

薬である CTRX に対して、治療不成功例の発生を回避するべく PK/PD に則った適切な投与量、方法を厳守すること、そして治療後に治癒確認検査を行うことが求められる。

当科では、淋菌の咽頭感染症例には CTRX の点滴静注を行っているが、1g 単回投与での治療失敗例を複数例経験しているため、投与量は1回2gとし、通院可能な症例では極力3日間連日投与するよう努めている。

2) クラミジア感染症

クラミジアは現在まで耐性株の報告はなく、日本性感染症学会のガイドラインでも咽頭感染のレジメは性器と同じものとなっている。性器感染に対して、アジスロマイシン(以下、AZM)1,000mg 単回投与が推奨ランク A、クラリスロマイシン(以下、CAM)1回200mgを1日2回7日間投与と MINO 1回100mgを1日2回7日間投与が推奨ランク Bとなっている¹⁴⁾。咽頭では性器よりも治癒に時間がかかること¹⁴⁾、実際に7日間投与で完治しない例を経験したことから当科では CAM 1回200mgを1日2回14日間投与している。

5. 治癒判定

淋菌もクラミジアも、性器感染は不完全治癒のまま経過すると無症状でも不妊の原因となりうる。咽頭感染も不完全治癒に終わると性器感染を併発する可能性があるため、治療後の再検査で治癒を確認することが求められる。治癒確認の検査も核酸増幅法が適しているが、この検査では抗菌薬で死滅した菌体でも陽性と判定されてしまう。治癒判定には抗菌薬投与から一定の期間をおいてから検査しなければならない。

1) 淋菌感染症

淋菌は薬剤耐性化が進行していることから、治療後の治癒確認は必ず行う。治療後、3日以上あけて、核酸増幅法で治癒を確認する。結果が陽性であった場合は、投与量の増量または期間を延長して再投与し、さらに3日以上経過してから治癒確認検査を再度行う。

2) クラミジア感染症

薬剤耐性の問題はないが、細胞偏性寄生性細菌である *C. trachomatis* の増殖サイクルはおおよそ48時間後と他の細菌に比して長いいため、確実な服薬が行われなかったための不完全治癒の可能性がある。治癒確認検査は、投薬開始から2週間後に核酸増幅法で行う。血清抗体検査では治癒判定はできない。

おわりに

厚生労働省は毎年11月25日～12月1日を「性の健康週間」と定め、HP等で啓蒙活動を展開している。2012年11月には「オーラルセックスによる性感染症」を取り上げ、同省のHP上に啓蒙用ポスターや、オーラルセックスによる性感染症 Q&A を掲載した。他にも様々なメディアから口腔咽頭の性感染症に関する情報が数多く発信されるようになり、性感染症の検査を目的に耳鼻咽喉科を受診する人は昨今確実に増加している。

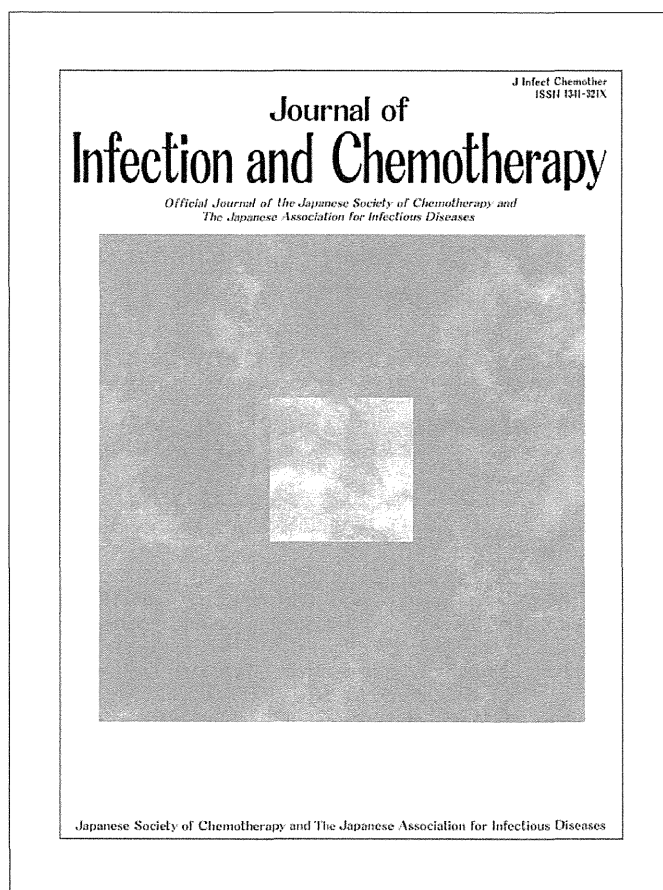
梅毒では、安易に抗菌薬を投与すると特徴的な所見が消える場合がある。淋菌、クラミジアのように特徴的な所見がない性感染症においては、患者が検査を希望するか、医師側が疑ってその病原体を狙った検査をしないと診断に至らない。今や耳鼻咽喉科医にも、性感染症に対する認識を深め適切に対応できることが求められている。

文献

- 1) 松本哲朗：性感染症(STI)治療のファーストステップ 性感染症とは？ 概念と現状。臨床研修プラクティス, 7(2)：6-13, 2010.
- 2) 余田敬子：耳鼻咽喉科感染症の完全マスター 病原体をマスターする 細菌・原虫感染症 梅毒トレポネーマ。耳鼻・頭頸外科, 83：118-122, 2010.
- 3) 荒牧 元：梅毒：48-55, 口腔咽頭粘膜疾患アトラス。医学書院, 2001.
- 4) 荒牧 元, 宮野良隆：鼻・口腔・咽頭梅毒。JOHNS, 9：929-934, 1993.
- 5) 余田敬子：口腔・咽頭梅毒。口咽科, 14(3)：255-265, 2002.

- Summary** 口腔・咽頭梅毒 23 症例の臨床所見に基づいた、口腔・咽頭梅毒の特徴を提示している。
- 6) 梅毒血清反応検討委員会：梅毒. 日性感染症会誌, 24 : 51-55, 2013.
- Summary** 性感染症 診断・治療ガイドライン 2011 梅毒に関する概説の修正版. 診断と治療の修正点を示している。
- 7) 国立感染症研究所感染症情報センター：淋菌感染症. 感染症の話 (http://idsc.nih.go.jp/idwr/kansen/k02_g1/k02_22/k02_22.html)
- 8) 松本哲朗, 野口靖之, 田中正利ほか：性感染症 診断・治療ガイドライン 2011 淋菌感染症. 日性感染症会誌, 22 suppl : 52-59, 2011.
- Summary** 学会が推奨する, 淋菌感染症の特徴, 検出法, 症状と診断, 治療, 治癒判定を示している。
- 9) 余田敬子, 尾上泰彦, 西田 超ほか：淋菌およびクラミジアの咽頭および性器感染：性感染症クリニック受診者からみた現状. 口咽科, 23 : 207-212, 2010.
- 10) 余田敬子：STI としての咽頭病変. 黒野祐一ほか(編) : 130-141. 口腔・咽頭疾患, 歯牙関連疾患を診る. 中山書店, 2013.
- 11) 余田敬子, 尾上泰彦, 西田 超ほか：性感染症クリニックにおける咽 STD と頭の淋菌およびクラミジア陽性者の背景. 口咽科, 24 : 171-177, 2011.
- 12) 田中正利：薬剤耐性 淋菌. 日性感染症会誌, 13 : 44-58, 2002.
- 13) Schmidt H, Hansen EH, Philipsen HP : Gonococcal stomatitis. Acta Dermato-Venereologica, 41 : 324-327, 1961.
- 14) Terezhalmay GT : Oral manifestation of sexually related disease. Ear Nose Throat J, 62 : 5-19, 1983.
- 15) 三鴨廣繁, 高橋 聡：性感染症 診断・治療ガイドライン 2011 性器クラミジア感染症. 日性感染症会誌, 22 suppl : 60-64, 2011.
- Summary** 学会が推奨する, クラミジア感染症の特徴, 検査法, 症状と診断, 治療法, パートナーの治療を記載している。
- 16) 余田敬子ほか：当科および性感染症クリニックにおける咽頭の淋菌・クラミジア陽性率. 口咽科, 20 : 347-353, 2008.
- 17) 木全奈都子, 中川 尚, 荒木博子ほか：成人型封入体結膜炎と上咽頭クラミジア感染. 臨眼, 49 : 443-445, 1995.
- Summary** 成人型封入体結膜炎患者 26 例のうち, 上咽頭からクラミジアが検出された 9 例の臨床症状と, 所見が示されている。

Provided for non-commercial research and education use.
Not for reproduction, distribution or commercial use.



This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/authorsrights>



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Infection and Chemotherapy

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/jic>

Original article

Efficacy and safety of intravenous azithromycin followed by oral azithromycin for the treatment of acute pelvic inflammatory disease and perihepatitis in Japanese women



Hiroshige Mikamo^a, Kazuhiro Iwasaku^b, Yuka Yamagishi^a, Miyako Matsumizu^c, Masahito Nagashima^{c,*}

^aDepartment of Clinical Infectious Diseases, Infection Control and Prevention, Aichi Medical University Graduate School of Medicine, Aichi, Japan

^bDepartment of Obstetrics and Gynecology, Graduate School of Medical Science, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan

^cClinical Research, Development Japan, Pfizer Japan Inc., Tokyo, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 August 2013

Received in revised form

11 December 2013

Accepted 6 March 2014

Keywords:

Intravenous azithromycin
Pelvic inflammatory disease
Perihepatitis
Chlamydia trachomatis
Neisseria gonorrhoeae

ABSTRACT

Pelvic inflammatory disease (PID) is mainly caused by ascending infection from the vaginal flora including the sexually transmitted organisms, *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis*, and lower genital tract endogenous anaerobes, leading to serious consequences including infertility and ectopic pregnancy. To evaluate the efficacy and safety of azithromycin in the treatment of PID that requires initial intravenous therapy, we conducted a multicenter, unblinded, non-comparative phase 3 trial. Intravenous azithromycin (500 mg, once daily) for 1 or 2 days followed by oral azithromycin (250 mg once daily) to complete a total of 7 days treatment was administered to 60 Japanese women with acute PID. The clinical and bacteriological responses were assessed at the end of treatment, and on Days 15 and 29. The most commonly detected baseline causative pathogens were *C. trachomatis* (12 strains), *Prevotella bivia* (10 strains), *Streptococcus agalactiae* (7 strains), *N. gonorrhoeae* and *Peptostreptococcus anaerobius* (6 strains each). The clinical success rate on Day 15 was 94.1% (48/51 subjects including perihepatitis). The clinical efficacy and bacterial eradication rates against *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* (including 2 quinolone-resistant strains) were both 100%. Common treatment-related adverse events were diarrhoea, injection site pain, and nausea. All adverse events were mild or moderate in severity. Azithromycin intravenous-to-oral switch therapy demonstrated excellent clinical and bacteriological effects for PID caused by various etiologic agents including quinolone-resistant strains and strains with low susceptibility to azithromycin at *in vitro* testing. The therapy was well tolerated in the treatment of PID in Japanese women.

Registration number: NCT00871494.

© 2014, Japanese Society of Chemotherapy and The Japanese Association for Infectious Diseases. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Pelvic inflammatory disease (PID) is a common infection and consists of inflammation of the upper female genital tract caused by ascending infection from the endocervix in women in their reproductive years, and it frequently leads to serious consequences including infertility, ectopic pregnancy, and chronic pelvic pain [1–

4]. In Japan, there is little epidemiologic data on PID available at the moment [5].

Based on the polymicrobial etiology of PID, antimicrobial therapy should provide broad spectrum coverage of *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, mycoplasma, and anaerobic and aerobic bacteria. The initial antimicrobial therapy for PID is usually empirical, and is complicated by the increasing global prevalence of antibiotic resistance, in particular resistance to β -lactams, quinolones and/or macrolides, among the common causative pathogens, especially gonorrhoea in PID [1,2,4]. Owing to the emergence of quinolone-resistant *N. gonorrhoeae* (QRNG), quinolones are no longer recommended for the treatment of PID associated with gonorrhoea [1,2,4].

* Corresponding author. Clinical Research, Development Japan, Pfizer Japan Inc., 3-22-7, Yoyogi, Shibuya-ku, Tokyo 151-8589, Japan. Tel.: +81 3 5309 7049; fax: +81 3 5309 9060.

E-mail address: masahito.nagashima@pfizer.com (M. Nagashima).

Azithromycin (AZM) is a macrolide antibiotic that has a broad spectrum of antimicrobial activity covering various causative pathogens in PID including *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, mycoplasma, and endogenous anaerobic and facultative bacteria. Randomized controlled studies demonstrated that intravenous (IV) AZM 500 mg once daily for 1 or 2 days followed by oral AZM 250 mg once daily to complete a total of 7 days treatment produced high clinical success rates, both as monotherapy and combined with metronidazole [6]. AZM regimens are included in the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2010 sexually transmitted disease (STD) treatment guidelines as alternative regimens for PID [4].

Since an AZM IV formulation was approved in the United States of America in 1997, it has been approved in more than 50 countries except for Japan. We conducted a phase 3 trial of IV AZM followed by oral AZM administration in Japanese adults to evaluate the clinical efficacy and safety for the treatment of PID requiring initial IV therapy in order to obtain regulatory approval.

2. Materials and methods

This study was conducted in accordance with the International Conference on Harmonisation Good Clinical Practice Guidelines, the principle of the Declaration of Helsinki and all applicable laws and regulations. The protocol was reviewed and approved by the Institutional Review Boards at participating study sites. All subjects or legally authorized representatives provided a written informed consent form before enrollment.

2.1. Study design

This multicenter, non-randomized, unblinded, non-comparative phase 3 study was designed to investigate the clinical efficacy and safety of AZM IV-to-oral switch therapy in Japanese female subjects with PID. An independent Data Review Committee (DRC) was organized to assure an objective and unified efficacy evaluation based on the clinical conditions and findings from the diagnostic imaging. To all subjects, 500 mg IV AZM was administered once daily at an infusate concentration of 1 mg/ml over 2 h for 1 or 2 days, followed by 250 mg oral AZM once daily to complete a total of 7 days. Switching from IV-to-oral therapy was determined by the investigators according to the subject's condition.

2.2. Eligibility criteria

Females aged 16 years or older who were given a diagnosis of PID and required initial IV antibacterial therapy were eligible.

PID is defined as follows [4,6]:

- (A) Either one or both of the following symptoms should be observed: (a) abdominal pain lower and/or lower abdominal tenderness (tenderness of the uterus or its adnexa); and (b) hypochondrial pain and/or hypochondrial tenderness.
- (B) Once the above criterion is satisfied, then 2 of the 5 following conditions should be observed: (a) fever $\geq 37^\circ\text{C}$ (axillary); (b) increased white blood cell (WBC) count ($>$ upper limit of the normal range); (c) raised CRP ($>$ upper limit of the normal range); (d) purulent leucorrhea and purulent discharge that can be confirmed by Douglas puncture and laparoscopy; and (e) pelvic abscess that can be confirmed by ultrasonography.

Peritonitis (including perihepatitis) and Douglas abscess were included in PID as relevant diseases in this study. However, patients with these diseases were not enrolled if they did not meet the criteria for PID.

Exclusion criteria of the study included the following conditions or situations: hypersensitivity to AZM, or any macrolide or ketolide antibiotics, hepatic dysfunction, severe renal dysfunction, severe heart diseases, severe underlying disease or complication, causative pathogens resistant to AZM, pregnancy or lactation in women, immunodeficiency disease, or endometriosis without any infection.

The following concomitant medications during the primary evaluation period (up to Day 15) were prohibited: human immunoglobulin, colony-stimulating factors, corticosteroids, taking an analgesic antipyretic continuously, and other investigated drugs or medical devices.

2.3. Clinical and radiographic assessments

The primary endpoint was clinical response assessed by the DRC at the end of treatment (EOT), and on Days 15 and 29. The clinical response was evaluated as "effective" if both of the following criteria were met: (A) all signs and symptoms associated with PID resolved or improved; and (B) abnormal findings in the parameters in paragraph 2 of the diagnostic criteria, which had been found on Day 1, resolved or improved. The clinical response was evaluated as "ineffective" if any of the following criteria was met: (A) the criteria of "effective" were not satisfied; (B) the treatment failed and other systemic antibiotics were administered; (C) persistent infection or recurrence of infection in the abdominal cavity was confirmed by abdominal ultrasonography, percutaneous drainage, or second surgery; (D) surgical site infection was confirmed after surgery; and (E) death linked to infection of the same area was confirmed. The clinical response was evaluated as "indeterminate" if the above-mentioned criteria were not assessed for various reasons.

We also investigated the reasons for switching from IV-to-oral therapy.

2.4. Bacteriological assessment

The secondary efficacy endpoint was bacteriological response at EOT, and on Days 15 and 29 assessed by the DRC. All subjects provided clinical specimens, which were sent to a central laboratory for culture, and isolated pathogens were tested for susceptibility according to the Clinical and Laboratory Standards Institute procedures at the baseline visit, EOT, on Days 15 and 29. These specimens were also submitted for detection of *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, or *Mycoplasma* spp by antigen tests using polymerase chain reaction (PCR), strand displacement amplification, and/or enzyme immunoassays. Antigen tests were performed at baseline and on Days 15 and 29.

Bacteriological response was assessed as "eradication" if the original pathogen was not identified in the specimens, "presumed eradication" if the subject was not producing evaluable specimens from a focus of infection, "persistence" if the original pathogen remained in the specimens, "replacement bacterium" if the original pathogens were eradicated by treatment, and other new pathogens appeared in the same specimen, with symptoms and/or findings of an infection, and "indeterminate" if the above-mentioned criteria were not assessed for various reasons.

2.5. Safety assessment

Safety data were obtained from findings of clinical signs/symptoms, physical examinations, vital signs, and laboratory data up to 29 days. The causality and severity of the adverse events were evaluated by the investigators based on MedDRA terminology.

2.6. Statistical analysis

In accordance with the guideline for clinical evaluation of antimicrobial agents [7], the total target number of patients was determined to be 18. Based on the fact that the bacterial detection rate was estimated to be 30%, the total target number of patients to be included in the study was determined to be 60. The Clinical Per-Protocol Set (CPPS) consisted of all subjects who received at least 1 dose of the study drug, had no significant protocol violations, and underwent the evaluations during the observation period as specified in the protocol. The Bacteriologic Per-Protocol Set (BPPS) consisted of a subset of the CPPS in whom causative pathogens were identified by culture and by antigen tests at baseline. For the primary analysis of the primary endpoint, the efficacy rate based on DRC-evaluated clinical response on Day 15 and its 95% confidence interval (CI) were calculated for the CPPS. For the secondary analysis, the efficacy rate based on DRC-evaluated clinical response at EOT and on Day 29 and the respective 95% CIs were calculated for the CPPS. For the bacteriological response, which was the secondary endpoint, the eradication rate at EOT and on Day 15 and 29 and the respective 95% CIs were calculated for the BPPS. Safety data were analyzed based on all subjects who received at least 1 dose of the study drug and utilized mainly descriptive statistics. In the above analyses, 95% CI for the rates were based on the Clopper-Pearson method.

3. Results

3.1. Subject disposition

This study was performed at 35 medical centers nationwide in Japan from October 2009 to March 2010. A total of 60 subjects were enrolled in the study at 30 sites, and all of them received the study drug. Among them, 50 subjects (83.3%) completed the study, and 10 subjects (16.7%) discontinued the study (Table 1).

The baseline demographic characteristics of the subjects are summarized in Table 2.

Details of the primary diagnosis for the subjects are shown in Table 3. Nine subjects were excluded from the CPPS. Of the 9 subjects excluded from the CPPS, 5 subjects did not meet the inclusion criteria, 2 subjects continuously used antipyretic analgesic drugs, 1 subject met any exclusion criteria concerning systemic antimicrobial drugs, and it was impossible to evaluate the drug efficacy in 1 subject. Of 51 subjects in the CPPS, 3 subjects had perihepatitis, 23 subjects had pelvic peritonitis, 16 subjects had adenexitis, and 9 subjects had intrauterine infection.

Among 51 subjects in the CPPS, 20 different species of causative pathogens were isolated at baseline from 36 subjects (70.6%) as shown in Table 4. The most common causative pathogen was *C. trachomatis*, followed by *Prevotella bivia*, *Streptococcus agalactiae*, *Peptostreptococcus anaerobius*, and *N. gonorrhoeae*.

Table 1
Subject disposition.

	Number of subjects
Assigned to treatment	60
Treated	60
Completed	50 (83.3)
Discontinued	10 (16.7)
Deviation from the inclusion criteria	4 (6.7)
Insufficient efficacy	3 (5.0)
Adverse events	3 (5.0)
Lost to follow-up	0

Values represent the number (%) of subjects.

Table 2
Baseline demographic characteristics by analysis set.

Characteristics	FAS	CPPS	BPPS
	(N = 60)	(N = 51)	(N = 36)
Age (yr)			
≤19	5 (8.3)	5 (9.8)	5 (13.9)
20–25	10 (16.7)	8 (15.7)	5 (13.9)
26–30	16 (26.7)	13 (25.5)	13 (36.1)
31–35	10 (16.7)	8 (15.7)	2 (5.6)
36–40	7 (11.7)	6 (11.8)	5 (13.9)
≥41	12 (20.0)	11 (21.6)	6 (16.7)
Mean ± SD	32.3 ± 0.0	32.3 ± 10.3	30.8 ± 10.3
Range	16–54	16–54	16–54
Body weight (kg)			
Mean ± SD	52.8 ± 10.2	52.1 ± 8.2	50.8 ± 6.6
Range	38.0–101.0	38.0–81.7	38.0–66.4

Abbreviations: FAS, full analysis set; CPPS, clinical per protocol set; BPPS, bacteriologic per protocol set.

N = number of subjects assigned.

Values represent the number (%) of subjects.

In this study, IV AZM was administered for 1 or 2 days. Of 51 subjects in the CPPS, 12 subjects were given IV AZM for 1 day. The diseases that the 12 subjects had were the following: intrauterine infection (5 subjects); pelvic peritonitis (2 subjects); adnexitis (2 subjects); perihepatitis (1 subject); pelvic peritonitis and adnexitis (1 subject); and pelvic peritonitis, Douglas abscess, and adnexitis (1 subject). For 51 subjects in the CPPS, the average administration period of IV AZM was 1.8 days and that of oral AZM preparation was 5.1 days. The average overall treatment period was 6.9 days. Of 51 subjects in the CPPS, 26 subjects (51.0%) were hospitalized patients. The remaining 25 subjects (49.0%) received outpatient treatment. Among the hospitalized patients, 10 subjects (38.5%) were discharged before or on the day of the first oral dose, and 15 subjects (57.7%) were discharged between the day of the second oral dose and the day following EOT. After discharge, the 25 subjects received outpatient therapy.

3.2. Efficacy

As for the clinical response assessed by the DRC, the efficacy rate of subjects in the CPPS was 94.1% on Day 15 (primary analysis)

Table 3
Details of primary diagnosis.

Primary diagnosis	FAS	CPPS
	(N = 60)	(N = 51)
Pelvic inflammatory disease	60	51
Perihepatitis, pelvic peritonitis, adnexitis	1 (1.7)	1 (2.0)
Perihepatitis, pelvic peritonitis	1 (1.7)	1 (2.0)
Perihepatitis	1 (1.7)	1 (2.0)
Pelvic peritonitis, Douglas abscess, adnexitis, intrauterine infection	1 (1.7)	1 (2.0)
Pelvic peritonitis, Douglas abscess, adnexitis	2 (3.3)	2 (3.9)
Pelvic peritonitis, Douglas abscess	1 (1.7)	1 (2.0)
Pelvic peritonitis, adnexitis, intrauterine infection	1 (1.7)	1 (2.0)
Pelvic peritonitis, adnexitis	7 (11.7)	6 (11.8)
Pelvic peritonitis, intrauterine infection	1 (1.7)	1 (2.0)
Pelvic peritonitis	11 (18.3)	11 (21.6)
Adnexitis, intrauterine infection	2 (3.3)	2 (3.9)
Adnexitis	15 (25.0)	14 (27.5)
Intrauterine infection	9 (15.0)	9 (17.6)
Not eligible ^a	7 (11.7)	–

Abbreviations: FAS, full analysis set; CPPS, clinical per protocol set.

N = number of subjects.

Values represent the number (%) of subjects.

^a Subjects with “pelvic abscess,” “pelvic peritonitis, adnexitis,” “pelvic peritonitis,” and “intrauterine infection” who did not meet the inclusion criteria, and other subjects who were not eligible.

Table 4
Baseline causative pathogens identified (CPPS).

Causative pathogen	
Total number of subjects	51 (100)
Total number of subjects with pathogen(s)	36 (70.6)
Number of subjects with a single pathogen	17 (33.3)
<i>N. gonorrhoeae</i>	3
<i>C. trachomatis</i>	6
Coagulase negative <i>Staphylococcus</i>	1
<i>S. agalactiae</i>	2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1
<i>P. anaerobius</i>	1
<i>P. bivia</i>	2
Number of subjects with 2 or more pathogens	19 (37.3)
<i>N. gonorrhoeae</i> + <i>P. bivia</i>	1
<i>C. trachomatis</i> + <i>M. hominis</i>	2
<i>C. trachomatis</i> + <i>P. bivia</i>	2
<i>C. trachomatis</i> + <i>Fusobacterium varium</i>	1
<i>M. hominis</i> + <i>P. anaerobius</i>	1
Coagulase negative <i>Staphylococcus</i> + <i>P. bivia</i>	1
<i>S. agalactiae</i> + <i>H. influenzae</i>	1
<i>S. agalactiae</i> + <i>P. anaerobius</i>	1
<i>Escherichia coli</i> + <i>P. bivia</i>	1
<i>Porphyromonas gingivalis</i> + <i>Bacteroides ovatus</i>	1
<i>N. gonorrhoeae</i> + <i>M. hominis</i> + <i>P. anaerobius</i>	1
<i>N. gonorrhoeae</i> + <i>S. agalactiae</i> + <i>P. bivia</i>	1
<i>C. trachomatis</i> + Coagulase negative <i>Staphylococcus</i> + <i>S. agalactiae</i>	1
<i>E. coli</i> + <i>P. bivia</i> + <i>Enterococcus avium</i>	1
<i>Ureaplasma urealyticum</i> + Coagulase negative <i>Staphylococcus</i> + <i>P. anaerobius</i> + <i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	1
<i>Streptococcus constellatus</i> + <i>P. anaerobius</i> + <i>Fusobacterium nucleatum</i> + <i>Actinomyces spp.</i>	1

Abbreviation: CPPS, clinical per protocol set. Values represent the number (%) of subjects.

(Table 5). High efficacy rates exceeding 90% were achieved at all assessment time points. Of the 12 subjects given IV AZM for 1 day among 51 subjects in the CPPS, the clinical response on Day 15 was classified as ineffective only in 1 subject.

The clinical response by baseline causative pathogen in the BPPS judged by the DRC is shown in Table 6. The clinical efficacy rate on Day 15 was 100% (12/12) for *C. trachomatis*, 100% (6/6) for *N. gonorrhoeae*, and 90.5% (19/21) for anaerobes.

The bacteriological response by baseline causative pathogen in the BPPS judged by the DRC is shown in Table 7. The eradication rate by major causative pathogen on Day 15 was 100% (6/6 strains) for *N. gonorrhoeae*, 100% (11/11 strains) for *C. trachomatis*, 77.8% (7/9 strains) for *P. bivia*, 71.4% (5/7 strains) for *S. agalactiae*, and 83.3% (5/6 strains) for *P. anaerobius*.

For subjects in the BPPS, the clinical and bacteriological responses by AZM susceptibility of baseline pathogens assessed by the DRC are shown in Table 8. Good clinical efficacy and bacterial eradication were achieved regardless of the type and *in vitro* susceptibility of the causative pathogens. AZM IV-to-oral therapy was

Table 5
Clinical response assessed by Data Review Committee (CPPS).

Assessment time point	Total	Clinical response			Efficacy Rate ^a	95% CI
		Effective	Ineffective	Indeterminate		
End of treatment	51	48 (94.1)	3 (5.9)	0	94.1	(83.8, 98.8)
Day 15	51	48 (94.1)	3 (5.9)	0	94.1	(83.8, 98.8)
Day 29	51	43 (84.3)	3 (5.9)	5 (9.8)	93.5	(82.1, 98.6)

Abbreviations: CPPS, clinical per protocol set; CI, confidence interval. ^a Efficacy rate = effective/(total – indeterminate) × 100.

Table 6
Clinical response by baseline causative pathogen (Data Review Committee assessment, BPPS).

Pathogen ^a	Clinical response					
	End of treatment		Day 15		Day 29	
	n/N	Efficacy rate ^b	n/N	Efficacy rate ^b	n/N	Efficacy rate ^b
<i>N. gonorrhoeae</i>	6/6	100	6/6	100	4/4	100
<i>C. trachomatis</i>	12/12	100	12/12	100	11/11	100
<i>M. hominis</i>	3/4	75.0	3/4	75.0	2/3	66.7
<i>U. urealyticum</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
Coagulase negative <i>Staphylococcus</i>	4/4	100	4/4	100	3/3	100
<i>S. pneumoniae</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
<i>S. agalactiae</i>	6/7	85.7	6/7	85.7	6/7	85.7
<i>S. constellatus</i>	1/1	100	1/1	100	0	–
<i>E. avium</i>	0/1	0	0/1	0	0/1	0
<i>H. influenzae</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
<i>E. coli</i>	1/2	50.0	1/2	50.0	1/2	50.0
<i>S. paucimobilis</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
<i>P. anaerobius</i>	5/6	83.3	5/6	83.3	3/4	75.0
<i>B. ovatus</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
<i>P. bivia</i>	9/10	90.0	9/10	90.0	7/8	87.5
<i>P. asaccharolytica</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
<i>P. gingivalis</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
<i>F. varium</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
<i>F. nucleatum</i>	1/1	100	1/1	100	0	–
<i>Actinomyces spp.</i>	1/1	100	1/1	100	0	–

Abbreviation: BPPS, bacteriologic per protocol set. n = number of subjects in whom the clinical response was effective. N = number of assessable subjects excluding subjects in whom the clinical response was indeterminate.

^a More than 1 pathogen may be isolated in a subject. ^b Calculated as n/N × 100.

Table 7
Bacteriological response by baseline causative pathogen (Data Review Committee assessment, BPPS).

Pathogen ^a	Bacteriological response					
	End of treatment		Day 15		Day 29	
	n/N	Eradication rate ^b	n/N	Eradication rate ^b	n/N	Eradication rate ^b
<i>N. gonorrhoeae</i> ^c	2/2	100	6/6	100	4/4	100
<i>C. trachomatis</i> ^c	8/8	100	11/11	100	11/11	100
<i>M. hominis</i> ^c	0/1	0	2/3	66.7	2/3	66.7
<i>U. urealyticum</i> ^c	0	–	1/1	100	1/1	100
Coagulase negative <i>Staphylococcus</i>	4/4	100	2/2	100	3/3	100
<i>S. pneumoniae</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
<i>S. agalactiae</i>	4/7	57.1	5/7	71.4	5/7	71.4
<i>S. constellatus</i>	1/1	100	1/1	100	0	–
<i>E. avium</i>	0/1	0	0/1	0	0/1	0
<i>H. influenzae</i>	0/1	0	1/1	100	1/1	100
<i>E. coli</i>	1/2	50.0	1/2	50.0	1/2	50.0
<i>S. paucimobilis</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
<i>P. anaerobius</i>	5/6	83.3	5/6	83.3	3/4	75.0
<i>B. ovatus</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
<i>P. bivia</i>	8/10	80.0	7/9	77.8	6/8	75.0
<i>P. asaccharolytica</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
<i>P. gingivalis</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
<i>F. varium</i>	1/1	100	1/1	100	1/1	100
<i>F. nucleatum</i>	1/1	100	1/1	100	0	–
<i>Actinomyces spp.</i>	1/1	100	1/1	100	0	–

Abbreviation: BPPS, bacteriologic per protocol set. n = number of causative pathogens assessed as eradication or presumed eradication, and N = number of total pathogens – number of pathogens with an indeterminate response.

^a More than 1 pathogen may be isolated in a subject.

^b Calculated as eradication rate = n/N × 100.

^c For these causative pathogens, the bacteriological response for those identified only by antigen tests was indeterminate at the end of treatment since measurement had not been scheduled (excluding cases where systemic antimicrobial agents were administered).

Table 8
Clinical and bacteriological responses by AZM MIC of baseline causative pathogen (Data Review Committee assessment, BPPS).

Pathogen ^a	MIC	End of treatment		Day 15		Day 29	
		Efficacy rate ^b (%)	Eradication rate ^c (%)	Efficacy rate ^b (%)	Eradication rate ^c (%)	Efficacy rate ^b (%)	Eradication rate ^c (%)
<i>N. gonorrhoeae</i>	MIC = 0.12 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
	MIC = 0.25 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
	MIC unknown	4/4 (100)	0 (–)	4/4 (100)	4/4 (100)	2/2 (100)	2/2 (100)
<i>C. trachomatis</i>	MIC = 0.015 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
	MIC = 0.03 µg/ml	2/2 (100)	2/2 (100)	2/2 (100)	2/2 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
	MIC = 0.06 µg/ml	3/3 (100)	3/3 (100)	3/3 (100)	3/3 (100)	3/3 (100)	3/3 (100)
	MIC unknown	6/6 (100)	2/2 (100)	6/6 (100)	5/5 (100)	6/6 (100)	6/6 (100)
<i>M. hominis</i>	MIC unknown	3/4 (75.0)	0/1 (0)	3/4 (75.0)	2/3 (66.7)	2/3 (66.7)	2/3 (66.7)
<i>U. urealyticum</i>	MIC unknown	1/1 (100)	0 (–)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
Coagulase negative	MIC = 0.5 µg/ml	3/3 (100)	3/3 (100)	3/3 (100)	1/1 (100)	2/2 (100)	2/2 (100)
<i>Staphylococcus</i>	MIC > 64 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
<i>S. pneumoniae</i>	MIC > 64 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
<i>S. agalactiae</i>	MIC = 0.06 µg/ml	2/3 (66.7)	1/3 (33.3)	2/3 (66.7)	2/3 (66.7)	2/3 (66.7)	2/3 (66.7)
	MIC = 0.12 µg/ml	2/2 (100)	1/2 (50.0)	2/2 (100)	2/2 (100)	2/2 (100)	1/2 (50.0)
	MIC = 0.25 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
	MIC > 64 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	0/1 (0)	1/1 (100)	1/1 (100)
<i>S. constellatus</i>	MIC = 0.06 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	0 (–)	0 (–)
<i>E. avium</i>	MIC > 64 µg/ml	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)
<i>H. influenzae</i>	MIC = 4 µg/ml	1/1 (100)	0/1 (0)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
<i>E. coli</i>	MIC = 4 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
	MIC = 8 µg/ml	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)	0/1 (0)
<i>S. paucimobilis</i>	MIC = 1 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
<i>P. anaerobius</i>	MIC = 1 µg/ml	2/3 (66.7)	2/3 (66.7)	2/3 (66.7)	2/3 (66.7)	1/2 (50.0)	1/2 (50.0)
	MIC = 2 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
	MIC > 64 µg/ml	2/2 (100)	2/2 (100)	2/2 (100)	2/2 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
<i>B. ovatus</i>	MIC > 64 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
<i>P. bivia</i>	MIC = 2 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
	MIC = 4 µg/ml	3/4 (75.0)	3/4 (75.0)	3/4 (75.0)	3/4 (75.0)	3/4 (75.0)	3/4 (75.0)
	MIC = 16 µg/ml	2/2 (100)	2/2 (100)	2/2 (100)	1/2 (50.0)	2/2 (100)	1/2 (50.0)
	MIC = 64 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	0 (–)	0 (–)
	MIC > 64 µg/ml	2/2 (100)	1/2 (50.0)	2/2 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
<i>P. asaccharolytica</i>	MIC = 0.06 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
<i>P. gingivalis</i>	MIC > 64 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
<i>F. varium</i>	MIC = 0.5 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)
<i>F. nucleatum</i>	MIC = 0.12 µg/ml	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	0 (–)	0 (–)
<i>Actinomyces</i> spp.	MIC unknown	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	1/1 (100)	0 (–)	0 (–)

Abbreviations: AZM, azithromycin; BPPS, bacteriologic per protocol set.

–: Not available.

^a More than 1 pathogen may be isolated in a subject.

^b Efficacy rate = Effective/(Total – Indeterminate) × 100.

^c Eradication rate = (Eradication + Presumed Eradication)/(Total – Indeterminate) × 100.

effective for PID, on Day 15, even in subjects from whom high-level resistant strains (MIC ≥ 64 mg/ml) were isolated. AZM treatment was also effective in eradicating highly resistant pathogens.

Of 6 strains of *N. gonorrhoeae* identified in the BPPS, 2 strains showed quinolone-resistance judged by their MIC values. As shown in Table 9, good clinical efficacy and bacterial eradication were achieved in these 2 cases as well as improvement of the clinical signs and symptoms. In case 1, the abdominal pain lower and the CRP value improved dramatically. In case 2, the abdominal pain lower and the WBC count also improved dramatically.

For subjects in the CPPS, clinical signs and symptoms tended to improve from EOT onwards, and further improved and/or resolved over time. Body temperature, WBC count, and CRP improved in most subjects after switching to oral therapy. After bacterial infection, WBC starts to increase at an early stage, and CRP starts to increase thereafter [8–10]. Improved levels of CRP were therefore limited at the time of switching to oral therapy (Fig. 1).

Inflammatory findings of the diagnostic radiographic imaging improved after EOT and further improved over the course of treatment in subjects in the CPPS.

For 48 subjects in the CPPS whose clinical response on Day 15 was assessed as effective by the DRC, the reasons for switching from IV-to-oral therapy were “improvement in clinical signs and symptoms (body temperature, WBC count, and CRP)” in 19 subjects

(39.6%) and “improvement in clinical symptoms (other than body temperature, WBC count, and CRP; i.e., improvement in abdominal pain lower, lower abdominal tenderness, hypochondrial pain, upper abdominal tenderness, pain upon moving, painful respiration, and fluor vaginalis)” in 29 subjects (60.4%). The descriptive statistics (median, 75th and 90th percentiles) for body temperature, WBC count, and CRP at the time of switching from IV-to-oral therapy are shown in Fig. 1. For body temperature, approximately 75% of the investigators switched from IV-to-oral AZM therapy for subjects with a temperature under 37 °C. Concerning the WBC count and CRP, approximately 75% of the investigators decided to switch to oral therapy for subjects if these parameters were under 8200/mm³ and 4.5 mg/dl, respectively.

3.3. Safety results

Among the 60 subjects, 17 subjects (28.3%) experienced treatment-related adverse events. All treatment-related adverse events were mild or moderate in severity. Moderate adverse events were diarrhoea (3 subjects), gastroenteritis and urticaria (1 subject each). No serious treatment-related adverse events were reported and no subject discontinued the study due to treatment-related adverse events. Common treatment-related adverse events were diarrhoea (8 subjects, 13.3%), and nausea (3 subjects, 5.0%).

Table 9
Clinical signs and symptoms in 2 PID cases due to quinolone-resistant *N. gonorrhoeae*.

Clinical sign and symptom	Assessment time point				
	Day 1	IV-to-oral	EOT	Day 15	Day 29
Case 1^a					
Pain, lower abdominal	2+	–	–	–	–
Tenderness, lower abdominal	2+	1+	–	–	–
Pain, upon movement	2+	–	–	–	–
Body temperature (°C)	37.2	36.4	36.6	36.9	36.7
WBC (/mm ³)	9600	3000	3100	3400	4700
CRP (mg/dl)	14.99	9.37	0.76	<0.25	<0.25
Clinical efficacy	–	–	Effective	Effective	Effective
Bacterial eradication	–	–	Eradicated	Eradicated	Eradicated
Case 2^b					
Pain, lower abdominal	3+	–	–	1+	–
Tenderness, lower abdominal	3+	1+	–	1+	–
Pain, upon movement	1+	–	–	–	–
Fluor vaginalis	+	–	–	–	–
Abscess	+	+	+	–	–
Body temperature (°C)	37.1	36.3	36.8	35.8	36.4
WBC (/mm ³)	15,600	11,500	6900	7700	5400
CRP (mg/dl)	2.4	1.8	0.1	0.0	0.1
Clinical efficacy	–	–	Effective	Effective	Effective
Bacterial eradication	–	–	Eradicated	Eradicated	Eradicated

Abbreviation: PID, pelvic inflammatory disease; IV, intravenous; EOT, end of treatment; WBC, white blood cell; AZM, azithromycin.

^a Subject with PID due to quinolone-resistant *N. gonorrhoeae* (ciprofloxacin MIC = 8.0 µg/ml, levofloxacin MIC = 4.0 µg/ml, AZM MIC = 0.12 µg/ml), who was co-infected with *S. agalactiae* and *P. bivia*.

^b Subject with PID due to quinolone-resistant *N. gonorrhoeae* (ciprofloxacin MIC = 4.0 µg/ml, levofloxacin MIC = 4.0 µg/ml, AZM MIC = 0.25 µg/ml), who had failed to respond to levofloxacin 100 mg 3-times-daily treatment for 6 days.

No clinically significant changes from baseline were seen in systolic blood pressure, diastolic blood pressure, pulse rate, or respiration rate.

4. Discussion

The goals of therapy for PID include the resolution of clinical symptoms and signs, the eradication of pathogens from the genital tract (short-term goals), and the prevention of sequelae including infertility, ectopic pregnancy and chronic pelvic pain

(long-term goals). Early and appropriate therapy is important to achieve both good short-term and long-term clinical outcomes [1,2,4]. In this study, AZM IV-to-oral switch therapy demonstrated excellent clinical and bacteriological efficacy for the treatment of PID regardless of the type and *in vitro* susceptibility of causative pathogens. This efficacy result was similar to those reported in 2 previous multinational, randomized, comparative studies [11], and confirmed the beneficial effect of AZM IV-to-oral therapy as monotherapy for the management of PID.

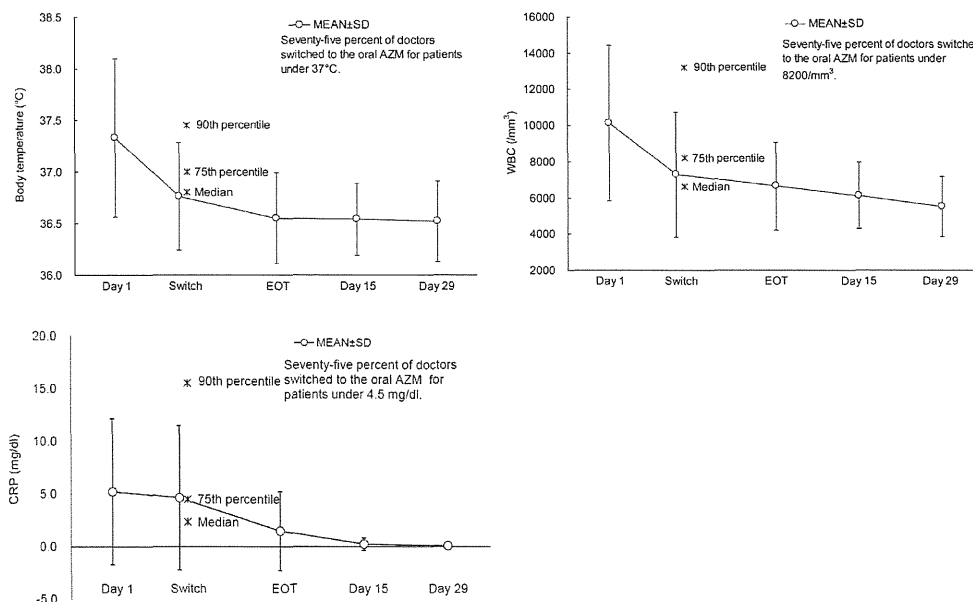


Fig. 1. Time course of body temperature, WBC count, and CRP for subjects in the CPPS. The descriptive statistics (median, 75th and 90th percentiles) of these parameters at the time of switching from IV-to-oral therapy are indicated in the figure. Abbreviation: AZM, azithromycin; EOT, end of treatment; WBC, white blood cell; CPPS, clinical per protocol set; IV, intravenous.

Such excellent clinical efficacy of AZM is due to the anti-inflammatory and immunomodulatory activities both *in vitro* and *in vivo* by inhibiting the production of pro-inflammatory cytokines at the infection sites [12,13]. Studies using a macaque model of *C. trachomatis* infection, and epithelial cells or cervical mononuclear cells from infertile women infected with *C. trachomatis* demonstrated that AZM had an immunomodulatory activity and inhibited the production of pro-inflammatory cytokines such as IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, or TNF- α induced by *C. trachomatis* infection, which may have a favorable effect on the clinical outcome of patients with PID by preventing the exacerbation of inflammation, persistence of the infection, and complications such as infertility [14–16].

An increasing global prevalence of antibiotic resistance, in particular resistance to β -lactams, tetracyclines, and/or quinolones, of *N. gonorrhoeae* is of great concern for the antimicrobial regimens used in the treatment of PID [17]. A recent study reported that ciprofloxacin resistance of gonococcal isolates in 2008 was 70.7% and AZM resistance was 0.4% in Japan [18]. The emergence of resistance of *N. gonorrhoeae* to the extended spectrum of cephalosporins (oral cephalosporins mostly) and to AZM was recently reported, which leads to serious concerns about the current recommendations for the treatment of gonococcal infections [19,20].

For the treatment of PID due to gonorrhoea, the CDC 2010 STD treatment guidelines recommend that if the isolate is determined to be QRNG or if the antimicrobial susceptibility cannot be assessed, a parenteral cephalosporin should be used, but if cephalosporin therapy is not feasible, 2 g oral AZM as a single dose should be added to a quinolone-based PID regimen [4].

In this study, 2 QRNG strains were isolated from 2 PID subjects including 1 subject who had failed to respond to levofloxacin 100 mg 3-times-daily treatment for 6 days. The clinical efficacy and bacterial eradication rates were 100% (2/2) for QRNG, indicating the effectiveness of AZM IV-to-oral switch therapy for QRNG. These results indicate a therapeutic efficacy of AZM IV-to-oral therapy for PID caused by QRNG.

Since most subjects showed improvements in body temperature, WBC count, and CRP at the time of switching to oral therapy, and the proportion of subjects with improved clinical signs and symptoms increased, the time when the clinical signs and symptoms improve or tend to improve seems to be a suitable time to switch to oral therapy.

AZM IV-to-oral switch therapy seems to have the advantage of shortening the length of patients' hospitalization. IV-to-oral switch therapy enables early switch to oral therapy as soon as possible after resolution, improvement or a tendency for improvement of the intense abdominal pain lower and inflammatory findings through initial IV therapy, resulting in an early return to normal life and higher cost effectiveness of antimicrobial therapy. Similar beneficial effects of early switching to oral therapy in the treatment of CAP were reported in the studies of transition to oral therapy after an abbreviated course of IV therapy [21–23]. Furthermore, AZM IV-to-oral switch therapy also seems to have the advantage that the dosing regimen is simple (1 dose per day) compared with standard multidrug regimens recommended for the treatment of PID, leading to higher compliance and better clinical efficacy.

AZM IV-to-oral switch therapy was effective and well tolerated in the treatment of PID in Japanese women.

Conflict of interest

H. Mikamo has received a consultant fee and a fee for participation in the Committee from Pfizer Japan Inc. K. Iwasaku has received a fee for participation in the Committee from Pfizer Japan Inc. Y. Yamagishi has received a clinical study grant from Pfizer

Japan Inc. M. Matsumizu and M. Nagashima are employees of Pfizer Japan Inc.

Acknowledgments

We wish to thank the investigators who have contributed to this clinical study. This study was sponsored by Pfizer Japan Inc.

References

- Jaiyeoba O, Lazenby G, Soper DE. Recommendations and rationale for the treatment of pelvic inflammatory disease. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2011;9: 61–70.
- Ross J, Judlin P, Nilas L. European guideline for the management of pelvic inflammatory disease. *Int J STD AIDS* 2007;18:662–6.
- Weström L, Joesoef R, Reynolds G, Hagdu A, Thompson SE. Pelvic inflammatory disease and fertility. A cohort study of 1,844 women with laparoscopically verified disease and 657 control women with normal laparoscopic results. *Sex Transm Dis* 1992;19:185–92.
- Workowski KA, Berman S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pelvic inflammatory disease. In: sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010. *MMWR Recomm Rep* 2010;59(RR-12):1–110.
- Mikamo H, Kawazoe K, Sato Y, Tamaya T. Studies on the clinical implications of anaerobes, especially *Prevotella bivia*, in obstetrics and gynecology. *J Infect Chemother* 1998;4:177–87.
- Bevan CD, Ridgway GL, Rothermel CD. Efficacy and safety of azithromycin as monotherapy or combined with metronidazole compared with two standard multidrug regimens for the treatment of acute pelvic inflammatory disease. *J Int Med Res* 2003;31:45–54.
- Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan. Guidelines for the clinical evaluation of anti-infective drug products clinical evaluation. *Iyakushin* 1998;743. in Japanese.
- Mortensen RF, Zhong W. Regulation of phagocytic leukocyte activities by C-reactive protein. *J Leukoc Biol* 2000;67:495–500.
- Steel DM, Whitehead AS. Heterogeneous modulation of acute-phase-reactant mRNA levels by interleukin-1 beta and interleukin-6 in the human hepatoma cell line PLC/PRF/5. *Biochem J* 1991;277(Pt 2):477–82.
- Ganter U, Arcone R, Toniatti C, Morrone G, Ciliberto G. Dual control of C-reactive protein gene expression by interleukin-1 and interleukin-6. *EMBO J* 1989;8:3773–9.
- French CE, Hughes G, Nicholson A, Yung M, Ross JD, Williams T, et al. Estimation of the rate of pelvic inflammatory disease diagnoses: trends in England, 2000–2008. *Sex Transm Dis* 2011;38:158–62.
- Tamaoki J, Kadota J, Takizawa H. Clinical implications of the immunomodulatory effects of macrolides. *Am J Med* 2004;117(Suppl. 9A):5S–11S.
- Zarogoulidis P, Papanas N, Kiousis I, Chatzaki E, Maltezos E, Zarogoulidis K. Macrolides: from in vitro anti-inflammatory and immunomodulatory properties to clinical practice in respiratory diseases. *Eur J Clin Pharmacol* 2012;68: 479–503.
- Patton DL, Sweeney YT, Stamm WE. Significant reduction in inflammatory response in the macaque model of chlamydial pelvic inflammatory disease with azithromycin treatment. *J Infect Dis* 2005;192:129–35.
- Reveneau N, Crane DD, Fischer E, Caldwell HD. Bactericidal activity of first-choice antibiotics against gamma interferon-induced persistent infection of human epithelial cells by *Chlamydia trachomatis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:1787–93.
- Srivastava P, Bhengraj AR, Jha HC, Vardhan H, Jha R, Singh LC. Differing effects of azithromycin and doxycycline on cytokines in cells from *Chlamydia trachomatis*-infected women. *DNA Cell Biol* 2012;31:392–401.
- Cole MJ, Chisholm SA, Hoffmann S, Stary A, Lowndes CM, Ison CA, et al. European surveillance of antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Sex Transm Infect* 2010;86:427–32.
- Tanaka M, Koga Y, Nakayama H, Kanayama A, Kobayashi I, Saika T, et al. Antibiotic-resistant phenotypes and genotypes of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Japan: identification of strain clusters with multidrug-resistant phenotypes. *Sex Transm Dis* 2011;38:871–5.
- Chisholm SA, Neal TJ, Alawattagama AB, Birley HD, Howe RA, Ison CA. Emergence of high-level azithromycin resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in England and Wales. *J Antimicrob Chemother* 2009;64:353–8.
- Tapsall JW. *Neisseria gonorrhoeae* and emerging resistance to extended spectrum cephalosporins. *Curr Opin Infect Dis* 2009;22:87–91.
- Gleason PP, Meehan TP, Fine JM, Galusha DH, Fine MJ. Associations between initial antimicrobial therapy and medical outcomes for hospitalized elderly patients with pneumonia. *Arch Intern Med* 1999;159:2562–72.
- Omidvari K, de Boisblanc BP, Karam G, Nelson S, Haponik E, Summer W. Early transition to oral antibiotic therapy for community-acquired pneumonia: duration of therapy, clinical outcomes, and cost analysis. *Respir Med* 1998;92: 1032–9.
- Stahl JE, Barza M, Desjardin J, Martin R, Eckman MH. Effect of macrolides as part of initial empiric therapy on length of stay in patients hospitalized with community-acquired pneumonia. *Arch Intern Med* 1999;159:2576–80.

ヒトパピローマウイルス(HPV)ワクチン (子宮頸癌予防ワクチン)と副反応

愛知医科大学病院感染症科¹ 同・感染制御部² 愛知医科大学大学院医学研究科臨床感染症学³

山岸由佳^{1,2} 三嶋廣繁^{1~3}

ヒトパピローマウイルス感染症とは

ヒトパピローマウイルス(human papillomavirus, HPV)には100種類以上の型があり、皮膚に疣贅を引き起こす皮膚型と、性器周辺に感染する粘膜型(約40種類)に大別される。粘膜に感染するHPVのうち、少なくとも15種類(16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68型など)が子宮頸癌などの悪性腫瘍症例で検出され、これらは「高リスク型HPV」と呼ばれている。特に子宮頸癌では90%以上でHPVが検出され、約65%は16型または18型である¹⁾。

高リスク型HPVは性交渉によって感染し、子宮頸癌以外に、中咽頭癌、肛門癌、膣癌、外陰癌、陰茎癌などにも関与している²⁾。子宮頸部の細胞に異常がなくても、10~20%の女性がHPVに感染しているという報告もあり、また、海外では性交渉歴のある女性の50~80%が生涯に一度はHPVに感染するとも報告されている¹⁾。HPVに感染しても、90%以上の場合、2年以内にウイルスは自然に排出されるとされているが、ウイルスが自然排出されず、数年から数十年にわたって持続感染した場合には、癌に進展しうることが報告されている。

低リスク型である6, 11型は尖圭コンジローマの原因ウイルスである³⁾。また、HPVによる

母子感染として若年性再発性呼吸器乳頭腫症があり、本症のほぼ全例にHPV6型, 11型が検出される。小児の咽頭・口頭良性腫瘍の原因の第1位であり、嘔声, 呼吸困難, 気道閉塞をきたし、若年発症ほど予後不良である。罹患者の約半数は、再発のため手術を10回以上必要とすることもある⁴⁾。

ヒトパピローマウイルスワクチン

ヒトパピローマウイルスワクチンには、持続的なHPVの感染や癌になる過程の異常(異形成)を予防する効果が確認されており、これらに引き続いて起こる子宮頸癌を予防することが期待されているワクチンである。

サーバリックス[®]は2009年10月に厚生労働省から製造販売承認を受けた2価ワクチンである。効果接種回数は1回目の接種を行った1カ月後に2回目を、6カ月後に3回目の接種を行う。ガーダシル[®]は、2011年7月に販売承認を得た4価のワクチンであり、1回目の接種を行った2カ月後に2回目を、6カ月後に3回目の接種を行う。

2種類のワクチンの概要を表1に示す。ワクチンを接種していても、HPV16型, 18型以外の高リスク型HPVが原因となる子宮頸癌は原則として予防できないため、必ず子宮頸がん検

¹⁾: 〒480-1195 愛知県長久手市岩作雁又1-1

表 1 わが国で接種可能な HPV ワクチン(2013年8月15日現在)

	サーバリックス	ガーダシル
開発企業	グラクソ・スミスクライン社	メルク社
わが国での製造承認	2009年10月	2011年7月
カバー可能な HPV 型	16, 18	6, 11, 16, 18
抗原	L1-VLP(HPV の殻を模倣した蛋白質 L1 のウイルス様粒子)	L1-VLP (HPV の殻を模倣した蛋白質 L1 のウイルス様粒子)
アジュバント	ASO4	アルミニウム塩
接種対象者	10歳以上の女性	9歳以上の女性
適応疾患(国内承認)	HPV16/18による、子宮頸癌と上皮内腫瘍(CIN2, 3)	HPV16/18による、子宮頸癌と上皮内腫瘍(CIN1-3, AIS)、外陰上皮内腫瘍(VIN1-3)、膣上皮内腫瘍(VaIN1-3)HPV6/11による、尖圭コンジローマ
接種方法	0, 1, 6カ月	0, 2, 6カ月
接種量	1回0.5mL	1回0.5mL
接種経路	筋肉注射	筋肉注射
接種部位	上腕の三角筋部	上腕筋、大腿四頭筋

VLP: virus-like particle(ウイルス様粒子), CIN: cervical intraepithelial neoplasia(子宮頸部上皮内腫瘍), ASI: adenocarcinoma *in situ*(上皮内腺癌), VIN: vulvar intraepithelial neoplasia(外陰上皮内腫瘍), VaIN: vaginal intraepithelial neoplasia(膣上皮内腫瘍).

診を受診することが重要である。

ヒトパピローマウイルスワクチンの副反応

現行のわが国の予防接種制度では、薬剤使用後に生ずる生体にとって好ましくない現象(症状や検査値)だけではなく、ワクチン接種後に生体反応として生じてもおかしくない発熱や腫脹などの軽微な反応、あるいはそれを越えた生体反応について、因果関係の有無にかかわらず副反応として報告することとなっている。すなわち、子宮頸がん等ワクチン接種緊急促進事業における副反応報告ではワクチン接種との因果関係にかかわらず、重篤・非重篤、未知・既知の全てについて契約医師には報告義務があるが、薬事法では、副反応によると疑われる場合に自主的に報告することという違いがある⁵⁾。

予防接種法で報告される副反応報告制度では、医療機関などが予防接種による副反応を

知ったときは、厚生労働大臣へ報告し、厚生労働大臣は報告の状況について審議会に再報告し、必要に応じて予防接種の適正な実施のために必要な措置を講ずることとなっている。副反応報告にかかわる情報の整理および調査は独立行政法人医薬品医療機器総合機構に委託が可能となっている。表2に、わが国で実施されているワクチンの副反応報告件数を示す⁶⁾。

定期的予防接種などによる副反応の報告などの取り扱いにおける HPV ワクチンの報告基準に関する症状(発生までの時間)は、アナフィラキシー(4時間以内)、急性散在性脳脊髄炎(acute disseminated encephalomyelitis, ADEM)(28日)、ギラン・バレー(Guillain-Barré)症候群(28日)、血小板減少性紫斑病(28日)、血管迷走神経反射(失神を伴うもの)(30分)、その他の反応(時間の定義なし)の6項目となっている⁷⁾。2013年3月までの報告のうち、ワクチンとの関係が否定できないとされた報告頻度

表2 各ワクチンの副反応報告状況

ワクチンの種類	副反応の報告*1		重篤*2		企業報告のうち医師が重篤と判断したもの		医療機関報告のうち医師が重篤と判断したもの		接種回数
	件数	発生率	件数	発生率	件数	発生率	件数	発生率	
子宮頸癌予防ワクチン (サーバリックス®)	1,705	245.1	302	43.4	211	30.3	91	13.1	6,957,386
子宮頸癌予防ワクチン (ガーダシル®)	263	155.7	56	33.2	41	24.3	15	8.9	1,688,761
ヒブワクチン	675	63.8	237	22.4	153	14.4	92	8.7	10,591,278
小児用肺炎球菌ワクチン	933	89.1	288	27.5	191	18.2	97	9.3	10,480,144
不活化ポリオワクチン	67	23.8	15	5.3	9	3.2	12	4.3	2,815,142
4種混合ワクチン	15	13.5	4	3.6	2	1.8	10	9.0	1,107,279
日本脳炎ワクチン	63	67.4	24	25.7	11	11.8	13	13.9	934,354
インフルエンザワクチン	387	7.5	121	2.3	74	1.4	53	1.0	51,506,304

発生率は100万接種当たりの発生数、接種回数については、製造販売業者の出荷量からの推計。副反応報告制度は、予防接種との因果関係の有無にかかわらず、接種後に健康状況の変化をきたした症例を収集したもの。

*1：企業からの報告+医療機関からの報告。

*2：企業報告のうち、医師が重篤と判断したものと、医療機関報告のうち医師が重篤と判断したもの。

(文献6より転載)

は、アナフィラキシーが約96万接種に1回、ギラン・バレー症候群が約430万接種に1回、ADEMが約430万接種に1回、複合性局所疼痛症候群(complex regional pain syndrome, CRPS)が約860万接種に1回の頻度となっている⁸⁾。

HPVワクチン接種後の失神関連の副反応については、サーバリックス®の失神に関連する副反応(意識障害、失神、失神寸前の状態、ショック、神経原性ショック、意識レベルの低下、意識変容状態が含まれる)は783例(発生率10万接種当たり11.25例)で、このうち意識消失のあった症例は544例(発生率10万接種当たり7.82例)と報告されている。同様に、ガーダシル®の失神関連の副反応は297例(発生率10万接種当たり17.6例)で、このうち意識消失のあった症例は210例(発生率10万接種当たり12.4例)と報告されている⁹⁾。HPVワクチンに特徴的と思われるものにCRPSがあるが、こ

れまでに5例が報告されている¹⁰⁾。

副反応への対策

上述のいずれの報告についても、専門家による検証がなされており、2013年6月14日に開催された専門家会議では、収集された医学的情報をもとにした分析・評価とワクチン接種の有効性との比較検討の結果、HPVワクチンの定期接種を中止するほど副反応のリスクが高いとは評価されず、HPVワクチン接種の積極的な接種勧奨の差し控えが決定されている¹¹⁾。

本ワクチン接種後に、注射部位に限局しない痛み、しびれ、脱力などが出現し、長期間持続する例が複数報告されていることを受けて、国は、その病態やワクチンとの関係を調査分析し適切な医療提供をする目的で対応を開始している。すなわち、厚生労働省健康局は“厚生労働科学研究費補助金・慢性の痛み対策研究事業”のなかで、難治性神経因性疼痛の基礎疾患の解

明と診断・治療精度を向上させるための研究、慢性の痛み診療の基盤となる情報の集約と、より高度な診療のための医療システム構築に関する研究を開始している¹²⁾。

文 献

- 1) Onuki M, Matsumoto K, Satoh T, et al : Human papillomavirus infections among Japanese women : age-related prevalence and type-specific risk for cervical cancer. *Cancer Sci* 100 : 1312-1316, 2009
- 2) De Vuyst H, Clifford GM, Nascimento MC, et al : Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus : a meta-analysis. *Int J Cancer* 124 : 1626-1636, 2009
- 3) Yoshikawa H, Matsukura T, Yoshiike K, et al : Human papillomavirus DNA in female condylomata. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 37 : 1225-1230, 1985
- 4) 川名敬, 武谷雄二 : HPV ワクチンの有効性と限界. *産と婦* 75 : 1780-1787, 2008
- 5) 厚生労働省健康局結核感染症課, 厚生労働省医薬食品局安全対策課 : 子宮頸がん等ワクチン接種緊急促進事業における副反応報告と, 薬事法における報告の違い. 平成 25 年度第 2 回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会配付資料参考資料 (http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r98520000034g8f-att/2r98520000034ho7_1.pdf) (2013 年 8 月 15 日時点)
- 6) 厚生労働省健康局結核感染症課, 厚生労働省医薬食品局安全対策課 : 各ワクチンの副反応報告件数. 平成 25 年度第 2 回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会配付資料参考資料 2-5 (http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r98520000034g8f-att/2r98520000034hsc_1.pdf) (2013 年 8 月 15 日時点)
- 7) 厚生労働省健康局長, 厚生労働省医薬食品局長 : 定期の予防接種等による副反応の報告等の取扱いについて. 健発 0330 第 3 号, 薬食発 0330 第 1 号. 平成 25 年 3 月 30 日 (http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10601000-Daijinkanboukouseikagakuka-KouKouKouseika/0000014831.pdf) (2013 年 8 月 15 日時点)
- 8) 厚生労働省 : 子宮頸がん予防ワクチン Q & A 2013 年 6 月改訂版. (http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou28/qa_shikyukeigan_vaccine.html) (2013 年 8 月 15 日時点)
- 9) 厚生労働省健康局結核感染症課, 厚生労働省医薬食品局安全対策課 : 子宮頸がん予防ワクチン接種後の失神関連副反応について. 平成 25 年度第 2 回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会配付資料参考資料 2-3 (http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r98520000034g8f-att/2r98520000034hry_1.pdf) (2013 年 8 月 15 日時点)
- 10) 厚生労働省健康局結核感染症課, 厚生労働省医薬食品局安全対策課 : 子宮頸がん予防ワクチン接種後の疼痛関連症例等について. 平成 25 年度第 2 回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会配付資料参考資料 2-8 (http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r98520000034g8f-att/2r98520000034hte_1.pdf) (2013 年 8 月 15 日時点)
- 11) 厚生労働省健康局長 : ヒトパピローマウイルス感染症の定期接種の対応について(勧告). 健発 0614 第 1 号. 平成 25 年 6 月 14 日 (http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r98520000034kbt-att/2r98520000034kn5_1.pdf) (2013 年 8 月 15 日時点)
- 12) 厚生労働省健康局結核感染症課疾病対策課 : 予防接種及び注射, 採血等の医療における穿刺行為後の長期間持続する痛みに関する調査研究の実施について. 平成 25 年度第 2 回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会配付資料参考資料 2-12 (http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r98520000034g8f-att/2r98520000034hue_1.pdf) (2013 年 8 月 15 日時点)

▷第60回学術集会

シンポジウム4：国際標準からみた日本の臨床微生物検査における課題(5)◁

感染症診断および感染制御における 新世代の遺伝子検査システムの臨床的意義

山 岸 由 佳*¹ 三 嶋 廣 繁*²

Clinical Significance of Next-Generation Molecular Testing Systems for the Diagnosis of Infectious Diseases and Infection Control

Yuka YAMAGISHI, MD, PhD*¹ and Hiroshige MIKAMO, MD, PhD*²

The clinical significance of molecular testing for the diagnosis of infectious diseases and infection control has been increasing. Traditional molecular tests which required special pretreatment, such as nucleic acid extraction and pretreatment processes, have depended on manual methods. Therefore, different results were frequently observed between various methods and/or among facilities. In order to solve these problems, automated machines for nucleic acid extraction have been developed. Automated nucleic acid extraction systems, which automatize the nucleic acid separation and refinement processes, prevent contamination, reduce human errors, allow for stable processing, minimize differences among facilities, and promote the standardization of molecular tests. Rapid diagnosis of infectious diseases using various simplified molecular testing methods has led to increased success rates of infectious disease treatment and infection control measures by utilizing rapidity and accuracy. Herein, we introduce four automated molecular testing systems: Cepheid Xpert, BD MAX, Seegene kit, and Hologic Gen-Probe PANTHER system. **【Review】**

[Rinsho Byori 62 : 000~000, 2014]

Corresponding author: *Hiroshige MIKAMO*, MD, PhD, Department of Clinical Infectious Diseases, Aichi Medical University Graduate School of Medicine, Nagakute 480-1195, Japan. E-mail: mikamo@aichi-med-u.ac.jp

【Key Words】 molecular test (遺伝子検査), rapid test (迅速検査), automated machine (自動機器), polymerase chain reaction: PCR (ポリメラーゼ連鎖反応)

感染症領域における検査の歴史をひもとくと、19世紀に培養、グラム染色が普及し、20世紀に薬剤感受性試験や抗原検査が、そして2010年前後に分子生物学的検査として核酸増幅法やハイブリダイゼーション、シーケンス解析に基づく同定が目覚ましい進化を遂げている。また、同時に Matrix Assisted

Laser Desorption/Ionization (マトリックス支援レーザー脱離イオン化法) (MALDI-TOF Mass Spectroscopy など) を用いたプロテオミクス解析の臨床応用が進んでいる。このように昨今では種々の検査が実施可能となっているが、感染症治療における抗菌薬治療が遅れると時間依存的に生存率が低下する¹⁾と

*^{1,2} 愛知医科大学病院感染症科, *^{1,2} 同 病院感染制御部,

*² 同 大学大学院医学研究科臨床感染症学 (〒480-1195 長久手市岩作雁又1番地1)

いう報告や、不適切治療では予後が悪いという報告²⁾³⁾がある。特に感染症診療においては、初期の経験的治療から培養結果報告、薬剤感受性結果報告のステップのうちどのタイミングが不適切な抗菌薬選択であっても患者予後に影響を与える⁴⁾。これらのことから、いかに早期に迅速に診断し、適切な抗菌薬投与を開始するかが患者の生命予後に影響するかという事がわかっている。

近年、様々な遺伝子検査が登場し、冷蔵不要、ダイレクトサンプリング、オートメーション、可能な限り小さな機器、を可能としている。本稿では、近未来に日本でも実用化が期待されている自動化された代表的な遺伝子検査機器である Xpert[®]シリーズ(セフィエド社)、BD Max[®](日本ベクトン・ディッキンソン社)、Anyplex[™] II シリーズ(Seegene 社)、パンサー[™]システム(ホロジック社)の4つを紹介する。

I. GeneXpert[®]/Xpert[®]システム(セフィエド社)

A. 概要

セフィエド社の GeneXpert[®] System (Cepheid, USA) は、次世代の遺伝子診断法・機器として既に欧米や途上国に普及し、感染症分野において注目されているシステムである。項目毎に設計された専用試薬の Xpert[®]カートリッジと共に使用され、核酸抽出、PCR 増幅、検出を統合した自動遺伝子解析システムで、技術者に特別な訓練は不要で、数分の簡便な用手操作後、全自動で正確な結果を迅速に供することが可能である。Xpert[®]カートリッジを変更すれば、同一機器で様々な病原体に対応し、項目にもよるが 32~120 分で迅速に結果を得ることができる。日本国内では GeneXpert[®] システムとして医療機器の届出がなされ、試薬は臨床性能試験が進行中で、近い将来日本市場でも利用可能となる見込みである。

B. GeneXpert[®] System とは

GeneXpert[®] System は自動遺伝子解析装置で附属のコンピュータに内蔵されている専用ソフトウェアで装置を制御している。独立稼働の GeneXpert[®] モジュールが 1, 2, 4 および 16 の 4 種類の装置 (Fig. 1; GeneXpert[®] System VI) があり、専用の Xpert[®] カートリッジ試薬内部で核酸抽出からリアルタイム PCR 反応、検出および結果解釈までの全行程が自動的に行われる。Xpert[®] カートリッジは内部が 11 のスペースに分かれており、それ自体が閉鎖系の遺伝子検

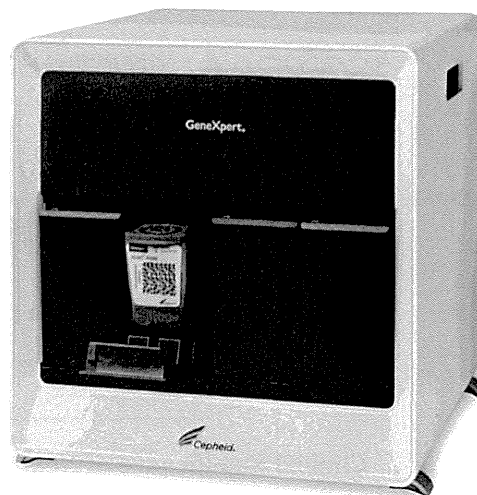


Figure 1 GeneXpert system IV.

査室として機能している。Fig. 2 に反応ステップを示すように、PCR に必要な凍結乾燥および液状試薬が充填され、高度なマイクロ流体工学技術によって試薬と検体の混和や液体の移送や核酸抽出とフィルター吸着を実行し、横断面状の反応チューブ内で PCR 増幅反応後、最大 6 波長によるマルチプレックス解析を行う。用手操作は非常に簡単で、検体を直接添加する項目もあるが、キット添付の検体処理液で細胞溶解や不活化を数分ほど実施後、カートリッジの検体注入口に添加し、GeneXpert[®]モジュールにセットするのみである。各 GeneXpert[®]モジュールは独立起動のため 1 テストずつ測定が可能で、オンデマンド遺伝子検査としての運用を実現する。また、GeneXpert[®]システムは、内部コントロールとして B. globigi を採用した SPC (Sample processing control) を含み、カートリッジ毎に核酸抽出や PCR 反応が適切であるかどうかを管理する機能や、確実な試薬溶解と適正な蛍光度を評価する Probe check control も内蔵しており、高い精度を担保している。

C. 感染症診療における GeneXpert[®] System の貢献

結核菌とリファンピシン耐性の有無を同時に検出できる Xpert[®] MTB/RIF は、簡便、迅速および正確を評価し途上国向け優良システムとして世界保健機構 (World Health Organization: WHO) の推奨⁵⁾を受け、全世界で広く普及している。喀痰から直接アッセイを行うことが可能で、約 2 時間で結果を供することができる。塗抹陽性・培養陽性となる検体は 98%、塗抹陰性・培養陽性となる検体は 68% の検出感度が報告⁶⁾されている。リファンピシン耐性の診断精度

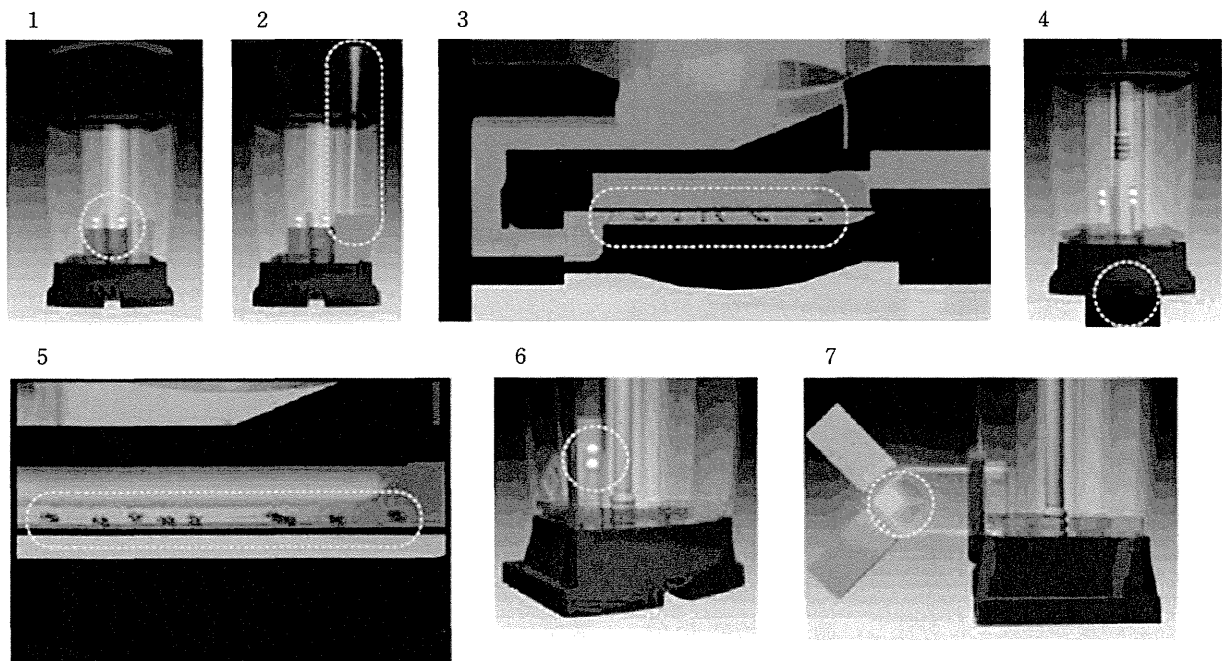


Figure 2 Xpert®カートリッジ試薬内の反応工程.

1. 充填済の試薬
2. 検体懸濁液を添加
3. フィルター上に捕獲された微生物
4. 超音波ホーンによる微生物粉碎と DNA 遊離
5. DNA がフィルターを通過し最初のチャンバーに移送
6. DNA は溶解された試薬と混和され反応チューブに注入
7. PCR 反応および検出

は感度 94%，特異度 98%とされ⁶⁾，*rpoB* 遺伝子の RRDR 領域における変異を 5 種類のモレキュラービーコンプローブで検出する方法で，遺伝子変異がある場合はシグナル未検出によって変異があることで検出される。

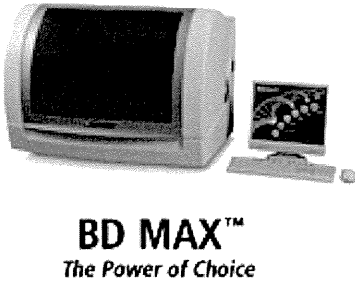
医療関連感染で重要とされている *Staphylococcus aureus*，*Clostridium difficile* の遺伝子検査も，昨今注目されているが，鼻腔スワブ検体から *S. aureus* (SA) あるいは methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) を同定することが可能な Xpert SA Nasal Complete Kit は，ターゲットとして *spa* 遺伝子 (*S. aureus* ProteinA)，*mecA* および *SCC-orfX* junction 領域を採用している。外科手術後の感染症が増加している中で，特に *S. aureus* の感染は劇症になることがあるため，感染のリスクとなる保菌状態を予め確認し，除菌を行うことによって手術後感染症が減少したという報告⁷⁾がある。また，術前スクリーニング後にムピロシリン軟膏とクロロヘキシジンによる除菌を行うことによ

り，*S. aureus* 感染が約 60%減少し，入院日数が 2 日間短縮したという報告⁸⁾では，予防対策費用がスクリーニング費用と軟膏の費用のみとなりコスト削減に貢献し，これらの予防対策費用に比べて治療費の方がはるかに高価であったと考察されている。

C. difficile の検出については，米国微生物学会 (American Society for Microbiology) のガイドライン⁹⁾において，酵素免疫法単独で *C. difficile* トキシン陽性を報告することは勧められておらず，GDH 陽性かつ EIA 法でのトキシン陽性，もしくは培養細胞毒素中和法での陽性または PCR 法での陽性確認後に陽性の報告をすることを義務づけている。一方，PCR 法は単一の検査法として *C. difficile* 検査に使用することが可能で，欧米では Xpert *C. difficile* が広く普及している。Xpert *C. difficile* は，トキシン B，バイナリートキシンおよび流行株 027 を検出することができ，*C. difficile* の検出には *tcdB* (Toxin B) のみ，バイナリートキシンは高度に保存された領域である

BD マックス™ の特長

- ◆検体から直接、遺伝子検査を実施
→ 迅速・高感度に結果を得られることで、早期対策に有効
- ◆BD マックス™により核酸抽出・増幅・検出工程を全て自動化
→ 作業効率の向上、人為的ミスの削減が可能
- ◆MRSA や他の耐性菌、HAI 原因微生物等の迅速検出
→ これからの更なる院内感染対策に有用
- ◆オープン試薬を用いて独自の反応系の構築が可能
→ 培養困難な微生物や毒素等の検出にも有用



BD MAX™
The Power of Choice

Figure 3

cdtA, 027 株は毒素産生を抑制する遺伝子 *tcdC nt 117* の欠損部を、それぞれターゲット検出部位としている。水様あるいは泥状便をキット付属の検体処理液に添加し 10 秒間攪拌後、Xpert *C. difficile* カートリッジの検体注入口に分注し、測定開始後 45 分で自動的に結果が得られる。ゴールドスタンダードと比較し、唯一 94% の感度を得た¹⁰⁾ *C. difficile* 検査のリアルタイムな検出によって、アウトブレイクの徴候を早期に察知し、伝播阻止のために環境の消毒法の変更やフルオロキノロン系の制限など、感染制御体制を講じることが可能となる。また、アウトブレイクが発生した場合は、感染制御介入のために有効なエビデンスを提供することになり、感染対策上、貢献度が高い検査として大いに期待できる。

II. BD マックス™

(日本ベクトン・ディッキンソン社)

A. 概要

BD マックス™ は日本ベクトン・ディッキンソン(株)から発売された全自動核酸抽出増幅検査システムである。従来の核酸増幅検査は核酸抽出と増幅や検出の工程が別々になっているため、試薬調製・各工程間で溶液の入れ替え・別々の装置のセッティングなど、コンタミネーションや人為的ミスの発生するリスクが存在する。また、その作業は煩雑であり専門的知識も必要となる。対して、BD マックス™ は検体から直接、核酸抽出～増幅～検出の工程を全自動で実施するため、従来法と比較して簡便・迅速に検査を実施することが可能であり、検査業務の効率化や手法工程を削減し、統一された方法によって検査実施者によらず一定の精度を保った検査が実施できるといった利点がある。

B. システム

実際の操作は、①検体を準備、②Sample Tube をラックにセット、③試薬をラックにセット、④PCR 用カートリッジをセット、⑤ランスタート、という簡便なワークフローになっており、最大 24 検体の処理が可能である (Fig. 3)。

核酸は磁性粒子法による抽出で、血清・血漿・スワブ、CSF、尿などの検体種に対応したキットがある。核酸の増幅と検出はリアルタイム PCR 法で実施し、5 波長搭載のためマルチプレックス検出にも対応可能である。

試薬をセットする消耗品は URS (Utilized Reagent Strip) というストリップで、分注作業を行うためのチップや抽出試薬などを備えており、この中で核酸抽出～PCR 反応溶液の調整までが実施される。分注作業時はピペティングヘッドがストリップ間を横に跨がないように動作することにより、コンタミネーションのリスクを防いでいる。

調製された PCR 反応溶液は自動的に専用のカートリッジに充填される。カートリッジはマイクロ流路系のシステムとなっており、細い流路を通過してウェル内に PCR 反応溶液が移行する。溶液が移行した後は流路が塞がれる仕組みになっており、反応終了後に PCR 産物が外部に漏れることがないように工夫されている。

使用する消耗品類はバーコードによって管理される。作業開始前にセットされているものが正しいか否かを装置が確認するため、人為的なミスが極力発生しないように装置を使用できる。

C. オープン試薬

昨今、全自動の装置は他社からも発売されているが、BD マックス™ の大きな特長の一つにオープン

試薬を用いた測定がある。これは、実施者自身で核酸増幅を行うための試薬を用意すれば独自に測定系を構築できるものである。具体的には、BD マックス™用の核酸抽出キット、リアルタイム PCR 反応用試薬、目的の病原体を検出するためのプライマーやプローブを用意する。リアルタイム PCR 反応用試薬は他社製のものでも使用することは可能だが、BD マックス™専用のもも発売されており、こちらは内部コントロール検出用のプライマー等を含んでいるため便利である。

オープン試薬を利用すれば、希望する病原体や遺伝子の検出キットがメーカーから発売されていない場合でも独自に検出系を構築して運用できる可能性が考えられる。我々の施設では、VRE(バンコマイシン耐性腸球菌)の *van* 遺伝子を検出する系を構築し、in house 検査での利用を検討している。

D. 核酸増幅法によるアクティブサーベイランス

MRSA は分離される耐性菌の中でも多くの割合を占め、院内感染が問題となっている。入院患者や感染のリスクが高い ICU など積極的に感染者や保菌者を発見し、感染対策に役立てようというアクティブサーベイランスを試みている施設もあり、その効果が期待されている。

MRSA の検出には培養法が用いられているが、結果が判明するまで約 1 日掛かるため、迅速性に欠ける。一方、核酸増幅法を用いた MRSA 検出用キットも市販されており、この方法は培養することなく検体から直接実施できるため約 2 時間で結果が得られる。Izumikawa ら¹¹⁾は、呼吸器病棟入院患者における MRSA アクティブサーベイランスを実施し、培養法と比較して核酸増幅法が迅速・高感度・高特異度に結果が得られ、核酸増幅法が有用であったと報告している。また、Taguchi らの報告¹³⁾では、救命センターなど院内伝播リスクの高い箇所において MRSA アクティブサーベイランスを実施することにより、感染予防に有用であると報告している。その他にも、アクティブサーベイランスに核酸増幅法を用いた事例が報告されている¹³⁾¹⁴⁾。

E. 今 後

現在発売中の測定キットは MRSA 検出用であるが、その他には腸内細菌、耐性遺伝子、呼吸器関連の病原体検出を対象とした測定キットの発売も予定されている。全自動核酸抽出増幅検査システムである BD マックス™による簡便で迅速な核酸抽出・増幅

検査を導入することで、院内での病原体早期発見による感染症予防・院内伝播の予防など、様々な効果が今後期待される。

III. Anyplex™ II シリーズ (Seegene 社)

A. 概 要

Anyplex II は、Seegene 社(韓国)が特許を持つ DPO™(Dual-Priming Oligonucleotides)という非常に特異性の高いプライマーと、TOCE™(Tagging Oligonucleotide Cleavage and Extension)というマルチプレックス技術を組み合わせることにより、1 チューブで 10 種類以上の項目をリアルタイム PCR 機器において同時に測定することが可能となっている。

B. DPO と TOCE について

DPO は、PCR プライマーに関する PCR 関連技術である。DPO は安定的に標的核酸に結合する 5' 末端領域と数塩基しか結合しない不安定な 3' 末端を持つプライマーで、それら 2 領域の間にポリイノシン酸リンカーを付加することで、不安定性が増し、完全に配列が一致した場合のみ増幅が可能となる。この DPO プライマーを用いることで、10 種類以上のマルチプレックス PCR が可能となる。TOCE とは、Tagging Oligonucleotide Cleavage and Extension の頭文字を取ったもので、リアルタイム PCR のプラットフォームで、マルチプレックスを可能とした技術である(Fig. 4)。TOCE は以下のステップで行われる。まず、材料として標的 1 項目につき、DPO フォワードプライマーと DPO リバースプライマー、Pitcher プローブ、Catcher プローブの 4 種類のオリゴ DNA が必要となる。PCR の過程で、Forward プライマーと Reverse プライマー、Pitcher プローブが標的核酸に結合し、DNA ポリメラーゼにより伸張反応が起こる。その際、結合した Pitcher プローブが DNA ポリメラーゼのヌクレアーゼ活性により切断され、Pitcher プローブの 5' 末端のタグ配列が遊離する。遊離したタグ配列が、1 本鎖の Catcher プローブの 3' 末端領域と結合し、DNA ポリメラーゼにより伸張反応が起き、二本鎖 DNA となる。Catcher プローブには、蛍光物質と消光物質が標識されており、通常一本鎖のときは、高次構造をとり、蛍光物質が消光された状態になっている。しかし、Pitcher プローブのタグ配列が結合し、二本鎖を形成することによって Catcher プローブが蛍光を発する。この蛍光をリアルタイムに測定することによ

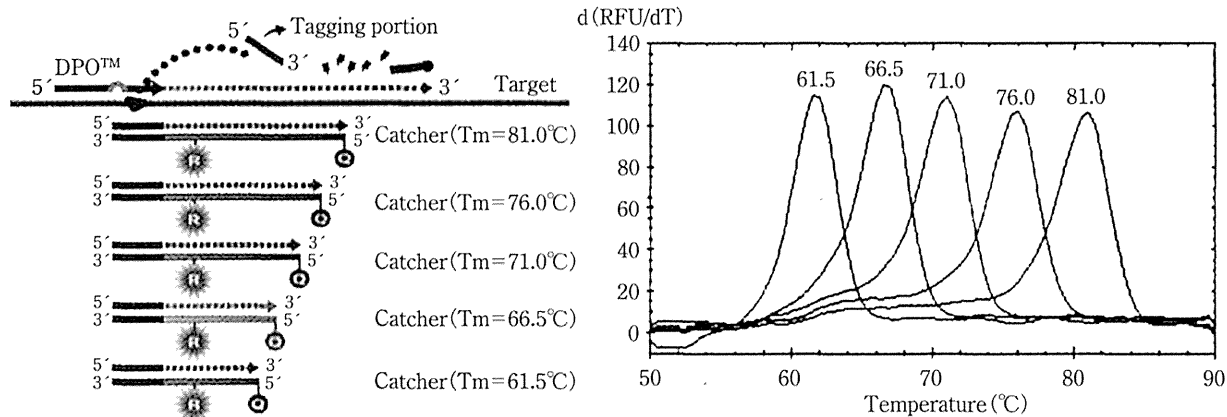


Figure 4 TOCE™ (Tagging Oligonucleotide Cleavage and Extension) technology.

One unique feature of TOCH™ is the “Catcher”, which is a fluorescently labeled artificial template that generates the signal for each target amplification. The Catcher melting temperature (Catcher-T_m) can be controlled by adjusting the sequence and length of the Catcher. For TOCE™ assay optimization, the Catcher-T_m can be easily adjusted and is not limited by the target sequence.

て、リアルタイム PCR が可能となる。また、最終産物の二本鎖 Catcher プローブに熱をかけて融解曲線解析を行うと、Catcher プローブの長さによってある温度に融解のピークを呈する。項目によってそれぞれ長さの異なる Catcher プローブを用意することで、一蛍光あたり 4~6 種類までの項目が検出可能となる。一般のリアルタイム PCR 機器であれば、4 種類以上蛍光物質を検知できることから、1 チューブで 10~20 項目が同時に測定可能となり、検体の分注の手間を大きく省くことができる。測定の流れとしては、検体から核酸を抽出した後、リアルタイム PCR 機器 (Anyplex II シリーズは Bio-rad 社製 CFX96 を推奨) に抽出核酸と試薬の混合液をセットし、50 サイクルの PCR を行った後、55 から 85 度まで徐々に温度を上げ、融解測定を行う。その後、専用解析ソフトによって、標的の有無を定性的に判別する。また、Seegene 社が販売している自動核酸抽出・試薬調製器である Nimbus 4-probe を用いることにより半自動化も可能となっている。この DPO と TOCE を用いた Anyplex II のラインナップは、現在 5 種類が韓国、ヨーロッパで承認を得ている。日本においては、研究用として使用可能であるが、今後診断薬として開発される可能性がある。

C. Anyplex II について

Anyplex II の 5 種類は、すべて感染症関連試薬となっている。1 つ目は Anyplex™ II MTB/MDR/XDR で、結核菌関連検出試薬で、リファンピシンおよび

イソニアジドの耐性を検出できる多剤耐性結核菌 (MDR) と注射剤、フルオロキノロン耐性の超多剤耐性結核菌 (XDR) を検出することが可能である。2 本のチューブでそれぞれ、MDR, XDR を同定する。2 つ目はヒトパピローマウイルス (HPV) の子宮頸がんに対するハイリスク型 19 種類 (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73, 82) とローリスク型 9 種 (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70) の計 28 種類のタイピングキット (Anyplex™ II HPV28 Detection) であり、現在日本で承認されているハイリスク型 13 種類 (もしくは 14 種類) よりも多くのハイリスク型を検出できる。3 つ目は尿道炎などの性感染症原因微生物 7 種類同時検出試薬 (Anyplex™ II STI-7 Detection) である。Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Mycoplasma genitalium, Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum, Ureaplasma parvum, Trichomonas vaginalis を 1 チューブで検出することが可能であり、日本において既承認項目であるクラミジア、淋菌が含まれる。4 つ目 (Anyplex™ II RB5 Detection) は、培養が困難もしくは培養に時間のかかる呼吸器感染症原因菌 5 種同時検出キットとなっている。対象項目は、一般的に非定型肺炎と言われる肺炎マイコプラズマや肺炎クラミジア、レジオネラ菌、百日咳菌、パラ百日咳菌の 5 菌種である。最後の 5 つ目の製品は、呼吸器感染症関連ウイルス検出キット (Anyplex™ II RV16 Detection) であり、型判別を含め 16 種類のウイルスを 2 本のチューブで