

- 9) Miller, WC, et al.: Prevalence of Chlamydia and Gonococcal Infections Among Young Adults in the United States. JAMA. 2004; 291(18): 2229-2236.
- 10) 小野寺昭一：感染症法の改正と性感染症予防指針の見直し：化学療法領域。2008；24：50-55.
- 11) 小野寺昭一，大日康史，伊藤晴夫，井上正樹，三輪黄繁，荒川創一：平成18年度4モデル県における性感染症の全数調査—中間報告書—。性感染症に関する特定感染症予防指針の推進に関する研究班（主任研究者：小野寺昭一）平成18年度総括研究報告書。2007。p.30-34.
- 12) 小野寺昭一：性感染症に関する特定感染症予防指針の推進に関する研究班；総括研究報告書。性感染症に関する特定感染症予防指針の推進に関する研究班（主任研究者：小野寺昭一）平成19年度総括研究報告書。2008。p.3-24.

特集

若者を性感染症から守る

性感染症の発生動向と最近のトピックス

小野寺昭一 多田 有希

公衆衛生

第72巻 第6号 別刷

2008年6月15日 発行

医学書院

性感染症の発生動向と最近のトピックス

小野寺 昭一¹⁾ 多田 有希²⁾

わが国において発生動向調査が行われている性感染症には6疾患があるが、そのうち梅毒、HIV/エイズの2疾患は全数届出、性器クラミジア感染症、性器ヘルペス、尖圭コンジローマ、淋菌感染症の4疾患は定点調査により発生動向が調査されている。定点調査とは、都道府県が指定した医療機関を受診した患者数を、毎月最寄りの保健所へ届けているものであり、全数を調査しているものではない。したがってこの調査は、性感染症全体の動向を知ることを目的としている。なお、現在これらの性感染症は何れも感染症法の5類感染症として扱われている。

本稿では、定点調査が行われている4つの性感染症と、梅毒を加えた5つの疾患の最近の動向について解説するとともに、若者における無症候の

性器クラミジア感染者の実態について、われわれの調査を元に述べる。さらに、薬剤耐性淋菌と淋菌の咽頭感染について、その現状と対策について述べることとする。

わが国における性感染症の発生動向

1. 定点4疾患における動向

男性における淋菌感染症、性器クラミジア感染症は1996年頃から増加傾向が続いていたが、2003年頃から、両感染症とも減少に転じ、現在でもその傾向が続いている。一方、性器ヘルペス、尖圭コンジローマではほぼ横ばい状態となっている(図1)。

女性においても、男性と同じように、性器クラミジア感染症では2003年から、淋菌感染症では

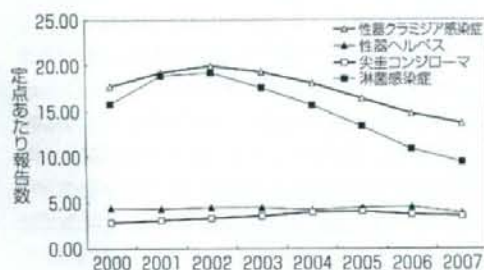


図1 定点把握4性感染症定点当たり報告数年次推移 2000~2007(男性)

(感染症発生動向調査 2008年1月16日現在)

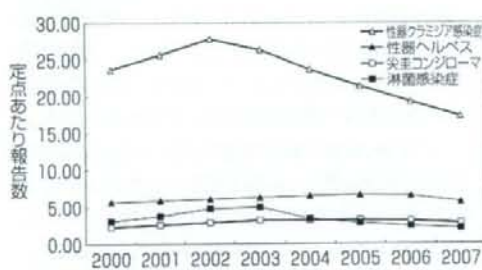


図2 定点把握4性感染症定点当たり報告数年次推移 2000~2007(女性)

(感染症発生動向調査 2008年1月16日現在)

1) おのぞら しょういち：東京慈恵会医科大学感染制御部
連絡先：〒105-8471 東京都港区西新橋3-19-18
2) ただ ゆき：国立感染症研究所感染症情報センター

特集

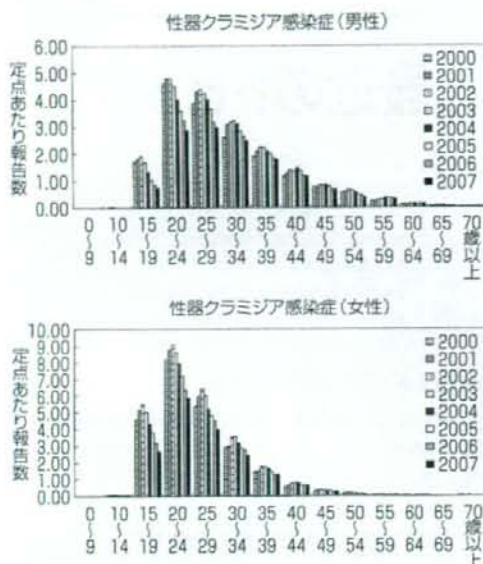


図3 年次別/年齢群別定点当たり報告数
(感染症発生動向調査 2008年1月16日現在)

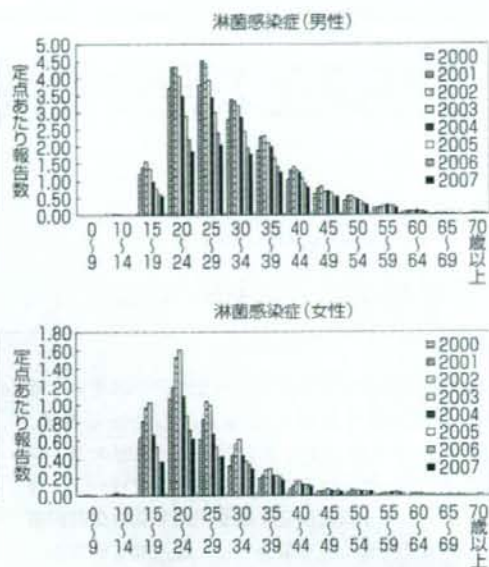


図4 年次別/年齢群別患者定点当たり報告数
(感染症発生動向調査 2008年1月16日現在)

2004年から減少傾向が見られ、やはり現在でも減少傾向が続いている。女性における性器ヘルペス、尖圭コンジローマについては、2006年までは微増傾向があるように見受けられたが、2007年は両疾患とも減少している(図2)。この減少の背景を見るために、性器クラミジア感染症、淋菌感染症について2000年以降の年齢群別定点当たり報告数を見たものを図3、4に示した。性器クラミジア感染症、淋菌感染症について、年齢別に患者数の年次推移を見ると、2003年以降、男女とも10歳代後半～30歳代において減少傾向が見られているが、特に若い年齢層ほどその傾向が強い。

男女別、疾患別に見た4疾患の比率の年次推移を見た場合、男性においても女性においても最も頻度が高い性感染症は性器クラミジア感染症で、2007年の報告では、男性の44%、女性の62%が性器クラミジア感染症となっている。第2位は男性では淋菌感染症で31%、女性では性器ヘルペスで20%となっているが、最近10年間に於いて疾患の比率に大きな変動はないように見受けられる。

次に、2006年の報告数を、男女別、年齢群別に於いて疾患の比率を見たものを示した(図5)。男性では年齢が高くなるにつれて、淋菌感染症、性器クラミジア感染症とも減少し、性器ヘルペス、尖圭コンジローマの頻度が高くなる傾向が見られる。特に60歳を超えると性器ヘルペスの頻度が高くなり、70歳代では約80%を性器ヘルペス患者が占めていることになる。この傾向は女性においてはさらに顕著で、45歳を超えると急激に性器ヘルペス患者の比率が増加し、65歳を超えるとほぼ90%が性器ヘルペス患者で占められている。この性器ヘルペスに関しては、他の3疾患に比べて高年齢層からの届出数が多いため、初発あるいは初感染例に加えて、再発例も含めて届けられている可能性があることが以前より指摘されていた。このような背景から、2006年4月に「明らかな再発例を除く」という文言が届出基準に書き込まれたため、2006年以降は高年齢層の届出が減少されることが予測されたが、現実には2006年以降も変化が見られていないことになる。

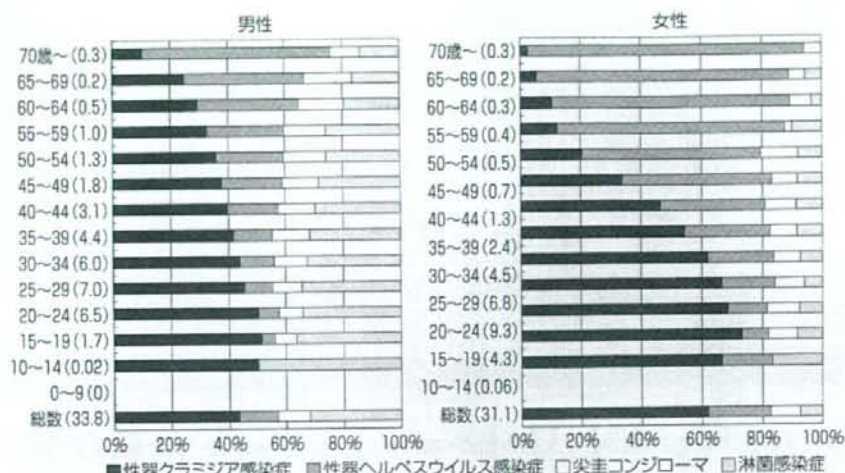


図5 年齢群別に見た定点把握4性感染症の割合(2006年)

(感染症発生動向調査 2008年1月16日現在)

この点に関しては、届出基準の周知徹底が不十分な点や、定点医療機関におけるカルテの記載において、初発、再発の区別が明確に記載されていない場合も多いことなどが理由として考えられている¹⁾。

以上をまとめてみると、定点調査を見る限りでは、わが国における性感染症は特にクラミジア感染症、淋菌感染症において減少傾向にあり、特にこの減少は若年世代を中心にその傾向が強い。この理由については、これまで若者を中心として行ってきた性感染症対策が功を奏してきたとする考えもあるが、後述の、全数調査が行われている梅毒において、特に女性患者において若年齢化が見られている状況を考えて、性器クラミジア感染症、淋菌感染症における定点調査が、若年齢層の罹患状況を必ずしも的確に把握していない可能性があり、決して楽観視することはできない状況と思われる。

事実、2006年にわれわれが行った4モデル県における性感染症の全数調査では、発生動向調査(定点調査)と全数調査の患者報告数の比較において、特に10歳代後半の世代において乖離が見られることが明らかとなっており、若い世代の性感

染症患者は、定点に指定されている医療機関には受診していない可能性があることが示唆されている²⁾。このことは、定点調査を検証するための何らかの追加的なサーベイランスを行って実態を比較することが重要であり、定点調査の精度についても総合的に評価していく必要があることを示すものであろう。

2. 梅毒の動向

2000年以降、2007年までの梅毒の年次推移について図6に示した。2000年以降、2003年までは緩やかな減少が見られていたが、2004年には増加に転じ、2007年の時点でも増加傾向が見られている。特に2006年、2007年はそれぞれ前年に比べ、約100例の増加が見られている。これを病型別に見ると先天梅毒、晩期顕症梅毒は横ばいになっているが、早期顕症I、II期、無症候梅毒ともにここ数年間において増加傾向が見られている。さらに、2006年の報告数を男女別、年齢別病気別に見てみると、男性では、早期顕症は15~19歳の年齢群から始まり、30歳代にピークがあるが、女性では早期顕症梅毒は、15~19歳がピークとなっており、年齢が高くなるにつれて報告数が減っていることが明らかになってい

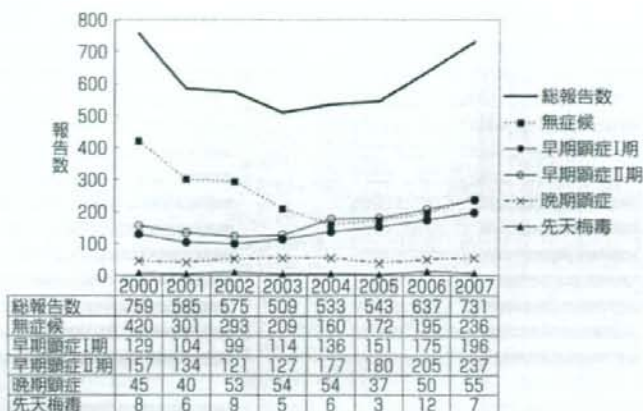


図6 病期別梅毒患者報告数の年次推移(2000~2007年)(感染症発生動向調査 2008年2月3日現在)

る¹⁾。このことは、梅毒において、感染者の若年齢化が進行していることを示唆するものであり、今後の注意深い観察が重要であることを示すものである。

無症候の性感染症の実態と 薬剤耐性淋菌の蔓延

前項で示した性感染症の定点調査による患者数は、いずれも何らかの症状があって医療機関を受診した患者数であり、性感染症には多くの無症候感染者が存在することを忘れてはならない。厚生労働省の班研究によるわれわれの調査では、例えば、性器クラミジア感染症の無症候感染者は、高校生の女子において、13%程度に存在し、男子においても7%前後に陽性者が存在する³⁾。また、咽頭の淋菌感染はほとんどが無症候感染であるが、男子の淋菌性尿道炎患者の約10%、また女子の淋菌性子宮頸管炎患者でも50%程度に咽頭にも淋菌を有していることが明らかになっている⁴⁾。

また、わが国では、薬剤耐性淋菌の蔓延が大きな問題になっており、淋菌感染症を確実に除菌し得る抗菌薬はきわめて少ない状況になっている。性感染症学会の診断・治療のガイドラインで淋菌感染症に推奨されている治療薬は、現在ではセフトリアキソン(CTRX)、セフォジジム(CDZM)、

スペクチノマイシン(SPCM)の3薬のみで、いずれも注射薬である⁵⁾。ただ、この中で咽頭の淋菌を1回の投与で確実に除菌できるのはセフトリアキソンだけであり、セフォジジム、スペクチノマイシンでは除菌率は低く、推奨されない⁶⁾。少なくとも現段階では性器由来の淋菌を消失させるだけでなく、淋菌感染症の蔓延の原因になっている咽頭の淋菌感染にも有効なセフトリアキソンの投与を普及させることが重要である。

おわりに

わが国の性感染症の動向について、定点調査の成績を中心に述べ、トピックスとして、無症候の性感染症の実態と薬剤耐性淋菌の問題について述べた。

定点調査からは近年、淋菌感染症、性器クラミジア感染症とも減少傾向が見られる一方で、無症候の性感染症患者の実態調査では、特に若い世代において無症候の性器クラミジア感染者が予想を超えて存在することが重要である。このような現状を考えると、今後、若年層を中心とした予防対策を重点的に推進する必要があることは明らかである。そのためには、中学生の段階から性感染症予防のための教育を含む普及・啓発を行うこと。また、高校生の段階では、性感染症の早期発見・

早期治療に結び付けられるようなスクリーニングのシステムを構築することも重要であろう。さらにその蔓延を防ぐために、性感染症に対する適切な診断法・治療法の普及が急務であろう。

文献

- 1) 岡部信彦, 多田有希: 感染症発生动向からみたわが国のSTDの動向, 性感染症に関する特定感染症予防指針の推進に関する研究班(主任研究者: 小野寺昭一), 平成19年度総括研究報告書, pp 29-43, 2008
- 2) 小野寺昭一: 総括研究報告書, 性感染症に関する特定感染症予防指針の推進に関する研究班(主任研究者:

- 小野寺昭一), 平成19年度総括研究報告書, pp 3-24, 2008
- 3) 今井博久: わが国の若年者における無症候性クラミジア感染症の実体研究, 性感染症の効果的な蔓延防止に関する研究班(主任研究者: 小野寺昭一), 平成15年度~平成17年度総合研究報告書, pp 26-30, 2006
 - 4) 松本哲朗: 淋菌性咽頭感染の実態と治療に関する研究, 性感染症に関する特定感染症予防指針の推進に関する研究班(主任研究者: 小野寺昭一), 平成18年度総括研究報告書, pp 121-128, 2007
 - 5) 性感染症診断・治療ガイドライン2006, 淋菌感染症, 日本性感染症学会誌 17(1): 35-39, 2006

映画の時間

ふみ子の海

- 原作: 市川信夫/監督: 近藤明男/出演: 鈴木理子, 他/2007年/日本/105分/製作: CAL/配給: パンドラ, シネマ・ディスト/第31回山路ふみ子映画福祉賞受賞
- 公式サイト: <http://www.fumikonoumi.com>
- 自主上映主催・共催等の問合せはシネマ・ディスト(TEL. 03-3505-1874)

藤田正浩監督による「はなれ醫女おりん」という映画がありました。醫女(こぜ)とは三味線を弾きながら、民謡や俗曲を聞かせて地方を巡る盲目の女芸芸で、醫女の組織から離れて生きる盲目の主人公を岩下志麻が好演した名作でした。

今回ご紹介する「ふみ子の海」の中でも、醫女の集団が寄り添って生きる姿が垣間見られます。舞台は昭和初期の新潟。主人公のふみ子(鈴木理子)は幼くして視力を失います。先天的なものか、栄養不良によるものか、映画では原因は詳しく語られませんが、当時の公衆衛生水準、医療制度などを考えると、失明の背景には貧困もあるのでしょうか。主人公の母親チヨ(藤谷美紀)は、ふみ子の視力の回復が望めない状況に絶望し、波の高い日本海で親子心中を図ります。そのとき、目の見えない主人公が「海ってきれいだね」と呟きます。チヨは我に返り、海から戻ります。題名の「ふみ子の海」はこのときの体験から名づけられたものでしょう。主人公ふみ子にはモデルがおり、一部は実話に基づいているとのことでした。

主人公は盲学校への進学を望みますが、生活にゆとりはありません。当時の視覚障害者が生きていくには、醫女の親方に弟子入りして旅芸人の道を歩むか、あるいは江戸時代より盲人の職業とされていたマッサージ師に弟子入りするような進路しかなかったのでしょうか。進学のための経済的援助を求められながら、それを断る本家の当主(中村敦夫)の判断も、当時の社会的状況からすれば、むしろ主人



公の将来を考えてのことと思われまます。

母チヨが病に倒れ、ふみ子は高田市内のいわゆる「あんま屋」に弟子入ります。その女主人(高橋恵子)はふみ子を厳しくしつけます。折しもヘレン・ケラー女史が来日し、ふみ子は女史に会いに行こうとします…。

本作品は逆境に置かれた主人公ふみ子を中心に、彼女の頑張り姿と、彼女を取り巻く人々を暖かく描くハートウォーミングな映画ですが、それとともに、醫女集団や「あんま屋」をはじめとして、昭和初期の視覚障害者の置かれた状況を実感できるのも見所のひとつです。主人公が進学を希望する高田盲学校も、2006年にその役割を終えて閉校となったようですが、高田周辺に残る歴史的建造物をロケーション場所に選ぶことによって、現実感溢れる画面を創造しています。

「ふみ子の海」はすでにロードショーを終了していますが、自主上映の機会もあるようです。視覚障害者教育のみならず、障害者の教育や福祉を考えるうえで、参考になることも多く、広く公衆衛生に従事する方々にご覧いただきたい映画です。(桜山豊夫)

ORIGINAL ARTICLE

Kazuyoshi Osaka · Tadakazu Takakura · Kayo Narukawa
Masahiro Takahata · Katsuhisa Endo · Hiroshi Kiyota
Shoichi Onodera

Analysis of amino acid sequences of penicillin-binding protein 2 in clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae* with reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone

Received: January 4, 2008 / Accepted: March 4, 2008

Abstract *Neisseria gonorrhoeae* strains with reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone, with minimum inhibitory concentrations (MICs) of cefixime of 0.125–0.25 µg/ml and ceftriaxone of 0.031–0.125 µg/ml, were isolated from male urethritis patients in Tokyo, Japan, in 2006. The amino acid sequences of PenA, penicillin-binding protein 2, in these strains were of two types: PenA mosaic and nonmosaic strains. In the PenA mosaic strain, some regions in the transpeptidase-encoding domain in PenA were similar to those of *Neisseria perflavalsicca*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria polysaccharea*, and *Neisseria meningitidis*. In the PenA nonmosaic strain, there was a mutation of Ala-501 to Val in PenA. In addition, we performed homology modeling of PenA wild-type and mosaic strains and compared them. The results of the modeling studies suggested that reduced susceptibility to cepheems such as cefixime and ceftriaxone is due to a conformational alteration of the β-lactam-binding pocket. These results also indicated that the mosaic structures and the above point mutation in PenA make a major contribution to the reduced susceptibility to cephem antibiotics.

Key words Penicillin-binding protein 2 · PenA · *Neisseria gonorrhoeae* · Cefixime · Ceftriaxone

K. Osaka (✉) · M. Takahata
Research Laboratories, Toyama Chemical Co., Ltd.,
2-4-1 Shimookui, Toyama 930-8508, Japan
Tel. +81-76-431-8306; Fax +81-76-431-8208
e-mail: kazuyoshi_osaka@toyama-chemical.co.jp

T. Takakura · K. Narukawa
Discovery Laboratories, Toyama Chemical Co., Ltd., Toyama, Japan

K. Endo
Department of Urology, JR Tokyo General Hospital, Tokyo, Japan

H. Kiyota
Department of Urology, Jikei University, School of Medicine,
Tokyo, Japan

S. Onodera
Division of Infection Control, The Jikei University School of
Medicine, Tokyo, Japan

Introduction

Gonococcal infections have existed as sexually transmitted diseases since early times and have never been regarded as intractable. In the late 20th century, the significant developments of antimicrobial agents facilitated the treatment and care of gonococcal infection disease.

Penicillins and tetracyclines are used for the treatment of gonococcal urethritis worldwide. After the emergence and worldwide spread of penicillin- and tetracycline-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strains, fluoroquinolones were recommended as the primary therapeutic agent for uncomplicated gonorrhea in many countries.¹ Fluoroquinolones have been used extensively for the treatment of gonococcal urethritis due to their high degree of efficacy against the disease. However, intense selection pressure resulting from the continual exposure of *N. gonorrhoeae* to fluoroquinolones induced the emergence of quinolone-resistant strains with altered GyrA and ParC proteins.^{2–6} In 2006, the Centers of Disease Control for prevention (CDC) updated the *Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2006* regarding the treatment of infections caused by *N. gonorrhoeae*.⁷ In these guidelines, the CDC no longer recommends the use of fluoroquinolones for the treatment of gonococcal infections and associated conditions such as pelvic inflammatory disease (PID). In addition, intravenous ceftriaxone, which is a highly potent antimicrobial agent against *N. gonorrhoeae*, is now recommended as a first-line agent in the treatment of gonococcal infections worldwide.

In Japan, the numbers of gonococcal infections, including those resistant to antimicrobial therapy, have gradually increased since the mid-1990s.⁸ Cefixime, an oral cephem, had been used previously, but recently an increased emergence and spread of gonococci resistant to oral cepheems have also been reported.^{9,10} Therefore, the use of cefixime was no longer recommended because the number of ineffective cases was increasing when cefixime was used as a therapeutic agent.¹¹ Nowadays, ceftriaxone and cefodizime, parenteral cepheems, and spectinomycin, an aminoglycoside,

are widely used instead of fluoroquinolones and oral cephalosporins for the treatment of gonococcal infections.¹¹ However, these strains also acquired reduced susceptibility to cefodizime or ceftriaxone, parenteral cephalosporins.

N. gonorrhoeae has three penicillin-binding proteins (PBPs), denoted PBPs 1, 2, and 3. PBPs 1 and 2 of *N. gonorrhoeae* are the major targets of β -lactam antibiotics. PBP 2, encoded by the *penA* gene, has an approximately 10-fold higher affinity for penicillin G than PBP 1.¹² In previous reports, the insertion of Asp-345 into the *penA* gene has been proved to make a major contribution to reducing the affinity of gonococcal PBP 2 to penicillin G.¹³ Other reports showed that C-terminal amino acid residues of the PenA transpeptidase domain were also altered in penicillin-resistant *N. gonorrhoeae*.¹⁴⁻¹⁶ In our recent study, the strains with reduced susceptibility to oral cephalosporins have mosaic structures in the transpeptidase-encoding domain in PenA, which is similar to those of *Neisseria perflava/sicca*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria polysaccharea*, and *Neisseria meningitidis*.¹⁷ These results suggest that the pathogens might have evolved by gene transformation between commensally resistant *Neisseria* spp. and the original susceptible gonococci owing to the existence of widespread commercial oral sex.¹⁷

Other genetic factors have been reported as enhancements of the efflux pump by mutations in *mtrR*, which is an *mtrCDE* transcriptional regulator, and that *penB* loci was due to β -lactam resistance.^{18,19} A single substitution in *ponA* (the *ponA1* allele), which encodes an altered PBP1 with reduced affinity for penicillin, was reported to contribute to high-level penicillin resistance in *N. gonorrhoeae*.²⁰ The *pilQ* (previously named *penC*) gene mutants were reported to increase resistance to penicillin if *penA*, *penB*, and *mtrR* resistance determinants were present.²⁰⁻²²

This study was conducted to investigate the susceptibility to various antimicrobial agents of clinical isolates of *N. gonorrhoeae* isolated in Japan in 2006, and to clarify the mechanism of reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone in *N. gonorrhoeae*.

Materials and methods

Bacterial strains

The *N. gonorrhoeae* strains used in this study were clinical strains isolated from male urethritis patients at Jikei University School of Medicine and related hospitals in 2006. The specimens were directly streaked onto modified Thayer–Martin selective agar (Becton, Dickinson, Tokyo, Japan) in the hospitals. The plates were placed in a Bio-Bag environmental chamber (type C; Becton, Dickinson) and immediately transported to the laboratory, where they were incubated at 35°C for 20 h in a 5% CO₂ atmosphere. The organisms were identified by Gram staining, oxidase tests, and catalase tests. The identities of isolates cultured on Chocolate II agar (Becton, Dickinson) were further confirmed with a Gonochek-II kit (EY Laboratories, San

Mateo, CA, USA). *N. gonorrhoeae* isolates were maintained at -80°C in modified skim milk until antimicrobial susceptibility testing.²³ The isolates were tested for β -lactamase production by a β -check (Nippon Bio-Supp. Center, Tokyo, Japan). In the antibiotic susceptibility test, 47 strains isolated in 2006 were used. In the PenA sequences of *N. gonorrhoeae*, 17 strains with reduced susceptibility to cefixime (minimum inhibitory concentrations (MICs) 0.125–0.25 μ g/ml for strains isolated in 2006), 2 β -lactamase-producing strains, and 3 cefixime-susceptible strains (MICs 0.004–0.008 μ g/ml) were used. In the comparison of PenA sequences of *N. gonorrhoeae*, LM306 (penicillin-susceptible strain; GenBank accession no. M320921),¹⁶ NG-3 (reduced susceptibility to cefixime strain isolated in 2000; GenBank accession no. AB071984),¹⁷ 6 isolates showing reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone in 2006 (NG-109, -110, -118, -120, -121, and -122), one cefixime-susceptible isolate (NG-127), and one β -lactamase-producing strain (NG-128) were used. In the comparison of PenA sequences of *N. gonorrhoeae* and other *Neisseria* species, those of *N. meningitidis* MC58 (GenBank accession no. NC-003112), *N. polysaccharea* NCTC11858 (GenBank accession no. X59626), *N. cinerea* NCTC10294 (GenBank accession no. X59540), *N. perflava/sicca* 1654/1659 (GenBank accession no. X76422), and *N. flavescens* NCTC8263 (GenBank accession no. M26645) were compared.

Susceptibility testing and antimicrobials

Bacteria were precultured at 35°C under a 5% CO₂ atmosphere on Chocolate II agar (Becton, Dickinson) for 20 h. MICs were determined by an agar dilution method according to the approved guidelines of the Clinical Laboratory Standards Institute,²⁴ with a GC agar base (Becton, Dickinson) containing 1% Iso VitaleX (Becton, Dickinson) and serial two-fold dilutions of antimicrobial agents. Plates were inoculated with 10⁴ colony-forming units (CFUs) per spot, and were incubated for 20 h at 35°C in a 5% CO₂ atmosphere. MICs were defined as the lowest concentration of an antimicrobial agent that inhibited growth. The following reference antimicrobial agents were used: penicillin G (Banyu Pharmaceutical, Tokyo, Japan), clavulanic acid/amoxicillin (GlaxoSmithKline, Tokyo, Japan), ceftriaxone (Nippon Roche, Tokyo, Japan), ceftazidime (Toyama Chemical, Tokyo, Japan), cefodizime (Kyorin Pharmaceutical, Tokyo, Japan), cefixime (Astellas Pharma, Tokyo, Japan), azithromycin (Pfizer Japan, Tokyo, Japan), spectinomycin (Sigma Aldrich Japan, Tokyo, Japan), tetracycline (Sigma Aldrich Japan), levofloxacin (Daiichi Sankyo, Tokyo, Japan), and aztreonam (Eizai, Tokyo, Japan).

Nucleotide sequence of *N. gonorrhoeae penA* gene

Bacteria were grown at 37°C under a 5% CO₂ atmosphere on modified Thayer–Martin agar for 23 h. They were then suspended in 100 μ l distilled water, heated at 100°C for 5 min, and then centrifuged at 15000 \times g for 10 min. The

full-length gene was amplified by polymerase chain reaction (PCR) from the supernatant with oligonucleotides primer F1 and R1 (Table 1) and Ex *Taq* polymerase (Takara Bio, Otsu, Japan). PCR was performed as follows: 5 min of denaturation at 94°C, 35 cycles of denaturation at 94°C for 1 min, annealing at 60°C for 0.5 min, and extension at 72°C for 2 min, concluding with a final extension at 72°C for 5 min. Sequencing was outsourced to the Dragon Genomics Center (Yokkaichi, Japan) using oligonucleotides F1, F2, F3, F4, R1, R2, R3, and R4 (Table 1). Oligonucleotides F1 to F4 and R1 to R4 were used for sequencing the forward and reverse sequences, respectively.

Homology modeling of PenA

Homology modeling of *Neisseria gonorrhoeae* PenA of wild-type strain LM306 and mosaic mutant strain NG-109 was performed using the Prime 1.5 homology modeling program.²⁵ The crystal structure of *Streptococcus pneumoniae* PBP2x protein (PDB No. 1RP5) was chosen as the template for modeling.²⁶ Then 600ps molecular dynamics (MD) simulations of the modeling structures were performed using the AMBER 8.0 package²⁷ with a TIP3P water model.²⁸ The model structures obtained after MD simulations were minimized using the AMBER 8.0 package.

Results

Antimicrobial susceptibility and β -lactamase production

The MICs of various antimicrobial agents and β -lactamase production were determined for 47 clinical isolates in 2006. Table 2 shows the MICs at which 50% of isolates are inhibited (MIC_{50} s) and the MIC_{90} s of the various antimicrobial agents for the clinical isolates in 2001 and 2006. The MIC_{50} s of ceftriaxone, cefodizime, cefixime, and cefteram, and the MIC_{90} s of ceftriaxone, cefodizime, and cefteram for the isolates recovered in 2006 were 2–4-fold higher than those for the isolates recovered in 2001. Seventeen of the 47 strains (36.2%) isolated in 2006 showed a reduction of susceptibility to cefixime (MIC s 0.125–0.25 μ g/ml), and also exhibited a reduction of susceptibility to ceftriaxone (MIC s 0.031–0.125 μ g/ml) (Table 2). These 17 strains also showed reduced susceptibilities to penicillins and other β -lactams such as cefodizime and aztreonam. Some strains showed resistance to both levofloxacin and tetracycline. In addition, β -lactamase production was detected in 2 of 47 clinical isolates in 2006.

Table 1. Oligonucleotides used in this study

Oligonucleotide	Sequence
Primer F1	5'-TCGGGCAATACCTTTATGGTGGAAACAT-3'
Primer F2	5'-GAACGCTGTCCGAGCTTGTC-3'
Primer F3	5'-ACAAGGCGGTGCGAATACCATC-3'
Primer F4	5'-TATACCGCACTGACGCACGAC-3'
Primer R1	5'-ACAACGGCGGGGGATATAACT-3'
Primer R2	5'-AACGCCGTTGACGAACCTTG-3'
Primer R3	5'-CATCGCGCACGGGAGACGGTC-3'
Primer R4	5'-GCGAAAGTTCCAAAACCTTCT-3'

Table 2. Susceptibilities of clinical isolates of *N. gonorrhoeae* from male urethritis patients in 2001 and 2006

Antimicrobial agents ^a	2001 (n = 24) ^b			2006 (n = 47)		
	MIC_{50} (μ g/ml)	MIC_{90} (μ g/ml)	MIC range (μ g/ml)	MIC_{50} (μ g/ml)	MIC_{90} (μ g/ml)	MIC range (μ g/ml)
PCG	1	2	0.063–2	1 (2)	4 (4)	0.063–64 (1–4)
CVA/AMPC	ND	ND	ND	0.5 (1)	1 (1)	0.063–2 (0.25–2)
CTR	0.016	0.031	≤ 0.001 –0.063	0.031 (0.063)	0.063 (0.125)	0.002–0.125 (0.031–0.125)
CDZM	0.016	0.063	0.002–0.125	0.063 (0.063)	0.125 (0.125)	0.002–0.125 (0.031–0.125)
CFIX	0.016	0.25	0.004–0.25	0.063 (0.125)	0.125 (0.25)	0.004–0.25 (0.125–0.25)
CFTM	0.063	0.25	0.002–0.25	0.125 (0.5)	0.5 (1)	0.004–1 (0.125–1)
AZM	ND	ND	ND	0.25 (0.25)	0.5 (0.25)	0.008–1 (0.031–0.5)
SPCM	>8	>8	4–>8	16 (16)	16 (16)	4–16 (4–16)
TC	ND	ND	ND	1 (1)	2 (4)	0.063–16 (0.5–16)
LVFX	4	>8	0.008–>8	4 (4)	8 (16)	0.004–16 (0.5–16)
AZT	0.5	4	0.063–>8	0.5 (4)	4 (8)	0.031–8 (0.25–8)

MIC, minimum inhibitory concentration; ND, not determined.

Parenteral values are MICs of 17 strains with reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone isolated in 2006.

^aAntimicrobial agents: PCG, penicillin G; CVA/AMPC, clavulanic acid/amoxicillin; CTRX, ceftriaxone; CDZM, cefodizime; CFIX, cefixime; CFTM, cefteram; AZM, azithromycin; SPCM, spectinomycin; TC, tetracycline; LVFX, levofloxacin; AZT, aztreonam.

^bMIC data from Ameyama¹⁷

Amino acid sequences of PenA in strains with reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone

Of the isolates in 2006, the PenA sequences of 17 strains with reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone (cefixime MICs 0.125–0.25 µg/ml, ceftriaxone MICs 0.031–0.125 µg/ml), 2 β-lactamase-producing strains, and 3 cefixime-susceptible strains (cefixime MICs 0.004–0.008 µg/ml) were determined. For a detailed analysis, 8 isolates in 2006 were selected from the 22 strains described above. These 8 strains were selected on the basis of three points: their susceptibility to cefixime and ceftriaxone, their β-lactamase-producing activity, and the amino acid sequence. Of these 8 strains, 5 strains (NG-109, -110, -118, -121, and -122) were PenA mosaic strains, NG-120 was a PenA nonmosaic strain, NG-127 was a cefixime-susceptible strain, and NG-128 was a β-lactamase-producing strain. Figure 1 shows the full-length sequences of PenA of LM306 (wild-type strain),¹⁶ NG-3 (isolate in 2000),¹⁷ and NG-109, -110, -118, -120, -121, -122, -127, and -128 (isolates in 2006). The MICs of the above 8 strains isolated in 2006, and the NG-3 and ATCC19424 against various antimicrobial agents are shown in Table 3. Figure 2 shows the full-length sequences of PenA of 3 clinical strains (NG-3, -109, and -120) and those of various *Neisseria* species, including *N. meningitidis* MC58, *N. polysacchara* NCTC11858, *N. cinerea* NCTC10294, *N. perflava/sicca* 1654/1659, and *N. flavescens* NCTC8263.

As a result, strains of NG-109, -110, -118, -121, and -122 have PenA mosaic structures which are similar to those of *N. meningitidis*, *N. polysacchara*, *N. cinerea*, *N. perflava/sicca*, and *N. flavescens* (Figs. 1 and 2). These PenA mosaic structures were mainly observed in the transpeptidase domain of PenA. PenA mosaic strains (NG-109, -110, -118, -121, and -122) had almost total concordant alignment. The MICs of cefixime and ceftriaxone for the NG-109 strain were the highest (cefixime MIC 0.25 µg/ml, ceftriaxone MIC 0.125 µg/ml) among the strains isolated in 2006. The PenA sequence of the NG-109 strain corresponds to that of the NG-3 strain isolated in 2000 (cefixime MIC 0.5 µg/ml,

ceftriaxone MIC 0.063 µg/ml)¹⁷ except for the replacement of Gly-83 with Val.

The PenA sequence of NG-120, -127, and -128 had an insertion of extra aspartate (Asp-345), and 4 PenA mosaic strains (NG-3, -109, -110, and -118) had another insertion of an extra asparagine (Asn-573). In PenA nonmosaic strain NG-120, the amino acid sequence of PenA was identical to that of NG-127 except for the replacement of Ala-501 with Val and Pro-551 with Ser. The mutation of Ala-501 to Val was detected in PenA nonmosaic strain NG-120, but not in various *Neisseria* spp. In addition, β-lactamase-producing strain NG-128 did not show a PenA mosaic mutation.

The active-site serine residue (Ser-X-X-Lys) of PenA as well as the Ser-X-Asn and the Lys-Thr-Gly motifs were conserved in clinical isolates in 2006 and various *Neisseria* spp.²⁹ (Figs. 1 and 2).

Overview of structures and mapping of mutations

The *penA* monomer consists of two domains: a PBP dimerization domain (residues 71–221) and a PBP transpeptidase domain (residues 263–557).¹⁶ Figure 3 shows the stereo view of the modeled structures of *N. gonorrhoeae* PenA of the penicillin-susceptible strain LM306 and the mosaic strain isolated in 2006 (NG-109). The segment colored yellow indicates β-lactam binding site Ser-310. In Fig. 3A, the segments of Ala-501 to Val and Pro-551 to Ser mutations of nonmosaic strain NG-120 are depicted in green and light blue. This mutation of Ala-501 to Val was located near the β-lactam-binding region, but Pro-551 to Ser was not. In PenA mosaic strain NG-109, mosaic structures from other *Neisseria* spp. are depicted in red in Fig. 3B. These mutations were located in loop regions. Compared to wild-type PenA, NG-109 mosaic PenA shows substantial changes throughout the entire structure of PenA, including the PBP dimerization/transpeptidase domain linker region. In addition, the conformation of the β-lactam-binding pocket, the active site area, also changed its conformation.

Table 3. MICs of various antibiotics for *N. gonorrhoeae* ATCC19424 and clinical isolated strains

Antimicrobial agents	MIC (µg/ml)									
	ATCC19424 ^a	NG-3 ^a	NG-109	NG-118	NG-110	NG-120	NG-121	NG-122	NG-127	NG-128
PCG	0.004	2	4	2	2	1	1	1	0.063	64
CVA/AMPC	ND	ND	1	1	2	0.5	1	0.5	0.063	1
CTRX	0.00025	0.063	0.125	0.063	0.063	0.063	0.063	0.031	0.004	0.008
CDZM	0.00025	0.125	0.125	0.063	0.125	0.125	0.031	0.063	0.008	0.004
CFIX	0.001	0.5	0.25	0.25	0.125	0.125	0.125	0.125	0.008	0.016
CFTM	0.004	0.5	1	0.5	1	0.25	0.25	0.25	0.016	0.031
AZM	ND	ND	0.25	0.125	0.25	0.031	0.25	0.125	0.016	0.25
SPCM	2	4	16	16	16	8	16	16	4	16
TC	ND	ND	1	1	4	1	1	1	0.125	16
LVFX	<0.004	8	16	4	4	4	8	4	0.008	2
AZT	0.008	8	4	8	4	0.5	4	4	0.125	0.063
β-lactamase ^b	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
PenA type ^c	NM	M	M	M	M	NM	M	M	NM	NM

ND, not determined

^aMIC data from Ameyama¹⁷

^bβ-lactamase: –, negative; +, positive

^cPenA type: NM, nonmosaic; M, mosaic

	20	40	60	80	100
A. LM306	MLIKSEYKPRMLPKKEQVEX	FMTSNGRISFVLMAMAVLFA	CLIAARGLYLQVTYVFLKEQ	GDNRIVRTQALPATRGTVSD	RNGAVLALSAPTESLFAVPE
B. NG-128	-----	-----	-----	-----	-----
C. NG-127	-----	-----	-----	-----	-----
D. NG-122	-----	-----	-----	-----	-----
E. NG-121	-----	-----	-----	-----	-----
F. NG-120	-----	-----	-----	-----	-----
G. NG-110	-----	-----	-----	-----	-----
H. NG-118	-----	-----	-----	-----	-----
I. NG-109	-----	-----	-----	-----	-----
J. NG-3	-----	-----	-----	-----	---V---
	120	140	160	180	200
A. LM306	DNKEMPSAAQLERLSELVDV	FVDVLENKLBQKQKSFVWIK	RQLDPKVAEELVAGLENFV	FEKELKRHYPMGNLFAHVIG	FTDIDGKQBGLESLSDSL
B. NG-128	-----	-----	-----	-----	-----
C. NG-127	-----	-----	-----	-----	-----
D. NG-122	E-----	-----	-----A	-----S	-----
E. NG-121	E-----	-----	-----A	-----S	-----
F. NG-120	-----	-----	-----	-----	-----
G. NG-110	E-----	-----	-----A	-----S	-----
H. NG-118	E-----	-----	-----A	-----S	-----
I. NG-109	E-----	-----	-----A	-----S	-----
J. NG-3	E-----	-----	-----A	-----S	-----
	220	240	260	280	300
A. LM306	YGEDGAEVFLDRQGNVDS	LDSPRNKAPONGKDIILSLD	QRIQTLAYEELNKAIVEYHQA	KAGTVVVDLARTGEILALAN	TPAYDPNRPGRADSEQRNR
B. NG-128	-----	-----	-----	-----	-----
C. NG-127	-----	-----	-----	-----	-----
D. NG-122	HAGE-----E	-----	-----	-----V	---E-K-Q
E. NG-121	HAGE-----E	-----	-----	-----V	---E-K-Q
F. NG-120	-----	-----	-----	-----	-----
G. NG-110	HAGE-----E	-----	-----	-----	---E-K-Q
H. NG-118	HAGE-----E	-----	-----	-----	---E-K-Q
I. NG-109	HAGE-----E	-----	-----	-----	---E-K-Q
J. NG-3	HAGE-----E	-----	-----	-----	---E-K-Q
	320	340	359	379	399
A. LM306	AVTDMIEPQSAIKPFVIAKA	LDAGKTLNLERLNTQPYKIG	PSPVRLDTHVYPSLDVVRGIM	QKSSNVGTSKLSARFGAERM	YDFYHELIGIVRMHSGPFGK
B. NG-128	-----	-----	-----D	-----	-----
C. NG-127	-----	-----	-----D	-----	-----
D. NG-122	-----M-T	---S-V-ATDTF-L	SAT-Q-----T	-----M-TPK	---D-V
E. NG-121	-----M-T	---S-V-ATDTF-L	SAT-Q-----T	-----M-TPK	---D-V
F. NG-120	-----	-----	-----D	-----	-----
G. NG-110	-----M-T	---S-V-ATDTF-L	SAT-Q-----T	-----M-TPK	---D-V
H. NG-118	-----M-T	---S-V-ATDTF-L	SAT-Q-----T	-----M-TPK	---D-V
I. NG-109	-----M-T	---S-V-ATDTF-L	SAT-Q-----T	-----M-TPK	---D-V
J. NG-3	-----M-T	---S-V-ATDTF-L	SAT-Q-----T	-----M-TPK	---D-V
	419	439	459	479	499
A. LM306	TAGLLRNRRWRPIEQATMS	FGYGLQLSLLQLARAYTALT	HGGVLLPLSFEKQAVAPQCK	RIFKSTAREVRNLMVSVTE	PGGTGTAGAVDGFVGVKTKG
B. NG-128	-----	-----	-----	-----	-----
C. NG-127	-----	-----	-----	-----	-----
D. NG-122	---S-QK---	-----V	---E-V-----K-	-VI-A--KK-E-	A-----
E. NG-121	---S-QK---	-----V	---E-V-----K-	-VI-A--KK-E-	A-----
F. NG-120	-----	-----	-----	-----	-----
G. NG-110	---S-QK---	-----V	---E-V-----K-	-VI-A--KK-E-	A-----
H. NG-118	---S-QK---	-----V	---E-V-----K-	-VI-A--KK-E-	A-----
I. NG-109	---S-QK---	-----V	---E-V-----K-	-VI-A--KK-E-	A-----
J. NG-3	---S-QK---	-----V	---E-V-----K-	-VI-A--KK-E-	A-----
	519	539	559	578	581
A. LM306	TARKFYNGRYADNKHVATFI	GFAPAKNFRVIVAVTIDEPT	AHGGYGGVVAGPPFKKIMGG	SLNILGISPTKPLT.AAAVK	TPS*
B. NG-128	---L---V---G---	-----	-----	-----	---
C. NG-127	---L---V---G---	-----	-----	-----	---
D. NG-122	---L---V-Y---	-----	---N---S---	-----	---
E. NG-121	---L---V-Y---	-----	---N---S---T---	-----	---
F. NG-120	---V---L---V---G---	-----	-----	-----	---
G. NG-110	---L---V-Y---	-----	---N---S---T-V-QV---	-----V---NV---	---
H. NG-118	---L---V-Y---	-----	---N---S---T-V-QV---	-----V---NV---	---
I. NG-109	---L---V-Y---	-----	---N---S---T-V-QV---	-----V---NV---	---
J. NG-3	---L---V-Y---	-----	---N---S---T-V-QV---	-----V---NV---	---

Fig. 1. Amino acid sequences of PenA of *N. gonorrhoeae*. The amino acid sequences of PenA of (A) the penicillin-susceptible strain LM306, (B) the β -lactamase-producing strain NG-128 isolated in 2006, (C) the cefixime-susceptible strain NG-127, (D)–(I) strains with reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone isolated in 2006, and (J) the mosaic strain with reduced susceptibility to cefixime isolated in 2000 (strain NG-3) are shown. The insertion of an extra aspartate (Asp-345) is shown in NG-120, -127, and -128, but not in other strains. The insertion of an extra asparagine (Asn-573) is shown in NG-3, -109, -110, and -118, but not in other strains. The replacement of alanine with valine (Ala-501 to Val) is shown in only NG-120. Active sites of serine residue

(Ser-X-X-Lys, Ser-X-Asn, and Lys-Thr-Gly) -conserved motifs are indicated by *underlining*. The amino acid residues colored in *red* indicate mutations from other *Neisseria* spp., *blue* indicates specific mutations which are not in other *Neisseria* spp., *purple* is a previously reported mutation of Asp-345 with reduced affinity of gonococcal PBP2 to penicillin,¹³ *green* is a specific mutation Ala-501 to Val of nonmosaic strain NG-120, and *light blue* is specific mutation Pro-551 to Ser of nonmosaic strain NG-120. *Dashes* indicate amino acid residues identical to those of LM306, *periods* are blanks, and *asterisks* are stop codons

		20	40	60	80	100
A. LM306	MLIKSEYKPRMLPKKEQVKK	PMTSNGRISFVLMAMAVLFA	CLIARGLYLQVTYTNFLKEQ	GDMRIVRTQALPATRGTQVSD	RMGAVLALSAPTESLPAVFK	
B. NG-3	-----	-----	-----	-----	--V-----	
C. NG-109	-----	-----	-----	-----	-----	
D. NG-120	-----	-----	-----	-----	-----	
E. MC58	-----	-----I-----	G-----	-----T-----	-----	
F. NCTC11858	-----	-----	-----	-----	-----	
G. NCTC10294	-----	-----	-----	-----	-----	
H. 1654/1659	-----	-----	-----	-----	-----	
I. NCTC8263	-----	-----	-----	-----	-----	
		120	140	160	180	200
A. LM306	DMKEMPSAAQLRLSELVDV	PVDVLRNKLEQKQKSPFIWK	RQLDPKVAEEVKALGLENFV	FEKELKRHYPMGNLFAHVIG	FTDIDGKQKQGLSLEDLSL	
B. NG-3	E-----	-----	-----A-----	-----S-----	-----	
C. NG-109	E-----	-----	-----A-----	-----S-----	-----	
D. NG-120	E-----	-----	-----	-----	-----	
E. MC58	E-----	-----	-----	-----	-----	
F. NCTC11858	-----	-----	-----	-----	-----	
G. NCTC10294	-----	-----	-----	-----	-----	
H. 1654/1659	-----	-----	-----	-----	-----R-----	
I. NCTC8263	-----	-----	-----	-----	-----N-----R-----	
		220	240	260	280	300
A. LM306	YGEDGAEVLLRDRQGNIVDS	LDSFRNKAPQNGKDIILSLD	QRIQTLAYEELNKAVEYHQA	KAGTVVLDARTGEILALAN	TPAYDPNRPGRADSEQRNR	
B. NG-3	HAGE-----E-----	-----	-----	-----V-----	--E-K-Q-----	
C. NG-109	HAGE-----E-----	-----	-----	-----V-----	--E-K-Q-----	
D. NG-120	-----	-----	-----	-----	-----	
E. MC58	H-----	-----K-----	-----	-----	-----	
F. NCTC11858	H-----	-----K-----	-----	-----	-----E-K-Q-----	
G. NCTC10294	HA-E-----E-----	-----	-----	-----V-----	--E-K-Q-----	
H. 1654/1659	R-----K-----NK-----	-----SV-K-Q-M-----	-----D-----A-K-----	-----Q-----V-----	S-----Q-Q-N-----	
I. NCTC8263	R-----K-----NK-----	-----SV-K-Q-M-----	-----D-----A-K-----	-----A-----Q-----V-----	S-----Q-Q-N-----	
		320	340	359	379	399
A. LM306	AVTDMIEPGSAIKPFVIAKA	LDAGKTLNLERLNTQPYKIG	PSPVR.DTHVYPSLDVVGIM	QKSSNVGTGSKLGRFGEAEM	YDFYHELIGVGRMHSGFPPGE	
B. NG-3	-----M-----T-----	--S-V-ATDTF--L-----	SAT-Q-----T-----	-----M-TPK-----	-----D-V-----	
C. NG-109	-----M-----T-----	--S-V-ATDTF--L-----	SAT-Q-----T-----	-----M-TPK-----	-----D-V-----	
D. NG-120	-----	-----	-----D-----	-----	-----	
E. MC58	-----	-----	--AS-----	-----SS-----	--L-S-----	
F. NCTC11858	-----	-----	--AQ-----	-----SSK-----	--L-S-----	
G. NCTC10294	-----	--D-N-----	-----	-----	-----	
H. 1654/1659	-----M-----T-----	--S-V-ATDTF--L-----	--AT-Q-----T-----	-----M-TPK-----	-----D-V-----	
I. NCTC8263	-----M-----T-----	--S-V-PTDTF--L-----	--AT-Q-----T-----	-----M-TPK-----	-----D-V-----	
		419	439	459	479	499
A. LM306	TAGLLRNRRRPIRQATMS	FGYGLQLSLLQLARAYTALT	HDGVLPLSFEKQAVAPQK	RIFKESTAREVRNLMVSVTE	PGGTGTAGAVDGFVGAETG	
B. NG-3	-----S-----QK-----	-----V-----	--E--V-----K-----	--VI-A--KK--E-----	A-----	
C. NG-109	-----S-----QK-----	-----V-----	--E--V-----K-----	--VI-A--KK--E-----	A-----	
D. NG-120	-----	-----	-----	-----	-----	
E. MC58	-----	-----	-----V-----	-----	-----	
F. NCTC11858	S--V--D--K-----	-----	-----V-----	-----	-----	
G. NCTC10294	S--A-----QK-----	-----V-----	-----V-----	-----A--Q--E-----	-----	
H. 1654/1659	-----S-----QK-----	-----V-----	--E--V-----K-----	--VI-A--KK--E-----	A-----	
I. NCTC8263	-----S-----QK-----	-----V-----	--E--V-----K-----	--VI-A--KK--E-----	A-----I-----	
		519	539	559	578	581
A. LM306	TARKPFVNGRYADNKHVATFI	GFAPAKNPRVIVAVTIDEPT	AHGYYGGVAGPPFKIMGG	SLNIIIGISPTKPLT.AAAVK	TPS*	
B. NG-3	-----L-----V-Y-----	-----	--N--S--T--V--QV--	-----V-----NV-----	-----*	
C. NG-109	-----L-----V-Y-----	-----	--N--S--T--V--QV--	-----V-----NV-----	-----*	
D. NG-120	--V--L-----V-----G-----	-----	-----	-----	-----*	
E. MC58	-----	-----I-----	-----	-----	-----*	
F. NCTC11858	-----L-----V-----G-----	-----R-----	--N-----V--QV--	-----V-----	-----*	
G. NCTC10294	-----IK-----V-----	-----	--VH-----V--QV--	-----V-----INV-----	-----*	
H. 1654/1659	-----L-----V-----G-----	-----	--N-----V--EV--S--	-----V-----SNT--T--	V--*	
I. NCTC8263	-----L-----V-----G-----	-----	--N-----V--EV--S--	-----V-----SNT--T--	V--*	

Fig. 2. Amino acid sequences of PenA of *N. gonorrhoeae* and other *Neisseria* spp. Amino acid sequences of PenA of (A) the penicillin-susceptible strain LM306, (B) the mosaic strain with reduced susceptibility to cefixime isolated in 2000 (strain NG-3), (C) the mosaic strain isolated in 2006 (strain NG-109), (D) the nonmosaic strain isolated in 2006 (strain NG-120), (E) *N. meningitidis* MC58, (F) *N. polysaccharia* NCTC11858, (G) *N. cinerea* NCTC10294, (H) *N. perflava*/sicca

1654/1659, and (I) *N. flavescens* NCTC8263 are shown. The active sites of serine residue (Ser-X-X-Lys, Ser-X-Asn, and Lys-Thr-Gly)-conserved motifs are indicated by *underlining*. The colored amino acid residues are indicated as in Fig. 1. *Dashes* indicate amino acid residues identical to those of LM306, *periods* are blanks, and *asterisks* are stop codons

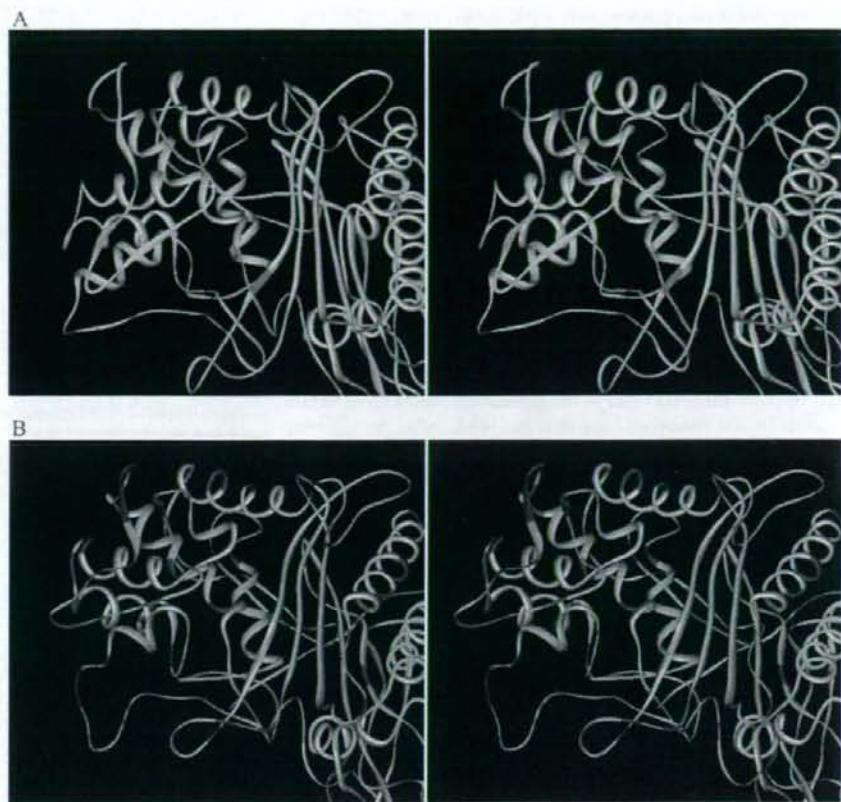
Discussion

N. gonorrhoeae is a major pathogen isolated from patients with sexually transmitted diseases. *N. gonorrhoeae* strains with reduced susceptibility to cepheims evolved by the acquisition of β -lactamases target modifications (alteration of PBPs) and alterations of the outer membrane transport

or the enhancement of MtrCDE efflux pumps.^{19,30-32} It has been reported that in Japan, *N. gonorrhoeae* with reduced susceptibility to cefixime has been isolated from areas unrelated to the urethra, such as the pharynx.³³ It is known that the source of infection is the diversity of commercial sex, such as oral sex.

In 2001, *N. gonorrhoeae* strains with reduced susceptibility to cepheims or fluoroquinolones were isolated in

Fig. 3. The stereo view of modeled structures of *N. gonorrhoeae* PenA of (A) the penicillin-susceptible strain LM306 and (B) the mosaic strain isolated in 2006 (NG-109). A yellow-colored segment indicates β -lactam binding site Ser-310. In A, the segment colored green is an amino acid residue of Ala-501, and that colored light blue is an amino acid residue of Pro-551. In B, mutations are colored as in Fig. 1



Fukuoka, Japan.^{22,34} It was reported that these strains had multidrug resistance against such drugs as penicillin G, tetracycline, azithromycin, and ciprofloxacin. In the last few years, various guidelines for the appropriate use of antimicrobial agents against gonococcal infections have been established worldwide.^{7,11} Therefore in this study, in order to survey the tendency of such resistance, we compared the results of susceptibility testing between strains isolated in 2001 and 2006. In isolates of 2006, MIC_{50S} and MIC_{90S} against cepheims were increased by two- to four-fold, but not against quinolone, aminoglycoside, and monobactam (Table 2). These showed that the resistant level of *N. gonorrhoeae* strains with reduced susceptibility to cepheims was slightly elevated.

Our recent studies have indicated that the strains with reduced susceptibility to oral cepheims had mosaic structures in PenA which were similar to those of other *Neisseria* spp.¹⁷ In this investigation of the relations between mutations of PenA and the MICs of cepheims, the PenA sequences of wild-type strain LM306¹⁸ and various *N. gonorrhoeae* strains isolated in 2001 and 2006 were determined and compared with the other *Neisseria* spp. (Figs. 1 and 2). We performed homology modeling of *N. gonorrhoeae* PenA of wild-type strain LM306 and PenA mosaic strain NG-109 to research the impact of the mosaic mutation of PenA.

It was reported that the most significant change for reduced susceptibility against antimicrobial agents was an amino acid insertion of Asp-345 into PenA, which was shown to make a major contribution to reducing the affinity of gonococcal PBP2 to penicillin by 4–5-fold in 1990.¹⁵ In isolates from 2006, this insertion was found in PenA non-mosaic strain NG-120, cefixime-susceptible strain NG-127, and β -lactamase-producing strain NG-128. It is suggested that this mutation is a generality in the clinical isolates of cefixime-susceptible strains and PenA non-mosaic strains.

From a comparison of these three strains, in the PenA non-mosaic strain NG-120, two additional differences, Ala-501 to Val and Pro-551 to Ser, were found. It was reported that the mutation of Ala-501 to Val was associated with reduced susceptibility to cefixime and other oral cepheims.^{35,36} The mutation of Ala-501 to Val was located downstream of the conserved Lys-497–Thr–Gly motif. Modeling studies of PenA suggest that this mutation of Ala-501 to Val is located near the binding site, although a mutation of Pro-551 to Ser is distant (Fig. 3A). This result indicated that the mutation of Ala-501 to Val may contribute mainly to the reduced susceptibilities to penicillins and other β -lactam antimicrobial agents in PenA non-mosaic strains. In addition, it was considered that these were not horizontal transfers but

specific mutations, because other *Neisseria* spp. did not have this mutation. Interestingly, a PenA nonmosaic strain, NG-120, tended to be more sensitive to aztreonam, a monobactam, unlike other PenA mosaic strains. It remains possible that these strains have other features, but it was difficult to explain such phenomena in this study.

In PenA mosaic strains with reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone isolated in 2006, the PenA amino sequences of NG-109, -110, -118, -121, and -122 were quite similar to the PenA of *N. perflavalesicca* and *N. cinerea* as well as *N. flavescens* and *N. meningitidis* (Fig. 2). In other *Neisseria* spp., it was reported that one of the donors conferring *penA* to *N. meningitidis* was identified as a naturally penicillin-resistant species, *N. flavescens*.¹⁷ These gene transformations between commensally resistant *Neisseria* spp. and the original susceptible gonococci might have been caused by widespread commercial oral sex, and have enhanced the spread of reduced susceptibility to cepheims.¹⁷ An *N. gonorrhoeae* PenA with mosaic structures that confers reduced susceptibility to cefixime might have been constructed by various partial PenA from other *Neisseria* spp. (Fig. 3A,B). In this modeling study of mosaic PenA in NG-109, it is suggested that the PenA 3D conformation of the mosaic strain exchanged with other *Neisseria* spp. reduced the affinity to PenA of cephem antibiotics, including cefixime or ceftriaxone. Moreover, each domain in PenA of NG-109 had other alterations of amino acid residues which were not found in other *Neisseria* spp., suggesting that these alterations were induced to maintain the activity of PenA, since they were not found in other *Neisseria* spp.

In conclusion, we consider that the cause of reduced susceptibility to cepheims is a conformational alteration of the β -lactam-binding pocket in PenA. A homology modeling simulation of PenA suggests that PenA mosaic sequences and the mutation of Ala-501 to Val near the β -lactam binding site Ser-310 of the PenA nonmosaic strain caused reduced susceptibility to penicillins or other cephem antibiotics. *N. gonorrhoeae* PenA with mosaic structures might have emerged by the transduction of regions from PenA of other *Neisseria* spp.

The reduction of susceptibility to antimicrobial agents has obviously progressed. Continual surveillance and monitoring of susceptibility to antimicrobial agents and genetic analysis are needed not only to reveal the detailed mechanism of resistance in *N. gonorrhoeae*, but also to select new therapeutic agents.

References

1. Tapsall J. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. World Health Organization 2001; Report WHO/CDS/CSR/DRS/2001.3.
2. Belland RJ, Morrison SG, Ison C, Huang WM. *Neisseria gonorrhoeae* acquires mutations in analogous regions of *gyrA* and *parC* in fluoroquinolone-resistant isolates. *Mol Microbiol* 1994;14: 371-80.
3. Deguchi T, Yasuda M, Nakano M, Ozeki S, Ezaki T, Saito I, et al. Quinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae*: correlation of altera-

4. tions in the *GyrA* subunit of DNA gyrase and the *ParC* subunit of topoisomerase IV with antimicrobial susceptibility profiles. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1020-3.
5. Su X, Lind I. Molecular basis of high-level ciprofloxacin resistance in *Neisseria gonorrhoeae* strains isolated in Denmark from 1995 to 1998. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:117-23.
6. Tanaka M, Nakayama H, Haraoka M, Saika T, Kobayashi I, Naito S. Susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* isolates containing amino acid substitutions in *GyrA*, with or without substitutions in *ParC*, to newer fluoroquinolones and other antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:192-5.
7. Tanaka M, Sakuma S, Takahashi K, Nagahuzi T, Saika T, Kobayashi I, et al. Analysis of quinolone resistance mechanisms in *Neisseria gonorrhoeae* isolates in vitro. *Sex Transm Inf* 1998; 74:59-62.
8. Centers of Disease Control for Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006. *MMWR* 2006;55(No. RR-11): 1-94.
9. Kumamoto Y, Tsukamoto T, Nishiya I, Akaza H, Noguchi M, Kamidono S, et al. Sexually transmitted disease surveillance in Japan (rate per 100,000/year by disease, age and gender: 1998). *Jpn J Sex Transm* 1999;10:40-60.
10. Akasaka S, Muratani T, Yamada Y, Inatomi H, Takahashi K, Matsumoto T. Emergence of cephem- and aztreonam-high-resistant *Neisseria gonorrhoeae* that does not produce β -lactamase. *J Infect Chemother* 2001;7:49-50.
11. Muratani T, Akasaka S, Kobayashi T, Yamada Y, Inatomi H, Takahashi K, et al. Outbreak of ceftiofloxacin (penicillin, oral cepheims, and aztreonam)-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:3603-6.
12. Japanese Society for Sexually Transmitted Disease. Guidelines for diagnosis and treatment of sexually transmitted disease 2006. *Jpn J Sex Transm Dis* 2006;17(1 Suppl):35-9.
13. Dougherty TJ, Koller AE, Tomasz A. Penicillin-binding proteins of penicillin-susceptible and intrinsically resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1980;18:730-7.
14. Brannigan JA, Tirodimos IA, Zhang QY, Dowson CG, Spratt BG. Insertion of an extra amino acid is the main cause of the low affinity of penicillin-binding protein 2 in penicillin-resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*. *Mol Microbiol* 1990;4:913-9.
15. Dowson CG, Jephcott AE, Gough KR, Spratt BG. Penicillin-binding protein 2 genes of non- β -lactamase-producing, penicillin-resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*. *Mol Microbiol* 1989;3:35-41.
16. Smith JM, Dowson CG, Spratt BG. Localized sex in bacteria. *Nature* 1991;349:29-31.
17. Spratt BG. Hybrid penicillin-binding proteins in penicillin-resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*. *Nature* 1988;332:173-6.
18. Ameyama S, Onodera S, Takahata M, Minami S, Maki N, Endo K, et al. Mosaic-like structure of penicillin-binding protein 2 Gene (*penA*) in clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae* with reduced susceptibility to cefixime. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46: 3744-9.
19. Faruki H, Sparling PF. Genetics of resistance in a non- β -lactamase-producing gonococcus with relatively high-level penicillin resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 1986;30:856-60.
20. Gill MJ, Simjee S, Al-Hattawi K, Robertson BD, Easmon CSF, 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.
21. Ropp PA, Hu M, Olesky M, Nicholas RA. Mutations in *penA*, the gene encoding penicillin-binding protein 1, and a novel locus, *penC*, are required for high-level chromosomally mediated penicillin resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46:769-77.
22. Zhao S, Tobiasson DM, Hu M, Seifert HS, Nicholas RA. The *penC* mutation conferring antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* arises from a mutation in the PilQ secretin that interferes with multimer stability. *Mol Microbiol* 2005;57:1238-51.
23. Tanaka M, Nakayama H, Haraoka M, Saika T, Kobayashi I, Irie S, Kanayama A, et al. Analysis of mutations within multiple genes associated with resistance in a clinical isolate of *Neisseria gonorrhoeae* with reduced ceftriaxone susceptibility that shows a multidrug-resistant phenotype. *Int J Antimicrob Agents* 2006;27:20-6.

23. Obara Y, Yamai S, Nikkawa T, Shimoda Y, Miyamoto Y. Preservation and transportation of bacteria by a simple gelatin disk method. *J Clin Microbiol* 1981;14:61-6.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard. 7th ed. M7-A7 26 (2). Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
25. PRIME 1.5. Schrodinger, LLC, Portland.
26. Dessen A, Mouz N, Gordon E, Hopkins J, Dideberg O. Crystal structure of PBP2x from a highly penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* clinical isolate: a mosaic framework containing 83 mutations. *J Biol Chem* 2001;276:45106-12.
27. Case DA, Cheatham III TE, Darden TA, Simmerling CL, Wang J, Duke RE, et al. AMBER 8. San Francisco: University of California; 2004.
28. Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura JD, Impey RW, Klein ML. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J Chem Phys* 1983;79:926-35.
29. Goffin C, Ghuysen JM. Biochemistry and comparative genomics of SxxK superfamily acyltransferases offer a clue to the mycobacterial paradox: presence of penicillin-susceptible target proteins versus lack of efficiency of penicillin as therapeutic agent. *Microbiol Mol Biol Rev* 2002;66:702-38.
30. 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(Pt 3):611-22.
31. Hagman KE, Shafer WM. Transcriptional control of the *mir* efflux system of *Neisseria gonorrhoeae*. *J Bacteriol* 1995;177:4162-5.
32. Zaranonelli L, Borthagaray G, Lee EH, Shafer WM. Decreased azithromycin susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* due to *mtrR* mutations. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:2468-72.
33. Saika T, Nishiyama T, Kanayama A, Kobayashi I, Nakayama H, Tanaka M, et al. Comparison of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from the genital tract and pharynx of two gonorrhoea patients. *J Infect Chemother* 2001;7:175-9.
34. Tanaka M, Nakayama H, Notomi T, Irie S, Tsunoda Y, Okadome A, et al. Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Japan, 1993-2002: continuous increase of ciprofloxacin-resistant isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2004;24(Suppl 1):S15-22.
35. Takahata S, Senju N, Osaki Y, Yoshida T, Ida T. Amino acid substitutions in mosaic penicillin-binding protein 2 associated with reduced susceptibility to cefixime in clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2006;50:3638-45.
36. Whitley DM, Limnios EA, Ray S, Sloots TP, Tapsall JW. Diversity of *penA* alterations and subtypes in *Neisseria gonorrhoeae* strains from Sydney, Australia, that are less susceptible to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother* 2007;51:3111-6.
37. Spratt BG, Zhang QY, Jones DM, Hutchison A, Brannigan JA, Dowson CG. Recruitment of a penicillin-binding protein gene from *Neisseria flavescens* during the emergence of penicillin resistance in *Neisseria meningitidis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:8988-92.

初発性器ヘルペスの感染病態

Pathogenesis of clinical first episode of genital herpes

帝京平成看護短期大学
Teikyo Heisei Nursing Junior College

川名 尚
Takashi Kawana

日本産科婦人科学会千葉地方部会会誌 第1巻 第1号 別刷

平成 20 年 1 月

原 著

初発性器ヘルペスの感染病態

Pathogenesis of clinical first episode of genital herpes

帝京平成看護短期大学
Teikyo Heisei Nursing Junior College

川名 尚
Takashi Kawana

概要 性器ヘルペスは、臨床的に初発と再発に分けられる。初発は、さらに初感染初発と非初感染初発に分けられる。今回、女性性器ヘルペスの初発 185 例について、初診時の型特異 IgG 抗体と IgM 抗体の検出することにより解析した。

単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) を分離した 101 例では、初感染が 85 例 (84.2%)、非初感染が 16 例 (15.8%) であり、HSV-2 を分離した 84 例では、初感染が 56 例 (66.7%)、非初感染が 28 例 (33.3%) であり、併せて 185 例中初感染が 141 例 (76.2%)、非初感染が 44 例 (23.8%) であった。

HSV-2 感染例の方が HSV-1 感染例に比べて非初感染の割合が有意に高かった。

初発例を初感染と非初感染に分類することは感染時期の推定や性器ヘルペス合併妊婦の管理に有用である。

Key words: 初発性器ヘルペス, 初感染, 非初感染

緒 言

性器ヘルペスは、単純ヘルペスウイルス (Herpes simplex virus, HSV) の 1 型 (HSV-1) または 2 型 (HSV-2) の感染によって発症する代表的なウイルス性感染症である。

2002 年をピークとして性器クラミジア感染症や淋菌感染症が減少傾向にあるなかで性器ヘルペスは漸増している。この背景には、HSV はヒトに感染すると知覚神経節に潜伏感染し、潜伏感染している HSV がしばしば再活性化されて再び皮膚・粘膜表面に表われて感染源となるという独特な感染病態がある。潜伏している HSV はヒトに備わっている免疫力やアシクロビルやバラシクロビルのような抗ヘルペスウイルス薬によっても排除できないため長期にわたる慢性の経過を辿るだけでなく性器ヘルペスの制御を困難にしている。

性器ヘルペスは、臨床的には初発と再発に分類されている¹⁾。初発とは、初めて発症した場合であり、再発とは既に発症した経験のあるものが再び発症した場合と定義される。初発は、初感染初発と非初感染初発に分類される。初感染初発は発症時に HSV に対する抗体が陰性の場合、非初感染初発は発症時に感染した HSV と同じ型の抗体を有している場合と定義される²⁾。

今回、筆者の経験した初発性器ヘルペスについて初

感染と非初感染の割合を検討したので報告する。

方 法

1. 対象

1989 年～2004 年に東大分院、帝京大学医学部附属溝口病院産婦人科を訪れ、単純ヘルペスウイルスを分離して性器ヘルペスと診断した初発例 185 例を対象とした。HSV-1 を分離した患者は 101 例、HSV-2 を分離した患者は 84 例であった。

2. ウイルス分離と同定

細い綿棒で外陰の病変を擦過したものをペニシリン 2500IU/ml、ストレプトマイシン 1mg/ml、アンフォテリシン B 12.5μg/ml、仔牛血清 5% を含む Eagles' MEM 中にてすすぎ、これを遠心後、上清を Vero 細胞または R-66 細胞に接種した。毎日細胞効果の出現を観察し、陽性となったものについては感染細胞を HSV-1 または HSV-2 に対するマウスモノクローナル抗体に蛍光標識したキット (Micro Trak Herpes, Syva Co. またはデンカ生研) を用いて同定と型の決定を行なった。

3. 血清抗体

初診時に採取した血清について以下の方法で抗体を測定した。

a) 型特異抗体: HSV の gG-1 または gG-2 を抗原として用いている ELISA キット (HerpeSelect HSV-1 または HSV-2, Focus 社) を用いて型特異抗体を測定

した。方法は添付文書に従って行い、抗体値1.1以上を陽性と判定した。

b) HSV IgM抗体: HSV 特異的IgM抗体は、デシカ生研社製 HSV IgM 抗体測定キットを用いた。

方法は添付文書に従って行った。1.2以上を陽性と判定した。

4. 初感染と非初感染の判定

初診時に抗 HSV-1 抗体、抗 HSV-2 抗体共に陰性を初感染とした。分離された HSV の型と同型の血清抗体の陽性の場合には非初感染とした。発症してから受診までに時間を経ている場合、同型の型特異抗体が陽性であっても IgM 抗体が陽性の場合には初感染に分類した。

成 績

1. HSV-1分離例

101例のうち72例は初診時に HSV-1 抗体、HSV-2 抗体共に陰性であり初感染に分離した。3例は HSV-2 抗体が陽性であったが、HSV-1 抗体が陰性であったので初感染に分類した。HSV-1 抗体陽性が26例あったが、10例は IgM 抗体が陽性のため初感染に分類した。その結果、16例(15.8%)を非初感染初発と判断した。

2. HSV-2分離例

84例のうち39例は HSV-1 抗体、HSV-2 抗体共に陰性で初感染とした。HSV-2 抗体陽性が45例あったが17例は IgM 抗体が陽性であったため初感染に分類した。その結果、28例(33.3%)を非初感染初発とした。

まとめると初発185例のうち全体では44例(23.8%)が非初感染初発であった。また HSV-1 分離例と HSV-2 分離例における非初感染初発の頻度は、HSV-2の方が有意に高かった ($p=0.0053$)。

考 察

初めて性器ヘルペスを発症した場合、一般的には性行為などによる感染の機会があってから3~10日の潜伏期の後に発症したと考えられているが、中にはかなり以前に感染していた HSV が免疫力の低下などを契機に再活性化されて発症する場合があることが判っている(非初感染初発)。そこで今回は初発例の中でどの位の割合で非初感染初発例があるのかを検討した。

非初感染初発例は潜伏していた HSV が再活性化されて発症するので分離された HSV の型と同じ型の抗体を有している必要がある。そこで、今回は型特異的抗体を検出できる HerpeSelect キットを用いた。本キットの精度は、感度96~100%、特異性97~100%と云われている³⁾。

表1 初発性器ヘルペスの感染病態

分離 HSV の型	初感染初発	非初感染初発	計
1型	85	16	101
2型	56	28	84
計	141	44	185

初感染の判定であるが、初診時 HSV-1 抗体、HSV-2 抗体共に陰性は初感染と判定した。初診時に同型の抗体が陽性であれば非初感染初発と考えられるが、初感染でも受診する時期が感染後7~10日以上経ていると抗体が陽性になることもあるのでこのような例は IgM 抗体が陽性であれば初感染に分類した。

本研究では、初発の23.8%が非初感染初発であり、HSV-1 感染例では15.8%、HSV-2 感染例では33.3%であった。文献的にみると、BernsteinらはHSV-2 感染初発例の約25%が非初感染初発と報告しており今回の研究とほぼ同じである⁴⁾。Diamondらは少なくとも10%以上は非初感染初発としている⁵⁾。

HSV-1 感染例に比べて HSV-2 感染例に有意に非初感染初発が多い理由は不明であるが、性器の感染には HSV-2の方が HSV-1より親和性が高く⁶⁾、また感染してもその多くが無症候であることが関連していると思われる⁷⁾。

初発の臨床症状は、発熱・全身倦怠などの全身症状を伴い外陰のヘルペス性病変は広範囲にわたる重症例から全身症状も無くまた病変の範囲も比較的狭い症状のみの場合まで広いスペクトラムを有する。一般的には重症例は初感染が多く、軽症例には非初感染が多いようである。

初発例について初感染と非初感染を分けることの臨床的意義は、第1に感染時期が初感染では多くは2週間以内と考えられるが非初感染はかなり以前と考えられる点である。つまり、初発イコール初感染とは必ずしも云えず、従って2週間以内に性的接触があったパートナーが必ずしも感染源であるとは一概に云えないことになる。第2に HSV の母子感染において、分娩時に妊婦が初感染の場合その約50%に児に感染するのに対し、非初感染では2%以下の感染と云われている⁸⁾。従って妊婦では初発例について初感染か非初感染かを分けて管理する必要がある。その際、分離されたウイルスの型と型特異的な血清抗体の測定が必要となるが、現在は型特異抗体の検出は保険ではできないので便宜的には ELISA 法を用いて IgG 抗体、IgM 抗体を検出することで初感染か非初感染の判別をすることになろう。

結 論

初発性器ヘルペスの23.8%は非初感染初発であり、HSV-1感染例に比べてHSV-2感染例にその傾向がより強かった。

文 献

- 1) 性感染症 診断・治療 ガイドライン2006. 日本性感染症学会誌 2006; 17 supp: 44-47
- 2) Corey L, Wald A. Genital herpes. In: King K, Mardh P, Sparling PF, eds. Sexually Transmitted Diseases, 3rd ed. New York: Mc Graw-Hill, 1999; 285-312
- 3) Wald A, Ashley-Morrow R. Serological Testing for Herpes Simplex Virus (HSV)-1 and HSV-2 Infection. Clinical Infectious Diseases 2002; 35: S173-S182
- 4) Bernstein DL, Lovett MA, Bryson YJ. Serologic analysis of first-episode nonprimary genital herpes

simplex virus infection. Presence of type 2 antibody in acute serum samples. Am J Med 1984; 77: 1055-1060

- 5) Diamond C, Selke S, Ashley R et al. Clinical course of patients with serologic evidence of recurrent genital herpes presenting with signs and symptoms of first episode disease. Sex Transm Dis 1999; 26: 221-225
- 6) Kawana T, Kawagoe K, Takizawa K et al. Clinical and virologic studies on female genital herpes. Obstet Gynecol 1982; 60: 456-461
- 7) Fleming DT, McQuillan GM, Johnson RE et al. Herpes simplex virus type 2 in the United States, 1976 to 1994. N Engl J Med 1997; 337: 1105-1111
- 8) Brown ZA, Wald A, Morrow RA et al. Effect of serologic status and cesarean delivery on transmission rates of herpes simplex virus from mother to infant. JAMA 2003; 289: 203-209