

性感染症全般の診断・治療の適正化に関する研究

【研究協力者】 高橋 聡（札幌医科大学医学部感染制御・臨床検査医学講座）

研究要旨

迅速診断法の開発により原因微生物を早期に検出し、適切な治療に導くことを目的として、90分程度でクラミジア・トラコマティスと淋菌の検出が可能な迅速核酸増幅法の臨床研究を行った。研究により、従来の核酸増幅法に劣らない結果が得られ、今後の改良された診断法に寄与すると考えられた。

淋菌は、世界的に多剤耐性化が問題となっている。従来は、一般的な方法での測定が困難であったファロペネム、カルバペネムの抗菌薬感受性を測定し、新規治療法の開発の可能性を探った。カルバペネム系のメロペネムの感受性は良好であり、今後の治療の可能性が期待された。

A. 研究目的

①迅速診断法の開発により原因微生物を早期に検出し、適切な治療に導くことを目的として、90分程度でクラミジア・トラコマティスと淋菌の検出が可能な迅速核酸増幅法の臨床研究を行った。研究により、従来の核酸増幅法に劣らない結果が得られ、今後の改良された診断法に寄与すると考えられた。

②淋菌は、世界的に多剤耐性化が問題となっている。従来は、一般的な方法での測定が困難であったファロペネム（FRPM）、カルバペネムの抗菌薬感受性を測定し、新規治療法の開発の可能性を探った。カルバペネム系のメロペネム（MEPM）の感受性は良好であり、今後の治療の可能性が期待された。

B. 研究方法

①対象；

男性尿道炎患者と女性子宮頸管炎患者（いずれも18歳以上）を対象にする。研究は、泌尿器科として、札幌医科大学附属病院泌尿器科、あいクリニック（仙台）、ていね泌尿器科クリニック（札幌）、元町泌尿器科（札幌）、苫小牧泌尿器科・循環器内科（苫小牧）、にっしん泌尿器科クリニック（苫小牧）、及び、婦人科として、札幌東豊病院（札幌）、きたのはら女性クリニック（仙台）にて検体を収集し、株式会社ビー・エム・エル（以下BML）において、男性では尿検体の、女性では子宮頸管スミア検体及び尿検体の検査を行う。

方法；

尿道炎、もしくは、子宮頸管炎の診断と治療のために、初診時に初尿（男性）あるいは初尿及び

子宮頸管スミア（女性）を検体として Xpert CT/NG[®] と核酸増幅法（TaqMan PCR 法、TMA 法）で淋菌、クラミジア・トラコマティスの検出を行う。本来、Xpert CT/NG[®]は、外来での検査が可能であるが、本研究では検体の条件を統一するため、核酸増幅法検査は、全てBMLにて行う。また、付録に添付したようなアンケート調査を行う。なお、核酸増幅法（TaqMan PCR 法、TMA 法）にて淋菌、クラミジア・トラコマティスが検出された場合には、その結果を再診時に通知するとともに最新の「性感染症 診断・治療ガイドライン」もしくは、「JAID/JSC 感染症治療ガイド 2011」に沿った治療を原則として行う。検査結果は、既に保険適用である核酸増幅法（TaqMan PCR 法、TMA 法）により判定し、Xpert CT/NG[®]の結果は臨床目的で使用しない。

分析としては、Xpert CT/NG[®]と TaqMan PCR 法及び TMA 法の間感度・特異度（陽性・陰性検体の一致率）、患者背景の相違がないかどうかを明らかにするための既往歴と性交様式との比較である。

男女共に Xpert CT/NG と TaqMan PCR 法及び TMA 法の淋菌とクラミジア・トラコマティスの陽性 50 検体を目標とする。症例数設定の根拠は、非劣性試験であり、いずれの検査法も極めて高感度であることから、最低 20 例での一致・不一致の比較で判定可能であるが、さらに精度を上げるために陽性 50 例での比較とした。現在、淋菌性尿道炎とクラミジア性尿道炎の罹患率はほぼ同数と考えられ、尿道炎として受診した患者の 30%程度が淋菌性尿道炎、同様に 30%程度がクラミジア性尿

道炎であると推測される。女性の尿道炎及び子宮頸管炎でも同様であると推測される。したがって、男女それぞれ計 300 例を研究に組み入れると設定とした。

C. 臨床検査審査委員会の承認

本研究は、札幌医科大学附属病院に設けられた臨床研究審査委員会の承認を得た上で実施する。

②対象；3 学会合同サーベイランスで分離された淋菌を対象とする。

方法

CLSIM100-S27 に従い、システインを含まない 1% サプリメントを加えた GC 寒天培地を用い、寒天平板希釈法で MIC を測定する。

感受性培地の作製

滅菌精製水を用い FRPM、MEPM の 160、80、40、20、10、5、2.5、1.25、0.6、0.3 $\mu\text{g/mL}$ 濃度液を作製する。

209mL に調整した GC 寒天培地に調整した薬剤液 11mL、サプリメント A 液 0.55mL、サプリメント B 液 1.65mL を加え、シャーレに分注する。

菌液調整

チョコレート寒天培地で前培養した菌株を、Muller-Hinton broth で McFarland 0.5 (10^8CFU/mL) に調整する。⇒菌液①

菌液①を 1/10 倍希釈する。⇒菌液②

培養

作製した感受性培地上に、菌液②を 1~2 μL スポットする。

36 \pm 1 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂、20-24 時間培養する。

判定

菌の発育がみられない最小濃度を MIC とする。

単一コロニー及び薄い発育は無視する。

C. 研究結果

①Xpert CT/NG と従来の方法との結果の一致率は男性尿と女性尿ではほぼ 100%、女性スミアでも 98%程度であった。

②MEPM の MIC₉₀ は 0.12 $\mu\text{g/mL}$ と良好であったが、他のカルバペネム、FRPM では MIC₉₀ は、1~2 $\mu\text{g/mL}$ と高めであった。

D. 考察

①90 分程度で検査結果を得ることができる迅速核酸増幅法検査においても、従来の核酸増幅法の検査と同等の結果が得られたことから、初診時での原因微生物の判明が可能となる。このことにより、適切な患者への説明、患者の性的パートナーへの正しい情報提供、適切な治療

②FRPM、カルバペネム系の淋菌への感受性は MEPM 以外は、良好ではなく、MEPM のみ良好であった。ただし、臨床的な投与量や投与期間については研究がないこと、また、MEPM 以外の抗菌薬の感受性が良好ではないことのさらなる研究が必要であると考えられた。

E. 結論

①迅速核酸増幅法による検出においても、従来の核酸増幅法に劣らない結果が得られ、今後の改良された診断法に寄与すると考えられた。

②淋菌に対するカルバペネム系のメロペネムの感受性は良好であり、今後の治療の可能性が期待された。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

(1) 桧山佳樹、高橋 聡、舛森直哉、淋菌に対する faropenem と carbapenem の薬剤感受性の検討、日本性感染症学会第 30 回学術大会

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

性感染症全般の診断・治療の 適正化に関する研究

札幌医科大学医学部感染制御・臨床検査医学講座

高橋 聡

平成29年3月3日@東京

概要

- 迅速診断法の開発
 - ✓ 原因微生物に対する適切な治療
- 治療薬の評価
 - ✓ 淋菌に有効な抗菌薬の開発

迅速診断法の開発

➤ 試験法

- ✓ 相関性試験

➤ 対象

- ✓ 18歳以上
- ✓ (男性)尿道炎患者
- ✓ (女性)子宮頸管炎患者

迅速診断法の開発

➤ 試験法

- ✓ 新規迅速核酸増幅法

➤ 比較対照検査法

- ✓ Cobas 4800 System CT/NG (real-time PCR)
- ✓ Aptima Combo 2 Chlamydia/Gonorrhoeae (TMA)

迅速診断法の開発

➤結果

●新規検査法 vs TMA

◆*Chlamydia trachomatis*

- ✓陽性一致率 ; 97.7% (172/176)
- ✓陰性一致率 ; 97.4% (152/156)
- ✓総一致率 ; 97.6% (324/332)

迅速診断法の開発

➤結果

●新規検査法 vs PCR

◆*Chlamydia trachomatis*

- ✓陽性一致率 ; 98.9% (172/174)
- ✓陰性一致率 ; 97.5% (154/158)
- ✓総一致率 ; 98.2% (326/332)

迅速診断法の開発

➤結果

●新規検査法 vs TMA

◆*Neisseria gonorrhoeae*

- ✓陽性一致率；100% (50/50)
- ✓陰性一致率；98.9% (279/282)
- ✓総一致率；99.1% (329/332)

迅速診断法の開発

➤結果

●新規検査法 vs PCR

◆*Neisseria gonorrhoeae*

- ✓陽性一致率；98.1% (51/52)
- ✓陰性一致率；99.3% (278/280)
- ✓総一致率；99.1% (329/332)

迅速診断法の開発

➤ 結論

- ✓ 迅速診断法は、従来法に劣らない

治療薬の評価

➤ 淋菌の治療法

- CTRX, SPCMが有効

- ✓ 多剤耐性化

- ✓ 治療薬開発の必要性

治療薬の評価

➤ CTRX以外の抗菌薬の有効性は？

✓ カルバペネム系抗菌薬+FRPM

● 通常は感受性が測定されない

- ・ システインを含まないサプリメントが必要なため

治療薬の評価

➤ カルバペネム系抗菌薬+FRPM

● 淋菌23株

- ・ 三学会合同抗菌薬感受性サーベイランスの収集株を
購入

✓ FRPM, MEPM, BIPM, DRPM, IPM

✓ MIC測定 (CLSI; M100-S27)

治療薬の評価

抗菌薬	MIC ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MIC50	MIC90
FRPM	$\leq 0.06 \sim 1$	0.06	1
MEPM	$\leq 0.06 \sim 0.12$	0.06	0.12
BIPM	$\leq 0.06 \sim 2$	1	1
DRPM	$\leq 0.06 \sim 1$	0.5	1
IPM	$\leq 0.06 \sim 1$	1	2

治療薬の評価

➤ 結論

✓MEPM以外では低感受性株が存在