

国内での β -lactamase 産生淋菌 (PPNG) の検出について

小野田 洋一・三井 一子

都立台東病院

小原 寧・山井志朗・宮本 泰

神奈川県立衛生研究所

芦 沢 正 見

国立公衆衛生院

(昭和 53 年 7 月 27 日受付)

1. は じ め に

Penicillin(PC) の Lactam 環を破壊して、PC 療法に
る淋病の治療に抵抗する淋菌の存在が注目されはじめ
から、まだ2年しか経過していない^{1,2)}。
われわれは数年来、新しく分離した淋菌の薬剤感受性
査と β -lactamase 産生能の試験を行ってきた³⁾。1977
に分離した45株のなかに、1株の penicillinase (β -
tamase)産生淋菌— Penicillinase Producing *Neis-*
ria Gonorrhoeae (PPNG と略)を確認したので、
の患者の臨床症状とその菌の性状について報告する
(Table 1)。

2. 患者の臨床所見

患者は30才の男性会社員、1977年9月28日から30
にかけて Bangkok に旅行し、この間に性病に感染す
機会があった。そのとき、性病感染予防の処置はなん
行わなかったという。
帰国後の10月7日(7日後)、尿道に異和感を生じて
分泌物の排出をみたが、そのまま放置していたところ、
1月10日にこれが膿性となり、排尿痛を覚え、10月11
に台東病院の外来に受診している。
初診時の所見では、尿道から濃厚な排膿が多量にあ
る、この分泌物の塗抹標本にグラム陰性の双球菌が多数

認められた。この分泌物と尿沈渣の Transgrow 培地⁴⁾
および GC 培地を用いた培養により淋菌が分離されたの
で、急性淋菌性尿道炎と診断した。
この患者の潜伏期間がわづかに長かったことと発病状
態が軽かったこと以外に、他の淋病患者と症状をくらべ
てとくに異なったものがなかった。PC アレルギーであ
ると訴えたため PC 類を一切用いないで治療を行って治
癒させたため、分離菌が PPNG であったということは
菌の性状検査が終るまで臨床上ではわからなかった。
治療は初日に KM 2g を筋注し、250 mg Sigmamycin
4 cap を分4して毎6時間に1cap服用するように命
じ、4日分を処方し、患者はその指示に従った。
3日目の来院時には分泌物はほとんど停止し、尿所見
も正常に近くなっていた。尿道の所見ではわずかに炎症
症状が残っていたが、鏡検では双球菌を認めず、分泌物
および尿沈渣の培養検査でも淋菌は発育してこなかつ
た。この日は KM 1g の筋注を行っている。
5日目に KM 1g の注射を念のために行ったが、局所
の炎症はまったく消失し、尿道分泌物の直接塗抹および
尿沈渣所見も正常であり、培養検査からも淋菌は検出さ
れていない。

12月10日に来院したときの問診から、その後に再発

Table 1 *In vitro* susceptibility of gonococcal isolate (1977, n=45)

Drugs	MIC (u/ml* or μ g/ml**)													
	≤ 0.015	0.03	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128
PC	2	1	9	11	11	5	4	1		1※				
CP					1	7	1	14	15	7				
TC				1	7	10	14	7	6					
KM									4	11	30			
SM										6	11	—	—	28

* PC
** CP, TC, KM, SM
※ No. 52~45

Table 2 Biochemical characteristics of the PC resistant *N. gonorrhoeae* No. 52~45

Gram stain	negative
Catalase	+
Oxidase	+
Carbohydrate break down (F/O/-)	O
Pigment	-
Haemolysis	-
Growth : at 22°C	-
on nutrient agar	-
Requirement for : blood or serum extra CO ₂	+
Carbohydrates, acid from :	required
glucose	+
maltose	-
sucrose	-
fructose	-
Synthesis of polysaccharide from sucrose	-
Reduction of : nitrate nitrite	-

または再燃がなかったというため、淋病はこの治療法で完全に治癒したものと考えられた。この日の培養検査によっても淋菌は検出されなかったため、治癒を確認した。なお、10月と12月の2回にわたり梅毒血清反応を行っているが、いずれも陰性であったため、梅毒の同時感染はなかったものと考えられる。

3. 分離菌の性状

本菌はグラム陰性の典型的な双球菌であって、catalase および oxidase 反応陽性、glucose を酸化的に分解するがガス産生はない。lactose, maltose, sucrose および fructose は分解しない。色素非産生、非溶血性であり、22°C および食塩無添加普通寒天上では発育しない。硝酸および亜硝酸を還元せず、ONPG 試験陰性であるため、淋菌と同定した (Table 2)。

4. 分離菌の薬剤感受性

過去数年間、われわれが分離した淋菌の性状調査では PC に対する MIC は最高 2 u/ml までであって、4 u/ml 以上のものはなかった。昭和 52 年に分離した 45 株のなかに 4 u/ml では発育阻止ができず、8 u/ml 以上でようやく阻止できたものが 1 株認められた。

この菌株を No. 52-45 と命名し、他剤に対する MIC も測定した。この結果、対 CP 2 µg/ml、対 TC 1 µg/ml、対 KM 8 µg/ml および対 Acetyl Spectinomycin (SPEC と略) 8 µg/ml であり、いずれも感受性をしめしていた。しかし、SM に対しては 128 µg/ml 以上と強い耐性をしめしていた。

Table 3 Effect of inoculum size of strain 52~45 on the MIC of penicillin and cephalosporin derivatives

Antibiotics	MIC (u/ml* or µg/ml**) of antibiotic with an inoculum size (CFU***) of				
	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
Benzylpenicillin	2	4	16	512	≥1024
Ampicillin	4	8	16	512	≥512
Cloxacillin	≤0.5	≤0.5	1	8	32
Cephaloridine	2	8	8	32	128
Cephalothin	≤0.5	≤0.5	≤0.5	2	4
Cephalexin	≤0.5	≤0.5	≤0.5	2	8
Chloramphenicol			2		
Tetracycline			1		
Kanamycin			8		
Spectinomycin			8		
Streptomycin			≥128		

* Benzylpenicillin

** The other ten antibiotics

*** Colony forming units/ml

菌量効果をみるために接種菌量を 10⁵ としたとき、他の薬剤の MIC はそれほどの変化をしめさなかったのに対し、PC と ABPC とには 512 u/ml、CED には 32 µg/ml となった。10⁶ ではさらに強い接種菌量効果が認められた (Table 3)。

CATLIN の迅速ヨード法¹⁾、THORNSBERRY らの迅速酸性法²⁾、CDC 法³⁾および Disk Diffusion 法⁴⁾などで β-lactamase 活性をしらべたところ、対照に用いた CDC 76-061782 および CDC 76-073389 の 2 株の PPNG 株と同様にいずれも陽性であったため、No. 52-45 は PPNG であると同定した (Table 4)。

5. 考 案

淋菌の治療に PC が用いられるようになったのは PC 発見後まもなくであったが、当時は淋菌の感受性が 0.03

Table 4 Results of β-lactamase test for No. 52~45 strain

Methods	No. 52-45	
		positive
CATLIN: Rapid Iodometric Test	blue-decolorized	+
THORNSBERRY: Rapid Acidometric Test	red-yellow	+
CDC: Chromagenic Cephalosporin Test	yellow-red	+
Disk Diffusion Test: §	<20 mm	+

§ Cut off point of D. D. Test ;
resistant : Zone <20 mm
sensitive : Zone ≥20 mm

ml であり、10 万単位の PC 注射で淋病を完治させることができた。PC 開発後 10 年目頃から感受性の弱い淋菌の存在がときに認められることがあったが、PC に優位治療薬はなく、淋菌は PC 耐性をつくらないという考えから、PC 使用量を増加し高い血中濃度をうることであれば淋菌を死滅させることができるとしていた。そのため PC の 240 万単位あるいは 480 万単位 1 発注射法が推奨されていた。

その後 PC 耐性淋菌の存在が明らかに認められるようになり、0.6 $\mu\text{g/ml}$ あるいは 1.0 u/ml 以上の MIC を示す淋菌の存在が 1970 年以降問題となってきた。L. P. WATKO 他⁵⁾は 15.9%, R. SHANNON 他⁶⁾は 2.4%, SHAHIDULLAH 他⁷⁾は 3.0% であると報告しているが、われわれの 1977 年の株は 45 株中 6 株あり 13.3% であった。

1976 年初頭に、アメリカ⁸⁾とイギリス⁹⁾ではほとんど同じ PC に強く抵抗する淋菌が発見された。これらの菌それぞれ東南アジアとアフリカから帰国した旅行者によってカリフォルニアとロンドンに持ちこまれたものであることが明らかにされた。

これらの菌は β -lactamase 産生淋菌 (PPNG) であることがわかり、WHO¹⁰⁾と米国の CDC は事態の重大性が 1976 年 9 月、世界各国に PPNG の緊急調査を勧告し

調査結果によると、本菌は東南アジアおよびアフリカ濃厚に分布し、地域によっては患者の 30~40% から分離され、旅行者によって世界各国に持ちこまれ、1976 中に 11 カ国に分布していたことが判明した。その後引き続き各国からその検出が報告されている。

米国では 1977 年 1 月末までに 94 例の PPNG 感染が告され、この時点ですでに国内居住者から感染しているものが 50% をこえていたことから、米本土内に定着していることが確認された。

日本以外の各国では、淋病治療に主として PC が使用されているので PPNG の出現は重大な問題として関がもたれている。この治療には現在主として SPEC (spectinomycin) と TC などが用いられているが、米国は SPEC に高度耐性の淋菌株が分離されている。

TC は MIC 1 $\mu\text{g/ml}$ で無効例が 20% に達するといわれているが、昭和 50 年のわれわれの調査でも MIC 1 $\mu\text{g/ml}$ 以上の淋菌が全体の 60% をしめていた。SM おび SA (Sulfa 剤) に対しては 50% 以上が耐性をもち、療薬としての価値がこれらにはないともいえる。

現状で推移すれば淋菌の薬剤耐性または比較的耐性株ふえ、PPNG の R-plasmid が伝達されることにより新しい PPNG が生じ、淋病が今後治療困難な疾患の

1 つになる可能性も生じてくる恐れがある。

アメリカやイギリスでは、診断のための淋菌培養と治療判定のための培養検査を必須検査としている。このため PPNG の発見もその対策も容易にできた。アメリカでは、分離菌の感受性検査を励行して適切な薬剤の選択とそれによる治療を行うようになってから、PPNG の月間発生率が減少してきているという。淋菌の培養検査は容易にできる検査法となったため、日本でも励行し、組織だった検討を行うべきである。

6. 結 語

1977 年の分離淋菌のなかから、PC に耐性をしめす淋菌が 1 株検出された。この菌について検査を重ねた結果、penicillinase producing *Neisseria gonorrhoea* であることが判明した。この菌をもっていた患者は国外で感染し、帰国後発病しているが、他へは感染させていないようであった。

患者はたまたま PC アレルギーであると訴えたため、PC 以外の抗生剤で治療し、比較的短期間内に完治させていた。临床上ではこれが PPNG による感染とは気がつかないで経過してしまった 1 例であるが、世界中で問題にされている PPNG が日本ではじめて分離でき、各種の β -lactamase 検査によって PPNG であることが確認できたので報告した。

PPNG はすでに日本国内に侵入していたことが以上の諸検査から判明したが、今後これが定着しているかどうか問題になってくる。淋病診断のための淋菌培養検査を必須検査とし、各所で PPNG の動向を察知することができれば、性病対策だけでなく、医学的な価値も生じてくることになろう。

文 献

- 1) CATLIN, B. W. : Rapid iodometric test. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 7 : 265~270, 1975
- 2) THORNSBERRY, C. & L. A. KIRVEN : Rapid acidometric test. *Antimicrob. Agents & Chemoth.* 6 : 653~654, 1974
- 3) Center for Disease Control : Chromogenic cephalosporin Test. Identical Memorandum.
- 4) Disk Diffusion Test. *Weekly Epidem. Rec.* 51 : 293~294, 1976
- 5) WATKO, L. P. & W. J. BROWNLOW : Antibiotic susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolated in the Western Pacific in 1971 (U. S. A.). *Brit. J. Vener. Dis.* 51 : 34, 1975
- 6) SHANNON, R. ; A. J. HEDGES & R. J. EDWARDS : Distribution of levels of penicillin resistance among application of a novel sensitivity assay. *Brit. J. Vener. Dis.* 51 : 246, 1975
- 7) SHAHIDULLAH, M. & P. W. GREAVES : Minimum inhibitory concentrations of penicillin and minocycline for 300 isolates of *Neisseria*

- gonorrhoeae*. Brit. J. Vener. Dis. 51 : 265, 1975
- 8) The Sixteenth Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Chicago, 27~29, Oct. 1976
- 9) ARYA, O. P.; E. REES, A. PERCIVAL, C. D. ALERGANT, E. H. ANNELS & G. C. TURNER : Epidemiology and treatment of gonorrhoea caused by penicillinase-producing strains in Liverpool. Brit. J. Vener. Dis. 54 : 28~35, 1978
- 10) WHO : *Neisseria gonorrhoeae* producing penicillinase. Weekly Epidemiological Records 51 : 293. World Health Organisation, 1976

INITIAL ISOLATION OF A STRAIN OF *NEISSERIA GONORRHOEAE* PRODUCING BETA-LACTAMASE (PPNG) IN JAPAN

Clinical Symptom and Therapy of the Patient and Properties of the Isolate

YOICHI ONODA and ICHIKO MITSUI

Tokyo Metropolitan Taito Hospital

YASUSHI OBARA, SHIRO YAMAI and YASUSHI MIYAMOTO

Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory

MASAMI ASHIZAWA

Department of Epidemiology, Institute of Public Health

A strain of *Neisseria gonorrhoeae* producing beta-lactamase was initially isolated in Japan in October 1977. The patient was a male tourist coming back from South-East Asia through Bangkok where he presumably was infected. Although the latent period was relatively long (7 days) and the symptoms were slight, no other findings which could be distinguished from ordinary gonorrhoeae were observed. Since the patient was allergic to penicillin, the therapy was scheduled as follows which resulted in complete healing of the disease : On the 1st day 2g followed by 1g a day of KM on each 3rd and 5th day were injected intramuscularly. At the same time 250 mg of sigmamyacin were jointly administered daily every 6 hours for 4 days from the first day of treatment.

The strain 52-45 isolated was in complete agreement in morphology, staining- and biochemical properties with the standard strain of *N. gonorrhoeae*. Since the beta-lactamase activity was demonstrated by either of the three tests, *i. e.*, rapid iodometric, rapid acidometric, as well as chromogenic cephalosporin test, the strain was identified as PPNG.

The beta-lactamase activity of the strain was strongly affected by inoculum size (inoculum-size effect) with PCG, ABPC, and CER, but the effect was not so pronounced with MCIPC, CET, and CEX, to which, however, its activity proved weak. The enzyme was, therefore, presumed to be TEM type (Richmond Type III), and suspected of its plasmid origin. Among other drugs, it was susceptible against TC, CM, KM, and SPEC, excepting only SM to which it was resistant.

The introduction of PPNG from outside Japan was for the first time confirmed with this case, from which the initial isolation of PPNG in Japan was made as far as the domestic report was concerned, though CDC Weekly Report has listed one figure from Japan without touching its contents.