

膣トリコモナスおよびマイコプラズマ・ジェニタリウム 同時核酸検出キットcobas® TV/MG

Cobas® TV/MG, a nucleic acid testing assay for the detection of
Trichomonas vaginalis and Mycoplasma genitalium

やま ぎし ゆ か
山 岸 由 佳
Yuka YAMAGISHI

はじめに

膣トリコモナス核酸およびマイコプラズマ・ジェニタリウムについて同時に核酸検出が可能な対外診断用医薬品として、2022年7月にロシュ・ダイアグノスティックス株式会社が発売した「cobas® TV/MG」(以下、本法)(製造販売承認番号:30300EZX00066000)が承認された。本稿で承認の背景や検査概要などについて述べる。

I. 背景

膣トリコモナス (*Trichomonas vaginalis*) は性感染症の一つで、*T. vaginalis* の検査はこれまで光学顕微鏡を用いて直接鏡検する方法とトリコモナス培地を用いた培養法が行われていた。前者は女性の検体を用いた場合の診断率は60%程度と報告されている¹⁾。後者は感度は90%以上であるが診断に1週間以上の日数を要する²⁾。また、マイコプラズマ・ジェニタリウムは男性の尿道炎の約10%から検出される原因微生物の1つである³⁾。検査は、遺伝子検査が可能で、PCR/インバーター法 (STDマイコプラズマ同定; *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. parvum*, *U. urealyticum* の4菌種を同時に測定できるマルチプレックスPCR法)⁴⁾ や、TMA法 (アプティマ®マイコプラズマ・ジェニタリウム Assay)⁵⁾ があるが、国内ではこれまで保険収載されていなかった。また性感染症において原因となる細菌の薬剤耐性が問題となっている。マイコプラズマ・ジェニタリウムの

治療は第一選択薬としてマクロライド系薬であるアジスロマイシン、第二選択薬としてキノロン系薬であるシタフロキサシンが推奨されている⁶⁾ が、それぞれ薬剤感受性は近年耐性化がみられている⁷⁾ ことから、薬剤耐性をこれ以上増やさないためにも適切な診断が喫緊の課題であった。

そのような中、海外では、主要な各社で各種検査がラインナップされており、例えば、Seegene社では主要な4つの性感染症の原因微生物である *Chlamydia trachomatis* (CT)、*Neisseria gonorrhoeae* (NG)、*M. genitalium* (MG)、*T. vaginalis* (TV) の4種を multiplex real-time PCR法で測定可能な Allplex™ を発売している⁸⁾。Abbott社も同様の4菌種を multiplexで測定可能 RT-PCR法の ALINITY® m STI ASSAY を発売している⁹⁾。Hologic社では Panther® System を用いて Aptima® STIsにより1つの膣スワブから最大7つの微生物 (*C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis*, *M. genitalium*, Herpes simplex viruses 1・2, Zika virus) を検査することが可能である¹⁰⁾。このように、世界的に遺伝子検査が主要な検査となっている。

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社はリアルタイムPCR法を用いた自動測定装置コバス6800/8800システムを有しているが、このたびこの専用試薬として膣トリコモナスとマイコプラズマ・ジェニタリウムの核酸を同時に検出できる本法を開発した。膣トリコモナスのアッセイは5.8S rRNAをターゲットとしており、1検体200コピー数である。マイコプラズマ・ジェニタリウムは、mgpBの'A'領域をシングルコピーとmgpB'EF'領域を9コピー

のデュアルターゲットを有している。1検体で両方のアッセイを行うことが可能である¹¹⁾。2018年に欧州で、2019年に米国でそれぞれ発売している。

II. 本法の使用目的

本法の使用目的は、「尿、膣擦過物又は子宮頸管擦過物中の膣トリコモナス DNA 及びマイコプラズマ・ジェニタリウム DNA の検出（膣トリコモナス感染又はマイコプラズマ・ジェニタリウム感染の診断の補助）」である。

III. 本法の検査方法¹²⁾

1. 検体採取と試料の準備

測定試料には、尿、膣擦過物又は子宮頸管擦過物から抽出した核酸溶液を用いる。検体の採取法は、尿（初尿）検体の場合は、最後の排尿から少なくとも1時間以上経過していることが確認されることが必要で、尿採取容器に初尿を採取し、「コバス PCR 尿・うがい液採取セット II」又は「コバス PCR 尿・うがい液採取セット II（ピペット付）」に記載されている適量を移し、蓋をしっかりと閉め、5回転倒混和する。一方、膣擦過物（膣スワブ）および子宮頸管擦過物（子宮頸管スワブ）の場合は、採取後直ちに

「コバス PCR スワブ検体採取セット III」に移す。いずれも検体輸送・保存は2～30℃とし、凍結は不可で、保存は採取から1年以内となっている。

2. 内因性妨害物質

内因性妨害物質に関する検討は、表に示す濃度までは影響は認められていない（表1）。また、外因性妨害物質については、カルボマー（カルボキシビニルポリマー）を含んでいる3製品（Metronidazole Vaginal Gel, Replens, Rep Hresh）において通常検体に存在しうる濃度で本法への影響（偽陰性化もしくはは無効な結果）が認められた（Azo Standard は尿検体のみ検討）（表2）。したがって、膣潤滑剤、クリーム、ゲルなどカルボマーを含む製品は、検査結果に影響する可能性があるため、子宮頸管擦過物および尿の採取中または採取前に使用しないように注意が必要である。

表1 内因性妨害物質

物質名	尿検体	スワブ検体
アルブミン	0.5% (w/v)	N/A*
ビリルビン	1.0% (w/v)	N/A*
粘液	あり**	あり**
グルコース	1.0% (w/v)	N/A*
末梢血単核細胞	1.0E+06 cells/mL	1.0E+06 cells/mL
pH	pH4, pH9	N/A*
精液	13 mg/mL	22 mg/mL
全血	10% (v/v)	10% (v/v)

*N/A: 該当なし

**あり: 子宮頸管擦過物採取時にスワブで拭った粘液を添加

表2 海外製品における本法への影響の有無

本法への影響が確認されなかった製品（海外製品名）	本法への影響が確認された製品（海外製品）
Clindamycin Phosphate Vaginal Cream	Metronidazole Vaginal Gel**
Monistat Complete Care Itch Relief Cream	Replens Long-Lasting Vaginal Moisturizer**
Yeast Gard Advanced	RepHresh Clean Balance**
CVS tioconazole 1 (Equate tioconazole 1)	
Gyne-Lotrimin 7	
Glacial acetic acid	
Equate Vagaine Anti-Itch Cream	
Norforms Suppositories	
Azo Standard (Urine only)	
Estrace	
Premarin	
K-YTM UltraGel (Replaces KY Silk E)	
Arilin rapid vaginal suppositories*	
Summer's Eve Feminine Deodorant Spray	
Vagi Metro Cream*	
Monistat 3 Vaginal Antifungal Combination Pack	
Vaginal Contraceptive Foam	
Nidazea Gel*	

*: Sandozによるメトロニダゾール膣ゲルと対照的に、影響を示さなかったメトロニダゾールを含む製品

** : Metronidazole Vaginal Gel, Replens及びRepHreshは、臨床検体に存在する可能性のあるレベルで影響が確認された。

（表1, 2は文献12）より一部改変して掲載）

3. 交差反応性

交差反応性については、102種の微生物について検討された結果、真菌・細菌は1.0E+06各単位/mL、ウイルスは1.0E+05各単位/mLの濃度まで本法への影響は確認されなかった。ただし、*Trichomonas tenax*については、1.0E+04 cells/mLの濃度までは本法への影響は確認されていない。

腔トリコモナスに属する8種類の株およびマイコプラズマ・ジェニタリウムに属する5種類の株に対する本法の反応特異性について、表3の濃度において95%以上の陽性率（陽性と判定された測定数/有効であった測定数×100）を示すことが確認されている（表3）。

4. コンタミネーション

コンタミネーションについては、増幅されたDNAのキャリアオーバーコンタミネーションによる偽陽性はマスターミックス2の添加物や基質の成分の違いから防止可能である。基本的なクロスコンタミネーション防止策（分注時のバイオセーフティー/バイオハザード環境、微生物や核酸分解酵素の回避、環境消毒など）は講じる必要がある。

表3 本法の反応特異性

TV株	尿検体 (cells/mL)	スワブ検体 (cells/mL)
C-1:NIH	0.07	0.24
123414	0.07	0.24
129155-8	0.07	0.24
CDC337	0.07	0.24
NYH 209	0.07	0.24
PRA-98	0.07	0.24
801805	0.07	0.24
BACT-053LR01	0.07	0.24
MG株	尿検体 (copies/mL)	スワブ検体 (copies/mL)
SEA-1	0.8	5.0
M2288	0.8	5.0
M2300	0.8	5.0
M2321	0.8	5.0
M2341	0.8	5.0

IV. 本法に用いる測定機器

本法の測定のうち、試料の調整から増幅・測定までは「cobas®5800システム」「cobas®6800システム」「cobas®8800システム」が自動で行う。これら遺伝子検査装置cobas®は、検体の調整からリアルタイムPCRまでのワークフローを統合した自動化システムで、1回のランで操作は2回となっている。処理能力は、例えばcobas®6800システムの場合、最短3時間で最大96件の検査が可能である。本法は、このcobas®システムを使用して行うキットであるが、本法以外にもB型肝炎・C型肝炎やヒトパピローマウイルス（HPV）、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）など様々なキットがあり、組み合わせ検査では、事前にソートをすることなく、同じランで最大3種類の検査を実施することができる。また、ひとつの検体から最大3種類の検査が可能である。試薬カートリッジは、解凍や混合、分注などの操作が必要で、RFIDおよびバーコードにより測定から結果の出力までのトレーサビリティが実現可能な機器である。自動化オンボードストレージと冷蔵システムによって、消耗品と試薬の在庫管理の手間を減らし、シンプルになっている。

検査のオーダーから結果の一連の流れは、一方向および双方向の検査情報システム（LIS）インターフェースを備えているため簡便である¹³⁾。

V. 本法の特性・性能と、得られる効果¹²⁾

腔トリコモナスおよびマイコプラズマ・ジェニタリウム株の希釈系列試料を作製し95%以上の陽性率（陽性と判定された測定数/有効であった測定数×100）を示す最小検出濃度をLoDと定義した結果、各株のLoDは表4のとおりであった（表4）。

有効測定値について、管理用試料1と管理用試料2を8回同時測定した場合、「管理用試料1」の腔ト

表4 本法の最小検出感度（LoD）

	TV RP株 (cells/mL)	TV CDC085株 (cells/mL)	MG MG37株 (copies/mL)	MG M30 (copies/mL)
尿	0.1	0.03	0.5	1
腔擦過物	0.3	0.075	4	4
子宮頸管擦過物	0.2	0.2	2	2

（表3, 4は文献12)より一部改変して掲載）

リコモナスDNAのCt値32.9～37.3、「管理用試料1」のマイコプラズマ・ジェニタリウムDNAのCt値33.9～38.5、「管理用試料1」の内部コントロールDNAのCt値27.4～31.3、「管理用試料2」の内部コントロールDNAのCt値27.4～31.3であった。

海外で検証された結果を表5、国内で検証された結果を表6に示す。米国で家族計画・産科・産婦人科・性感染症クリニックより集めた2,154症例を対象に、本法の測定結果と米国の実臨床で使用されている培養法および複数の核酸検出法に基づき決定した患者感染状態 (Patient Infection Status: PIS) との比較で、膣トリコモナス検出の全体一致率98.0%、マイコプラズマ・ジェニタリウム検出の全体一致率97.1%を示した (表5)。日本で収集された尿道炎、膣トリコモナス症、細菌性膣症の患者もしくは疑いのある患者1,297症例を対象に、培養法および国内未承認品の核酸検出法 (キットA) を臨床診断と定義し、本法の測定結果との比較ではTV検出の全体

一致率97.5%、MG検出の全体一致率96.4%を示した (表6)。

国内5施設で、2020年1月から8月までの間に行われた臨床性能評価の結果を示す。対象は尿道炎、膣トリコモナス症、細菌性膣症、子宮頸管炎または疑いがあり、尿または膣擦過物検体での膣トリコモナスおよびマイコプラズマ・ジェニタリウム検査を行った1,297例 (男性221例、女性1,086例) で、対照試験については、膣トリコモナスはトリコモナス-RY培地による培養結果、マイコプラズマ・ジェニタリウムはAptimaマイコプラズマジェニタリウム Assayの結果を対照試験としている。その結果、膣トリコモナスの検出において培養法との全体一致率は97.5% (1,377/1,412)、マイコプラズマ・ジェニタリウムの検出においてAptimaマイコプラズマジェニタリウム Assayとの全体一致率は96.4% (1,351/1,402)であった¹⁴⁾。本研究結果から、cobas® TV/MGは、臨床検査試薬として十分使用できることが示された。

表5 本法の海外臨床試験結果

		PIS				感度	特異度
			感染	非感染	計		
TV (女性尿)	本キット	陽性	167	12	179	97.7	98.7
		陰性	4	894	898		
		計	171	906	1,077		
			感染	非感染	計		
TV (膣擦過物)	本キット	陽性	170	29	199	99.4	96.8
		陰性	1	877	879		
		計	171	906	1,077		
			感染	非感染	計		
TV (子宮頸管擦過物)	本キット	陽性	166	17	183	97.6	98.1
		陰性	4	887	891		
		計	170	904	1074		
			感染	非感染	計		
TV (男性尿)	本キット	陽性	23	15	38	100	98.4
		陰性	0	945	945		
		計	23	960	983		
			感染	非感染	計		
MG (女性尿)	本キット	陽性	51	31	82	86.4	97.0
		陰性	8	1099	1017		
		計	59	1040	1099		
			感染	非感染	計		
MG (膣擦過物)	本キット	陽性	57	31	88	96.6	97.0
		陰性	2	1011	1013		
		計	59	1042	1101		
			感染	非感染	計		
MG (子宮頸管擦過物)	本キット	陽性	49	17	66	83.1	98.4
		陰性	10	1023	1033		
		計	59	1040	1099		
			感染	非感染	計		
MG (男性尿)	本キット	陽性	60	24	84	100	97.6
		陰性	0	961	961		
		計	60	985	1045		
			感染	非感染	計		

(文献12)より一部改変して掲載

表6 本法の国内臨床試験結果

		臨床診断 (培養法)			感度	特異度	
			感染	非感染			計
TV (女性尿)	本キット	陽性	8	24	100	96.9	
		陰性	0	753			753
		計	8	777			785
			感染	非感染			計
TV (腔擦過物)	本キット	陽性	14	10	100	97.5	
		陰性	0	393			393
		計	14	403			417
			感染	非感染			計
TV (男性尿)	本キット	陽性	1	1	100	99.5	
		陰性	0	208			208
		計	1	209			210
			感染	非感染			計
		臨床診断 (キット A)					
MG (女性尿)	本キット	陽性	127	8	88.2	98.7	
		陰性	17	630			647
		計	144	638			782
			感染	非感染			計
MG (腔擦過物)	本キット	陽性	99	1	81.8	99.7	
		陰性	22	295			317
		計	121	296			417
			感染	非感染			計
MG (男性尿)	本キット	陽性	25	0			
		陰性	3	175			178
		計	28	175			203
			感染	非感染			計

(文献12)より一部改変して掲載)

VI. 本法で得られる効果

推定適用患者数は、推定適用患者数(ピーク時)初年度4,243,190人/年、市場規模予測(ピーク時)予測年度5年度 本体外診断用医薬品使用患者数672,060人/年、予測販売金額4,700,000,000円/年が推定されている¹⁵⁾。

VII. 保険点数と適用

準用保険点数は、D023 微生物核酸同定・定量検査 10HPV 核酸検出 350点を参考に保険点数が350点と定められた¹²⁾。添付文書では、保険診療を行うに際し「腔トリコモナス核酸及びマイコプラズマ・ジェニタリウム同時核酸検出は、リアルタイムPCR法により、腔トリコモナス感染症を疑う患者であって、鏡検が陰性又は実施できないもの又はマイコプラズマ・ジェニタリウム感染症を疑う患者に対して治療法選択のために実施した場合及び腔トリコモナス感染症又はマイコプラズマ・ジェニタリウム感染症の患者に対して治療効果判定のために実施した場合に算定する」という条件となっている¹⁵⁾。

日本性感染症学会から2022年9月20日に子宮頸管炎の診断・治療の流れと、非淋菌性尿道炎の診断・治療の流れについて文書が提案された^{16,17)}。

子宮頸管炎の診断・治療の流れでは、初診日は①帯下異常や不正性器出血を主訴に受診、②問診、自覚症状(帯下の性状、量)、性交歴を聴取、③腔鏡診、帯下の性状、出血、腔壁の発赤を確認、④子宮頸管スワブ検体を採取してクラミジア・トラコマティスと淋菌の核酸増幅法検査を実施すると同時に、腔分泌物生標本にてトリコモナス原虫の有無を確認する。再診日では⑤クラミジア・トラコマティスと淋菌が陰性であれば、約1~2週間経過観察を行う。自覚症状が改善しなければ、子宮頸管スワブ検体を採取しマイコプラズマ・ジェニタリウムと腔トリコモナスの核酸増幅法検査を提出する、⑥クラミジア・トラコマティスと淋菌が同時または一方が陽性であった場合は、感受性を有する抗菌薬を投与し治癒を確認する。治癒確認後、約1~2週間経過しても自覚症状の改善がなければ、子宮頸管スワブ検体を採取しマイコプラズマ・ジェニタリウムと腔トリコモナスの核酸増幅法検査を提出する、⑦マイコプラズマ・ジェニタリウムが陽性であれば、シタフロキサシン(STFX)またはミノサイクリン(MINO)

またはドキシサイクリン (DOXY) を処方、⑧脛トリコモナスが陽性であれば、メトロニダゾール (MNZ) を処方、⑨2週間以上あけて、マイコプラズマ・ジェニタリウム、脛トリコモナスの消失を核酸増幅法検査により確認する、としている。また非淋菌性尿道炎の診断では、初診日は①尿道炎で受診、②問診（潜伏期）、自覚症状（症状の強弱や尿道分泌物の性状）やグラム染色等にて淋菌性尿道炎が否定された場合、もしくは、問診（潜伏期）、自覚症状（症状の強弱や尿道分泌物の性状）やグラム染色等にて非淋菌性尿道炎を強く疑った場合、③クラミジア・トラコマティスとマイコプラズマ・ジェニタリウムの核酸増幅法検査提出、もしくは、クラミジア・トラコマティス（と淋菌）とマイコプラズマ・ジェニタリウムの核酸増幅法検査提出、④非淋菌性尿道炎（クラミジア性尿道炎）として処方、再診日では⑤1～2週間後に再診し、クラミジア・トラコマティスが陰性、マイコプラズマ・ジェニタリウムが陽性、膿尿持続⑥シタフロキサシンまたはミノサイクリンまたはドキシサイクリンを処方、そして治療確認として⑦1～2週間後に再診し、治療確認としている¹⁷⁾。

おわりに

本法は、脛トリコモナス、マイコプラズマ・ジェニタリウムを対象とした、保険適用を有する遺伝子検査として初めての検査法である。前述した子宮頸管炎、非淋菌性尿道炎の診断・治療において本法を適切に用いることで、子宮頸管炎や非淋菌性尿道炎症例における治療効果と予後改善に寄与できるものと思われる。

文 献

- 1) Wiese W, Patel SR, Patel SC, et al. A meta-analysis of the Papanicolaou smear and wet mount for the diagnosis of vaginal trichomoniasis *Am J Med* 2000; **108**: 301-308.
- 2) Patel SR, Wiese W, Patel SC, et al. Systematic review of diagnostic tests for vaginal trichomoniasis. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2000; **8**: 248-257.
- 3) 伊藤晋, 安田満, 前田真一, 他. 男子尿道炎における淋菌, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum* およびインフルエンザ菌の検出率. *日本性感染症誌*. 2013; **24**: 90-96.
- 4) Takanashi M, Ito S, Kaneto H, et al. Development and clinical application of an InvaderPlus[®] assay for the detection of genital mycoplasmas. *J Infect Chemother* 2015; **21**: 516-519.
- 5) Tabrizi SN, Costa AM, Su J, et al. Evaluation of the Hologic Panther Transcription-Mediated Amplification Assay for Detection of *Mycoplasma genitalium*. *J Clin Microbiol* 2016; **54**: 2201-2203.
- 6) 一般社団法人 日本性感染症学会編. 性感染症診断・治療ガイドライン2020. 10. マイコプラズマ感染症. 東京: 株式会社診断と治療社, 2020年12月28日, P. 92-99
- 7) Deguchi T, Ito S, Yasuda M, et al. Surveillance of the prevalence of macrolide and/or fluoroquinolone resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium* in Japan. *J Infect Chemother* 2018; **24**: 861-867.
- 8) https://www.seegene.com/assays/allplex_ct_ng_mg_tv_assay (2023年1月15日アクセス)
- 9) <https://www.molecular.abbott/int/en/products/infectious-disease/alinity-m-sti-assay> (2023年1月15日アクセス)
- 10) <https://www.hologic.com/hologic-products/diagnostic-solutions/aptima-stis> (2023年1月15日アクセス)
- 11) Van Der Pol B. A profile of the cobas[®] TV/ MG test for the detection of *Trichomonas vaginalis* and *Mycoplasma genitalium*. *Expert Rev Mol Diagn*. 2020 Apr; **20**(4): 381-386.
- 12) ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社. 脛トリコモナス核酸キット. マイコプラズマジェニタリウム核酸キット. コバス[®] TV/MG 添付文書. 2023年2月改訂(第3版)
- 13) ロシュ. cobas[®] 6800 システム. (<https://diagnostics.roche.com/jp/ja/products/instruments/cobas-6800-ins-2693.html>) (2023年1月15日アクセス)
- 14) 高橋聡, 保科真二, 野村真康, 他. *Trichomonas vaginalis*/*Mycoplasma genitalium* 検査試薬「cobas[®] TV/MG」の臨床性能評価. *日本性感染症学会* 2022; **32**: 51-57.
- 15) 臨床検査の保険適用について(令和4年6月取載予定) (<https://www.mhlw.go.jp/content/12404000/000942907.pdf>) (2023年1月15日アクセス)
- 16) 日本性感染症学会. 子宮頸管炎の診断・治療の流れ (http://jssti.umin.jp/pdf/shikyukeikanen_220920.pdf) (2023年1月15日アクセス)
- 17) 日本性感染症学会. 非淋菌性尿道炎の診断・治療の流れ (http://jssti.umin.jp/pdf/hirinkinseinyoudouen_220929.pdf) (2023年1月15日アクセス)