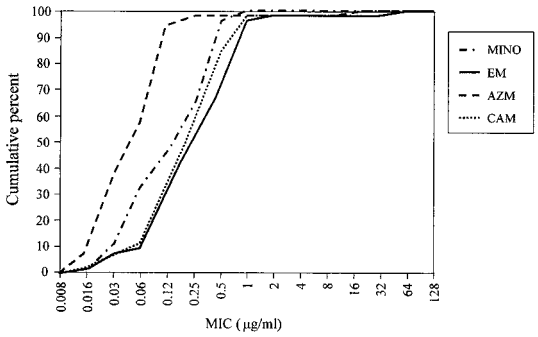
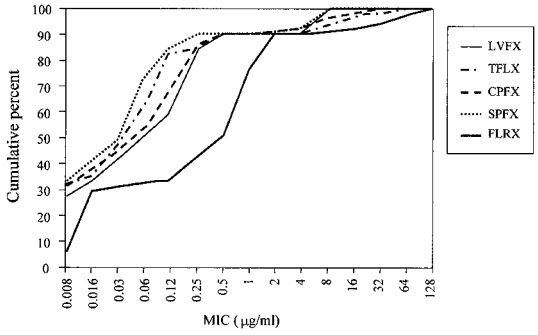


Fig. 3 Cumulative distribution of MICs in 98 clinical isolates of *N. gonorrhoeae* against fluoroquinolones. Drug susceptibilities were evaluated by agar dilution method



マクロライド系抗菌薬および MINO に対する薬剤感受性累積分布を Fig. 2 に示した．マクロライドでは EM と CAM に対してはほぼ同等の感受性分布を示したのに比べ，AZM はそれら 2 薬剤に比べ 2〜3 管程度低い MIC 分布を示した．MINO に対しては全株の MIC が≦1μg/ml と良好な感受性を示した．

キノロン系抗菌薬については Fig. 3 に示したように今回検討を行った 5 剤の中では SPFX が最も高い抗菌活性を示し，FLRX は他剤に比べて 2 管程度耐性側にシフトしていた．またキノロン系抗菌薬全てに対して MIC が≧1μg/ml を示す株が 1 割程度認められた．

Fig. 4 Number of strains MICs in 98 clinical isolates of *N. gonorrhoeae* against levofloxacin and ciprofloxacin

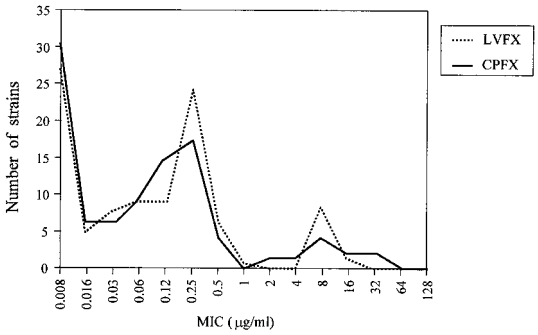
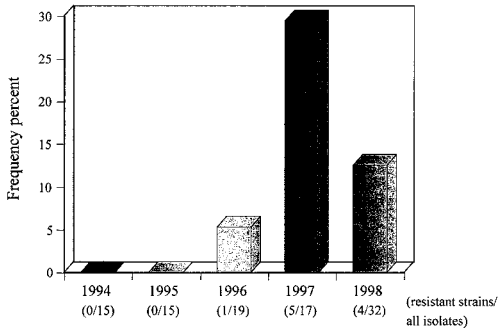


Fig. 5 Annual incidence of fluoroquinolone resistant strains *N. gonorrhoeae*, 1994—1998



さらに *N. gonorrhoeae* の LVFX および CPFX に対する感受性分布を Fig. 4 に示した．LVFX および CPFX に対する感受性はともに類似の分布を示し，MIC が 0.016μg/ml と 1μg/ml あたりを境として MIC が 0.008μg/ml をピークとする感性の群，MIC が 0.25μg/ml をピークとする中等度耐性の群，および MIC が 8μg/ml をピークとする耐性の群と三峰性の感受性パターンを示した．

4. キノロン耐性株の年次推移

NCCLS のカテゴリーを基準に CPFX の MIC が≧1μg/ml を耐性として[10]，キノロン耐性 *N. gonorrhoeae* の分離頻度の年次推移を Fig. 5 に示した．キノロン耐性株は 1994 と 1995 年には 1 株も認めなかったが 1996 年には 5.3% と増加傾向を示し，1997 年に 29.4% に達した．1998 年には 12.5% と減少したが耐性株数については 1997 年

平成13年 7 月20日

Table 1 Drug susceptibilities of fluoroquinolone resistant strains of *N. gonorrhoeae* against five fluoroquinolones

No.	LVFX	TFLX	CPFX	SPFX	FLRX
1	1	1	2	2	16
2	8	8	4	2	8
3	8	16	8	8	64
4	8	8	8	4	32
5	8	16	8	8	64
6	8	32	8	8	64
7	8	8	16	8	32
8	8	16	16	8	64
9	8	64	32	8	128
10	16	64	32	8	128

と変化はなかった．全体として1994年から5年間において98株中10株（10.2%）のキノロン耐性株を認めた．これら耐性株10株の各種キノロン薬に対するMICをTable 1に示した．SPFXに対するMICは2〜8μg/mlを示し，LVFXもほぼ同等の成績であったが，CPFX，TFLXおよびFLRXに対してはMICが≧32μg/mlの高度耐性を示す株も認められ，特にFLRXに対しては10株中6株が≧64μg/mlと高い値を示した．

考　察

近年，アジア地域を中心として世界各国でキノロン耐性 *N. gonorrhoeae* の分離頻度の増加が報告されており[2)〜7)]，本邦においても同様の傾向がみられている[8)9)11)〜14)]．

今回我々の検討において，分離株数の年次推移では1994年から1997年までは年間15〜19株とほぼ横ばいであったが1998年に32株と急激に分離株数が増加した理由としては，それまで休日や夜間に採取された検体は翌日培養を行っていたが，1998年以降は臨床医が検体を採取後直接処理して培養することで以前の2倍近くの高い検出率に至ったと考えられた．

ペニシリン系抗菌薬のABPCとCVA/AMPCの比較において両者の感受性分布に明らかな差が認められなかった理由としては，PPNGが98株中4株しか存在しなかったためと考えられた．しかしPPNGの4株のみに関してはABPCに比べCVA/AMPCのMICは2管以上の減少を認めたことからβ-lactamase阻害薬との合剤はPPNGに対して有効であると思われた．

セフェム系抗菌薬に対しては全体的に良好な感受性を示した．今回検討した薬剤はいずれも注射薬であり，わが国において *N. gonorrhoeae* の治療が抗菌薬の内服を中心に行われていることを考慮すると，今回検討を行ったこれらの薬剤を実際に臨床の場で使用できるかどうかは疑問の余地がある．しかし米国CDCは合併症を伴わない淋菌性尿道炎の患者に対してCTRXをはじめとする薬剤を1回のみ投与する単回投与療法を推奨しており[15)16)]，わが国においても淋菌性尿道炎や子宮頸管炎に対して第三セフェム系抗菌薬の単回投与療法を推奨する意見[1)15)]もあることから，今後有効な抗菌薬を用いた単回投与療法の導入について積極的に検討する必要があると思われた．

テトラサイクリン系抗菌薬において今回の検討ではMINOのみ対象としたが，全株のMICは≦1μg/mlと良好な抗菌活性を示した．NCCLSはtetracyclineの判定基準しか設定していないが[10)]，MINOも同一のカテゴリーとして判断すると今回検討対象とした株の中で明らかな耐性株は1株も認めなかった．テトラサイクリン系抗菌薬はクラミジア感染症に対しても有効であり，淋菌性尿道炎の15〜30%にクラミジアとの混合感染がみられることから[1)]キノロン系抗菌薬などとともに比較的高い頻度で使用される薬剤である．しかし現在では淋菌感染症の第一選択薬になっておらず田中[1)]や斎藤[16)]はクラミジアとの混合感染例においてはまず *N. gonorrhoeae* に対して治療を行い，淋菌消失後にクラミジアの治療を行うことと述べている．ただし今回の我々の結果をもとに感受性成績だけから判断するとMINOは *N. gonorrhoeae* に対して有効であると考えられた．

マクロライド系抗菌薬に対しては全体的に優れた感受性を示したが，1株のみ高度耐性を示す株が存在した．Mehaffeyら[17)]の報告においてもマクロライド系抗菌薬のレンジがEMで0.12〜8μg/ml，CAMで0.06〜8μg/ml，AZMで0.06〜2μg/mlと高いMICを示す株が存在したことから今後マクロライド耐性株についても注意深く観察してい

く必要があると思われた．

キノロン系抗菌薬に対する耐性の基準に関してNCCLSはCPFXにおいて感性を≦0.06μg/ml，中等度耐性を0.12～0.5μg/ml，耐性を≧1μg/mlと定めている[10]．我々の検討においてもMICが0.016μg/ml，1μg/mlあたりを境として三峰性の感受性パターンを認め，感性，感性～中等度耐性，耐性の3群に分れた．全体として98株中10株（10.2%）のキノロン耐性株を認めたが，中等度耐性を含めると46株(46.9%)と半数近くを占めていた．岡崎らの報告[11]でも1992～1993年の株においてCPFXに対して≧0.78μg/ml，≧0.1μg/mlを示した株はそれぞれ10.3%，47.1%存在しており，我々の検討と同様の結果が記されている．また田中の報告[1)8)]と比較してもCPFX，LVFX，SPFXのMIC 50，MIC90およびMICレンジは我々の結果と類似した値であった．さらにこれら10株の耐性株は今回検討を行った5種類のキノロン系抗菌薬いずれに対しても耐性を示したことから，キノロン耐性の高い交叉性が示唆された．

今回，検討の対象とした抗菌薬の多くは本邦において保険適応が認められてはいないが諸外国等における報告と比較する目的もあり，このような選択となった．しかし臨床への応用という点においては薬剤の選択に若干の問題があったように思われた．

日本性感染症学会の『性感染症診断・治療guide line』[18]との比較検討においては残念ながら詳細な比較は困難であるが，推奨されている薬剤で今回検討できたCTRXとFMOXに対しては良好な感受性を示した．特にCTRXはβ-lactam剤の中で最も強い抗菌活性を示したことから充分に治療効果が期待できる薬剤と考えられた．

以上，*N. gonorrhoeae* の薬剤感受性についてキノロン系抗菌薬を中心に他の抗菌薬も含めて調査を行ったが当院においてもPPNGの分離頻度は明らかに減少し，キノロン耐性 *N. gonorrhoeae* の分離頻度の増加が顕著であった．これらの結果は過去の研究とほぼ同様の知見であり，京浜地区でも *N. gonorrhoeae* のキノロン剤に対する感受性の低下が示唆された．さらに他の薬剤においても耐性傾向がみられたことから今後これら耐性菌の動向に注意を払う必要があると考えられた．

文　献

1）田中正利：淋菌性尿道炎の病態の変遷．Curr Conc in Infect Dis　1999；18：12―5.

2）Ison CA, Woodford PJ, Madders H and Claydon E：Drift in susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to ciprofloxacin and emergence of therapeutic failure. Antimicrob Agents Chemother 1998；42：2919―22.

3）Centers for Disease Control and Prevention：Fluoroquinolone resistance in *Neisseria gonorrhoeae*―Colorado and Washington, 1995. Morb Mortal Wkly Rep 1995；44：761―4.

4）Centers for Disease Control and Prevention：Fluoroquinolone resistance in *Neisseria gonorrhoeae*―San Diego, California, 1997. Morb Mortal Wkly Rep 1998；47：405―8.

5）Knapp JS, Fox KK, Trees DL, Whittington WL：Fluoroquinolone resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. Emerging Infect Dis 1997；3：33―9.

6）Kam KM, Wong PW, Cheung MM, Ho NgKY, Lo KK：Quinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Hong Kong. Sex Transm Dis 1996；23：103―8.

7）Kam KM, Lo KK, Ho NgKY, Cheung MM：Rapid decline in penicillinese-producing *Neisseria gonorrhoeae* in Hong Kong associated with emerging 4-fluoroquinolone resistance. Genitourin Med 1995；71：141―4.

8）田中正利：ニューキノロン系薬耐性 *Neisseria gonorrhoeae* に関する基礎的および臨床的検討．日化療会誌　1999；47：543―52.

9）Tanaka M, Kumazawa J, Matsumoto T, Kobayashi I：High prevalence of *Neisseria gonorrhoeae* strains with reduced susceptibility to fluoroquinolones in Japan. Genitourin Med 1994；70：90―3.

10）National Committee for Clinical Laboratory Standards：Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically―fourth edition；Approved standard M7-A 4. NCCLS, Pennsylvania, 1997.

11）岡崎武二郎，町田豊平，小野寺昭一，清田　浩：ニューキノロン剤耐性淋菌の検出(第2報)．日性感染症誌　1994；5：86―93.

12）小野寺昭一，岸本幸一，清田　浩，後藤博一，五十嵐　宏，川原　元，他：ニューキノロン薬剤耐性淋菌の耐性機構の解析．感染症誌　1995；69：511―6.

13）Tanaka M, Matsumoto T, Kobayashi I, Uchino U and Kumazawa J：Emergence of in vitro fluoro-

平成13年7月20日

quinolones in *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Japan. Antimicrob Agents Chemother 1995；39：2367—70.
14）Tanaka M, Nakayama H, Haraoka M, Saika T, Kobayashi I, Naito S：Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* and high prevalence of ciprofloxacin-resistant isolates in Japan, 1993 to1998. J Clin Microbiol 2000；38：521—5.
15）作間俊治，田中正利，熊澤淨一：淋菌感染症．治療学　1997；31：899—902.
16）斎藤　功：淋疾の診断と治療．産婦人科治療　1997；74：429—33.
17）Mehaffey PC, Putnam SD, Barrett MS, Jones RN：Evaluation of in vitro spectra of activity azithromycin, clarithromycin, and erythromycin tested against strains of *Neisseria gonorrhoeae* by reference agar dilution, disk diffusion, and Etest methods. J Clin Microbiol 1996；34：479—81.
18）日本性感染症学会：性感染症診断・治療 guide line．日性感染症会誌　1999；10：8—38.

Drug Susceptibility of Clinically Isolated Strains of *Neisseria gonorrhoeae*

Hinako MURAKAMI[1)], Tetsuya MATSUMOTO[1)2)], Kuri SUZUKI[3)], Fusako KASHITANI[2)], Nobuhiko FURUYA[1)2)], Kazuhiro TATEDA[1)2)] & Keizo YAMAGUCHI[1)2)]
[1)]Clinical Laboratory, Toho University Omori Hospital
[2)]Department of Microbiology School of Medicine, Toho University
[3)]Department of Urology, Toho University Sakura Hospital

We investigated the drug susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* by using 98 strains of clinical isolates at Toho University Omori Hospital from 1994 to 1998. Minimum Inhibitory Concentrations（MICs）of 15 antimicrobial agents were determined with agar dilution methods according to the guidelines of NCCLS. Among these isolates, only 4 strains（4.1%）were found to be penicillinase producing *N. gonorrhoeae*. Ceftriaxone showed the most potent activity of which MICs of all strains were 0.06μg/ml or less. Macroride antimicrobial agents and minocycline also showed strong activities of which MICs of most of the strains were 0.06μg/ml or less. With the creiteria of NCCLS, 10 strains（10.2%）were found to be resistant to ciprofloxacin and these 10 strains also showed cross resistance to other fluoroquiolones we tested. Our results also revealed that the number of resistant strains against fluoroquiolones abruptly increased from 1996 and indicate the needs of further surveillance of antimicrobial resistance in clinical isolates of *N. gonorrhoeae.*