

核酸増幅検査による咽頭の淋菌 およびクラミジアの検出性の検討

余田 敬子 西田 超 新井 寧子

東京女子医科大学東医療センター 耳鼻咽喉科

Performance of three nucleic acid amplification tests for pharyngeal infection with *Neisseria gonorrhoeae* or *Chlamydia trachomatis*.

Keiko YODA, Suguru NISHIDA, Yasuko ARAI

Department of Otorhinolaryngology, Tokyo Women's Medical University Medical Center East

To evaluate performance of three nucleic acid amplification tests, Roche PCR, Becton Dickinson strand displacement amplification (SDA) and Fujirebio Transcription-Mediated Amplification (TMA), for detection of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis*, the two oropharyngeal specimens, throat washing and throat swab, were simultaneously obtained from 265 patients attending an ENT clinic with suspected pharyngeal disease or an STI clinic with suspected gonorrheal infection or chlamydial infection. PCR analysis was performed for detection of only *C. trachomatis*, and SDA and TMA analysis were performed for detection of *N. gonorrhoeae* and *C. trachomatis*. The number of specimens with a positive result in throat washings to throat swabs by PCR for *C. trachomatis*, by SDA for *N. gonorrhoeae*, by SDA for *C. trachomatis*, by TMA for *N. gonorrhoeae*, and by TMA for *C. trachomatis* were 16 to 9, 29 to 31, 19 to 16, 29 to 36, and 19 to 25, respectively. The detection performance of throat washings were superior than throat swabs by PCR and SDA for *C. trachomatis*, while throat swabs were superior than throat washings by TMA for *N. gonorrhoeae* and *C. trachomatis*. There was not so much of a difference of detection performance between throat washings and throat swabs by SDA for *N. gonorrhoeae*.

はじめに

性行動が多様化し、オーラルサービス主体の性風俗店の進出がめざましい日本においては、咽頭の性感染症は軽視できない状況にある。性感染症のうち罹患患者数が多い性器クラミジアと淋菌感染症そ

れぞれの原因微生物である *Chlamydia trachomatis* (以下クラミジア) *Neisseria gonorrhoeae* (以下淋菌) が咽頭へ感染した場合、多くの感染者が無症候性の状態で診断されている¹⁻³⁾。

淋菌およびクラミジア感染症の検査として、分

離培養，酵素抗体法，核酸検出法，核酸増幅法がある⁴⁾。淋菌では感染部位局所の菌量は，尿道，子宮頸管，直腸，咽頭の順に少なくなり，培養，遺伝子検査法ともに淋菌検出の正診率が低くなる⁵⁾。菌量が少ない咽頭からの淋菌・クラミジアの検出には最も感度が高い核酸増幅法を用いることが推奨される。核酸増幅法では，近年検体としてうがい液を推奨する報告もある⁶⁻⁸⁾。咽頭検体からの淋菌・クラミジアの核酸増幅検査には，現在 PCR (Polymerase chain reaction: ポリメラーゼ連鎖反応) 法のアンプリコア STD-1 ナイセリアゴノレアおよびアンプリコア STD-1 クラミジアトラコマティス (ロシユ・ダイアグノスティックス，以下 PCR と略す)，SDA (Strand Displacement Amplification: 鎖置換増幅) 法の BD プローブテック ET CT/GC (日本ベクトン・デッキンソン，以下 SDA と略す) の2つと，平成21年10月1日より TMA (Transcription-Mediated Amplification: 転写介在増幅) 法のアプティマコンボ2 (富士レピオ，以下 TMA と略す) が新たに保険収載された。このうち，口腔咽頭の常在性ナイセリアとの交叉反応が生じる PCR の淋菌検査に限り咽頭検体の検査は適応外で，PCR は咽頭検体においてはクラミジア検査のみの適応となっている。一方，SDA および TMA は咽頭の淋菌，クラミジア双方の検査が可能である。ただし，TMA は淋菌とクラミジア同時検査のみの適応で，淋菌，クラミジアどちらか一種のみの検査はできない。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。

われわれは，TMA の保険収載に先立ち，PCR，SDA，TMA の3つの核酸増幅検査それぞれの咽頭スワブとうがい液からの検出を行ったので，その結果を報告する。

研究 方法

耳鼻咽喉科 (当科) および性感染症クリニック (神奈川県川崎市堀之内) の2施設の受診者を対象に，被検者計 250 人を目標に 2008 年 9 月 1 日から開始した前向き研究を実施し，その結果を検討した。

1 対 象

耳鼻咽喉科では主に咽頭炎，扁桃炎，咽喉頭異常感症などの咽喉頭の症状を訴える受診者または咽頭の性感染症検査の希望者を，性感染症クリニックでは淋菌およびクラミジア感染症が疑われた受診者や性風俗従業女性を対象に研究への参加をお願いした。研究参加への同意は本学倫理委員会承認された説明文書を用いて口頭で説明を行い，文書にて研究参加の同意を得た。

2 検体採取

咽頭からの検体採取は，先にスワブ 4 本を採取し，その後生理食塩水 20mL を口に含ませ顔を上へ向けて「ガラガラ」と息を吐くうがいを 20 秒間施行後に口から直接 50mL の滅菌チューブに吐出させて採取した。性感染症クリニックでは，性器の検体として，男性からは尿，女性からは子宮頸管または膣スワブを咽頭検体と同日に採取した。

検 査 方 法

咽頭スワブ 4 本は淋菌培養⁹⁾，PCR，SDA，TMA それぞれに用いた。咽頭うがい液は PCR，SDA，TMA で検査した。性器検体からの淋菌およびクラミジア検出は SDA で行った (Table 1)。

うがい液は，採取後直ちに PCR，SDA，TMA それぞれの尿検査用のキットに必要な量を分注し，尿検査のプロトコールに従って検出した。

Table 1 Clinical specimens, nucleic acid amplification tests (NAATs), and items in this research.
a) PCR: Polymerase chain reaction.
b) SDA: Strand Displacement Amplification.
c) TMA: Transcription-Mediated Amplification.

検体	検査法	培養	検査項目
咽頭スワブ 4本	変法サイヤマーチン 寒天培地 (淋菌選択培地)	核 酸 増 幅 検 査	淋菌のみ
	PCR ^{a)}		クラミジア
	滅菌スワブ		淋菌
	SDA ^{b)}		クラミジア
	ウェットスワブ		淋菌
	TMA ^{c)}		クラミジア
うがい液 生食 10ml	PCR	クラミジアのみ	
	SDA	淋菌	
	TMA	クラミジア	
男性 尿	SDA	淋菌	
女性 膣または 子宮頸管 スワブ	SDA ウェットスワブ	淋菌	
		クラミジア	

Table 2 Result of the performance by PCR with throat swabs versus throat washings for detection of *C. trachomatis*.

PCR	うがい液						
	<i>N. gonorrhoeae</i>			<i>C. trachomatis</i>			
	+	-	計	+	-	計	
スワブ	+	ND	ND	ND	9	0	9
	-	ND	ND	ND	7	248	255
	計	ND	ND	ND	16	248	264*

ND: not done. * 1例 うがい液 未採取

Table 3 Result of the performance by SDA with throat swabs versus throat washings for detection of *N. gonorrhoeae* and *C. trachomatis*.

SDA	うがい液						
	<i>N. gonorrhoeae</i>			<i>C. trachomatis</i>			
	+	-	計	+	-	計	
スワブ	+	24	7	31	16	0	16
	-	5	227	232	3	244	247
	計	29	234	263#	19	244	263#

2例 うがい液 判定不可

Table 4 Result of the performance by TMA with throat swabs versus throat washings for detection of *N. gonorrhoeae* and *C. trachomatis*.

TMA	うがい液						
	<i>N. gonorrhoeae</i>			<i>C. trachomatis</i>			
	+	-	計	+	-	計	
スワブ	+	27	9	36	18	7	25
	-	2	226	228	1	238	239
	計	29	235	264‡	19	245	264‡

‡ 1例 うがい液 判定不可

結 果

今回の検討期間中に本研究に参加した被験者は、耳鼻咽喉科 15 人、性感染症クリニック 250 人、計 265 人であった。年齢分布は 18 歳から 60 歳、平均年齢は 30.4 歳、年齢中央値は 29 歳であった。

咽頭スワブからの淋菌培養

咽頭スワブからの淋菌培養の結果は、陽性が 2 人、陰性が 248 人であった。

核酸増幅法によるうがい液と咽頭スワブの検出性の比較

1) PCR

PCR によるクラミジア検査は、被験者 1 人に PCR 用のうがい液の採取漏れがあり、これを除く 264 人の結果で検討した。うがい液

とスワブとも陽性が 9 人、スワブのみ陽性が 7 人、うがい液のみの陽性者はなく、双方とも陰性が 248 人であった (Table 2)。

2) SDA

SDA による淋菌、クラミジア検査ともに、うがい液では判定不能であったがスワブでは判定できた 2 検体を除く 263 人の結果で検討した。淋菌検査は、うがい液とスワブ双方陽性が 24 人、うがい液のみ陽性が 5 人、スワブのみ陽性が 7 人、双方とも陰性が 227 人であった。クラミジア検査は、うがい液とスワブ双方陽性が 16 人、うがい液のみ陽性が 3 人、スワブのみの陽性者はなく、双方とも陰性が 244 人であった (Table 3)。

3) TMA

TMA による淋菌、クラミジア検査とも、

うがい液では判定不能であったがスワブでは判定できた1検体を除く264人の結果で検討した。淋菌検査は、うがい液とスワブ双方陽性が27人、うがい液のみ陽性が2人、スワブのみ陽性が9人、双方とも陰性が226人であった。クラミジア検査は、うがい液とスワブ双方陽性が18人、うがい液のみ陽性が1人、スワブのみ陽性が7人、双方とも陰性が238人であった (Table 4)。

考 察

今回の検討で、淋菌選択培地を用いて淋菌を培養同定できたのは2検体で、核酸増幅検査による淋菌陽性検体数に比べて少なく、咽頭からの淋菌・クラミジアの検出には核酸増幅法が適していることが支持された。核酸増幅検査におけるうがい液とスワブとの陽性検体数の比較では、PCRによるクラミジア検出はうがい液の方がスワブを上回っており、SDAによる淋菌検出はうがい液とスワブで同等、SDAによるクラミジアの検出性はうがい液の方がスワブを上回っていた。TMAは淋菌検出もクラミジア検出ともにスワブの方がうがい液を上回っていた。

他覚的所見に乏しい淋菌およびクラミジアの咽頭感染の場合、スワブではしっかり咽頭後壁粘膜を擦過して採取する、うがい液では食事や歯磨きの前に15ml前後の生理食塩水で10秒以上しっかりうがいをし、ことにより検出性は安定すると考えられる。

これまでのうがい液とスワブとの検出性の比較から、TMAでは咽頭スワブ検体で申請し認可を得ている。SDAではうがい液での承認追加が検討されている。PCRについては咽頭淋菌検査様にうがい液に対応した新しい検査キットが開発段階で、今後、さらに咽頭の淋菌およびクラミジア検査の検出性の向上が期待されている。

文 献

- 1) 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.
- 2) 田中正利: 新興・再興感染症 耳鼻咽喉科における性感染症—淋菌の咽頭感染について. 日耳鼻, 107: 760-763, 2004.
- 3) 村谷哲郎, ほか: 淋菌感染症の現況と対策. 化療の領域, 21: 1107-1112, 2005.
- 4) 余田敬子, ほか: 咽頭からの淋菌およびクラミジア検出方法の検討 日耳鼻感染症研会誌, 26: 153-157, 2008.
- 5) 松本哲朗, ほか: 性感染症 診断・治療ガイドライン 2008 疾患別診断と治療 淋菌感染症. 日性感染症会誌, 19 suppl. 49-56, 2008.
- 6) Papp JR, et al: The use and performance of oral-throat to detect pharyngeal *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infections. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 59: 259-264, 2007.
- 7) 余田敬子, ほか: うがい液を検体とした *Neisseria gonorrhoeae* および *Chlamydia trachomatis* 咽頭感染の診断—咽頭スワブとの比較検討—, 日性感染症会誌, 18: 115-120, 2007.
- 8) 余田敬子, ほか: プローブテックを用いた口腔咽頭からの淋菌・クラミジア検査の検討. 口咽科, 18: 445-451, 2006.
- 9) 西山貴子, 雑賀 威, 小林寅喆, 他: 咽頭材料からの *Neisseria gonorrhoeae* 検出用培地, 変法 Thayer-Martin 寒天培地 (m-TM) の有用性. 感染症誌, 75: 573-575, 2001.

連絡先: 余田敬子

〒116-8567

東京都荒川区西尾久2-1-10

東京女子医科大学東医療センター耳鼻咽喉科