

単独陽性は 25 例 (69.4%)、淋菌単独陽性は 8 例 (22.2%)、クラミジア・淋菌両陽性は 3 例 (8.3%)であった。

4. イデアとの比較

子宮頸管スワブ 120 検体および尿 116 検体について、Combo 2 とイデアとの判定結果の比較を Table 5 に示した。子宮頸管スワブ検体については両方法とも陽性が 25 例、Combo 2 陽性・イデア陰性が 3 例、両方法とも陰性が 92 例であった。尿検体については両方法とも陽性が 12 例、Combo 2 陽性・イデア陰性が 12 例、両方法とも陰性が 92 例であった。なお子宮頸管スワブ検体および尿検体ともに Combo 2 陰性・イデア陽性の結果は得られなかった。

(2) 泌尿器科

1. アンプリコア®との比較

尿 171 検体について Combo 2 とアンプリコア®との判定結果の比較を Table 6 に示した。クラミジアについては両キットとも陽性が 54 例、Combo 2 陽性・アンプリコア®陰性が 5 例、Combo 2 陰性・アンプリコア®陽性が 1 例、両キットとも陰性が 111 例であった。判定結果の一致率は 96.5%である。淋菌については両キットとも陽性が 94 例、Combo 2 陰性・アンプリコア®陽性が 1 例、両キットとも陰性が 76 例であり、Combo 2 陽性・アンプリコア®陰性の結果はなかった。判定結果の一致率は 99.4%である。判定結果の一致しなかった症例に対する解析結果を Table 7 に示した。クラミジアにおける 6 例中 4 例 (No. 1、2、4、5) は Combo 2、

Table 3 Comparison of female endocervical swab specimens with urine specimens for the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae*

<i>C. trachomatis</i>		Urine		Total
		Positive	Negative	
Swab	Positive	24	2	26
	Negative	0	90	90
Total		24	92	116

<i>N. gonorrhoeae</i>		Urine		Total
		Positive	Negative	
Swab	Positive	9	2	11
	Negative	0	105	105
Total		9	107	116

Positive concordance rate (urine/swab): *C. trachomatis*, 92.3%; *N. gonorrhoeae*, 81.8%

Table 4 Classification of the positive swab specimens based on APTIMA® Combo 2 test results for female patients

Infectious Status	Number	%
<i>C. trachomatis</i>	25	69.4
<i>N. gonorrhoeae</i>	8	22.2
<i>C. trachomatis</i> & <i>N. gonorrhoeae</i>	3	8.3
Total	36	100

アンプリコア®とも初回測定時と同じ判定結果となった。また 1 例 (No. 3) はアンプリコア®が初回測定で陰性であったが予備検体で陽性、1 例 (No. 6) はアンプリコア®が初回測定で陽性であったが予備検体で陰性となり、初回測定時と異なる判定結果となった。淋菌における 1 例 (No. 7) は Combo 2、アンプリコア®とも初回測定時と同じ判定結果となった。

2. 尿検体と尿道スワブ検体の比較

尿検体を採取できなかった 2 例を除いた 26 例に関して、Combo 2 での測定における尿検体と尿道スワブ検体の判定結果の比較を Table 8 に示した。クラミジアについては両検体種とも陽性が 3 例、尿検体のみ陽性・スワブ検体陰性が 2 例、両検体種とも陰性が 21 例であった。なお、スワブ検体陽性例については、尿検体もすべて陽性であった。淋菌については両検体種とも陽性が 19 例、両検体種とも陰性が 7 例であった。

Table 5 Comparison of APTIMA® Combo 2 with IDEIA for the detection of *C. trachomatis* in female endocervical swab and urine specimens

Swab	IDEIA		Total
	Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2	Positive	25	28
	Negative	0	92
Total	25	95	120

Urine	IDEIA		Total
	Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2	Positive	12	24
	Negative	0	92
Total	12	104	116

Table 6 Comparison of APTIMA® Combo 2 with AMPLICOR® for the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* in male urine specimens

<i>C. trachomatis</i>	AMPLICOR®		Total
	Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2	Positive	54	59
	Negative	1	112
Total	55	116	171

<i>N. gonorrhoeae</i>	AMPLICOR®		Total
	Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2	Positive	94	94
	Negative	1	77
Total	95	76	171

Concordance rate : *C. trachomatis*, 96.5% ; *N. gonorrhoeae*, 99.4%

なお、スワブ検体陽性例については、尿検体もすべて陽性であった。また、クラミジア、淋菌ともにスワブ検体のみ陽性で尿検体陰性の検体は認められなかった。

染状況の判定内訳を Table 9 に示した。クラミジアまたは淋菌の陽性全 129 例中で、クラミジア単独陽性は 35 例 (27.1%)、淋菌単独陽性は 70 例 (54.3%)、クラミジア・淋菌両陽性は 24 例 (18.6%) であった。

3. 尿検体での試験結果に基づく感染の分類

尿検体について、Combo 2 での測定結果に基づく感

Table 7 Analysis of discrepant results between APTIMA® Combo 2 and AMPLICOR® for the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* in male urine specimens

No.	APTIMA® Combo 2		AMPLICOR®		
	Specimen*		Specimen*		
	Sample 1		Sample 1	Sample 2 ²⁾	
	First	Re-test ¹⁾	First		
<i>C. trachomatis</i>	1	+	+	-	-
	2	+	+	-	-
	3	+	+	-	+
	4	+	+	-	-
	5	+	+	-	-
	6	-	-	+	-
<i>N. gonorrhoeae</i>	7	-	-	+	+

*Urine was divided into both specific sampling instruments for APTIMA® Combo 2 and empty tube for AMPLICOR® (Sample 1). Remaining urine was reserved for AMPLICOR® assay (Sample 2) in the case of discrepant analysis.

1) Discrepant analysis was done by re-testing the original specimens.

2) Discrepant analysis was done by additional assay using reserved samples.

Table 8 Comparison of male urethral swab specimens with urine specimens for the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae*

<i>C. trachomatis</i>		Urine		Total
		Positive	Negative	
Swab	Positive	3	0	3
	Negative	2	21	23
	Total	5	21	26

<i>N. gonorrhoeae</i>		Urine		Total
		Positive	Negative	
Swab	Positive	19	0	19
	Negative	0	7	7
	Total	19	7	26

Positive swab specimens were all positive in urine specimens from the same patients.

Table 9 Classification of positive urine specimens based on APTIMA® Combo 2 test results for male patients

Infectious Status	Number	%
<i>C. trachomatis</i>	35	27.1
<i>N. gonorrhoeae</i>	70	54.3
<i>C. trachomatis</i> & <i>N. gonorrhoeae</i>	24	18.6
Total	129	100

Table 10 Comparison of APTIMA® Combo 2 with IDEIA for the detection of *C. trachomatis* in male urine and urethral swab specimens

Urine	IDEIA		Total
	Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2 Positive	36	23	59
APTIMA® Combo 2 Negative	0	112	112
Total	36	135	171

Swab	IDEIA		Total
	Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2 Positive	2	1	3
APTIMA® Combo 2 Negative	0	25	25
Total	2	26	28

4. イデアとの比較

尿 171 検体および尿道スワブ 28 検体について、Combo 2 とイデアとの判定結果の比較を Table 10 に示した。尿検体については両方法とも陽性が 36 例、Combo 2 陽性・イデア陰性が 23 例、両方法とも陰性が 112 例であった。尿道スワブ検体については両方法とも陽性が 2 例、Combo 2 陽性・イデア陰性が 1 例、両方法とも陰性が 25 例であった。なお尿検体および尿道スワブ検体ともに、Combo 2 陰性・イデア陽性の結果は得られなかった。

考 察

近年におけるクラミジアおよび淋菌の診断は、遺伝子増幅法の導入により従来に比べて検出感度が大幅に上昇した¹⁵⁾。本キットにおいても細胞内存在量の多い rRNA

を増幅し検出すること、また TCS 技術を用いていることにより前処理で検体中の反応阻害物質を除去できることから、高感度な検出が期待される^{16),17)}。実際、本試験において酵素免疫測定法を用いたイデアと判定一致率を検討した結果、女性子宮頸管スワブ 3/120 例 (2.5%)、女性尿 12/116 例 (10.3%)、また男性尿 23/171 例 (13.5%)、男性尿道スワブ 1/28 例 (3.6%) が不一致であり、それらはすべて Combo 2 陽性・イデア陰性であった。従って、本キットを用いることにより従来の抗原検出法では見落としていた感染を検出することが考えられ、特に標的物質の濃度が低いと思われる尿検体においてその検出率が大きく向上することが期待される。

既存の遺伝子増幅検出キットであるアンプリコア®との判定一致率の検討では、女性子宮頸管スワブおよび男性尿どちらの検体もクラミジアと淋菌の検出において同等の成績が得られた。Combo 2 とアンプリコア®での

判定結果が一致しなかった例については、再測定および予備検体測定の結果判定が一致した例もあったが、不一致のままであった例が女性子宮頸管スワブ検体で2例、男性尿検体で5例あった。そのうち Combo 2 陽性、アンプリコア[®]陰性であった例が、女性子宮頸管スワブ検体で2例中1例、男性尿検体では5例中4例と大半を占めた。結果が一致しなかった原因については、標的とする物質が Combo 2 では RNA であり、アンプリコア[®]の DNA とは異なっていること、感度差、反応阻害物質の影響、他菌種との交差反応性等が考えられる。今回は判定結果が一致しなかった例に対しては再測定および予備検体の測定を行ったが、本来であれば Combo 2 およびアンプリコア[®]と同等あるいはそれ以上の感度を有する他の方法で確認するのが妥当である。しかしながら、それに該当する適当な確認法は現在存在しないので、本試験において不一致原因の最終的な判断を行うことは不可能であった。

Combo 2 の試験結果において、女性のクラミジア検出ではスワブ検体陽性 26 例に対し尿検体の陽性 24 例（陽性一致率 92.3%）、淋菌検出ではスワブ検体陽性 11 例に対し尿検体の陽性 9 例（陽性一致率 81.8%）、また男性においてはクラミジア検出、淋菌検出ともにスワブ検体陽性例は尿検体でもすべて陽性と、いずれも良好な一致率を示した。泌尿器科では尿道スワブの採取は受診者に苦痛を与えるため、検体として尿を用いるのが一般的である。PCR 法は検体中に含まれる Mg²⁺などの陽イオン、リン酸、キレート剤による影響を受けることが知られている^{18),19)}。実際、PCR 法では尿中の反応阻害物質の影響を受けることが報告されており²⁰⁾、特に妊婦の尿では非妊婦に比べ阻害を受けやすいと報告されている¹⁷⁾。一方、本キットは検体前処理法として TCS を採用している。poly T を結合した磁性微粒子、標的遺伝子の一部と相補的な配列に poly A テールを結合したキャプチャープローブを検体と混合することにより、標的遺伝子はキャプチャープローブを介して磁性微粒子に捕獲される。磁性微粒子は磁石により反応チューブの壁面に回収され、残りの溶液は吸引除去される。続いて洗浄液を反応チューブに添加して攪拌後、再び磁性微粒子を回収し、洗浄液を吸引除去する洗浄操作を行う。この技術により、検体中に含まれる標的遺伝子以外の成分を除去することができるため、その後の反応における阻害物質の

影響を抑えることが可能となる。実際、Mg²⁺などの陽イオン、リン酸、血液などを高濃度で添加した検体でも反応に影響がないことが、Gen-Probe 社で確認されている。また、妊婦尿と非妊婦尿との比較においても、妊婦尿で反応阻害物質による影響が認められず、偽陰性となる頻度が極めて低いことが報告されている¹⁷⁾。従って Combo 2 を用いることにより、採取の容易な尿検体を用いて高感度な検査を実施することが可能となる。

近年における性的活動の多様化により、口腔内常在 *Neisseria* 属が性器から採取したスワブ検体にも混入する可能性が懸念されている。Combo 2 では *N. subflava* や *N. cinerea* 等の口腔内常在 *Neisseria* 属や、その他クラミジアおよび淋菌の近接種も含め合計 154 種類の微生物との交差反応性が認められないことが、Gen-Probe 社で確認されている。従って交差反応による影響が無いと考えられるため、本キットを検査に用いることにより測定結果への信頼性向上が期待できる。

Combo 2 の試験結果に基づき検査陽性者を分類すると、産婦人科を受診した女性でクラミジア単独陽性が約 70%、淋菌単独陽性が約 22%、クラミジア・淋菌両陽性が約 8%という結果となった。一方泌尿器科を受診した男性ではクラミジア単独陽性が約 27%、淋菌単独陽性が約 54%、クラミジア・淋菌の両陽性が約 19%という結果であった。近年女性の淋菌感染例も増加傾向にあり、特に無症候性の淋菌感染例が多いとの報告がなされている⁹⁾。

また、コマーシャルセックスワーカーや風俗店経験者などはクラミジアと淋菌の混合感染の可能性が高い確率で疑われるが、どちらか一方の症状が強い場合は臨床症状のみではもう一方の感染を見分けることは難しい。従来の単独検査ではこれら目に見えない感染を見つけにくい。そのため、本人の気付かないところでの感染の拡大が懸念される。一方本キットを用いた場合、クラミジアおよび淋菌を同時に検出できるため、症状の有無に関わらず感染状態を明確にすることが可能である。

Combo 2 を使用し、性感染症の最も主要な起炎菌であるクラミジアおよび淋菌の 2 項目同時検査を実施することは、性感染症の蔓延阻止および適切な治療を行う上でその有用性が期待され、さらに医療経済上においても有用であると考えられる。

文 献

- 1) 性感染症診断・治療ガイドライン<日本性感染症学会 2001 年度版>. 日性感染症会誌, 12 : 10-30, 2001.
- 2) 松田静治, 市瀬正之: クラミジア・トラコマチスと淋菌による性感染症 (STD) の動向—東京地区での検討を中心に—. 産婦の実際, 50 : 999-1005, 2001.
- 3) 熊本悦明ほか: 日本における性感染症 (STD) サーベイランス—2001 年度調査報告—. 日性感染症会誌, 13 : 147-167, 2002.
- 4) 狩野有作: クラミジア・淋菌感染症. 臨病理レビュー, 123 : 57-61, 2002.
- 5) 江頭稔久: 泌尿器科領域におけるクラミジア感染症—男性性器クラミジア感染症の現況と治療. 医のあゆみ, 203 : 419-421, 2002.
- 6) 熊本悦明: エイズ/性感染症をめぐる問題点. 海外医療, 30 : 4-16, 2003.
- 7) Tanaka, M., et al.: Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* and high prevalence of ciprofloxacin-resistance isolates in Japan, 1993 to 1998. J. Clin. Microbiol., 38 : 521-525, 2000.
- 8) 田中正利: STD と薬剤耐性—淋菌—. 日性感染症会誌, 13 : 44-58, 2002.
- 9) 工藤勝康ほか: (投稿準備中)
- 10) Giachetti, C., et al.: Highly Sensitive Multiplex Assay for Detection of Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis C Virus RNA. J. Clin. Microbiol., 40 : 2408-2419, 2002.
- 11) McDonough, S.H., Bott, M.A. and Giachetti, C.: Application of transcription-mediated amplification to detection of nucleic acids from clinically relevant organisms. Nucleic acid amplification technologies: 113-123, BioTechniques Books, 1998.
- 12) Nelson, N.C., et al.: Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. Biochemistry, 35 : 8429-8438, 1996.
- 13) Arnold, L.J., et al.: Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. Clin Chem., 35 : 1588-1594, 1989.
- 14) Dhingra, K., et al.: Hybridization protection assay: a rapid sensitive, and specific method for detection of Philadelphia chromosome-positive leukemias. Blood, 77 : 238-242, 1991.
- 15) 熊本悦明ほか: PCR 法による *C. trachomatis* 診断キット (アンプリコア®—クラミジアトラコマチス) の基礎的・臨床的検討. 日性感染症会誌, 6 : 51-61, 1995.
- 16) Gaydos, C.A., et al.: Performance of the APTIMA Combo 2 Assay for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in female urine and endocervical swab specimens. J. Clin. Microbiol., 41 : 304-309, 2003.
- 17) Chong, S., et al.: Specimen processing and concentration of *Chlamydia trachomatis* added can influence false-negative rates in the LCx assay but not in the APTIMA Combo 2 Assay when testing for inhibitors. J. Clin. Microbiol., 41 : 778-782, 2003.
- 18) 納富 貴ほか: LCR 法による *Chlamydia trachomatis* 診断キットの基礎的検討. 日性感染症会誌, 8 : 17-26, 1997.
- 19) Sambrook, J., et al.: *In vitro* amplification of DNA by the polymerase chain reaction. Molecular cloning. A laboratory manual. 2nd ed.: 14.2-14.35, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- 20) 佐藤英子: 妊婦 *Chlamydia trachomatis* 感染症スクリーニング検査における尿検体の有用性に関する検討. 愛知医大医学会誌, 27 : 313-322, 1999.

International Journal of
Antimicrobial Agents

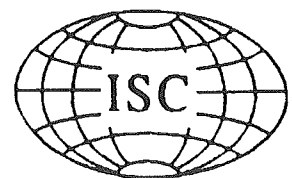
Volume 24S1 (2004)

**Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Japan, 1993–2002:
continuous increasing of ciprofloxacin-resistant isolates**

Masatoshi Tanaka^{a,*}, Hiroshi Nakayama^b, Takashi Notomi^a, Shin-ichiro Irie^a,
Yuichi Tsunoda^a, Aya Okadome^a, Takeshi Saika^c, Intetsu Kobayashi^c

FULL TEXT AVAILABLE ONLINE:

<http://www.ischemo.org>



The Official Journal of the International Society of Chemotherapy



ELSEVIER

International Journal of Antimicrobial Agents 24S (2004) S15–S22

INTERNATIONAL JOURNAL OF
**Antimicrobial
Agents**

www.ischemo.org

Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Japan, 1993–2002: continuous increasing of ciprofloxacin-resistant isolates

Masatoshi Tanaka^{a,*}, Hiroshi Nakayama^b, Takashi Notomi^a, Shin-ichiro Irie^a,
Yuichi Tsunoda^a, Aya Okadome^a, Takeshi Saika^c, Intetsu Kobayashi^c

^a Department of Urology, Fukuoka University School of Medicine, 7–15–1 Nanakuma, Jonan-ku, Fukuoka 814–0180, Fukuoka, Japan

^b Nakayama Urologic Clinic, Fukuoka, Japan

^c Chemotherapy Division, Mitsubishi-Kagaku BCL, Tokyo, Japan

Abstract

Susceptibility testing was conducted on 1357 isolates of *Neisseria gonorrhoeae* isolated from 1993 through 2002 in Japan to assess the antimicrobial resistance. Selected isolates were characterised by auxotype and analysis was done for mutations within the quinolone resistance-determining region (QRDR) in the *gyrA* and *parC* genes, which confer fluoroquinolone resistance to the organism. Isolates with ciprofloxacin resistance increased significantly from 6.6% (1993–1994) to 73.5% (2002). The proportion of plasmid-mediated penicillin-resistant isolates (PPNG) decreased significantly from 7.9% (1993–1994) to 0.9% (2002). The percentage of chromosomal-mediated resistance to penicillin decreased from 27.4% in 2000 to 12.0% in 2001 but increased to 28.9% in 2002. The proportion of isolates with any type of resistance to tetracycline decreased from 24.7% in 2000 to 13.9% in 2001 and then increased to 22.3% in 2002. The proportion of prototrophic isolates significantly decreased from 84.4% in 1992–1993 to 7.7% in 2001, while that of the proline-requiring isolates significantly increased from 4.4% in 1992–1993 and 80.8% in 1998. The proline-requiring isolates were less susceptible to ciprofloxacin than the prototrophic or arginine-requiring isolates. Of 87 isolates resistant to ciprofloxacin, 2 (2.3%) contained five amino acid substitutions within the GyrA and ParC proteins, 76 (87.4%) contained three or four amino acid substitutions and 9 (10.3%) contained one or two amino acid substitutions.

© 2004 Elsevier B.V. and the International Society of Chemotherapy. All rights reserved.

Keywords: *Neisseria gonorrhoeae*; Resistance; Auxotype; DNA gyrase; Topoisomerase IV

1. Introduction

The incidence of gonococcal infection has been increasing since the mid-1990s in Japan. Gonococcal resistance to antimicrobial agents has also been an increasing problem in the treatment of gonorrhoea in Japan. In the last few years, a high prevalence of the fluoroquinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates and the treatment failure of gonococcal infections with fluoroquinolones have been recognised in Japan [1,2]. Presently, *N. gonorrhoeae* isolates have evolved in acquiring multidrug resistance to fluoroquinolone, penicillin and tetracycline. Auxotyping involves the characterisation of nutritional requirements for the growth of *N. gonorrhoeae* isolates. Our previous investigation demonstrated that the proline-requiring isolates of *N. gonorrhoeae* were less susceptible to ciprofloxacin than either prototrophic isolates or arginine-requiring isolates [1].

This study was performed to characterise the current antimicrobial susceptibility of *N. gonorrhoeae* and in particular, to examine the possibility of emerging high prevalence of high-level fluoroquinolone resistance and multidrug resistance in Japan. In addition, we examined the changes of gonococcal auxotype and amino acid substitutions in DNA gyrase subunit A (GyrA) and topoisomerase IV *parC*-encoded subunit (ParC) proteins, which confer quinolone resistance to the organisms.

2. Materials and methods

2.1. *Neisseria gonorrhoeae* strains

From January 1993 through December 2002, a total of 1357 isolates of *N. gonorrhoeae* (1993–1994: 151 isolates; 1995–1996: 154 isolates; 1997–1998: 197 isolates; 1999: 246 isolates; 2000: 190 isolates; 2001: 208 isolates; and 2002: 211 isolates) were collected from consecutive male

* Corresponding author. Tel.: +81-92-801-1011;

fax: +81-92-873-1109.

E-mail address: matanaka@cis.fukuoka-u.ac.jp (M. Tanaka).

patients with urethritis attending a sexually transmitted diseases (STD) clinic in Fukuoka city, Japan. Post-treatment isolates or repeat isolates from the same patients were excluded. Specimens from each patient were inoculated directly onto Thayer–Martin selective agar (Becton Dickinson, Cockeysville, MD, USA), transported to the Mitsubishi Kagaku Laboratory and incubated for 24–48 h at 35 °C in 5% CO₂ atmosphere. *N. gonorrhoeae* was identified as Gram-negative diplococci and by oxidase reaction and sugar utilisation patterns. The isolates were stored at –80 °C until they were tested.

2.2. Antimicrobial susceptibility testing

Minimum inhibitory concentrations (MICs) for all isolates were determined by an agar dilution technique with a GC agar base (Becton Dickinson) containing 1% Iso VitaleX (Becton Dickinson) and two-fold dilutions of antibiotic as described previously [1]. The plates were inoculated with approximately 10⁴ colony-forming units (cfu) per spot of each isolate with a multipoint inoculator for a brief period. World Health Organization (WHO) reference *N. gonorrhoeae* strains A, B, C, D and E, and *N. gonorrhoeae* ATCC49226 strain were included as quality controls. The plates were incubated for 24 h at 35 °C in 5% CO₂ atmosphere. MICs were defined as the lowest antibiotic concentration observed to inhibit bacterial growth. β -Lactamase production was assayed using the chromogenic cephalosporin test (Nitrocefim, Oxoid, Hampshire, UK). The antimicrobial agents tested were penicillin G (Sigma Chemical St. Louis, MO, USA), tetracycline (Wyeth Lederle Japan, Tokyo, Japan), cefixime (Fujisawa Pharmaceutical, Osaka, Japan), ceftriaxone (Nippon Roche, Tokyo, Japan), ciprofloxacin (Bayer Yakuhin, Osaka, Japan), levofloxacin (Daiichi Pharmaceutical, Tokyo, Japan), sitafloxacin (Daiichi Pharmaceutical, Tokyo, Japan), gatifloxacin (Kyorin Pharmaceutical, Tokyo, Japan), azithromycin (Pfizer Pharmaceuticals, Tokyo, Japan) and spectinomycin (Sigma Chemical). All the antibiotics were obtained in powder-form with the stated potencies of their manufacturers. The antimicrobial susceptibility was judged by breakpoint criteria defined by the National Committee for Laboratory Standards (NCCLS) [3].

2.3. Auxotyping

Auxotyping of gonococcal isolates was performed as described by Catlin [4]. The isolates were tested on the chemically defined media for their nutritional requirements for proline, arginine, hypoxanthine, uracil, lysine, leucine, methionine, histidine and combinations of these requirements. Arginine-requiring isolates were also cultured on media for determining their ability to utilise ornithine as an alternative substrate. The strains with no requirements for these substances were designated as prototrophic.

2.4. Molecular study

To identify mutations in the *gyrA* and *parC* genes of the 89 gonococcal strains (1992–1998 isolates) and 223 gonococcal strains (1999 isolates), the polymerase chain reaction (PCR) and direct DNA sequencing were performed as described previously [1]. To amplify the genes corresponding to the quinolone resistance-determining region (QRDR) within the *GyrA* and *ParC* proteins, the oligonucleotide primers for the PCR amplification were designed [1].

2.5. Statistical analysis

Data were analysed by chi-square test. Statistical significance for all *P*-values was set at 0.05.

3. Results and discussion

3.1. Fluoroquinolone resistance

The proportion of isolates resistant to ciprofloxacin (MIC \geq 1 mg/l) increased remarkably from 6.6% in 1993–1994 to 73.5% in 2002 (Fig. 1). This difference was statistically significant (*P* < 0.0001). The ciprofloxacin MIC₅₀ (4 mg/l) and MIC₉₀ (32 mg/l) for isolates in 2002 were 128- and 64-fold, respectively, which were higher than those (MIC₅₀: 0.03 mg/l and MIC₉₀: 0.5 mg/l) for the isolates in 1993–1994. The levofloxacin MIC₅₀ (4 mg/l) and MIC₉₀ (8 mg/l) for the isolates in 2002 were also 128- and 32-fold, respectively, which were higher than those (MIC₅₀: 0.03 mg/l and MIC₉₀: 0.25 mg/l) for the isolates in 1993–1994. Moreover, gonococcal isolates in 2002 showed resistance to a new fluoroquinolones of sitafloxacin and gatifloxacin (Table 1). In Fukuoka city, about 75% of *N. gonorrhoeae* isolates have been found to be resistant to ciprofloxacin. These findings seem to reflect the longstanding usage of fluoroquinolones as a drug of choice for the treatment of gonococcal infection at sexually transmitted disease clinics in Fukuoka city. The frequent use of fluoroquinolones against gonorrhoea may lead to the rapid development of resistance to these agents. This increase in fluoroquinolone resistance has also been substantial in some Western Pacific countries. High proportions of fluoroquinolone-resistant *N. gonorrhoeae* are detected in China (85.2%), Hong Kong (79.5%), the Philippines (37.9%) and Vietnam (42.7%). The percentage of fluoroquinolone-resistant isolates in Hong Kong has increased from about 50% in 1998 to 79.5% in 2000 and the fluoroquinolone resistance rates have increased markedly in China [5].

3.2. Penicillin resistance

The proportion of isolates with any type of resistance to penicillin (MIC \geq 2 mg/l) decreased from 27.9% in 2000 to

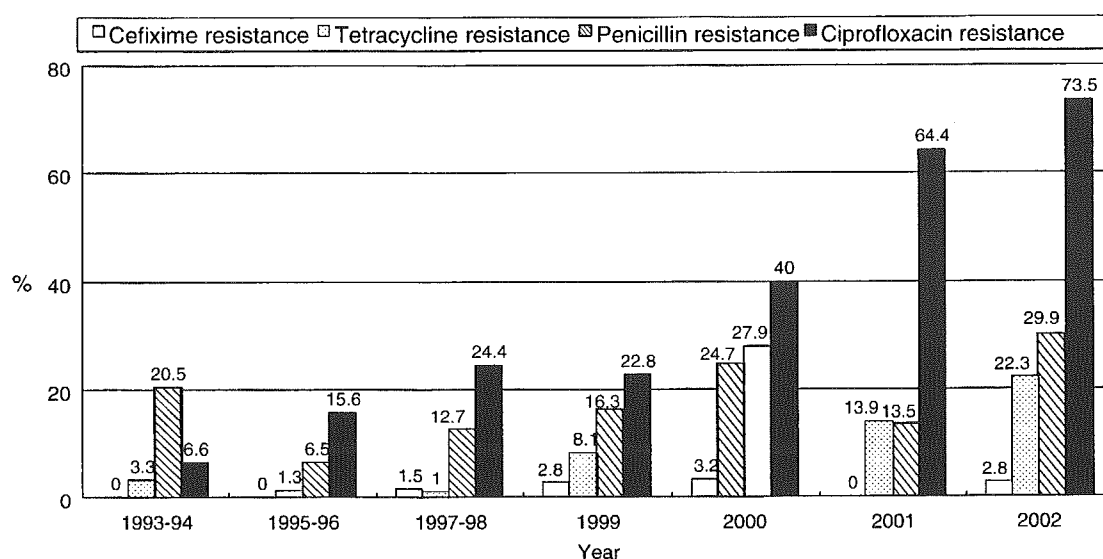
Fig. 1. Changes in the proportion of the various antimicrobial-resistant *N. gonorrhoeae* isolates.

Table 1
Susceptibilities of *N. gonorrhoeae* isolates to fluoroquinolones and penicillin

Antibiotic	Year	MIC (mg/l)		
		50%	90%	Range
Ciprofloxacin	1993–1994	0.03	0.5	≤0.001–1
	1995–1996	0.03 (1×)	1 (2×)	0.004–16
	1997–1998	0.03 (1×)	8 (16×)	0.002–16
	1999	0.12 (4×)	8 (16×)	≤0.001–16
	2000	0.25 (8×)	16 (32×)	≤0.001–64
	2001	4 (128×)	16 (32×)	≤0.001–64
	2002	4 (128×)	32 (64×)	0.002–64
Levofloxacin	1993–1994	0.03	0.25	≤0.001–0.5
	1995–1996	0.06 (2×)	1 (4×)	0.008–8
	1997–1998	0.06 (2×)	8 (32×)	0.004–16
	1999	0.25 (8×)	4 (16×)	≤0.001–16
	2000	0.5 (16×)	8 (32×)	0.002–32
	2001	2 (64×)	8 (32×)	0.002–16
	2002	4 (128×)	8 (32×)	0.004–32
Sitafloxacin	1993–1994	0.004 (1×)	0.015 (1×)	0.001–0.03
	1995–1996	0.004 (2×)	0.03 (2×)	≤0.001–0.25
	1997–1998	0.008 (2×)	0.12 (8×)	≤0.001–0.5
	2001	0.12 (32×)	0.25 (16×)	≤0.001–0.25
	2002	0.12 (32×)	0.25 (16×)	≤0.001–0.5
Gatifloxacin	1993–1994	0.015 (2×)	0.06 (1×)	≤0.001–0.12
	1995–1996	0.03 (2×)	0.25 (4×)	0.004–2
	2001	1 (64×)	2 (32×)	≤0.001–4
	2002	1 (64×)	2 (32×)	≤0.001–8
Penicillin ^a	1993–1994	0.25	2	0.008–2
	1995–1996	0.12 (0.5×)	1 (0.5×)	0.015–2
	1997–1998	0.25 (1×)	2 (1×)	0.03–4
	1999	0.25 (1×)	2 (1×)	0.008–4
	2000	0.5 (2×)	2 (1×)	0.008–8
	2001	0.5 (2×)	2 (1×)	0.004–4
	2002	1 (4×)	2 (1×)	0.004–4

^a Non-PPNG isolates only.

13.5% in 2001 but increased to 29.9% in 2002 (Fig. 1). The prevalence of plasmid-mediated penicillin-resistant gonococci (PPNG) strains decreased significantly from 7.9% in 1993–1994 to 0.9% in 2002 ($P < 0.002$). However, the percentage of chromosomal-mediated resistance (CMRNG) to penicillin decreased from 27.4% in 2000 to 12.0% in 2001 and then increased to 28.9% in 2002. The MIC₅₀ of penicillin for non-PPNG in 2002 were four-fold higher than those in 1993–1994. However, the MIC₉₀ of penicillin for non-PPNG in 1997–1998 were similar to that in 1993–1994 (Table 1). High prevalence of penicillin-resistant gonococcal isolates remains a major problem in many parts of the Western Pacific countries. Very high rates of combined forms of penicillin resistance (CMRNG + PPNG) are recorded in Korea (91%), the Philippines (89%), China (80%), Brunei (63%), Singapore (58%), Hong Kong (54%) and Vietnam (48%) [5]. The prevalence rates of penicillin-resistance in

these Western Pacific countries are much higher than that in Japan.

3.3. Tetracycline resistance

The proportion of isolates with any type of resistance to tetracycline decreased from 24.7% in 2000 to 13.9% in 2001 and then increased to 22.3% in 2002 (Fig. 1). Only two (0.15%) isolates of plasmid-mediated high-level tetracycline resistance (TRNG) were identified during the study period. The tetracycline MIC₅₀ and MIC₉₀ for the isolates in 2002 were only two-fold higher than those for the isolates in 1993–1994 (Table 2). High rates of TRNG (between 25 and 70%) were prominent in Malaysia, Brunei, Singapore, Vietnam, China and Papua New Guinea. The prevalence rate of TRNG in Japan is remarkably lower than those in the countries mentioned. In other Western Pacific countries rates

Table 2
Susceptibilities of *N. gonorrhoeae* isolates to various antibiotics

Antibiotic	Year	MIC (mg/l)		
		50%	90%	Range
Tetracycline	1993–1994	0.5	1	0.06–8
	1995–1996	0.25 (0.5×)	1 (1×)	0.06–4
	1997–1998	0.25 (0.5×)	2 (2×)	0.06–2
	1999	0.5 (1×)	1 (1×)	0.03–2
	2000	0.5 (1×)	2 (2×)	0.03–16
	2001	1 (2×)	2 (2×)	0.03–4
	2002	1 (2×)	2 (2×)	0.06–16
Cefixime	1993–1994	0.015	0.12	≤0.001–0.25
	1995–1996	0.008 (0.5×)	0.06 (0.5×)	≤0.001–0.12
	1997–1998	0.015 (1×)	0.12 (1×)	0.002–0.5
	1999	0.015 (1×)	0.25 (2×)	≤0.001–0.5
	2000	0.03 (2×)	0.25 (2×)	0.002–0.5
	2001	0.015 (1×)	0.25 (2×)	≤0.001–0.25
	2002	0.03 (2×)	0.25 (2×)	0.002–0.5
Ceftriaxone	1993–1994	0.015	0.06	≤0.001–0.25
	1995–1996	0.015 (1×)	0.12 (2×)	≤0.001–0.12
	1997–1998	0.008 (0.5×)	0.12 (2×)	≤0.001–0.25
	1999	0.008 (0.5×)	0.06 (1×)	≤0.001–0.12
	2000	0.015 (1×)	0.06 (1×)	≤0.001–0.5
	2001	0.015 (1×)	0.06 (1×)	≤0.001–0.06
	2002	0.015 (1×)	0.06 (1×)	0.002–0.12
Azithromycin	1993–1994	0.06	0.25	0.008–1
	1995–1996	0.06 (1×)	0.12 (0.5×)	0.015–0.5
	1997–1998	0.12 (2×)	0.25 (1×)	0.015–1
	1999	0.12 (2×)	0.5 (2×)	0.015–0.5
	2000	0.12 (2×)	0.5 (2×)	0.008–0.5
	2001	0.25 (4×)	0.5 (2×)	0.008–0.5
	2002	0.12 (2×)	0.25 (1×)	0.008–2
Spectinomycin	1993–1994	8	8	2–16
	1995–1996	8 (1×)	16 (2×)	4–16
	1997–1998	8 (1×)	16 (2×)	4–16
	1999	8 (1×)	8 (1×)	2–16
	2000	8 (1×)	16 (2×)	2–32
	2001	8 (1×)	16 (2×)	2–16
	2002	8 (1×)	16 (2×)	4–16

of TRNG range between 0.5 and 11% of strains examined [5].

3.4. Cephalosporin resistance

The proportion of isolates resistant to cefixime (MIC \geq 0.5 mg/l) was very low, ranging from 0 to 3.2% during the study period (Fig. 1). The MIC₅₀ and MIC₉₀ values for the isolates in 2002 were only two-fold higher than isolates in 1993–1994. There were no significant changes in the gonococcal susceptibility to ceftriaxone. The MIC₅₀ and MIC₉₀ values of this agent for the isolates in the year 2002 were similar to those in 1993–1994 (Table 2). Only one isolate in the year 2000 showed reduced susceptibility to ceftriaxone (MIC = 0.5 mg/l). These data indicates that most gonococcal isolates are susceptible to ceftriaxone and cefixime. These later generation cephalosporins are very important agents in the treatment of gonorrhoea as resistance to fluoroquinolone, penicillin and tetracycline accelerates in Japan.

3.5. Spectinomycin resistance

No isolate resistant to spectinomycin (MIC \geq 128 mg/l) was detected and there were no significant changes in the gonococcal susceptibility to spectinomycin during this period. The MIC₅₀ value of spectinomycin for the isolates in the year 2002 was similar to that in 1993–1994. The MIC₉₀ value for the 2002 isolates was only two-fold higher than for isolates in 1993–1994 (Table 2). A single dose of spectinomycin (2 g) is one of first-line regimens for gon-

orrhoea recommended by the Japanese Society for Sexually Transmitted Diseases and is one of the alternative regimens used in the United States [6] and the United Kingdom [7]. Our results corroborate that a single dose of spectinomycin, as one of first-line regimens, is still effective against gonococcal infection. However, only a small number of spectinomycin-resistant *N. gonorrhoeae* were found in some Western Pacific countries [5].

3.6. Azithromycin resistance

There were no significant changes in the gonococcal susceptibility to azithromycin during the study period. The MIC₅₀ value of azithromycin for the isolates in 2002 was only two-fold higher than for isolates in 1993–1994. The MIC₉₀ of this agent for the isolates in 2002 were equal to that in 1993–1994 (Table 2). Although azithromycin is not recommended currently for gonococcal infection in Japan, the agent could be one of the regimens to be used in gonorrhoea caused by isolates resistant to penicillin, tetracycline and/or ciprofloxacin.

3.7. Multidrug resistance

The proportion of isolates of non- β -lactamase producing *N. gonorrhoeae* (non-PPNG) resistant to any three antibiotics among penicillin, tetracycline and ciprofloxacin during three periods are shown in Fig. 2. Only five (3.1%) out of 159 non-PPNG isolates in 1997 were resistant to both penicillin and ciprofloxacin. Three types of isolates

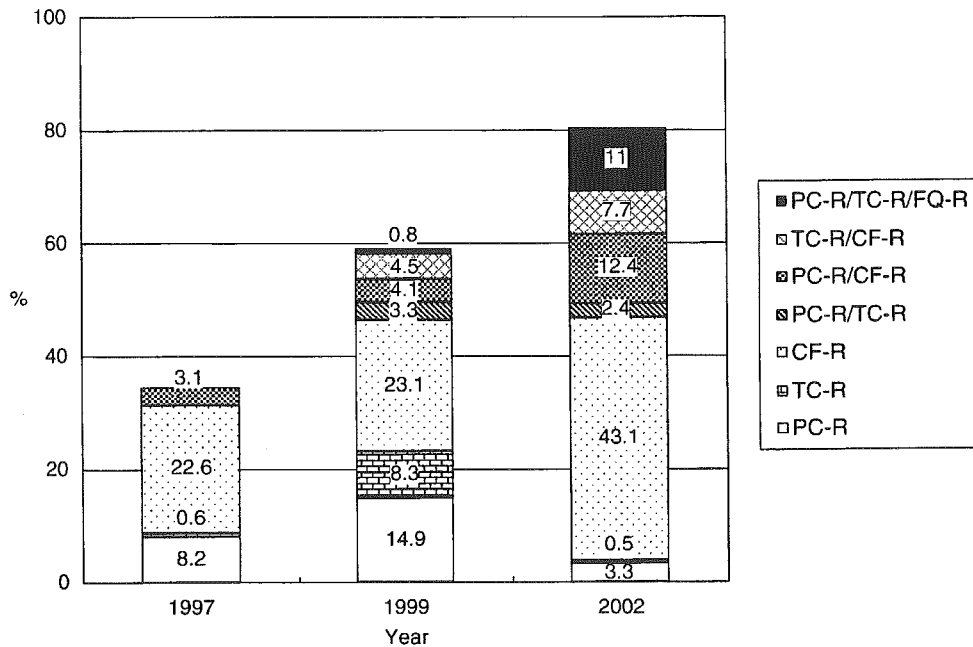


Fig. 2. Changes in the proportion of isolates of non-PPNG resistant to any three antibiotics among penicillin, tetracycline and ciprofloxacin. PC-R: penicillin resistance; TC-R: tetracycline resistance; and CF-R: ciprofloxacin resistance.

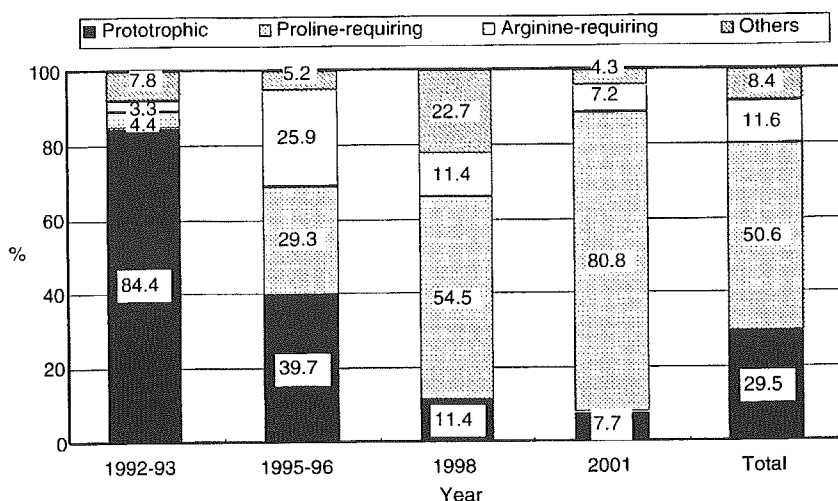


Fig. 3. Changes in the auxotypes of *N. gonorrhoeae* isolates.

resistant to two antibiotics accounted for 3.3–4.5% of the 173 non-PPNG isolates in 1999. Of the 209 non-PPNG isolates in 2002, three types of isolates resistant to two antibiotics accounted for 2.4–12.4%. Multidrug-resistant isolates (resistant to penicillin, tetracycline and ciprofloxacin) were significantly increased from 1999 (0.8%) to 2002 (11.0%) ($P = 0.0002$). These results suggest that the isolates showing resistance to ciprofloxacin have chromosomal mutations in *gyrA* with or without *parC* genes that may be combined with well-known chromosomal mutations at other loci such as *penA* (decreased binding to PBP2) [8], *penB* (reduced porin permeability) [9] and *mtr* (multidrug efflux pump) [10]. The treatment of gonorrhoea will therefore become more and more complicated due to multidrug resistance to a variety of antimicrobial agents.

3.8. Auxotype

Auxotyping is a useful epidemiological marker for monitoring gonococcal epidemics. In various south-east Asian countries, both prototrophic and proline-requiring isolates have been reported to be prevalent [11,12]. In this study, the three predominant auxotypes were prototrophic (29.5%), proline-requiring (50.6%) and arginine-requiring (11.6%) in a total of 502 isolates tested (Fig. 3). There were dramatic changes in the proportion of these auxotypes. The proportion of prototrophic isolates significantly decreased from 84.4% in 1992–1993 to 7.7% in 2001 ($P < 0.0001$), while that of the proline-requiring isolates significantly increased from 4.4% in 1992–1993 and 80.8% in 2001 ($P < 0.0001$). The proportion of arginine-requiring isolates increased from

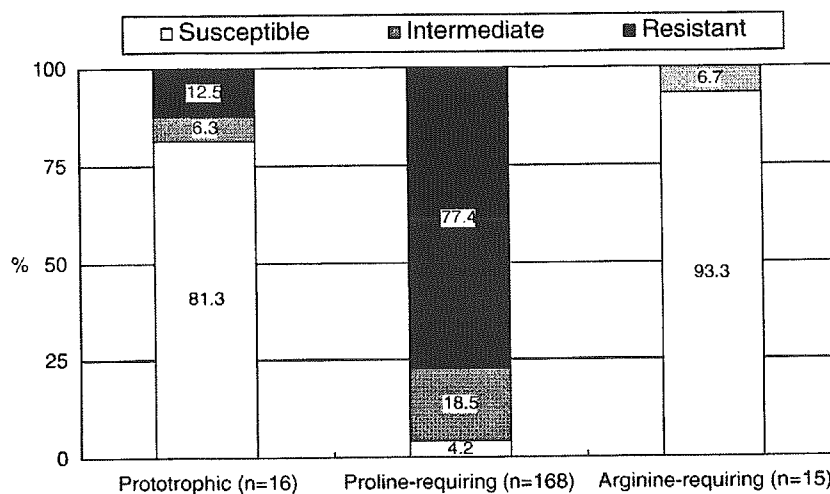


Fig. 4. Relationship between auxotype and ciprofloxacin susceptibility in *N. gonorrhoeae* isolates.

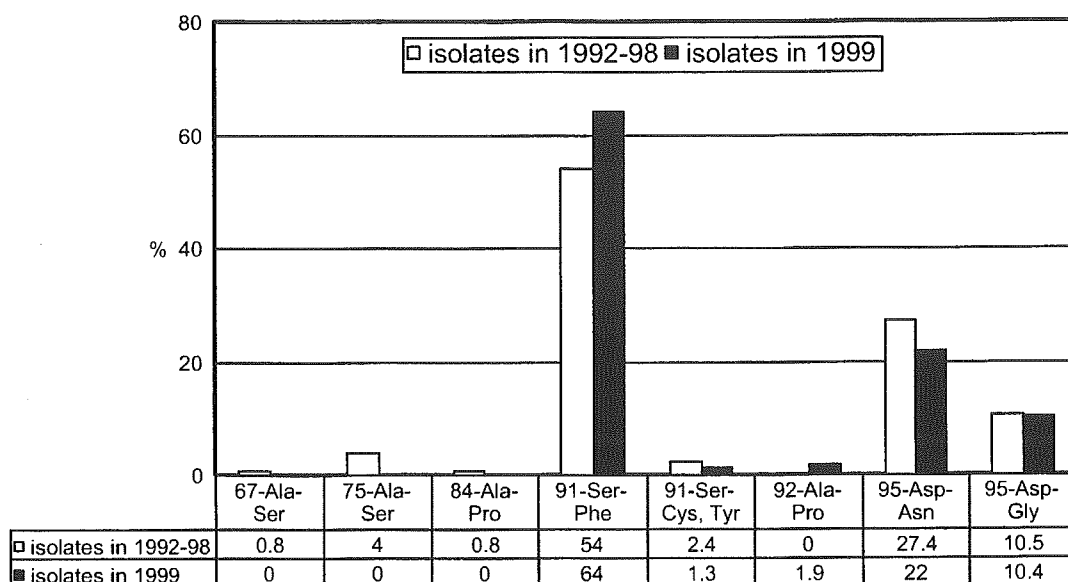


Fig. 5. Comparison of amino acid substitution within QRDR in the GyrA protein between gonococcal isolates in 1992–1998 and 1999.

3.3% in 1992–1993 to 25.9% in 1995–1996 and then decreased to 7.2% in 2002. These data suggest that an association exists between the increase in the proportion of fluoroquinolone-resistant gonococci and the increase in the proportion of proline-requiring isolates.

We then examined the association between gonococcal auxotype and ciprofloxacin susceptibility in 208 gonococcal isolates in 2001. Significant differences were seen in the susceptibility to ciprofloxacin among the auxotypes. The results are shown in Fig. 4. Of 168 proline-requiring isolates, 130 (77.4%) were resistant to ciprofloxacin, 31 (18.5%) were in-

termediate and only the remaining 7 (4.2%) were susceptible. Of 15 arginine-requiring isolates, no isolate was resistant to ciprofloxacin, 1 (6.7%) was intermediate and the remaining 14 (93.3%) were susceptible. Of 16 prototrophic isolates, 2 (12.5%) were resistant to ciprofloxacin, 1 (6.3%) was intermediate and the remaining 13 (81.3%) were susceptible. These results indicated that the proline-requiring isolates were more resistant to fluoroquinolone than the prototrophic isolates or arginine-requiring isolates. Proline-requiring isolates are generally less susceptible to antibiotics such as penicillins or cephalosporins than prototrophic isolates. This

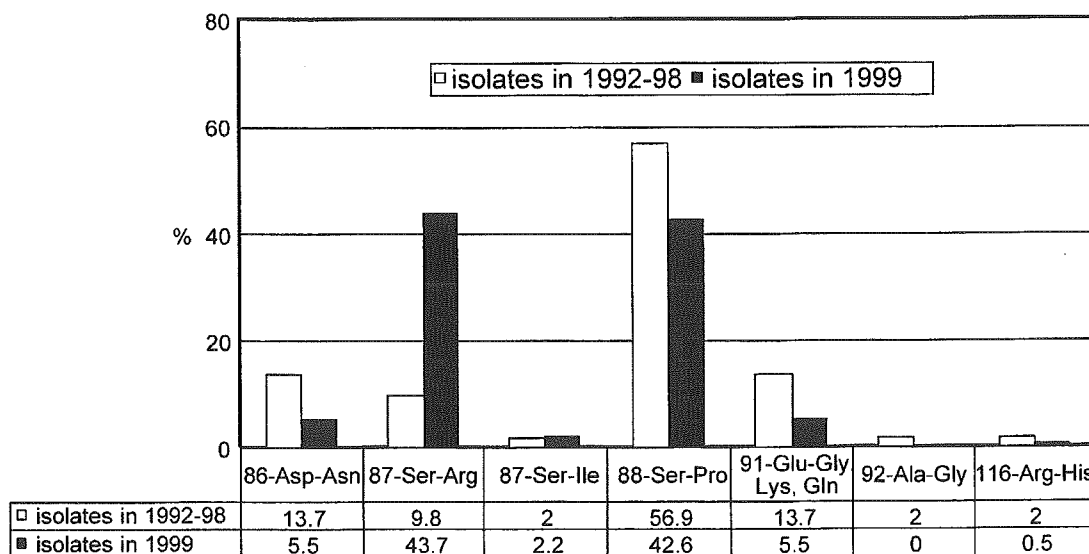


Fig. 6. Comparison of amino acid substitution within QRDR in the ParC proteins between gonococcal isolates in 1992–1998 and 1999.

has been reported previously for non-PPNG [13,14] and in PPNG [15]. Therefore, proline-requiring gonococcal isolates may acquire chromosomal-mediated resistance not only to β -lactams but also to structurally unrelated fluoroquinolones than do non-requiring isolates.

3.9. Substitution in *GyrA* and *ParC*

We also investigated the genetic alterations within QRDR in the *gyrA* and *parC* genes in the isolates susceptible or resistant to ciprofloxacin. The frequently identified substitutions were a serine to phenylalanine substitution at position 91 (Ser-91 in *N. gonorrhoeae* GyrA corresponds to Ser-83 in *Escherichia coli* [16]) and an aspartic acid to asparagine or glycine substitution at position 95 within GyrA in both isolates of 1992–1998 and 1999 (Fig. 5). The frequently identified substitutions were a serine to proline substitution at position 88, an aspartic acid to asparagine substitution at position 86 and a glutamic acid to glycine, lysine or glutamine substitution at position 91 in isolates of 1992–1998. A serine to arginine substitution at position 87 and a serine to proline substitution at position 88 within ParC were identified in the isolates of 1999 (Fig. 6). Interestingly, of 87 isolates resistant to ciprofloxacin in 1999, 2 (2.3%) contained five amino acid substitutions, 30 (34.5%) contained four amino acid substitutions, 46 (52.9%) contained three amino acid substitutions, 7 (8.0%) contained two amino acid substitutions and 2 (2.3%) contained only one amino acid substitution within the GyrA and ParC proteins. High-level fluoroquinolone-resistant isolates are accumulating amino acid substitutions within the GyrA and ParC proteins.

4. Conclusion

In Japan, where high prevalence of fluoroquinolone-resistant isolates and increasing prevalence of multidrug-resistant isolates have been shown, ceftriaxone, cefixime or spectinomycin are recommended as the first-line treatment regimen for gonococcal infections. Fluoroquinolones should be avoided and the surveillance of antimicrobial resistance of *N. gonorrhoeae*, the evolution of high-level fluoroquinolone resistance and multidrug resistance, should be continued in Japan.

References

- [1] 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 to 1998. *J Clin Microbiol* 2000;38:521–5.
- [2] Tanaka M, Matsumoto T, Sakumoto M, et al. Reduced clinical efficacy of pazufloxacin against gonorrhoea due to high prevalence of quinolone-resistant isolates with the GyrA mutation. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:579–82.
- [3] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 5th ed. Approved standard M7-A5. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2000.
- [4] Catlin BW. Nutritional profiles of *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, and *Neisseria lactamica* in chemically defined media and use of growth requirements for gonococcal typing. *J Infect Dis* 1973;128:178–94.
- [5] Tapsall JW. The WHO Western Pacific Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme. Surveillance of antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the WHO Western Pacific Region, 2000. *Commun Dis Intell* 2001;25:274–6.
- [6] Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2002. *Morb Mortal Wkly Rep* 2002;51:RR-6.
- [7] The Association of Genitourinary Medicine and the Medical Society for the Study of Venereal Diseases in the United Kingdom. National guideline for the management of gonorrhoeae in adults. *Sex Transm Inf* 1999;75(Suppl 1):S13–15.
- [8] Dougherty TJ, Koller AE, Tomasz A. Penicillin-binding proteins of penicillin-susceptible and intrinsically resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1980;18:730–7.
- [9] Gill MJ, Simjee S, Al-Hattawi K, Robertson BD, Easmon CS, Ison CA. Gonococcal resistance to beta-lactams and tetracycline involves mutation in loop 3 of the porin encoded at the penB locus. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:2799–803.
- [10] Hagman KE, Pan W, Spratt BG, Balthazar JT, Judd RC, Shafer WM. Resistance of *Neisseria gonorrhoeae* to antimicrobial hydrophobic agents is modulated by the mtrRCDE efflux system. *Microbiology* 1995;141:611–22.
- [11] Knapp JS, Holmes KK. Disseminated gonococcal infections caused by *Neisseria gonorrhoeae* with unique nutritional requirements. *J Infect Dis* 1975;132:204–8.
- [12] Handsfield HH, Sandstrom EG, Knapp JS, et al. Epidemiology of penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* infections: analysis by auxotyping and serogrouping. *N Eng J Med* 1982;306:950–4.
- [13] Noble RC, Parekh MC. Association of auxotypes of *Neisseria gonorrhoeae* and susceptibility to penicillin G, spectinomycin, tetracycline, cefaclor, cefoxitin, and moxalactam. *Sex Transm Dis* 1983;10:18–23.
- [14] van Klingeren B, Ansink-Schipper MC, Doornbos L, et al. Surveillance of the antibiotic susceptibility of non-penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae* in The Netherlands from 1983 to 1986. *J Antimicrob Chemother* 1988;21:737–44.
- [15] van Klingeren B, Ansink-Schipper MC, Dessens-Kroon M, Verheuvell M. Relationship between auxotype, plasmid pattern and susceptibility to antibiotics in penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. *J Antimicrob Chemother* 1985;16:143–7.
- [16] Belland RJ, Morrison SG, Ison CA, Huang WM. *Neisseria gonorrhoeae* acquires mutations in analogous regions of *gyrA* and *parC* in fluoroquinolone-resistant isolates. *Mol Microbiol* 1994;14:371–80.

日本における性感染症 (STD) サーベイランス — 2002年度調査報告 —

National Surveillance of Sexually Transmitted Diseases of Japan in 2002

2002年度 STDサーベイランス報告

日本性感染症学会誌 第15巻 (1号) 17頁~45頁・2004年

性感染症サーベイランス研究班 (班長 熊本悦明)

〔厚生科学研究費補助金 (新興・再興感染症) 研究事業〕

Study group for STD surveillance in Japan, granted MHWL (Chief : Yoshiaki KUMAMOTO)

熊本悦明 ¹⁾	塚本泰司 ²⁾	杉山 徹 ³⁾
赤座英之 ⁴⁾	野口昌良 ⁵⁾	納谷敦夫 ⁶⁾
守殿貞夫 ⁷⁾	碓井 亞 ⁸⁾	香川 征 ⁹⁾
田中正利 ¹⁰⁾	箕輪眞澄 ¹¹⁾	谷畑健生 ¹²⁾
澤畑一樹 ¹³⁾		

1) (財)性の健康医学財団会頭

2) 札幌医科大学医学部泌尿器科学教室教授

3) 岩手医科大学医学部産婦人科学教室教授

4) 筑波大学医学部泌尿器科学教室教授

5) 愛知医科大学産婦人科学教室教授

6) 大阪府健康福祉部長

7) 神戸大学医学部泌尿器科学教室教授

8) 広島大学医学部泌尿器科学教室教授

9) 徳島大学医学部泌尿器科学教室教授

10) 九州大学医学部泌尿器科学教室助教授

11) 国立保健医療科学院疫学部部長

12) 国立保健医療科学院疫学部 統計分析担当

13) 三菱化学BCL データ整理担当

日本における性感染症サーベイランス

—2002 年度調査報告—

National Surveillance of Sexually Transmitted Diseases of Japan in 2002

性感染症サーベイランス研究班（班長 熊本悦明）

（厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症）研究事業）

Study group for STD surveillance in Japan, granted MHWL (Chief: Yoshiaki KUMAMOTO)

熊本悦明 ¹⁾	塚本泰司 ²⁾	杉山 徹 ³⁾
Yoshiaki KUMAMOTO	Taiji TSUKAMOTO	Tohru SUGIYAMA
赤座英之 ⁴⁾	野口昌良 ⁵⁾	納谷敦夫 ⁶⁾
Hideyuki AKAZA	Masayoshi NOGUCHI	Atsuo NAYA
守殿貞夫 ⁷⁾	碓井 亞 ⁸⁾	香川 征 ⁹⁾
Sadao KAMIDONO	Tsuguru USUI	Susumu KAGAWA
田中正利 ¹⁰⁾	簗輪真澄 ¹¹⁾	谷畑健生 ¹²⁾
Masatoshi TANAKA	Masumi MINOWA	Takeo TANIHATA
澤畑一樹 ¹³⁾		
Kazuki SAWAHATA		

わが国の性感染症の流行が臨床の場において注目されるようになり、ことに HIV 感染の広がる場としての性感染症の広がり大きさの如何にということが問題となってくる。

ところが、現行の厚生労働省・国立感染症情報センターで集計している各県の定点報告集計では、その質問に答えられない欠点がいくつかある。

そこでわれわれの研究班が組織され、推計疫学調査法に基づく手法で、性感染症の実態調査を行い、われわれの data と定点集計との差についての分析を行なった。その差の問題点については、諸々比較 data は膨大多岐に亘るため、別論文に譲ることにして、ここでは定点集計報告では不可能であったわれわれの疫学調査の特徴である調査した 8 種の性感染症の男女の年齢別・10 万人年対罹患率と年間罹患症例の推計値を算定したところをまとめて報告する。

本研究は 1998 年以来実施され、1998 年は 7 モデル県、1999 年～2000 年は 8 モデル県、2001 年

- 1) 財性の健康医学財団会頭：Japanese Foundation of Sexual Health Medicine
- 2) 札幌医科大学医学部泌尿器科学教室教授：Department of Urology, Sapporo Medical University School of Medicine
- 3) 岩手医科大学医学部産婦人科学教室教授：Department of Obstetrics & Gynecology, Iwate Medical University School of Medicine
- 4) 筑波大学医学部泌尿器科学教室教授：Department of Urology, University of Tsukuba, School of Medicine
- 5) 愛知医科大学産婦人科学教室教授：Department of Obstetrics & Gynecology, Aichi Medical University
- 6) 大阪府健康福祉部長：Department of Public Health and Welfare
- 7) 神戸大学医学部泌尿器科学教室教授：Department of Urology, Kobe University, School of Medicine
- 8) 広島大学医学部泌尿器科学教室教授：Department of Urology, Hiroshima University, School of Medicine
- 9) 徳島大学医学部泌尿器科学教室教授：Department of Urology, School of Medicine, The University of Tokushima
- 10) 九州大学医学部泌尿器科学教室助教授：Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyushu University
- 11) 国立保健医療科学院疫学部部長：Department of Epidemiology, National Institute of Public Health
- 12) 国立保健医療科学院疫学部統計分析担当：Department of Epidemiology, National Institute of Public Health
- 13) 三菱化学ビーシーエル データ整理担当：Mitsubishi Biochemical Laboratory

～2002 年は 9 モデル県の医師会の協力の下に実施しており、2001 年までの data はすでに各年度別に報告しているため、本論文は 2002 年度の data を中心に報告する。

2002 年度は、調査対象モデル県の人口は全国民数の 31.7%にあたり、また調査期間は 6 月及び 11 月の 2 カ月、年の 1/6 期間の調査であるため、推定される全性感染症症例の 5.3%、ほぼ 19 分の 1 を調査していることになる。これを元に、疫学的推計法により各種性感染症の 10 万人・年対罹患率を算出している。

調査医療施設は各モデル県下の全産婦人科・泌尿器科・皮膚科・性病科を対象に調査用紙を配り、回収率 81%であった。これらの基礎資料からして、われわれの性感染症疫学調査成績はかなり信頼できるわが国の性感染症疫学資料となっていると言える。またこの data の信頼性を証明すべく、クラミジア感染症について、無症候感染率を勘案した推計値が実際に具体的な screening 調査を行った成績とほぼ合致することも確かめつつある。

東京都ではすでに 1 日 1 名の HIV 感染報告が出つつある現在、その HIV 感染の拡散する場作りをしている性感染症の流行の具体的な数値のある疫学調査資料として参考にさせていただきたい。

Although we have a remarkable prevalence of sexually transmitted diseases (STD) in Japan, we did not have the precise epidemiological surveillance of STD. Our research group, which received a grant from the MHW, has been conducting a sentinel surveillance of STD in 9 model prefectures since 1998, with the strong cooperation of the Japanese Medical Association and local related Medical Associations in 9 prefectures.

From this surveillance, we calculated the incidence rates per 100,000 persons per year with STDs, that is, chancroid, syphilis, gonococcal infection, condyloma acuminatum, genital herpes genital chlamydial infection, genital non-gonococcal non-chlamydial infection & trichomonas.

This is the report about such a sentinel surveillance of STDs surveyed in 2002, that is, the third report in our report series of Japanese Sentinel Surveillance of STDs.

The response rate of this year's surveillance was 81%. This survey collected the information about all STD cases which visited to gynecological, urological, dermatological and STD clinics in 9 model prefectures in June and November in 2002. The incidence rates per 100,000 persons a year and male/female rates of each STD are as follows.

Total STD 630.6 (1.14), chancroid 0.2 (female case 0.1), syphilis 4.0 (0.88), gonococcal infection 104.9 (0.32), condyloma acuminatum 31.5 (1.09), genital herpes 57.7 (1.91), genital chlamydial infection 223.4 (1.78), genital non-gono, non-chlamydial infection 202.4 (1.09), trichomonas 6.6 (3.13).

In general, the number of female STD cases is greater than the number of male cases. The male/female ratio in all STDs is 1.14. 48.9% of STD cases were reported from gynecological clinics, and then 45.1% from urological clinics and 5.4% from dermatological clinics.

The incidence rates of all STDs in 2002 compared to those in 2000 reveal an increase of 6.3% in women and 22% in men. Especially, genital chlamydial infection has an increase of 65% in women and 26% in men. The great prevalence of various STDs in Japan suggests that we will have a very dangerous condition of public health in the future because the prevalence of HIV infection is said to tightly correspond with such a classical STD prevalence.

はじめに

わが国の性感染症の10万人・年対罹患率の意義

性感染症は今や若い世代の罹患疾患で最も症例の多い疾患となっており、しかもそれが若者の性の健康を阻害し、また世界で最も恐れられている“HIV 感染流行の場”作りをしている。ところが、その事実があまり社会的にもまた、医学界でさえもさして注目事項となっていない。

これは性感染症はさして深刻な感染症と受け取られていないことと、“性”に対する偏見に加えて性感染症は dirty disease という印象を殆どの人がいまだに持っていることによるといっている。

しかも、現在最も恐れられており、且つ最も深刻な問題を抱えているエイズ/HIV 感染もわが国では殆ど無症候性の性感染症として広がり始めており、従来からの性感染症流行と連動して感染の輪を広げつつある。

また“性”をタブー視して事挙げたがらない保守的

な発想がいまだ社会に根強く残っているとはいえ、現実には若者を中心に性の自由化・多様化は驚くほどの勢いで広がっており、その社会的風潮の中で、性感染症が拡散している。そのため、今や男の歓楽街での享楽と結びついた dirty disease と片付けられない程、いうなれば性生活における“生活環境汚染的な様相”を呈しつつある。しかも性感染症としてのエイズ/HIV 感染にさえ警戒心を失い、コンドーム出荷量が最近急激に減少しており、risk の高い性交渉の場でさえ、コンドーム使用があまり一般化していない (Fig. 27 参照)。

これらのことが背景として積み重なって性感染症への関心が医学界においてさえあまりなく、やはり“untouchable な dirty disease”として多くの医学研究者もあまり触れたがらない。

しかしその様な社会的無関心の人々の心の隙をつく様に、今や若者の中に大流行している訳で、何ゆえと言わざるを得ない。それにはやはり正確な且つ詳しい性感染症の疫学的資料が今まで存在しなかったからとも言える。ことに、無症候化傾向の強い最近の流れの中で注目され難い面もあるとも考えられる。ことに、現在の定点報告をまとめて厚生労働省・国立感染症情報センターから報告されている性感染症動向調査は、罹患率という具体性がないため、“多いよ”と言われ“増えているよ”と言っても、殆ど実感が無い data のため、あまり危機感・切迫感が出て来ないと言ってよい。

そこでわれわれは疫学調査の原則に則り、全国 9 モデル県の関係医師会の積極的な協力のもと、推定上年間全性感染症症例の 1/19 をカバーし、調査用紙回収 81% の高率集計により、8 種の性感染症 (梅毒、性器ヘルペス、尖圭コンジローマ、軟性下疳、腔トリコモナス感染症、淋菌感染症、性器クラミジア感染症、非淋菌・非クラミジア性性器炎) につき、男女別の年齢別 10 万人・対罹患率及び罹患症例数を推定算出し、性感染症猖獗の実態を具体的数字としてまとめて報告している。この疫学調査は 1998 年度に始まり、本報告の 2002 年度で終了するので、本報告がこの疫学調査研究報告としては最後となるが、この具体的疫学率を関係者が真剣に考え、積極的な“性感染症としての HIV 感染”にも直接つながる性感染症予防啓蒙に努力されることを期待している。

調査方法

1. 調査実施地域と調査医療期間

全国 8 地方より、それぞれ 1 調査モデル県を選び、それに昨年度より人口密集地域代表として大阪府を加え、9 モデル県において調査を実施した。調査モデル県は、北海道・岩手県・茨城県・愛知県・大阪府・兵庫県・広島県・徳島県・福岡県である。

調査は日本医師会及び県の医師会の全面的な援助・協力の下、それぞれの県下の性感染症診療と関係深い産婦人科・泌尿器科・皮膚科・性病科のすべての医療施設を対象に、調査期間 (6 月期及び 11 月期) 中に受診した全性感染症症例につきアンケート調査を施行した。Table 1 に示した如く調査したのは 6 月期 4,680 施設、11 月期 4,546 施設である。

調査対象人口は 39,765,906 人で、本邦全人口 125,439,273 人の 31.7% (約 1/3 弱) にあたる。調査期間は 6 月期及び 11 月期で、年間の 1/6 にあたる。そのため、本調査は 2002 年度の全性感染症の 19 分の 1 を調査していることになると考えている。

2. 調査疾患

調査期間中に調査医療施設にて診断された、以下の 8 性感染症につき、症例数及び発症例の性別、年齢について報告を受けているが、症例個人名その他の privacy については厳格に保持していた。

- ① 軟性下疳 (臨床診断による)
- ② 梅毒 (感染 2 年以内の初期梅毒症例)
- ③ 尖圭コンジローマ (臨床診断による)
- ④ 性器ヘルペス感染症 (臨床診断による)
- ⑤ 淋菌感染症 (男子尿道炎・女子子宮頸管炎で淋菌を確認し得た症例)
- ⑥ 性器クラミジア感染症 (男子尿道炎・女子子宮頸管炎でクラミジア菌体を確認し得た症例)
- ⑦ 非淋・非ク性性器炎 (男子尿道炎・女子子宮頸管炎で淋菌及びクラミジア検査陰性例)
- ⑧ 腔トリコモナス感染症 (性器分泌物中に検頭または培養にて原虫検出した症例)
- ⑨ 全性感染症 (われわれの調査し得た 8 性感染症群をまとめたものを一応“全性感染症: all STD”と

して以下に記載することにする)

(註)非淋菌性性器炎でクラミジア検査未施行の症例については、未検査例として報告を受けた。ただ、その数値は、調査結果から得られたクラミジア性及び非クラミジア性性器炎の症例比に基づき、未検査群をその2群に比例分別し、それぞれクラミジア感染症及び非クラミジア感染症の症例数に加算して、最終集計を行った。

3. 集計及び統計的分析

調査用紙は、それぞれの診療施設から各県の調査担当者へ郵送によって回収した。なお報告未着施設には、可能な限り手紙・電話などで調査依頼や調査用紙返送督促などを行い、回収率の向上に努めた。各県の調査担当責任者の下に回収された調査用紙は、国立保健医療科学院疫学部兼輪眞澄部長の下に集め、すべての統計処理を行った。

統計処理は6月期及び11月期の全9モデル県の症例をそれぞれの期で集計し、各性感染症毎に人口10万人・年対罹患率を推定算出した。その上で、両期の平均値を2002年度の各性感染症の人口10万人・年対罹患率とした。さらに、その罹患率を用い本邦全人口を基に、本邦における各性感染症の年間症例数も一応推定算出した。

調査成績

1. 調査回収率 (Table 1)

Table 1 に各調査県における回収率を示したが、県によりある程度のバラツキはあったが、平均回収率は6月期80.5%、11月期81.6%で、全体としても81.0%となった。この種の大々的な疫学調査としては、かなり高率の回収率であると言える。

2. 診療科別の性感染症報告症例分布 (Fig. 1、2)

まず、現在どの診療科が、どのような性感染症例を診察しているかをまとめてみた。Fig. 1 下段の表の左端に示した all STD の診療科別症例分布率を見ると、産婦人科が48.9%と、半数のSTD 症例を診察していることがわかる。ついで泌尿器科が45.1%であり、皮膚科の占める割合はわずか5.4%に止まっている。

各種疾患別にそれがどの診療科の診療を受けているか、各診療科における割合をそれぞれに検討したものをFig. 1 上段図に示してある。淋菌感染症のような古典的STD はいまだ“泌尿器科優位”であるが、尖圭コンジローマ、性器ヘルペス、性器クラミジア感染症、非淋・非クラミジア性器炎などの“新しい性感染症群”はすべて“産婦人科優位”であることが示されている。

次に、診療科別に受診する各種STD 分布をまとめた

Table 1 調査施設数・回収率

	2002年度6月期調査			2002年度11月期調査			2002年度調査合計		
	施設数	回収数	回収率	施設数	回収数	回収率	施設数	回収数	回収率
北海道	639	513	80.3	629	512	81.4	1268	1025	80.8
岩手	224	196	87.5	224	199	88.8	448	395	88.2
茨城	490	463	94.5	476	446	93.7	966	909	94.1
愛知	659	649	98.5	658	641	97.4	1317	1290	97.9
大阪	1777	1285	72.3	1565	1132	72.3	3342	2417	72.3
兵庫	809	609	75.3	795	567	71.3	1604	1176	73.3
広島	339	259	76.4	360	339	94.2	699	598	85.6
徳島	180	150	83.3	178	153	86.0	358	303	84.6
福岡	694	556	80.1	689	557	80.8	1383	1113	80.5
合計	5811	4680	80.5	5574	4546	81.6	11385	9226	81.0