尿路性器感染症における *Chlamydia trachomatis* の検討

C. trachomatis の分離および ELISA による *C. trachomatis* 抗体の測定

長崎大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 斉藤 泰教授)

下 前 英 司

STUDY OF CHLAMYDIA TRACHOMATIS IN UROGENITAL DISEASE Isolation of *C. trachomatis* and measurement of antibody to *C. trachomatis* by ELISA technique

Hideshi Shimomae

Department of Urology, Nagasaki University School of Medicine, Nagasaki, Japan

(Director: Prof. Yutaka Saito)

In order to confirm the relationship of *Chlamydia trachomatis* to male urethritis and prostatitis, isolation of *C. trachomatis* from the patients and measurement of antibody titer to *C. trachomatis* were performed. Hela 229 cell culture was used to isolate *C. trachomatis* and an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for *C. trachomatis* specific Ig-G was employed using purified *C. trachomatis* type L₂ EBs. Antibody titers obtained by the ELISA was compared with the titers obtained by the indirect immunofluorescent antibody technique (IFA). The results were as followed.

1. *C. trachomatis* was isolated from 25 (34.7%) out of 72 nongonococcal urethritis (NGU) cases, 5 (13.1%) out of 38 gonococcal urethritis (GU) cases and 2 (3.3%) out of 60 prostatitis (NBP) cases.
2. Positive rate Ig-G antibody against *C. trachomatis* by ELISA was 57.1% in NGU, 33.3% in GU, 30.3% in prostatitis and 24.1% in control.
3. Positive rate of Ig-G antibody in patients with *C. trachomatis* positive urethritis was 72.7%.
4. A good correlation ($r=0.87$) was found between ELISA and IFA method. For the detection of antibody to *C. trachomatis* ELISA was 4~8 times more sensitive than IFA.

要旨: *Chlamydia trachomatis* (以下 *C. trachomatis* と略す) が男子尿道炎または慢性前立腺炎に関与しているか否かを検討する目的で、患者からの *C. trachomatis* の分離と、血清抗体 (IgG) 測定を行なった。*C. trachomatis* の分離は全例尿道擦過物を検体とし、Hela 229細胞を用いた細胞培養法により行なった。抗体測定は、*C. trachomatis* L₂ (L₂/434/Bu) 株 EB を単一抗原とした酵素抗体法 (ELISA) で行ない、蛍光抗体法 (IFA) と比較検討した。非淋菌性尿道炎 (NGU) 72例中25例 (34.7%)、淋菌性尿道炎 (GU) 38例中5例 (13.5%)、慢性前立腺炎 (NBP) 60例中2例 (3.3%) に *C. trachomatis* が分離された。Ig-G 抗体陽性率は、NGU 57.1%、GU 33.3%、NBP 30.3%であり NGU において有意に高率であった ($p<0.01$)。また *C. trachomatis* 陽性尿道炎患者の Ig-G 陽性率は72.7%で陰性患者の陽性率より有意に高率であった ($p<0.01$)。Ig-G 抗体は、*C. trachomatis* が分離された時点より3ヵ月目頃まで陽性を示し、以後下降する傾向があった。以上より男子非淋菌性尿道炎と *C. trachomatis* の関連性が示唆された。さらに ELISA 法による血清抗体測定は IFA 法に比し4ないし8倍感度がすぐれ、一度に多くの検体を測定できることから臨床的に有用と思われた。

緒 言

C. trachomatis は従来よりトラコーマの病原体とされており、1957年¹⁾ 発育鶏卵を用いた培養により、さらには1965年²⁾ McCoy 細胞を用いた細胞培養により分離可能となった。一方1966年 Dunlop³⁾ が尿道炎から *C.*

trachomatis を分離したのを契機に尿道炎との関連性が示唆されるに至り、1980年代の非淋菌性尿道炎の増加とも相まって、欧米諸国を中心に性行為感染症としての本病原の関与がさらに注目される様になった。本邦においてもここ数年 *C. trachomatis* に対する関心

の高まりと共に、*C. trachomatis* に関する幾多の報告が見られる。今回著者は、男子尿道炎および慢性前立腺炎患者について、*C. trachomatis* の分離培養を試み、併わせて *C. trachomatis* に対する血清抗体 (Ig-G) 測定を行ない、*C. trachomatis* との関連性につき検討した。抗体測定には Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 法を用い従来の蛍光抗体法と比較検討した。

対象および方法

1. 対象

昭和59年11月より昭和61年2月までの16ヵ月間に当院および関連病院泌尿器科を受診した男子尿道炎患者 (NGU 72名, GU 38名) および慢性前立腺炎患者60名を対象とした。尿道炎患者は未治療例、慢性前立腺炎患者は受診前少なくとも1ヵ月以上の投薬休止期間のある者で、前立腺マッサージ後の尿培養にて細菌を認めない者とした。さらに過去3ヵ月間尿路性器系症状を訴えない成人男子を対照群とした。

2. 方法

[1] 検体採取

滅菌尿道 Swab を外尿道口より約4cm挿入し、十分に尿道粘膜上皮を擦過後 sucrose phosphate glutamate (SPG と略す) 培地 (Sucrose 75g, KH_2PO_4 0.52g, Na_2HPO_4 1.22g, Glutamate 0.72g, H_2O 1 l, pH 7.5) 1.5ml 中で swab を洗浄。これを検体とした。なお検体使用まで -70°C で凍結保存した。

[2] *C. trachomatis* の分離

Hela 229細胞を用い Kuo ら⁴⁾の方法に準じた (Table 1)。平底24well microplate (Nunc 社) の各 well 内の cover slip ($\phi 15\text{mm}$) 上に Hela 229細胞の monolayer を作成。DEAE-Hank's 液 (DEAE-Dextran $30\mu\text{g}/\text{ml}$) にて2回洗浄後、各 well に検体0.2 ml を分注。25°C, 2,000rpm, 1時間遠心後さらに37°C にて1時間静置接種した。検体除去後 cycloheximide $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 濃度の10%FCS 加 MEM-Eagle (ニッスイ) 1 ml を加え、37°C 72時間培養。cover slip を Giemsa 染色にて観察し、封入体が1個でもあれば *C. trachomatis* 陽性とした。

[3] 抗体価測定

a. 抗原作成

ELISA 用抗原は *C. trachomatis* L₂ (L₂/434/Bu) 株の基本小体 (EB) を用いた。EB の精製は Caldwell ら⁵⁾の方法に準じた (Table 2)。すなわち48時間培養で90%以上に封入体を形成させた Hela 229細胞を SPG

Table 1 Procedure for isolation of *C. trachomatis* using Hela 229 cell culture.

Table 2 Procedure for purification of *C. trachomatis* EB from infected Hela 229 cell

に浮遊させ、氷中20秒2回の sonication 後、4°C, 500 g にて10分間遠心。上清を30,000g, 30分遠心後沈渣を sonication し SPG に浮遊させた後35%ウログラフィンに重層し、43,000g にて1時間遠心 (RSP-65, HITACHI)。沈渣を再度 SPG に浮遊させ3,000g 30分遠心にてウログラフィンを充分取り除き、SPG に浮遊させ抗原とした。

b. Ig-G 抗体価測定

Table 3 ELISA Method

① ELISA 法 : Table 3 にその概要を示した。すなわち ELISA 用96穴 microplate (Nunc 社) の各 well に carbonat buffer (pH 9.6) にて希釈した EB 抗原および対照として carbonate buffer のみをそれぞれ 100μl 分注。4 °C, 2,000rpm 1 時間の遠心後さらに一晚静置し抗原を固相した。抗原除去後 2% bovin serum albumin で室温60分間 block, PBS にて 3 回洗浄後倍数希釈系列の被検血清100μl を分注し37°C 60分 incubate した。血清を除去洗浄後5,000倍希釈の per-oxydase 標識抗ヒト Ig-G ヤギ血清 (タゴ社) 100μl を二次抗体として加え、37°C, 60分間の incubate 後 O-phenyldiamine にて15分間発色反応させ、2N-H₂SO₄ にて反応停止後492nm における吸光度をそれぞれ測定した。測定には SLT 210 Autoanalyser (ラボサイエンス社) を使用した。各血清の吸光度は EB を固相した well の吸光度から対照抗原の吸光度を差し引いた値で表わした。

② 蛍光抗体法 (IFA) : Table 4 にその概要を示した。SPG に浮遊させた L₂ 株 EB (50μg/ml 蛋白量) 5 μl をスライド上に滴下して自然乾燥させアセトン固定後 PBS にて倍数希釈した被検血清を抗原上に滴下し、湿箱内で30分 incubate した。PBS にて洗浄後、二次抗体として20倍希釈し FITC 標識抗ヒト Ig-G ヤギ血清 (タゴ社) を30分反応させた。洗浄後封入し、蛍光顕微鏡にて特異蛍光を発する EB 粒子の観察される最大希釈倍数をもって IFA 抗体価とした。

③ 抗体価の決定 : ELISA 抗体価は IFA 抗体陰性血清を用いて決定した。すなわち IFA 抗体価16倍未満

Table 4 Indirect Immunofluorescent Antibody Technique

を示した血清 (n=18) について、16倍希釈における ELISA 吸光度を求めた。これらの平均(M)+2.5倍標準偏差 (SD) の値を cut off 値とし、これより大きい吸光度を示す最大希釈倍数を ELISA 抗体価とした。

結果

1. C. trachomatis の検出率

NGU 72例中25例, GU 38例中 5 例, NBP 60例中 2 例に, C. trachomatis が分離され、検出率はそれぞれ 34.7%, 13.5%, 3.3%であった (Table 5)。

2. ELISA 法の検討

a: 抗原量

抗原となる L₂EB の各種濃度に対する各血清200倍希釈における吸光度を Fig. 1 に示した。EB 濃度は蛋白量 (Lowry 法) で表わした。EB 抗原の増加に伴な

Table 5 Isolation of C. trachomatis from men with NGU, GU and NBP

Disease	NGU*	GU**	NBP***
No of positive	25	5	2
No of tested	72	38	60
%	34.7	13.1	3.3

*NGU : Non-Gonococcal urethritis

** GU : Gonococcal urethritis

***NBP : Non-bacterial prostatitis

Fig. 1 Optimal concentration of EB protein for the ELISA.

Fig. 2 Comparison of net absorbance in ELISA. Microplates were centrifuged (●, ▲) or non-centrifuged (○, △). Coating antigens were carbonate buffer with (●, ○) or without (▲, △) L₂-EBs

い吸光度の増加が見られるが、抗体強陽性血清 (IFA 1: 512) で EB 蛋白量 $10\mu\text{g/ml}$ 以上では吸光度に殆んど差が見られないことから、以後の測定には $15\mu\text{g/ml}$ 蛋白量の抗原を使用した。

b: 抗原固相における遠心効果

抗原固相に際しての遠心効果を見てみると (Fig. 2), 4°C , 1時間の遠心を加えた固相法では、EB を固相しないいわゆる back ground の吸光度に差は見ら

れないが、EB を固相した well における吸光度は明らかに高値を示し、抗体価測定の上で有利であると思われる。

c: 抗体価の決定

IFA 法にて抗体価16倍未満の抗体陰性血清 ($n=18$) を用い cut off 値を求めた (Fig. 3). IFA 抗体価512倍の血清について、各倍数希釈における吸光度を見ると、4,096倍希釈までは cut off 値以上を示している。したがってこの血清の ELISA 抗体価は4,096倍となる。多くの検体を同時に測定する場合には上記方法ですでに ELISA 抗体価の決定した血清を標準血清として用いて行なった。すなわち ELISA 抗体価の強陽性、中等度陽性、弱陽性および陰性の4つの標準血清と被検血清の各々200倍希釈における ELISA 吸光度を同一 microplate 上で求める。Fig. 4 に示すごとく標準血清の吸光度をプロットし、被検血清の吸光度 (OD 値=X) をグラフ上から読みとると ELISA 抗体価は512倍となる。

d: IFA 抗体価との相関

健常者および尿路器系疾患患者107名を対象に IFA 法と ELISA 法による各抗体価の相関を求めた (Fig. 5). 相関係数0.87と良好な相関を認め ($p<0.05$) ELISA 法は IFA 法より4ないし8倍感度がすぐれていた。

e: L₂株 EB の抗原性

ELISA 法による抗原を C. trachomatis C 株 (C/

Fig. 3 Titration curve of high positive (IFA 1 : 512) serum and cut off value

Fig. 4 Determination of antibody titer by ELISA with high positive, low positive and Negative as control sera.

TW-3/OT) EB とし、15 μ g/ml 蛋白量に対する血清 (m=231)200倍希釈における吸光度を測定した。L₂株 EB に対する吸光度との相関を見ると (Fig. 6), 相関係数0.92と良好な相関を示した (p<0.005)。したがって L₂株 EB を用いることにより、臨床的に抗体価測定が可能であることが示唆された。

3. 尿路性器感染症における抗体価

a: 抗体価陽性率

NGU, GU, NBP および Control 群における抗体価を Fig. 7 および Table 6 に示す。抗体陽性率は NGU 57.1%, GU 33.3%, NBP 30.3%, Control 群24.1%

であった。NGU 群は Control 群に比し有意 (p<0.01) に高率であったが、NBP には差は認めなかった。また C. trachomatis の分離された尿道炎患者の抗体陽性率は72.7%で C. trachomatis 陰性の尿道炎患者群に比し有意 (p<0.01) に高率であった。

b: 抗体価の推移

C. trachomatis の分離された患者12例についてペア血清による抗体価の推移を Fig. 8 に示す。C. trachomatis 分離時既に抗体陽性例が9例 (81.8%) に見られ、うち2例は2ヵ月後さらに抗体の上昇が見られた。抗体価の下降を見たものは5例で、期間は1ない

Fig. 5 Correlation between ELISA and IFA antibody titers in healthy subjects and the patients with urogenital infection

Fig. 6 Correlation between Net absorbance assayed by ELISA with C.tr. type C and type L₂

し6ヵ月後であった。C. trachomatisが分離されたにもかかわらず、3ヵ月間の観察で抗体の上昇を見なかった症例が2例認められた。

考 察

尿路感染症に対しC. trachomatisの関与が明らかにされて来たのは、1970年代に入ってからであり欧米諸国を中心に分離に関する多くの報告が見られる^{6)~8)}。本邦においてもここ数年男子非淋菌性尿道

Table 6 Positive rate (%) of antibody titers to C. trachomatis L₂ (EB) in ELISA

Disease	N G U		G U		NBP	Cont
Isolate C. tr.	+	-	+	-	-	ND*
No of positive / No of tested	13 / 17	7 / 18	3 / 5	2 / 10	10 / 33	7 / 29
%	76.5	38.9	60	20	30.3	24.1
Total %	57.1		33.3		30.3	24.1

* ND = Not Done

Fig. 7 Antibody titers to C. trachomatis (L₂, EB) in ELISA with sera from different population. Culture positive (+) or negative (-)

炎⁹⁾¹⁰⁾を中心に前立腺炎¹¹⁾、副睪丸炎¹²⁾といった尿路性器感染症との関連性が注目されるようになった。C. trachomatisの確定診断は言うまでもなくC. trachomatisの検出によってなされ、その手段として、1) C. trachomatisの分離培養、2) C. trachomatis粒子の証明、3) C. trachomatis抗原の証明がある。C. trachomatisの分離培養は、McCoy細胞、Hela 229細胞、L細胞、BHK 21細胞などを用いた細胞培養法により行なわれ、形成した封入体を観察することで診断可能である。今日5-iodo-2-deoxyuridine (IUDR)¹³⁾やDEAE-Dextran¹⁴⁾による培養細胞の前処置、遠心接種¹⁵⁾、cyclohexymide¹⁶⁾を加えた培養液等多くの改良により封入体の形成効率が高められている。一方C. trachomatis粒子の証明として、尿道スミアを用いたMicro-Trak法(ダイシバ)が広く用いられている。こ

Fig. 8 Changes in Antibody titers (Ig-G) to *C. trachomatis*

れは *C. trachomatis* に対するモノクローナル抗体を用いた直接蛍光抗体法であり、細胞培養法との比較においても高い陽性および陰性一致率が見られ¹⁰⁾¹⁷⁾診断に有用である。さらに最近、酵素抗体法を利用したクラミジアザイム（ダイナボット社）の開発により、*C. trachomatis* 抗原の証明が可能となった。両者共、短時間に診断可能でまた技術的にも容易なことから、臨床面で大いにその威力を発揮している。しかしながら、抗体を用いる点で非特異的反応による擬陽性の出現も見のがせず、さらに *C. trachomatis* の継代および同定が不可能であることから、今だ確定診断は培養によるところ大である。

NGU における *C. trachomatis* の検出率は諸家により30%ないし60%とされるが、今回著者の結果でも34.7%と、NGU の1/3には *C. trachomatis* 感染が起きているものと思われた。GU においては13.5%の *C. trachomatis* 混合感染が見られ、治療の上で考慮すべき点と考えられた。前立腺炎における *C. trachomatis* の検出について、Bruce ら¹⁸⁾は70名中39名(56%)に *C. trachomatis* が分離され、その内35名は早朝尿から分離したとし、Weidner ら¹⁹⁾は235名の患者中43名(18.5%)に *C. trachomatis* を分離したと報告している様に、前立腺炎との関連性も示唆されている。今回著者の成績では、検出率3.3%と低値であったが、尿道 swab を検体とした本診断法は不適當であり、EPS、前立腺マッサージ後尿、さらには前立腺組織そのものを材料とした検出が行なわれるべきであり今後の課題と思われた。

C. trachomatis 感染症における血清抗体測定は、*C. trachomatis* の分離された症例の補助的手段として、また感染の既往を知る目的や治療効果を見る上で有用である。測定法としては Wang らにより開発された Micro-immunofluorescence test (Micro-IF)²⁰⁾、別所・松本により確立された Microplate immunofluorescence antibody technique (MFA)²¹⁾ などがある。また近年 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) の開発が進み蛍光抗体法に比し感度的にすぐれた方法として使用されるようになった²²⁾²³⁾。今回著者はこの ELISA 法による血清抗体価測定を試みた。ELISA 用 plate を遠心することで吸光度は明らかに増加している。抗原が多く固相されたのか、洗浄による EB 粒子の剝離流出が少なくなったのか、あるいは抗原側の何らかの変化によって抗体と反応し易くなったのかその原因は不明であったが、測定上有利な条件と言える。

ELISA 法における cut off 値の設定には、いまだ決められた方法はなく報告者により種々である。一般に IFA 法による抗体価は16倍未満を陰性としており、著者はこの IFA 抗体価陰性血清を用いて行なった。蛍光抗体法による抗体測定には甚大な労力と時間を要することから、最近 ELISA 法による抗体スクリーニングが盛んに行なわれる様になったが、抗体が陽性か否かはこの cut off 値の設定の仕方により大きく左右されることが予想され、今後より確かな cut off 値設定方法の検討が求められる。

IFA 抗体価との相関においては、 $r=0.87$ と両者に

良好な相関が認められた。また ELISA 抗体価は IFA 抗体価に比し 4 ないし 8 倍高く感度の面ですぐれており、*C. trachomatis* 抗体価測定として臨床的に有用であると思われた。

ELISA 用抗原として、著者は今回 *L*₂ 株 EB を用いた。*C. trachomatis* における血清型分類から見ると、*L*₂ 株は C-complex 群との交叉抗原性に乏しいとされ、C-complex 群による感染の場合抗体陰性となることが予想される。事実、今回 *C. trachomatis* 陽性例において抗体陰性例が 2 例に見られ、C-complex 群による感染か、抗体そのものが存在しなかったかの 2 つが考えられた。*L*₂ 株を抗原とした時の ELISA 吸光度は、C 株を抗原とした場合の吸光度と $r=0.92$ で良好な相関を持つことから、抗原性は type 特異的でないことがうかがえ、したがってこの 2 例における抗体陰性例は、*C. trachomatis* に対する抗体そのものが存在しなかったものと判断された。

一方、*Chlamydia psittaci* に対する抗体との反応も予想され、天野ら²⁴⁾は MFA 法において *C. psittaci* Izawa 株に対する抗体価測定も併わせて行ない、*C. trachomatis* に対する擬陽性例を除外している。今回の測定では、*C. psittaci* に対する検討は行なっておらず、*C. psittaci* 抗体の存在は否定し得なかった。したがって現時点では抗体測定のみで *C. trachomatis* 感染の有無を診断することは困難であり、臨床症状や *C. trachomatis* の検出における補助診断として行なうべきであろうと考える。

患者血清における *C. trachomatis* 抗体陽性率を見ると、Control 群 24.1% に対し、*C. trachomatis* 陽性尿道炎群では 72.7% と有意に高かった。さらに *C. trachomatis* 陰性尿道炎群 32.1% に対しても有意に高く、*C. trachomatis* 感染により患者血清中に抗体の出現が起こることがうかがえた。しかしながら 30% 前後は *C. trachomatis* 陰性例でも陽性に出ることや、Ig-G 抗体が数カ月陽性として持続することは、Ig-G のみから *C. trachomatis* 感染の有無やその時期を判断できないことを意味し、今後 Ig-A、Ig-M を含めた総合的検索が要求される。特に NBP の場合、*C. trachomatis* の分離が臨床的に困難であり、病原性として関与しているか否かについては明らかにされておらず、抗体面からの尚一層の検討が必要と考えられた。

結 語

尿路性器感染症患者を対象に、患者からの *C. trachomatis* の分離および血清抗体価測定を行なった。

1. 細胞培養法による *C. trachomatis* の分離率は、NGU (25 例) 34.7%、GU (5 例) 13.5%、NBP (2 例) 3.3% であった。

2. *C. trachomatis* に対する Ig-G 抗体陽性率は、NGU (20 例) 57.1%、GU (5 例) 33.3%、NBP (10 例) 30.3%、および Control 群 (7 例) 24.1% であった。

3. *C. trachomatis* 陽性および陰性尿道炎患者の Ig-G 抗体陽性率はそれぞれ 72.7%、32.1% で両者に有意な差を認めた。

4. ELISA 法と IFA 法は $r=0.87$ と良好な相関を示し、ELISA 法が 4 ないし 8 倍感度がすぐれていた。

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師齊藤泰教授に心から感謝の意を表します。また Hela 229 細胞およびクラミジア標準株を分与して頂きました国立予研赤尾頼幸先生に感謝致します。

なお、本論文の要旨は第 74 回日本泌尿器科学会総会に於て報告した。

文 献

- 1) Tang, F., Chang, H., Huang, Y. and Wang, K.: Studies on the etiology of trachoma with special reference to isolation of the virus in chick embryo. *Chin. Med. J.*, 75, 429—447, 1957.
- 2) Gordon, F.B. and Quan, A.L.: Isolation of the trachoma agent in cell culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 118, 354—359, 1965.
- 3) Dunlop, E.M., Harper, I.A., Al-Hussani, M.K., Garland, J.A., Treharne, J.D., Wright D.J. and Jones, B.R.: Relation of TRIC agent to "non-specific" genital infection. *Brit. J. Vener. Dis.*, 42, 77—87, 1966.
- 4) Kuo, C.C., Wang, S.P., Wentworth, B.B. and Grayston, J.T.: Primary isolation of TRIC organism in Hela 229 cell treated with DEAE-dextran. *J. Infect. Dis.*, 25, 665—668, 1972.
- 5) Caldwell, H.D., Kromhout, J. and Schachter, J.: Purification and partial characterization of the Major outer membrane protein of chlamydia trachomatis. *Infect. Immun.*, 31, 116—1176, 1981.
- 6) Richmond, S.J., Hilton, A.L. and Clakess, K.: Chlamydial infection. Role of Chlamydia sub"group A in non-gonococcal and post-gonococcal urethritis. *Brit. J. Vener. Dis.*, 48, 437—441, 1972.
- 7) Oriel, J.D., Reeve, P., Wright, J.T. and Owen, J.: Chlamydial infection of the male urethra. *Brit. J. Vener. Dis.*, 52, 46—51, 1976.
- 8) Alani, M.D., Darougar, S., Burns, D.C., Thin, R.

- N. and Dunn, H.: Isolation of chlamydia trachomatis from the male urethra. *Brit. J. Vener. Dis.*, 53, 88—92, 1977.
- 9) 加藤直樹, 西浦常雄: クラミジアによる非淋菌性尿道炎. *臨床と細菌*, 11, 317—327, 1984.
  - 10) 藤井 明, 杉本 修, 守殿貞夫: 男子尿道炎と *Chlamydia trachomatis*. *日泌尿会誌*, 77, 722—727, 1986.
  - 11) 斉藤 功, 寺田洋子, 横沢光博, 小野一徳: 尿道, 性器感染症における *C. trachomatis* の分離および治療について. *日泌尿会誌*, 75, 1823, 1984.
  - 12) Harnish, J.P., Bergar, R.E., Alexander, F., Rm Mand, G. and Holmes, K.K.: An etiology of acute epididymitis. *Lancet*, 1, 819—821, 1977.
  - 13) Wenworth, B.B. and Alexander, E.R.: Isolation of chlamydia trachomatis by use of 5-iodo-2-deoxyuridine-treated cells. *Appl. Microbiol.*, 27, 912—916, 1974.
  - 14) Rota, T.R. and Nichols, R.L.: Infection of cell cultures by trachoma agent: Enhancement by DEAE dextran. *J. Infect. Dis.*, 124, 419—421, 1971.
  - 15) Duo, C.C. and Grayston, J.T.: Interaction of chlamydia trachomatis organism and Hela 229 cells. *Infect. Immun.*, 13, 1103—1109, 1976.
  - 16) Ripa, K.T. and Mardh, P.A.: New simplified culture technique for chlamydia trachomatis. *American Society for Microbiology, Washington D.C.*, 323—327, 1977.
  - 17) 加藤直樹, 西浦常雄: クラミジアおよびウレアプラズマ尿道炎. *臨床と細菌*, Suppl. 75—90, 1984.
  - 18) Bruce, A.W., Chadwick, P., Willett, W.S. and Oshughnessy, M.: The role of chlamydiae in genitourinary disease. *J. Urol.*, 126, 625—629, 1981.
  - 19) Weidner, W., Arens, M., Krauss, M., Schiefer, H.G. and Ebner, H.: *Chlamydia trachomatis* in 'Abacterial' prostatitis: Microbiological, cytological and serological studies. *Urol. Int.*, 38, 146—149, 1983.
  - 20) Wang, S.P. and Grayston, J.T.: Microimmunofluorescence antibody response in chlamydia trachomatis infections a review. p. 301—316, in *chlamydial infections* P-A Mardh, et al. Elsevier Biomedical Press, 1982.
  - 21) 別所敏子, 松本 明: *Chlamydia psittaci* の封入体を抗原とした簡単な抗体価測定法. *医学のあゆみ*, 128, 571—572, 1984.
  - 22) Jones, R.B., Bruins, S.C. and Newhall, W.J.: Comparison of reticulate and elementary body antigen in detection of antibodies against chlamydia trachomatis by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.*, 17, 446—471, 1983.
  - 23) Finn, M.D., Ohlin, A. and Schachter, J.: Enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin G and M antibodies to chlamydia trachomatis in human sera. *J. Clin. Microbiol.*, 17, 848—852, 1983.
  - 24) 天野正道, 鈴木 学, 田中啓幹, 大田修平, 別所敏子, 松本 明: *Chlamydia trachomatis* による尿路性器感染症の臨床的検討. *日泌尿会誌*, 77, 1294—1302, 1985.

(1987年7月30日受理)