

Antimicrobial susceptibility and penicillin-binding protein 1 and 2 mutations in *Neisseria gonorrhoeae* isolated from male urethritis in Sapporo, Japan

Satoshi Takahashi · Yuichiro Kurimura · Jiro Hashimoto · Teruhisa Uehara · Yoshiki Hiyama · Akihiko Iwasawa · Masahiro Nishimura · Kenichi Sunaoshi · Koichi Takeda · Nobukazu Suzuki · Taiji Tsukamoto

Received: 11 April 2012 / Accepted: 18 June 2012 / Published online: 14 July 2012
© Japanese Society of Chemotherapy and The Japanese Association for Infectious Diseases 2012

Abstract The spread of antimicrobial-resistant *Neisseria gonorrhoeae* worldwide is a critical issue in the control of sexually transmitted infections. The purpose of this study was to clarify recent trends in the susceptibility of *N. gonorrhoeae* to various antimicrobial agents and to compare these data with our previous data. Minimum inhibitory concentrations (MICs) of various antimicrobial agents were determined in *N. gonorrhoeae* strains clinically isolated from male gonococcal urethritis. In addition, amino acid sequencing of penicillin-binding protein (PBP) 2, encoded by the *penA* gene, was analyzed so that genetic analysis of mosaic PBP 2 could clarify the susceptibility of the strains to cefixime and other cephalosporins. The susceptibility rate for ceftriaxone, cefodizime, and spectinomycin, agents whose use is recommended by the guideline of the Japanese Society of Sexually Transmitted Infections (JSSTI), was 100 %. The susceptibility rates of the strains to penicillin G and ciprofloxacin were lower than those in previous reports. Mosaic PBP 2 structures were detected in 51.9 % of the

strains and the MICs of the strains with the mosaic PBP 2 to cefixime were much higher than those of the strains without the mosaic PBP 2. In the clinical situation, the treatment regimen recommended by the JSSTI remains appropriate; however, the susceptibility to cephalosporins should be intensively surveyed because strains with mosaic PBP 2 were commonly detected.

Keywords *Neisseria gonorrhoeae* · Antimicrobial resistance · Penicillin-binding protein · Urethritis

Introduction

The current problem with *Neisseria gonorrhoeae*, the pathogen of male gonococcal urethritis, is the spread of antimicrobial-resistant strains. Quinolone-resistant *N. gonorrhoeae* (QRNG), in particular, is widely spreading throughout many countries [1]. In addition, cefozopran-resistant *N. gonorrhoeae* (CZRNG), defined as strains resistant to almost all the cephalosporins except for ceftriaxone (CTRX) and cefodizime (CDZM) [2], has been observed, and the emergence of CTRX-resistant *N. gonorrhoeae* has been reported in Japan [3]. In recent years, strains with reduced susceptibility to cephalosporins, especially cefixime (CFIX), have been widely reported and such strains have been shown to possess mosaic penicillin-binding protein (PBP) 2 [4]. Therefore, it is critically important to survey the susceptibility to antimicrobial agents in clinical isolates of *N. gonorrhoeae* regionally when we determine whether the optimal treatment can be performed. In this study, we assessed the susceptibilities to several antimicrobial agents and analyzed the molecular mechanism of reduced susceptibility to CFIX in clinical isolates of *N. gonorrhoeae* in Sapporo, Japan.

S. Takahashi (✉) · Y. Kurimura · J. Hashimoto · T. Uehara · Y. Hiyama · T. Tsukamoto
Department of Urology, Sapporo Medical University School of Medicine, S. 1, W. 16 Chuo-ku, Sapporo 0608543, Japan
e-mail: stakahas@sapmed.ac.jp

A. Iwasawa
Iwasawa Clinic, Sapporo, Japan

M. Nishimura
Motomachi Urologic Clinic, Sapporo, Japan

K. Sunaoshi · K. Takeda · N. Suzuki
Teine Urologic Clinic, Sapporo, Japan

Materials and methods

Bacterial strains

N. gonorrhoeae was isolated from male patients with gonococcal urethritis clinically diagnosed by expert urologists between January 2007 and January 2009. Pus discharged from the external urethral meatus was collected as the specimen. We obtained 52 clinical isolates from these patients. The specimens were inoculated on Thayer-Martin selective agar (Becton–Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) and incubated at 35 °C for 24–48 h in a 5 % CO₂ atmosphere. *N. gonorrhoeae* was identified as a gram-negative diplococcus by positive oxidase reaction. Finally, to confirm the identification, *N. gonorrhoeae* was identified using Gonocheck II (Cosmo Bio, Tokyo, Japan). Strains ATCC49226 and FA1090 (ATCC700825) were obtained from the American Type Culture Collection. ATCC49226 was used as a quality control for susceptibility testing and FA1090 was used as a reference strain for the genetic analysis.

Antimicrobial susceptibility test

The minimum inhibitory concentrations (MICs) of penicillin G (PCG), amoxicillin (AMPC), ceftriaxone (CTRX), cefodizime (CDZM), cefixime (CFIX), cefditoren (CDTR), spectinomycin (SPCM), azithromycin (AZM), tetracycline (TC), minocycline (MINO), ciprofloxacin (CPFX), levofloxacin (LVFX), prulifloxacin (PUFX), and fosfomycin (FOM) against clinically isolated *N. gonorrhoeae* were determined using GC agar base (Becton–Dickinson) with 1 % IsoVitalX enrichment (Becton–Dickinson) according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLS) procedure [5]. We compared the antimicrobial susceptibilities to the above antimicrobial agents in clinical isolates with those found in our previous reports [6, 7].

We defined the MIC₅₀ as the concentration at which 50 % of isolates were inhibited and the MIC₉₀ as that at which 90 % of them were inhibited. The MIC breakpoints for PCG, CTRX, CFIX, SPCM, TC, and CPFX were defined according to the report of the CLSI [5]. Although the MIC breakpoints for CDZM, MINO, and LVFX were not defined in the report of the CLSI [5], they could be predicted from a previous report [8]. The susceptibility rate was defined as the proportion of strains with an MIC value of the breakpoint or less divided by the total number of strains.

Classification of PBP 1 and PBP 2

Full-length *ponA* and *penA* genes were amplified from genomic DNA by polymerase chain reaction (PCR). The primers used for PCR amplification, and the conditions of PCR and sequencing were reported in detail previously [9].

We especially investigated mosaic PBP 2 and analyzed the translated amino acid sequences of mosaic PBP 2 to compare them with those in previous reports. In the report by Takahata et al. [9], strains classified as group I had no alteration at any mosaic mutation in PBP 2 and no alteration at amino acid 421 in PBP 1. Takahata et al. [9] also classified the strains into subgroups Ia, Ib, Ic, and Id according to the pattern of the amino acid substitutions. Strains classified as group II had no alteration at a mosaic mutation in PBP 2 and possessed the L421P mutation in PBP 1; the group II strains were classified into subgroups IIa, IIb, IIc, and IIc according to the pattern of the amino acid substitutions. Strains classified as group III had both the L421P mutation in PBP 1 and mosaic PBP 2, and were classified into subgroups IIIa, IIIb, IIIc, IIIc, and IIIe. When any strains did not fit these classifications [9], we classified them into additional groups and/or subgroups. The mosaic-like structure of PBP 2 was classified into four types according to the above report by Takahata et al. [9]. Because the report by Takahata et al. [9] revealed that the amino acid substitutions in *N. gonorrhoeae* were responsible for its reduced susceptibility to CFIX, we analyzed the association between the pattern of the amino acid substitutions in each strain and the geometric mean MIC in each (sub)group. The geometric mean MIC indicates the typical value of a set of MICs in each group. The increases in the geometric mean MICs for the strains in each (sub)group were calculated, considering the MIC in the group Ia strains to have the value of 1.

Results

Antimicrobial susceptibility

Antimicrobial sensitivity tests were done and MICs were determined in 51 of the 52 clinical isolates of *N. gonorrhoeae* because 1 isolate did not grow well enough to allow determination. The susceptibility rate to PCG was extremely low and that to quinolone was also low. However, the susceptibility rate to CFIX was 92.2 %. No strains resistant to CTRX or SPCM were found (Table 1).

The changes in MIC values and susceptibility rates in clinical isolates of *N. gonorrhoeae* obtained from 1998 [6], 2001 [7], and 2007–2009 showed decreased susceptibility to PCG and CPFX. The susceptibility to CFIX had decreased slightly. The susceptibility rate for CTRX and SPCM was 100 %; however, the values for the ranges of the MIC, MIC₅₀, and MIC₉₀ for SPCM have been increasing recently (Table 2). Although SPCM can still be recommended for the treatment of male gonococcal urethritis, strains with low susceptibility to this agent were predominant in the clinical isolates.

Table 1 Minimum inhibitory concentration (MIC) values and susceptibility rates in *Neisseria gonorrhoeae* clinical isolates

Antimicrobials	MIC breakpoint	MIC ($\mu\text{g/mL}$)			Susceptibility rate (%)
		Range	MIC50	MIC90	
PCG	0.06	≤ 0.03 –4	1	4	3.9
AMPC	–	0.25–8	2	8	–
CTRX	0.25	≤ 0.008 –0.06	0.03	0.06	100
CDZM	2	≤ 0.008 –0.016	≤ 0.008	0.016	100
CFIX	0.25	≤ 0.008 –0.5	0.06	0.25	92.2
CDTR	–	≤ 0.008 –0.5	0.06	0.5	–
SPCM	32	8–32	32	32	100
AZM	–	0.016–1	0.12	1	–
TC	0.25	0.12–4	1	4	21.6
MINO	0.25	0.06–1	0.25	0.5	52.9
CPFX	0.06	≤ 0.008 –16	8	8	25.5
LVFX	0.25	≤ 0.008 –8	4	8	27.5
PUFX	–	≤ 0.008 –8	4	8	–
FOM	–	8–16	16	16	–

PCG penicillin G, AMPC amoxicillin, CTRX ceftriaxone, CDZM cefodizime, CFIX cefixime, CDTR cefditoren, SPCM spectinomycin, AZM azithromycin, TC tetracycline, MINO minocycline, CPFX ciprofloxacin, LVFX levofloxacin, PUFX prulifloxacin, FOM fosfomicin

Table 2 Changes in MIC values and susceptibility rates in clinical isolates of *N. gonorrhoeae* from 1998 [6], 2001 [7], and 2007–2009

Antimicrobials	MIC	1998 (N = 54)	2001 (N = 65)	2007–2009 (N = 51)
PCG	Range	–	0.03–2	≤ 0.03 –4
	MIC50	–	0.5	1
	MIC90	–	2	4
	Susceptibility rate (%)	–	26.2	3.9
CTRX	Range	–	≤ 0.008 –0.25	≤ 0.008 –0.06
	MIC50	–	≤ 0.008	0.03
	MIC90	–	0.06	0.06
	Susceptibility rate (%)	–	100	100
CFIX	Range	–	≤ 0.008 –0.25	≤ 0.008 –0.5
	MIC50	–	0.015	0.06
	MIC90	–	0.12	0.25
	Susceptibility rate (%)	–	100	92.2
SPCM	Range	2–8	2–16	8–32
	MIC50	8	8	32
	MIC90	8	16	32
	Susceptibility rate (%)	100	100	100
CPFX	Range	≤ 0.008 –8	≤ 0.008 –32	≤ 0.008 –16
	MIC50	0.125	0.25	8
	MIC90	0.5	8	8
	Susceptibility rate (%)	44.4	32.3	25.5

Mutations of PBP 1 and PBP 2 in the clinical isolates

The complete sequences of the *ponA* and *penA* genes were determined for all 52 clinical isolates of *N. gonorrhoeae*. Amino acid substitutions were identified by comparison with those obtained from the CFIX-susceptible strain *N. gonorrhoeae* FA1090. The classification of PBP mutations is shown in Table 3. Five strains were classified as group Ia and 6 strains were classified as group Ib. One strain was

classified as group Ie, because deletion of R345 was observed; this strain was not observed in the report by Takahashi et al. [9]. Nine strains were classified as group IId. Two strains classified as group IIe possessed the L421P mutation in PBP 1 but did not have any mutations in PBP 2. Group II f and II g strains also possessed the L421P mutation in PBP 1, but their PBP 2 mutations were different from those in groups IId and IIe. Mosaic-like structures of PBP 2 were detected in 27 strains (51.9 %) in

Table 3 Amino acid substitutions identified in penicillin-binding protein (PBP) I and mosaic PBP 2 in the *N. gonorrhoeae* strains

Classification	Number of isolates		PBP1													PBP2												
	Group	Subgroup	This study	375	421	537	761	1-500	501	504	510	512	516	541	542	545	549	552	555	556	566	574	575					
I	a	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
I	b	6	-	T	-	C	-	-	L	V	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
II	d	9	-	-	-	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	N	V					
II	e	2	-	P	-	-	-	-	-	-	-	G	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
II	f	1	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
II	g	1	-	P	-	-	-	-	L	V	-	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
III	a	15	-	-	-	-	-	-	L	V	Y	-	N	-	S	T	Y	Q	V	V	V	N	V					
III	c	1	-	-	-	-	-	-	L	V	Y	-	N	-	S	T	V	Q	V	V	V	N	V					
III	e	1	-	-	-	-	-	-	V	L	V	-	N	-	T	V	V	Q	V	V	V	N	V					
III	f	1	-	-	-	-	-	-	V	L	V	-	N	-	T	V	V	Q	V	V	V	N	V					
III	g	7	-	-	-	-	-	-	L	V	Y	-	N	-	S	T	-	-	-	-	-	-	-					
III	h	1	-	-	-	-	-	-	L	V	Y	-	N	-	S	T	-	-	-	-	-	-	-					
IV	a	1	-	-	-	C	-	-	L	V	Y	-	N	-	S	T	-	-	-	-	-	-	-					

The strains in group IIIa were identical to PBP 2X reported by Ito et al. [10] and those in group IIIg were identical to SF-A reported by Pandori et al. [11]

this study; 10 of these strains were classified as groups IIIf, IIIg, IIIh, and IVa, which were not detected in the previous study [9]. Group IVa had a unique pattern, because this strain possessed the mosaic-like structures in PBP 2 but not the L421P mutation in PBP 1. The strains in group IIIa, which were identical with PBP 2X reported by Ito et al. [10] and those in group IIIg, which were identical with SF-A reported by Pandori et al. [11], were the major population of *N. gonorrhoeae* clinical isolates with the mosaic-like structure of PBP 2 obtained in Sapporo.

Susceptibilities to penicillin and cephalosporins and mutations of PBPs

Table 4 shows a summary of the strains' susceptibilities to penicillin and cephalosporins according to the group classifications (the ranges of MIC, MIC50, and MIC90 for CFIX and CTRX in the 27 strains with a mosaic-like structure of PBP 2 were 0.06–0.5, 0.25, 0.5, and 0.008–0.06, 0.03, and 0.06, respectively). We also analyzed the association between mutations in PBPs and antimicrobial susceptibility, and the results are shown in Table 5. We distinguished five subgroups, Ia, Ib, IId, IIIg, and IIIa, because each subgroup included 5 or more strains that could be analyzed. The geometric mean MICs of PCG, AMPC, and CDTR were significantly higher in subgroup IId and group III compared with these MICs in group I. The geometric mean MIC of CFIX was higher in group III than that in groups I and II. The geometric mean MIC of CTRX was higher in subgroup IIIa than in groups I and II; however, the geometric mean MIC of CDZM did not fluctuate in any group.

Discussion

In this study, there were a few *N. gonorrhoeae* strains that were susceptible to penicillin, though the susceptibility rate was lower than in 2002 [7]. Low susceptibility to penicillin antimicrobials is also common in other regions in Japan [12, 13]. These resistant strains are presumed to have mostly chromosomally mediated resistance to penicillin. When penicillin-resistant *N. gonorrhoeae* was first detected, most of these strains were penicillinase-producing *N. gonorrhoeae* (PPNG) [6], but that is not the case now. Penicillin with a penicillinase inhibitor might still be effective against PPNG; however, penicillin itself can no longer be recommended as an effective treatment regimen for gonococcal urethritis.

The guideline of the Japanese Society of Sexually Transmitted Infections (JSSTI) clearly shows only 3 antimicrobial agents, CTRX, CDZM, and SPCM, as the recommended treatment regimens for patients with gonococcal

Table 4 Susceptibility to antimicrobial agents in the *N. gonorrhoeae* strains with PBP 1 mutation and mosaic PBP 2

Classification		Number of isolates	MIC											
Group	Subgroup		PCG		AMPC		CFIX		CTRX		CDZM		CDTR	
		Range	Geometric mean MIC	Range	Geometric mean MIC	Range	Geometric mean MIC	Range	Geometric mean MIC	Range	Geometric mean MIC	Range	Geometric mean MIC	
I	a	5	0.06–0.12	0.10	0.25–0.5	0.33	0.008	0.01	0.008	0.01	0.008	0.01	0.008	0.01
I	b	6	0.12–0.25	0.20	0.5	0.50	0.008	0.01	0.008	0.01	0.008	0.01	0.016–0.03	0.02
I	e	1	0.03	–	0.03	–	ND	–	ND	–	ND	–	0.008	–
II	d	9	0.25–2	1.50	1–2	1.70	0.008–0.03	0.02	0.008–0.03	0.02	0.008–0.016	0.01	0.008–0.25	0.1
II	e	2	0.12–0.5	0.20	0.5–1	0.70	0.008	0.01	0.008	0.01	0.008	0.01	0.008–0.06	0.03
II	f	1	0.03	–	0.25	–	0.008	–	0.008	–	0.008	–	0.008	–
II	g	1	0.25	–	0.5	–	0.016	–	0.008	–	0.008	–	0.06	–
III	a	15	0.12–4	1.44	2–8	4.19	0.12–0.5	0.24	0.016–0.06	0.05	0.008–0.016	0.01	0.008–0.5	0.08
III	c	1	4	–	8	–	0.5	–	0.06	–	0.016	–	0.5	–
III	e	1	0.5	–	1	–	0.06	–	0.008	–	0.008	–	0.016	–
III	f	1	1	–	4	–	0.25	–	0.03	–	0.008	–	0.06	–
III	g	7	0.25–4	0.91	1–4	1.81	0.06–0.12	0.09	0.008–0.06	0.02	0.008–0.016	0.01	0.008–0.25	0.06
III	h	1	2	–	4	–	0.25	–	0.03	–	0.008	–	0.12	–
IV	a	1	2	–	2	–	0.12	–	0.03	–	0.008	–	0.25	–

ND not determined due to poor growth

Table 5 Susceptibility to antimicrobial agents in groups of *N. gonorrhoeae* strains stratified by PBP mutations

Group–subgroup	PBP 1 substitution	PBP 2 mosaic	Number of strains	PCG	AMPC	CFIX	CTRX	CDZM	CDTR
Ia	None	No	5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Ib	A357T, Y537C	No	6	1.9	1.5	1.0	1.0	1.0	2.7
IIId	L421P	No	9	14.1	5.2	2.0	2.4	1.3	8.9
IIIg	L421P	Yes	7	8.7	5.5	11.1	2.6	1.1	7.7
IIIa	L421P	Yes	15	13.8	12.7	29.5	5.7	1.2	9.7

The geometric mean MIC rates for the strains in each group increased when the geometric mean MIC for the strains in group Ia was regarded as 1

urethritis [14]; this is because isolated strains of *N. gonorrhoeae* in Japan are both quinolone- and penicillin-resistant. Of note, CFIX, an oral cephalosporin, has been effective for patients with gonococcal urethritis; however, its susceptibility rate was shown to be decreased in the present study and in another Japanese study [13]. This trend is visible not only in Japan but also in the United States, where the percentage of *N. gonorrhoeae* isolates with CFIX MICs of ≥ 0.125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ has been rapidly increasing since 2009 [15]. In clinical practice, the number of cases with treatment failure of the CFIX regimen is not negligible. In general, treatment failure of the CFIX regimen is considered to occur because the susceptibility rate of CFIX has decreased recently and the standard dose of CFIX in Japan, 300 mg/day, may be a relatively low dose. It is speculated that the standard dose in Japan may not be high enough for patients with gonococcal urethritis. However, a case of CFIX treatment failure with the standard dose used in Europe and the United States, 400 mg/day, was reported from the United Kingdom [16]. In view of the situation, the guideline of the JSSTI has already excluded CFIX from the standard treatment regimen for gonococcal urethritis [14] and it seems that the treatment of this condition with oral cephalosporins should be reconsidered in Europe and the United States.

In the present study, the clinical isolates showed a 100 % susceptibility rate with the treatment regimens recommended by the JSSTI, i.e., CTRX, CDZM, and SPCM. The CTRX MIC was low enough for successful treatment and had not changed in comparison with that in a previous report [14]. Therefore, CTRX still maintains its position as the appropriate treatment option for gonococcal urethritis in this region. However, although the susceptibility rate of SPCM was 100 % for clinical isolates of *N. gonorrhoeae* in the present study, the range of its MIC is gradually increasing. The particular mechanism of the decreased susceptibility to SPCM could not be clarified and we should carefully monitor its effectiveness henceforth.

Because PBP 1 and PBP 2 are responsible for the chromosomally mediated resistance to β -lactams in *N. gonorrhoeae*, and because PBP 2, encoded by the *penA* gene, has stronger affinity for penicillin than PBP 1,

genetic analysis of PBP 2 will be critical to clarify the β -lactam resistance of *N. gonorrhoeae*. Mosaic PBP 2, the mosaic-like structure of the *penA* gene in *N. gonorrhoeae*, has about 60 amino acid alterations from the PBP 2 of susceptible strains. In the particular genetic analysis of mosaic PBP 2, it has been clearly revealed that reduced susceptibility to CFIX is strongly associated with three mutations (G545S, I 312 M, and V316T) in mosaic PBP 2 [9]. In addition, we found new patterns of mosaic PBP 2 in Japanese *N. gonorrhoeae* clinical isolates and classified them into groups IIIg, IIIh, and IVa. The amino acid alterations in PBP 2 in groups IIIg and IVa were identical to those of SF-A reported by Pandori et al. [11] except for valine being inserted between 488 and 489 in SF-A. Furthermore, group IVa had an unusual pattern because this strain possessed the mosaic-like structures in PBP 2 but not the L421P mutation in PBP 1.

Because the association between mosaic PBP 2 patterns and reduced susceptibility to CFIX and other β -lactams needs to be clarified, we compared the MICs of the antimicrobial agents among the subgroups classified by amino acid alterations. We found increasing MIC rates in the strains of the groups when the MIC in the strains of subgroup Ia was considered to be 1. The geometric mean MIC of CFIX for group IIIa strains was about 30 times as high as that in group Ia, and a previous report [9] showed almost the same increase in the MIC rate when group III was compared with group I. Interestingly, the geometric mean MIC of CFIX for group IIIg strains was about 11 times as high as that for group Ia. These results suggested that the amino acid alterations in the C-terminal of PBP 2 (from the position at 549 to 575) affected susceptibility to CFIX with the geometric mean MIC

Considering previous reports of an *N. gonorrhoeae* strain with high-level resistance to CTRX in Japan [3, 4], trends in the susceptibility to CTRX should be followed carefully now. In the present study, the MIC₉₀ for CTRX was 0.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and there was no unfavorable trend of resistance to CTRX. However, the mean MIC of the strains in group IIIa was six times as high as that in group Ia. Indeed, the MIC of CTRX in a recently isolated highly resistant strain was 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and the increased mean MIC

was speculated to be 33 times that in group Ia [4]. Clinically, although there are no therapeutic difficulties for patients with gonococcal urethritis at present, the above report [4] revealed that the MIC of CTRX could be easily increased by transformation of the *penA* gene in a strain with high resistance to CTRX. Therefore, we must continue to monitor susceptibility to antimicrobial agents and recommend ordering pretreatment bacterial culture examination.

In conclusion, in this study, the susceptibility rate of clinical isolates of *N. gonorrhoeae* for CTRX, CDZM, and SPCM was 100 %. In the clinical situation, the treatment regimen recommended by the JSSTI is still appropriate. The susceptibility rates of the isolates to PCG and CPM were lower than those in previous reports. In addition, the susceptibility rate of CFX in this study had decreased and this decrease might reflect the clinical situation. This study revealed that susceptibility to CFX was reduced due to the presence of mosaic PBP 2, and this finding again confirmed a previous report. Susceptibility to cephalosporins should be intensively surveyed because strains with mosaic PBP 2 were commonly detected.

Acknowledgments We thank Nami Senju and Takahisa Suzuki of Meiji Seika Pharma Co., Ltd. for technical assistance with susceptibility testing and DNA sequencing.

Conflict of interest None.

References

- Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010. MMWR. 2010;59:RR-12.
- Matsumoto T. Trends of sexually transmitted diseases and antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. Int J Antimicrob Agents. 2008;31(suppl 1):S35–9.
- Ohnishi M, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, Nakayama S, Watanabe H, et al. Ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae*, Japan. Emerg Infect Dis. 2011;17:148–9.
- Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, et al. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhea?: detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55:3538–45.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. M2-A9 (M100-S17). Wayne, PA.
- Hirose T, Matsukawa M, Tanda H, Miyagishi T, Ikegaki S, Saka T, et al. Current trend of antibiotics resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Sapporo. Jpn Arch Sex Transm Dis. 1998;9:8–15. (Japanese).
- Hotta H, Takahashi S, Takeyama K, Shimizu T, Kunishima Y, Matsukawa M, et al. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* in Sapporo. Jpn J Sex Transm Dis. 2002;13:108–12. (Japanese).
- Matsumoto T, Muratani T, Takahashi K, Ando Y, Sato Y, Kurashima M, et al. Single dose of cefodizime completely eradicated multidrug-resistant strain of *Neisseria gonorrhoeae* in urethritis and uterine cervicitis. J Infect Chemother. 2006;12:97–9.
- 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.
- Ito M, Deguchi T, Mizutani K, Yasuda M, Yokoi S, Ito S, et al. Emergence and spread of *Neisseria gonorrhoeae* clinical isolates harboring mosaic-like structure of penicillin-binding protein 2 in Central Japan. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49:137–43.
- Pandori M, Barry PM, Wu A, Ren A, Whittington WLH, Liska S, et al. Mosaic penicillin-binding protein 2 in *Neisseria gonorrhoeae* isolates collected in 2008 in San Francisco, California. Antimicrob Agents Chemother. 2009;53:4032–4.
- Endo K, Onodera S, Kiyota H, Suzuki H, Hosobe T, Naruoka T, et al. Drug-susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* strains isolated from male patients with gonococcal urethritis against antimicrobial agents—comparisons from 2006 to 2010. Jpn J Chemother. 2011;59:308–12. (Japanese).
- Tanaka M, Shimojima M, Saika T, Iyoda T, Ikeda F, Kanayama A, et al. Nationwide antimicrobial susceptibility survey of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Japan. Kansenshogaku Zasshi. 2011;85:360–5. (Japanese).
- Japanese Society of Sexually Transmitted Infections. Gonococcal infection. Sexually transmitted infections, diagnosis and treatment guidelines 2011. Jpn J Sex Transm Dis. 2011;22(suppl 1):52–9. (Japanese).
- Centers for Disease Control and Prevention. Cephalosporin susceptibility among *Neisseria gonorrhoeae* isolates—United States, 2000–2010. MMWR. 2011;60:873–7.
- Forsyth S, Penney P, Rooney G. Cefixime-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in the UK: a time to reflect on practice and recommendations. Int J STD AIDS. 2011;22:296–7.

実戦的 STI 検査

- 性感染症 (sexually transmitted infection : STI) は、性的接触を介して感染する感染症の総称で、20 種類以上の多種多様な疾患が性感染症に含まれる^{*1}。
- ここでは、20 種類以上ある性感染症のうち耳鼻咽喉科医が臨床の場で遭遇する可能性の高い、口腔咽頭に関連する性感染症である梅毒、単純ヘルペスウイルス (herpes simplex virus : HSV) 感染症、ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus : HIV) 感染症 / 後天性免疫不全症候群 (acquired immunodeficiency syndrome : AIDS)、淋菌感染症、クラミジア感染症について、臨床の特徴、検査、診断時の注意点について取り上げる。

口腔・咽頭に関連する性感染症 (①)

- 口腔・咽頭に関連する性感染症には、①口腔・咽頭に特徴的な病変を生じるもの^{1)*2}、②口腔・咽頭に病変がみられない無症候性感染の状態でありながら、その口腔・咽頭が感染源となるもの^{*3}、がある²⁾。
- 梅毒、HIV 感染では、皮膚や性器に病変がなく特徴的な口腔・咽頭の病変・症状で発症し、それが診断の契機となる例が少なくない。

口腔・咽頭に生じる性感染症病変

■ 口腔・咽頭梅毒

- 口腔・咽頭の梅毒病変は、第1期から第2期^{*4}にみられる。

第1期

- 第1期は、梅毒トレポネーマ (*Treponema pallidum* : Tp) が侵入した局所に、暗赤色でコリコリと軟骨様に硬い小豆から指頭大の腫瘍性病変が生じる。これを「初期硬結」という (②)。数日後、硬結の中央に潰瘍が現れたものを「硬性下疳」という (③)。

Advice 性感染症病変を区別して、適切な検査を選択する

口腔・咽頭領域に生じる性感染症病変には、その病原体が直接口腔・咽頭に感染して生じるもの (梅毒第1期、HSV 感染)、血行性に感染が広がった結果の全身症状の一つとして生じるもの (梅毒第2期)、その性感染症に合併した別の感染症の病原体によって生じるもの (HIV 感染者の口腔・咽頭病変) に分けられる。それぞれを区別して、適切な検査を選択する必要がある。

★1

わが国では、近年の性行動の多様化に伴い口腔・咽頭を介して性感染症に罹患する人の増加が指摘されており、耳鼻咽喉科医にも性感染症の診断・治療に適切に対応できることが求められる。

★2

梅毒、単純ヘルペス、HIV 感染症があげられる。

★3

淋菌、クラミジア、潜伏梅毒、HSV 罹患後の無症候性排泄。

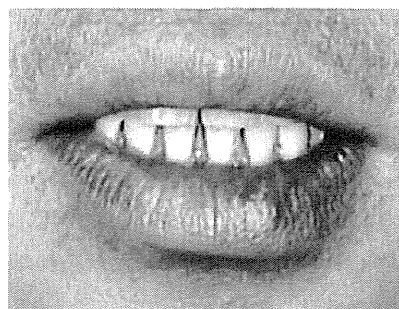
★4

第1～2期の感染から2～3年後までは他者への感染源となる時期で、この時期の梅毒感染者との1回の性行為で感染する確率は約1/3とされる。

① 口腔・咽頭に関連する STI

	梅毒		HSV	HIV	淋菌	クラミジア
	第1期	第2期				
口腔・咽頭 病変の 臨床像	初期硬結 硬性下疳	粘膜斑(乳白 斑) 口角炎	歯肉口内炎 急性扁桃炎	感染症(真菌, 細菌, ウイルス) 新生物(カポジ肉腫, 非ホジ キンリンパ腫, 扁平上皮癌) 炎症性(再発性アフタ性口内 炎, 多形性紅斑, 苔癬) 原因不明(唾液腺疾患, 非特 異的口腔潰瘍, メラニン色素 の過度の沈着)	自覚症状, 他覚的所見がみら れない無症候性感染がほとん ど	成人型封入体 結膜炎の約半 数が上咽頭炎 を発症する がある
検査	直接法 (ただし抗菌薬投与開始後で は検出できない)	血清梅毒反応 は陰性の場合 あり	PCR または LAMP 法	①血清 HIV 抗体のスクリー ニング検査(ELISA, PA, IC) → HIV 抗体確認検査 (ウエスタンブロット, IFA) ② HIV 抗原検査, PCR	淋菌培養, 核 酸増幅法 (SDA または TMA)	核酸増幅法 (PCR, SDA または TMA)
検査時の ピット フォール	口腔・咽頭病変は一般的な抗 菌薬の投与で容易に消失する ので, 安易な抗菌薬投与は診 断に至らないまま無症候梅毒 に移行させる可能性あり	血清抗体価 からの診断 は困難		感染後の数週~1 か月間は, 抗体検査にて陰性と判定され る(ウインドウ期)	PCR は 適 応 外 一般的な細菌培養法では検出 不可 特徴的所見に欠ける無症候性 感染では検査前に淋菌・クラ ミジアの判別はできないた め, 淋菌・クラミジアの同時 検査が推奨される	

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay, PA : particle agglutination, IC : immunochromatography, IFA : indirect fluorescent antibody technique, PCR : polymerase chain reaction, SDA : strand displacement amplification, TMA : transcription mediated amplification.



②梅毒第1期 初期硬結(41歳, 男性)

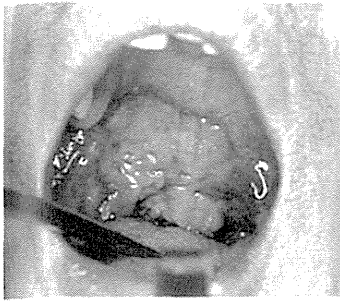


③梅毒第1期 硬性下疳(16歳, 女性)

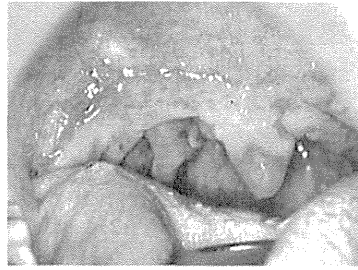
- 初期硬結・硬性下疳は痛みがないのが特徴で, 軟骨のように硬く触れる。
- 耳鼻咽喉科領域では口唇, 舌, 扁桃に1個, 時に2~3個現れる。患側頸部に無痛性リンパ節腫脹を伴い, これも軟骨様に硬く腫脹する。

第2期

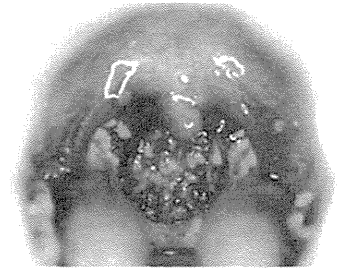
- 第2期は, 口腔・咽頭には口角炎や粘膜斑(乳白斑ともいう)が生じる。



④梅毒第2期 咽頭粘膜斑
(43歳, 男性)



⑤梅毒第2期 "butterfly appearance"
(27歳, 女性)



⑥HSV-1による咽頭扁桃炎 (20歳, 女性)

- 梅毒性口角炎は口角に白斑を伴う所見で、カンジダ性口角炎に似ているが梅毒の白斑は擦過にて剝離されない。また病変部のスワブから真菌培養と鏡検を行うことにより両者は鑑別できる。
- 咽頭の粘膜斑は、扁平で若干の隆起があり、青みがかった白または灰色を呈して周囲は薄い赤色の紅暈で囲まれる (④)。乳白斑が拡大・融合すると軟口蓋に特徴的な "butterfly appearance" を呈する (⑤)。
- 一般的な抗菌薬治療により、病変は数日で消失し潜伏梅毒へ移行する場合があります。

■ HSV

- 10~30歳代の人がキスやオーラルセックスによって口腔・咽頭からHSVに初感染した際、口唇炎、歯肉口内炎、白苔を伴う急性扁桃炎 (⑥) を発症する場合がある*5。
- 40℃前後の発熱と著しい咽頭痛を訴え、伝染性単核症との鑑別を要する。
- 性器ヘルペスを併発する場合もある。

■ HIV

- HIV感染に関連する口腔内病変*6は、真菌、細菌、ウイルス、新生物(腫瘍)、原因不明のものに分類され(⑦)³⁾、なかでもカンジダ症(⑧)が最多で約半数を占める。
- 耳鼻咽喉科医がとくに注意を払うべき性感染症の一つであるが、実際にはHIV感染の診断に至らず*7、風邪や咽頭炎・難治性口内炎・口腔ヘルペスなどとして医療機関を転々とする場合がある。
- HIVと梅毒の関連性が高いことが以前から指摘されている。わが国におけるHIV感染者およびAIDS患者には、20~40歳代の男性同性愛者が圧倒的に多く、そのため梅毒陽性のHIV感染者も20~40歳代の男性に多い。HIV感染者では顕性梅毒が多く、再感染、再発がみられる特徴がある*8。

★5
HSV 1型でも2型でも生じる。

★6
HIV感染者では、口腔・咽頭病変が比較的早期に高い頻度で現れ、診断の契機になる場合が多い。

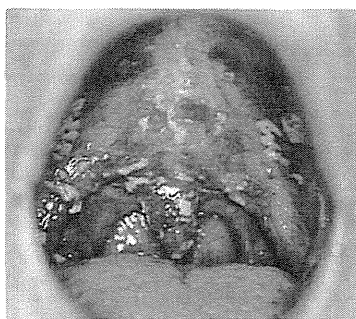
★7
⑥に、HIV感染を疑うために有用な臨床所見・徴候を示す。HIV感染者の約70%を占める20~30歳代の男性に口腔内カンジダ症や、⑥に示した所見を伴う場合にはHIV感染を強く疑う根拠となる。

★8
口腔咽頭の難治性再発性病変を示す症例には、HIV感染の可能性を念頭において対応することが望ましい。

⑦ HIV 感染に関連する口腔病変

感染症	真菌感染, 細菌感染, ウイルス感染
新生物	カポジ肉腫, 非ホジキンリンパ腫, 扁平上皮癌
炎症性	再発性アフタ性口内炎, 多形性紅斑, 苔癬
原因不明	唾液腺疾患, 非特異的口腔潰瘍, メラニン色素の過度の沈着

(田上 正, 化学療法の領域 2006⁹⁾より)



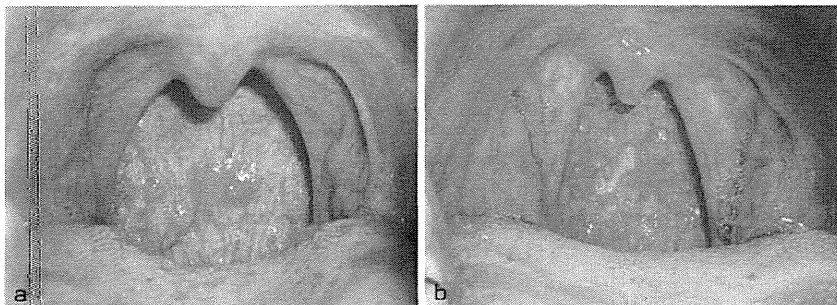
⑧ HIV 感染者にみられた口腔咽頭カンジダ症 (32 歳, 男性)

⑨ HIV 感染と疑うために有用な臨床所見・徴候

口腔内カンジダ症

- 全身の湿疹
- 嚥下障害
- 体重減少
- 頸部・腋窩のリンパ節腫脹
- 持続性の発熱
- 人格変化・異常行動
- 記憶力低下
- 爪の真菌感染症
- 視力低下
- 慢性の下痢
- 出血傾向
- 長期にわたる咳
- 呼吸困難
- 反復する肺炎・気管支炎
- 四肢のしびれなど

(東京都衛生局 HIV・AIDS 診断マニュアルより)



⑩ 淋菌・クラミジアの咽頭への無症候性感染

a: 23 歳, 女性 (風俗店従業), 咽頭淋菌陽性。
b: 20 歳, 女性 (風俗店従業), 咽頭クラミジア陽性。

咽頭感染者の多数は無症状。
咽頭発赤や扁桃腫脹など他覚的所見が認められないことが多い。

口腔・咽頭に無症候性に感染する性感染症

淋菌・クラミジア^{★9}

- 咽頭から淋菌, またはクラミジアが検出される人の大多数は, 無症状で咽頭発赤や扁桃腫脹など他覚的所見がみられない無症候性感染 (⑩) であるが, まれに口内炎, 咽頭炎, 扁桃炎を発症する場合がある^{★10}。

★9

性感染症としてのクラミジア感染症は, *Chlamydia trachomatis* による。

★10

淋菌が口腔・咽頭に感染すると, ①口腔粘膜に易出血性の黄白色の偽膜を伴う口内炎, ②溶連菌感染やウイルス感染症様の咽頭炎, ③無症候性感染の, この3つのパターンをとることが知られている。現在では, 淋菌の咽頭感染者の大多数は無症候性感染であることが判明している。

Column クラミジアの咽頭感染

クラミジアの咽頭感染は, ①上咽頭炎, ②急性扁桃炎, ③無症候性感染, の3つの臨床像が知られている。C. trachomatis の眼内感染症である成人型封入体結膜炎の約半数の上咽頭からクラミジアが検出される。自覚症状は咽頭痛, 鼻汁, 耳閉感で, 内視鏡検査でほとんどの症例で上咽頭の発赤腫脹が認められ, 一部には肉芽腫瘍様の腫脹, 滲出性中耳炎, 頸部リンパ節腫脹を伴う場合もある。一方, 咽頭炎, 扁桃炎を引き起こすクラミジアとして, 呼吸器感染症の原因となる C. pneumoniae に比べて C. trachomatis による症例数はきわめて少ないことが判明している。

検査の選択と診断のポイント

梅毒

- Tp は分離培養ができないため、直接検出する直接法または梅毒血清反応によって診断する。

直接法

- 硬性下疳や粘膜斑などの口腔・咽頭の梅毒病変には Tp が多く存在するため、直接法での検出が有用である。硬性下疳や粘膜斑の表面を擦って採取した漿液をスライドガラスに塗抹、染色し観察する*¹¹。
- 抗菌薬がいったん投与されると病変部の Tp が減少し検出率が低下するため、直接法は必ず抗菌薬投与前に行う。

梅毒血清反応

- 梅毒血清反応は血行性感染が始まる第2期以降で陽転する。鏡検での検出が難しい第2期病変や潜伏梅毒の診断にはとくに有用である。血清梅毒反応が陰性でも、問診や臨床所見から第1期と考えられる場合は、1～2か月後の再検査で確認する。
- 梅毒血清反応には、リン脂質のカルジオリピンを抗原とする脂質抗原試験 (serologic tests for syphilis : STS)*¹² と、Tp 抗原法がある。
- はじめに STS の2法と TPHA の定性検査を行い (㉑)、陽性の場合に STS および TPHA の定量検査で確定診断する (㉒)。
- これまで用手法で行われていた STS、TPHA の定量検査は、近年高感度の自動定量測定が開発され、各医療施設に導入されつつある*¹³。

HSV

- 血清 HSV 抗体検査では、HSV と VZV (水痘・帯

★11

ただし、Tp と口腔内常在性トロボネーマとの鑑別は困難で、臨床所見や梅毒血清反応の結果も含めて総合的に診断する。無症候梅毒も直接法では診断できない。

★12

STS にはガラス板法や RPR (rapid plasma reagin) があり、抗原法には TPHA (*Treponema pallidum* hemagglutination assay) と FTA-ABS (fluorescent treponemal antibody absorption test) 法がある。

★13

自動定量測定と従来の用手法による定量検査の数値との相関性は自動測定キットのメーカーにより異なるので注意する。

㉑梅毒血清反応定性検査の結果の解釈

STS	TPHA 抗原法	結果の解釈
-	-	非梅毒 まれに感染初期 [†]
+	-	生物学的偽陽性 (BFP)* まれに感染初期 [†]
+	+	梅毒 (早期から晩期) 梅毒治癒後の抗体保有者
-	+	梅毒治癒後の抗体保有者

[†]第1期の梅毒感染初期が疑われる場合は、2～4週後に再検査が必要となる。

*生物学的偽陽性 (BFP)：梅毒に感染していなくても、ウイルス・細菌などによる感染症、膠原病、妊娠、拒絶状態、老齢、静注薬物乱用者などで STS が陽性を示す場合をいう。

㉒梅毒血清反応定量検査 (用手法) の結果の解釈

検査法		抗体価 (血清希釈倍数)									
STS	RPR 法	①	2	4	8	16	32	64	128	256	512
	ガラス板法	①	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Tp 抗原	TPHA				32C	1,280	5,120	20,480	81,920		
	FTA-ABS										
抗体価の読み方					低い←	中等度					→高い

○印は定性検査の血清希釈倍数。

感染初期には STS 群抗体価が TPHA 法の抗体価に先行して陽性となる。

Topics 新しいHSV迅速検出キット LAMP 法の実用化への期待

LAMP 法 (loop-mediated isothermal amplification) は、特異度が高く約 30 分間と短時間で結果が出る新しい核酸増幅法。インフルエンザウイルスの迅速診断に標準的に使用されているイムノクロマト法を原理とする HSV 検出キットの治験が現在進行中であり、近い将来臨床現場でより簡便で確実に HSV 感染症が診断できるようになることが期待されている。

状疱疹ウイルス) 間、また HSV 1 型と 2 型間でも交叉反応が存在するため、血清抗体価から HSV 感染を診断することは困難である。

- 口腔・咽頭の病変部から採取したスワブからのウイルス分離、ウイルス核酸の検出 (核酸増幅法など)、蛍光抗体法や免疫組織染色によるウイルス抗原の検出によって、病変部組織からウイルスを直接証明することによって確定診断されるが、これらの検査はいずれも専用の設備を要し、実際に HSV 感染症が疑われるすべての症例に行えるものではない^{*14}。

★ 14

検査会社において、感度の高い検査法である核酸増幅法の PCR による検出が可能であるが、自費となる。

HIV

- 厚生労働省の HIV 感染症診断基準に従い、検査を進める (16)。
- 当初、抗体検査に用いられた IgG 抗体のみを検出する第 1～2 世代検査薬 (17) では、感染後 1～3 か月のウインドウ期 (Column「ウインドウ期」参照) があった。その後 IgG 抗体に加えて IgM 抗体も検出できる第 3 世代検査薬が使用されるようになり、ウインドウ期が数週間から 1 か月ほどまでに短縮された。さらに、IgG 抗体および IgM 抗体とともに HIV コア蛋白質である P24 抗原を検出できる第 4 世代検査薬が開発され、より早期の段階で HIV 感染の診断を可能としている。

16 HIV 感染症診断基準 (厚生労働省エイズ動向委員会, 2007 年)

1. 血清 HIV 抗体のスクリーニング検査 (酵素抗体法: ELISA, 粒子凝集法: PA, 免疫クロマトグラフィー法: IC, 等) の結果が陽性で、以下のいずれかが陽性の場合には HIV 感染症と診断する。血清 HIV 抗体検査 (Western blot 法, 蛍光抗体法: IFA) または HIV 抗原検査 (核酸診断法: PCR など) を追加し診断を確定する。血清 HIV 抗体検査では、感染後 3 か月ほどは検出できない (ウインドウ期) ため、臨床経過から HIV 感染が疑われ検査が陰性の場合は 3 か月後に再検査を行う必要がある。
 - 1) 抗体確認検査^{*15} (Western blot 法, 蛍光抗体法: IFA, 等)
 - 2) HIV 抗原検査, ウイルス分離および核酸診断法 (PCR など) 等の病原体に関する検査 (以下、「HIV 病原検査」という)
2. ただし、周産期に母親が HIV に感染していたと考えられる生後 18 か月未満の児の場合は少なくとも HIV の抗体のスクリーニング法が陽性であり、以下のいずれかを満たす場合に HIV 感染症と診断する。
 - 1) HIV 病原検査が陽性
 - 2) 血清免疫グロブリンの高値に加え、リンパ球数の減少, CD4 陽性 T リンパ球の減少, CD4 陽性 T リンパ球数 / CD8 陽性 T リンパ球数比の減少という免疫学的検査所見のいずれかを有する。

(サーベイランスのための HIV 感染症 / AIDS 診断基準 「HIV 感染症の診断基準」より抜粋)

★ 15

スクリーニング検査では、感染者を見落とさない感度の最も高い方法を採用することが重要で、比較的簡単で精度の高い ELISA 法で診断し、ELISA 法が陽性の場合にはさらに精度の高いウエスタンブロット (Western blot) 法で確認する方法が一般的。

Column ウィンドウ期

HIVに感染すると、感染の進行に伴い血中にはまずHIV-RNAが出現し、直ちにHIV抗原、その後IgM型HIV抗体、さらに遅れてIgG型HIV抗体が出現する(15)。感染後、数週間から1か月程度で抗体が産生され始めると、ウイルス濃度は一気に急減し無症候期に入る。一般に行われるHIV抗体検査では、血中の抗体量が抗体検査測定閾値に達するまでの感染後数週間、人によっては1か月程度のあいだ、HIV抗体スクリーニング検

査・確認検査ともに結果が陰性となる期間が存在する。この期間をウィンドウ期という。このウィンドウ期には血中にフリーのHIVウイルス粒子が多量に存在し、感染性の高い危険な時期である。HIV抗体検査が陰性でも、臨床所見と病歴からウィンドウ期であることが疑われる場合は、HIV病原検査(HIV抗原検査、PCRまたはウイルス分離)と数週間後のHIV抗体再検査で確認すべきである。

- HIVは通常的环境中では非常に弱いウイルスであり、HIV感染患者やHIVに汚染された環境表面などには一般的な標準予防策(スタンダード・プリコーション)で対応する*16。

■ 淋菌・クラミジア

- 淋菌感染の検査には分離培養(Topics「淋菌分離培養検査」参照)、核酸検出法、核酸増幅法が、クラミジア感染の検査には酵素抗体法、核酸検出法、核酸増幅法がある*17(16)。
- 淋菌では感染部位局所の菌量は、尿道、子宮頸管、直腸、咽頭の順に少ないとされる。口腔咽頭粘膜表面は、唾液や飲食によって常に洗い流されていることが、他の部位に比べて淋菌の菌数が少ない原因の一つと考えられる。

★16

HIVは加熱や、オキシフル、アルコールなどの普通の消毒薬により活性がなくなるので、HIVに汚染された環境表面などは一般的な洗浄、消毒方法で除去できる。HIV感染患者の血液や体液を取り扱う場合は、ラテックス製の手袋、マスク、眼の覆いなどの防護用品を着用する。病院や診療所では他の感染性疾患にかかっていない限り、HIV感染者の隔離は必要としない。

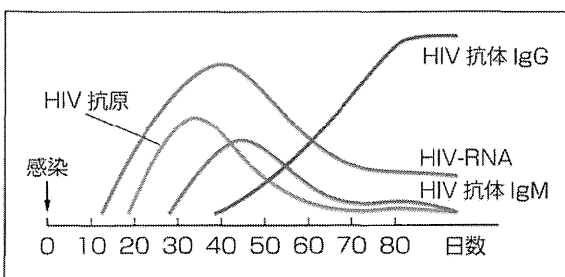
★17

クラミジアは細胞内寄生性の病原体であるため培養同定には培養細胞が必要であり、一般臨床で用いられている培養方法では検出できない。

15スクリーニング検査薬の世代

		第1世代	第2世代	第3世代	第4世代
HIVタイプ	HIV-1	●	●	●	●
	HIV-2		●	●	●
検出対象	IgG抗体	●	●	●	●
	IgM抗体			●	●
	P24抗原				●

(http://www.crc-group.co.jp/crc/q_and_a/23.htmlより)



15 HIVマーカーの血中への出現時期


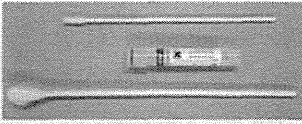

(吉原なみ子、血清診断、図説HIV感染症、メジカルビュー社；1993。http://www.crc-group.co.jp/crc/q_and_a/23.htmlより)

⑫ 咽頭の淋菌およびクラミジア検査

	分離培養 同定	酵素 抗体法	核酸検出法		核酸増幅法		
		IDEIA	DNA プローブ法	ハイブリッド キャッチャー法	PCR 法 アンプリコア [®]	SDA 法 プローブ テック [®]	TMA 法 アプティマ [®] Combo 2
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (淋菌)	○	×	△	△	適応外	◎	◎
<i>Chlamydia trachomatis</i>	×	○	△	△	◎	◎	◎

◎：咽頭検査の適応あり。感度が最も高い，○：咽頭検査の適応あり，△：咽頭検査の適応あり。感度がやや劣る，×：検査項目として存在しない。

⑬ 淋菌・クラミジアの咽頭検査キット

	採取容器	項目	提出先
アンプリコア [®] 滅菌スワブ		クラミジアのみ	SRL BCL
プローブテック [®] ET CT/GT スワブ黄色		淋菌 and/or クラミジア	三菱化学 メディエンス
アプティマ [®] Combo 2 クラミジア/ゴレノア スワブ白色		淋菌 and クラミジア	SRL BCL

★ 18

口腔・咽頭の常在性ナイセリアとの交叉反応が生じるPCRでは咽頭検体からの淋菌検査は適用外で、咽頭検体においてPCRはクラミジア検査のみに使用できる。

★ 19

ただし、TMAは淋菌とクラミジア同時検査のみの適用で、淋菌、クラミジアどちらか一種のみの検査はできない。

●咽頭からの淋菌、クラミジアの検出には、感度が高い核酸増幅法である①ポリメラーゼ連鎖反応法 (polymerase chain reaction : PCR) のアンプリコア[®] STD-1 クラミジアトラコマティス[®]*18 (ロシュ・ダイアグノスティックス製)、②鎖置換増幅法 (strand displacement amplification : SDA) のBDプローブテック[®] ET CT/GC (日本ベクトン・デッキンソン製)、③転写介在増幅法 (transcription-mediated amplification : TMA) のアプティマ[®] Combo 2 (富士レビオ製、⑬)、が最も適している。

●SDA および TMA^{*19} は咽頭の淋菌、クラミジア双方の検査が可能である。

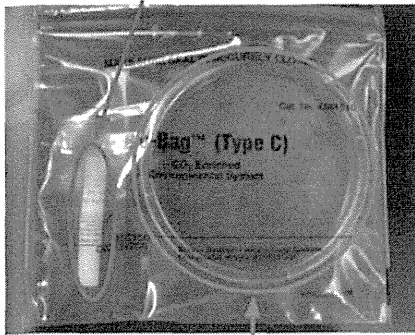


Topics 淋菌分離培養検査

淋菌は炭酸ガス好性で、温度変化や乾燥に弱く、一般細菌と同じ培養方法では菌が死滅して検出できない。淋菌の培養同定には、淋菌選択培地である変法 Thayer-Martin 寒天培地に咽頭を拭った綿棒から直接培地に塗抹後すみやかに密閉し、炭酸ガス発生装置により炭酸ガス充填下に室温で保

存する(⑩)。その後35℃48時間炭酸ガス培養を行えば98%以上の感度で淋菌を検出できる。淋菌感染症を診る機会が少ない施設では利便的検査とはいいがたいが、近年、抗菌薬耐性が顕著な淋菌では、薬剤感受性検査が併施できる検査として重要視されている。

CO₂ ガス発生装置



変法 Thayer-Martin 寒天培地

⑩淋菌培養検査キット

変法 Thayer-Martin 寒天培地（日本ペクトン・デッキンソン製）と炭酸ガス充填キット（三菱化学メディエンス製）。

SDA は、同一検体から淋菌とクラミジアの同時検査も、どちらか一種のみの検査も可能となっている。どちらの検査も、咽頭スワブ^{★20} またはうがい液^{★21} を採取して検査する。

（余田敬子）

引用文献

- 1) 荒牧 元. 性感染症. 口腔咽頭粘膜疾患アトラス. 第1版. 東京: 医学書院; 2001. p.46-65.
- 2) 日本性感染症学会ガイドライン委員会. 診断・治療ガイドライン 2011. 日性感染症会誌 2011; 2 suppl.
- 3) 田上 正. 歯科および口腔内の感染症の診断と治療. HIV 感染症における口腔内病変. 化学療法の領域 2006; 22: 627-35.

★20

専用の子宮頸管または尿道検査キットを利用して、咽頭後壁と扁桃陰窩をスワブする。

★21

生理食塩水 10mL ほどを 10 秒以上うがい、専用の尿検査キットを利用。

STI としての咽頭病変

★1
性感染症は従来よりSTD (sexually transmitted diseases) の略が普及しているが、多くの性感染症において無症候感染者がキャリアとなって感染拡大に大きく関与していることが指摘されるようになり、性感染症を sexually transmitted diseases ではなく、sexually transmitted infection : STI と呼ぶようになっていく。

耳鼻咽喉科医も性感染症に適切な対応を

★2
皮膚・粘膜や臓器に病変がみられる顕症梅毒に対して、第1～4期を通じて症状や病変を欠く場合を潜伏梅毒という。

★3
潜伏梅毒でも第1～2期の早期は他者への感染源となる。

- 咽頭に病変を生じる性感染症 (sexually transmitted infection : STI)^{*1} には、梅毒、単純ヘルペスウイルス (herpes simplex virus : HSV) 感染症、ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus : HIV) 感染症、淋菌感染症、クラミジア感染症がある。
- 咽頭梅毒は、他の疾患にはみられない特徴的な病変を呈する。
- 単純ヘルペスウイルス初感染者の一部は、口腔・咽頭粘膜に特徴的なアフタ・びらん・白苔を伴う咽頭炎や偽膜性扁桃炎を発症する。
- HIV 感染症は感染から2～4週間目ごろ、約50%の感染者にインフルエンザまたは伝染性単核球症様の症状とともに、非特異的な咽頭炎が生じる。
- 淋菌の咽頭感染とクラミジアの咽頭感染は、その大多数は無症候性感染であるが、一部の感染者に非特異的な咽頭炎、扁桃炎、上咽頭炎がみられる。

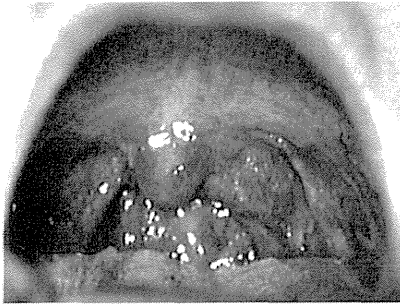
梅毒

- 梅毒はスピロヘータの一種である梅毒トレポネーマ (*Treponema pallidum* subspecies *pallidum* : 以下 *Tp*) を病原体とする慢性感染症¹⁾ で、体のあらゆる部分または全身の皮膚や粘膜、時に臓器に病変を生じる^{*2}。
- 梅毒は *Tp* に感染してからの時期によって第1～4期に分けられ、それぞれの病期によって現れる病変が異なる。
- 第1～2期(感染から約2年間)は早期梅毒といい、病変や血液中の *Tp* の量が多く、他者への感染性を持ち、血清抗体価が高値を示す^{*3}。第3期以降は晩期梅毒といい、未治療でも他者への感染力はなくなり血清抗体価も低値となる。

Topics 性行動の多様化と口腔咽頭の性感染症

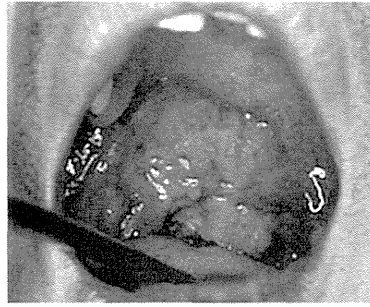
性行動の多様化に伴い咽頭を介して性感染症に感染する人の増加がクローズアップされている。厚生労働省の性感染症に関する特定感染症予防指針では、「性感染症が口腔を介した性的接触で感染する」ことが2012年1月に追記された。また同省は性感染症の啓蒙活動の一環として設けている「性の健康週間」(毎年11月25日～12月1日)で、2012年は「オーラルセックスによる性感染症」をトピックスとして取り上げ、HPにオーラ

ルセックスによる性感染症に関するQ&Aや啓蒙用ポスターが掲載されている。そのほか、さまざまなメディアからも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、性感染症の相談を目的に耳鼻咽喉科を受診する人は今後確実に増加するであろう。性感染症は都市部、地方にかかわらず普遍的な疾患であり、性感染症に適切に対応できることが耳鼻咽喉科医に求められている。



①梅毒性紅斑 (53 歳, 男性)

咽頭の粘膜病変は、はじめ紅斑として現れ、紅斑から徐々に拡大して白色の粘膜斑に変化する。



②梅毒 2 期の咽頭粘膜斑 (43 歳, 男性)

口蓋垂から口蓋粘膜に拡大した粘膜斑。粘膜斑は扁平で若干の隆起があり、周囲は薄い赤色の紅暈で囲まれ青みがかかった白灰色で「乳白斑」ともよばれる。
(荒牧 元. 口腔咽頭粘膜疾患アトラス. 医学書院; 2001. p.51²⁾より)

■ 咽頭梅毒の臨床所見

- 咽頭に現れる梅毒病変には、第 1 期の初期硬結、硬性下疳、第 2 期の粘膜斑がある¹⁻⁴⁾。
- 初期硬結、硬性下疳、粘膜斑は、その特徴的な所見から他の疾患との鑑別は比較的容易である。

初期硬結・硬性下疳^{*4}

- 性的接触によって *Tp* が直接侵入した部位に、感染から約 3 週間後ごろに現れる。
- 性器、次いで口腔・咽頭に好発する。
- 口腔・咽頭では、口唇、舌、扁桃、軟口蓋の順に多い。
- 初期硬結は、アズキ大から指頭大の大きさで、軟骨のように硬い暗赤色のしこりとして現れる。
- 初期硬結は数日後に自潰する。これを「硬性下疳」という。
- 通常、初期硬結、硬性下疳は単発性の病変^{*5}で、病変と同側の頸部リンパ節腫脹^{*6}を伴う。
- 初期硬結・硬性下疳は痛みを伴わず、3～6 週間で自然消退する^{*7}。

粘膜斑

- 感染から約 3 週間～2 年前後の第 2 期、血行性に *Tp* が全身に広がって現れる多彩な皮膚・粘膜病変の一つとして生じる。
- 最初は紅斑 (①) として現れ、徐々に白くなり変化しながら拡大・融合して、粘膜斑になる。
- 周囲を薄い赤色の紅暈で囲まれ青みがかかった白または灰色で、扁平で若干隆起のある病変 (②) で、「乳白斑」とも称される。

第 1, 2 期の咽頭梅毒病変は、その特徴的な所見から他患者との鑑別は比較的容易

★ 4

第 1 期病変の好発部位は性器、次いで多いのが口腔・咽頭である。

▶「口腔における性感染症」の項 (p.30) 参照。

★ 5

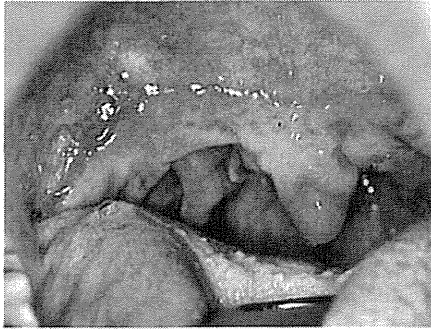
症例数は少ないが、病変が 2～3 個現れる場合もある。

★ 6

初期硬結、硬性下疳と同じく軟骨様の硬さで腫脹する。

★ 7

疼痛などの自覚症状に乏しく、自然に消退するため、この時点で医療機関を受診する顕症梅毒患者は少ない。



③梅毒 2 期の咽頭粘膜斑 (27 歳, 女性)
 粘膜斑が口峽部に沿って弧状に拡大融合して、チョウが羽を広げたような“butterfly appearance”を呈している。
 (荒牧 元ほか, JOHNS 1993³⁾より)



④梅毒性乾癬 (21 歳, 男性)
 赤く湿潤し鱗屑を伴う、乾癬に類似した特徴的な梅毒疹。発現頻度が高い皮疹で、角層の厚い手掌や足底に生じる。丘疹性梅毒疹の亜型。
 (余田敏子, JOHNS 2007⁹⁾より)

▶「口腔における性感染症」の項 (p.30) 参照。

★ 8
 咽頭梅毒特有の所見で、頻度の高い病変である。

★ 9
 出現頻度が高い皮疹は梅毒性乾癬と丘疹性梅毒疹で、続いて梅毒性バラ疹、扁平コンジローム、梅毒性脱毛が多く、膿疱性梅毒疹は比較的少ない。

★ 10
Tp は分離培養ができない。

- 好発部位は扁桃、口蓋弓、軟口蓋、口蓋垂で、口唇粘膜、歯肉、舌側裏面にも生じる。
- 口峽部粘膜、とくに軟口蓋の後縁に沿って弧状に拡大融合すると、チョウが羽を広げたような形態“butterfly appearance”^{*8} (③) を呈する。
- 咽頭梅毒患者は、第 2 期の皮膚病変^{*9} や性病器病変を併発する場合もあるが、むしろ性病器や皮膚に病変がなく咽頭病変のみで耳鼻咽喉科を受診する場合のほうが多い⁴⁾。

咽頭梅毒の診断

- 梅毒の診断には *Tp*^{*10} を病変部から採取したスワブを鏡検する直接法と、

Column 第 2 期梅毒の皮膚病変

第 2 期症例では多彩な皮膚病変がみられる。口腔咽頭の粘膜病変を呈する症例にこれらの皮膚病変を同時に認めた場合、梅毒を強く示唆する根拠となる²⁻⁴⁾。

- ①梅毒性バラ疹：第 2 期の最も早い時期に生じる。爪甲大までの淡紅色斑で、体幹・上肢に対称性に出現する。かゆみなどの自覚症状はなく、数週で消退するため見過ごされることが多い。
- ②丘疹性梅毒疹：バラ疹に遅れて現れる暗赤色の丘疹ないし結節。
- ③梅毒性乾癬：角層の厚い手掌や足底に生じる、赤く湿潤し鱗屑を伴う乾癬に類似した皮疹(④)³⁾。出現頻度が高く梅毒に特徴的な臨床所見を呈するため、梅毒診断の契機となりやすい。

- ④扁平コンジローム：疣状または扁平に隆起して表面は顆粒状、湿潤・浸軟し淡紅色から灰白色の小腫瘤。肛門周囲・外陰部・腋窩など汗分泌が多い皮膚間擦部に生じ、病変からは *Tp* が多数検出され感染源となりやすい。
- ⑤梅毒性脱毛：びまん性と小斑状に分けられ、前者は前頭部または側頭部、後者は後頭部に散発する爪甲大の脱毛で、いずれも患部の毛髪を約 1/2 残す不完全脱毛を呈する。
- ⑥膿疱性梅毒疹：大小種々の多発性膿疱。その形態に応じ、梅毒性瘡瘍・梅毒性膿疱疹・梅毒性膿瘍とよぶ。全身状態が不良または免疫不全の場合にみられる場合が多く³⁾、これを認めた場合には HIV 感染の合併に留意する。

梅毒血清反応とがある。

- 咽頭梅毒の病変には *Tp* が多く存在するため直接法^{*11}は有用である。
- 梅毒血清反応は血行性感染が始まる第2期以降の診断に有用である。
- 血清梅毒反応陰性でも、問診や臨床所見から第1期が疑われる場合は、1～2か月後に再検査を行う。

咽頭梅毒の治療

- 第一選択薬はペニシリンであるが、*Tp* はほとんどの抗菌薬に感受性がある。診断に先行したむやみな抗菌薬の投与は病変のみが消失して見逃され、潜伏梅毒に移行させてしまうおそれがあるため注意する。
- 経口合成剤（AMPC〈アモキシシリン水和物〉、ABPC〈アンピシリン水和物〉など）を1回500mg、またはDBECPCG（ベンジルペニシリンベンザチン水和物；バイシリンG[®]）1回40万単位、を1日3回投与する。
- ペニシリンアレルギーの場合は、ミノサイクリン塩酸塩を1回100mg、1日2回投与する。
- 第1期では2～4週間、第2期では4～8週間^{*12}投与する。
- 治療開始直後の2～12時間後に現れる、ヤーリッシュ・ヘルクスハイマー（Jarisch-Herxheimer）反応^{*13}に注意する。
- 治療効果の評価は、臨床症状とSTSの抗体価による。

単純ヘルペスウイルス感染症

- 単純ヘルペスウイルスには、1型（HSV-1）と2型（HSV-2）がある。

★11

硬性下疳をもみだす。粘膜斑の表面を擦るなどして漿液を採取してスライドグラスにとり、染色し観察する。長さ6～20μmで8～20のらせんをもつ病原体を確認し、診断する。ただし、*Tp*と口腔内常在性トレポネーマとの鑑別は困難で、臨床所見や梅毒血清反応と合わせて診断する。*Tp*はほとんどの抗菌薬に感受性があるため、いったんならからの抗菌薬が投与されるとすみやかに病変部から*Tp*が消えてしまうため、抗菌薬投与前に行うことが肝要である。

★12

梅毒の治療は臨床病期により投薬期間が異なる。

★13

治療に際し、開始直後の2～12時間後に悪寒戦慄・発熱・倦怠感・咽頭痛・筋肉痛・頭痛・頸脈などの症状が、一過性に現れ、1日経たずに消失する。これをヤーリッシュ・ヘルクスハイマー反応といい、*Tp*が多量に死滅することによるエンドトキシン反応と考えられている。第1期で約50%、第2期では約75%にみられる。投薬開始時にこの現象をあらかじめ説明し、患者さんが薬の副作用と誤って服用を中断しないよう指導する必要がある。

Column 血清梅毒反応

梅毒血清反応には、リン脂質のカルジオリピンを抗原とする脂質抗原試験（serologic test for syphilis：STS）と、*Tp*抗原法がある。STSにはガラス板法やRPR（rapid plasma reagin）があり、*Tp*抗原法にはTPHA（*Treponema pallidum* hemagglutination assay：梅毒トレポネーマ感作赤血球凝集試験）とFTA-ABS（fluorescent treponemal antibody absorption test：梅毒トレポネーマ蛍光抗体吸収試験）法がある。はじめにSTSの2法とTPHA定性検査を行い、陽性の場合にSTSおよびTPHA定量検査で確定診断する。これまで用手法で行われていたSTSおよびTPHA定量検査は、近年高感度の自動定量測定装置が開発され、各医療施設に導入されつつある。自動定量測定と従来の用手法による定量検査の数値の相関性は自動測定キットのメーカーにより異なるので注意する。

なるので注意する。

STSは感染後3～4週して陽性となる。妊娠やその他の感染症などで疑陽性反応が生じることがあり（生物学的偽陽性）、STSの陽性者には*Tp*抗原定量検査による確認が必要となる。*Tp*抗原はSTS陽転後2～3週遅れて陽性となる。

治療後、体内の*Tp*が消失するとSTS抗体価は下がり始めるので、STS定量値は治療効果判定に用いられる。TPHA定量値は治療後に必ずしも低値にならず、治療効果を反映しない。病期に応じた十分な投薬を行った後、臨床症状の持続や再発がないことと、STS抗体価を定期的に追跡して定量値が8倍以下に低下するまで確認する必要がある。治療後半年過ぎてもSTS定量値が16倍以上示す例は、治療が不十分または再感染例が疑われ、検査と治療を追加する。