Polymerase chain reaction 法による淋菌性尿道炎および クラミジア性尿道炎の診断

岐阜大学医学部泌尿器科学教室

出口 隆 米田 尚生 兼松江巳子
岩田 英樹 伊藤 康久 多田 晃司
斉藤 昭弘 坂 義人 河田 幸道

岐阜大学医学部微生物学教室

山 本 啓 之 江 崎 孝 行

東京共済病院泌尿器科

斉 藤 功

トヨタ記念病院泌尿器科

玉 木 正 義 前 田 真 一

岐阜泌尿器科医院

伊 藤 鉦 二

DIAGNOSIS OF GONOCOCCAL URETHRITIS AND CHLAMYDIAL URETHRITIS BY POLYMERASE CHAIN REACTION

Takashi Deguchi, Hisao Komeda, Emiko Kanematsu, Hideki Iwata, Yasuhisa Ito,
Kohji Tada, Akihiro Saito, Yoshihito Ban and Yukimichi Kawada

Department of Urology, Gifu University School of Medicine

Hiroyuki Yamamoto and Takayuki Ezaki

Department of Microbiology, Gifu University School of Medicine

Isao Saito

Department of Urology, Tokyo Kyosai Hospital

Masayoshi Tamaki and Shin-ichi Maeda

Department of Urology, Toyota Memorial Hospital

Shoji Ito

Gifu Clinic of Urology

A polymerase chain reaction (PCR) method was compared to standard methods (cultures for *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* and an enzyme-immunoassay for *C. trachomatis*) in diagnosis of gonococcal and chlamydial urethritis in 40 male patients with urethritis. Gonococcal urethritis was diagnosed by detection of a 206 bp DNA fragment amplified by PCR with *N. gonorrhoeae*-specific primers. Chlamydial urethritis was diagnosed by detection of a 242 bp DNA fragment amplified by PCR with *C. trachomatis*-specific primers. Gonococcal and chlamydial urethritis, gonococcal and non-chlamydial urethritis, non-gonococcal and chlamydial urethritis, and non-gonococcal and non-chlamydial urethritis were diagnosed in 8, 10, 14 and 8 patients, respectively, by the PCR method. In 9 patients with gonococcal and chlamydial urethritis, 10 with gonococcal and non-chlamydial urethritis, 12 with non-gonococcal and chlamydial urethritis, and 9 with non-gonococcal and non-chlamydial urethritis, diagnosed by the standard methods, the coincidence rates of the PCR to the standard methods were 78% (7/9), 90% (9/10), 100% (12/12), and 89% (8/9), respectively. The overall coincidence rate between the PCR and the standard methods in diagnosis of urethritis

were high (90%). In addition, *N. gonorrhoeae* and *C. trachomatis* could be simultaneously detected from one urethral sample in approximately 6 hours by means of the PCR. Thus, the PCR method could clinically be applied and would offer several advantages to diagnosis of urethritis, compared to the standard methods.

Key words: polymerase chain reaction, gonococcal urethritis, chlamydial urethritis

要旨：男子尿道炎患者40例の尿道擦過物を検出材料として polymerase chain reaction (PCR) 法による尿道炎診断と淋菌培養法、クラミジア培養法および酵素抗体法 (Chlamydiazyme) による尿道炎診断との比較を行った。PCR 法では、淋菌検出用プライマーにて206bp の DNA 断片の増幅を認めた場合に淋菌性尿道炎と、*C. trachomatis* 検出用プライマーにて242bp の DNA 断片の増幅を認めた場合にクラミジア性尿道炎と診断した。従来法では、淋菌が培養された場合を淋菌性尿道炎とし、クラミジア培養法あるいは Chlamydiazyme のいずれか一方が陽性となった場合をクラミジア性尿道炎と診断した。PCR 法による尿道炎診断は、淋菌性クラミジア性尿道炎が8例、淋菌性非クラミジア性尿道炎が10例、非淋菌性クラミジア性尿道炎が14例、非淋菌性非クラミジア性尿道炎8例であった。PCR 法の従来法に対する一致率は、淋菌性クラミジア性尿道炎において78% (7/9)、淋菌性非クラミジア性尿道炎において90% (9/10)、非淋菌性クラミジア性尿道炎において100% (12/12)、非淋菌性非クラミジア性尿道炎において89% (8/9) であり、全体での一致率は90.0% (36/40) であった。以上より、PCR 法による尿道炎診断は従来の方法による尿道炎診断とよく一致し、臨床応用可能な方法と思われた。さらに、PCR 法は、尿道擦過物1検体から約6時間で淋菌と *C. trachomatis* の検出が可能であるなど、従来法より優れた点をもち、有用な尿道炎診断法となるものと思われた。

キーワード：PCR, 淋菌性尿道炎, クラミジア性尿道炎

結 言

尿道炎は、淋菌による淋菌性尿道炎と淋菌によらない非淋菌性尿道炎に分けられる。非淋菌性尿道炎の約40%から60%が *Chlamydia trachomatis* によるクラミジア性尿道炎であり、さらに淋菌性尿道炎の約20%に *C. trachomatis* の混合感染が認められる¹⁾。したがって、淋菌および *C. trachomatis* を検出することは尿道炎診断に必須であり、簡便、迅速、高感度でかつ特異性に優れた両者の検出法が望まれてきた。

Polymerase chain reaction (PCR)²⁾法は、2種類の oligonucleotide をプライマーとする DNA polymerase による in vitro における DNA 増幅法であり、分子生物学のあらゆる領域に利用されるようになっていく。感染症の診断においては、病原体の培養が難しい場合、病原体の分離に時間を要する場合、病原体の確定に迅速性が要求される場合に DNA プローブを用いた DNA 診断³⁾が試みられているが、これらの条件に加え、さらに検出感度の高い方法として PCR を利用した方法が注目されている。われわれは、PCR 法による淋菌および *C. trachomatis* の検出について個々に報告してきたが^{4)~7)}、今回は、尿道炎患者の尿道擦過物を検出材料として、PCR 法による尿道炎の診断を試

み、従来の方法によりなされた尿道炎診断の結果との比較を行い、PCR 法の尿道炎診断における有用性について検討した。

対象と方法

1. 尿道炎患者および検出材料

尿道分泌物の排出をふくむ尿道炎の臨床症状と共に尿道スミアの多核白血球数が1,000倍の検鏡にて5個以上認められた男子尿道炎患者40例を対象とした。尿道スミアあるいは尿道擦過物を PCR 法、淋菌培養法、クラミジア培養法および酵素抗体法 (Chlamydiazyme) の検出材料とした。淋菌検出のために40例全てで淋菌培養と PCR 法とを行った。*C. trachomatis* 検出のためには31例で培養法と Chlamydiazyme の2法を、6例で培養法のみを、3例で Chlamydiazyme のみを行い、40例全てで PCR 法を行った。

2. 培養法による淋菌の検出

尿道スミアあるいは尿道擦過物より Thayer-Martin 改良培地にて分離培養を行い、Gonocheck-II[®]にて、淋菌の同定を行った。

3. 培養法による *C. trachomatis* の検出

加藤らの方法⁸⁾にしたがって、McCoy 細胞を用い直径12mm の cover slip 上に monolayer を形成させ、尿

道擦過物の抽出液を加え培養を行った。2日間培養後、cover slip 当りの封入体の数を検討した。

4. Chlamydiazyme による *C. trachomatis* の検出

Chlamydiazyme を用いてキットに添付された操作法に従って尿道擦過物から *C. trachomatis* の検出を行った。

5. PCR 法による淋菌および *C. trachomatis* の検出

淋菌検出用には淋菌の16S ribosomal RNA 遺伝子の塩基配列¹⁰⁾に相補的な2種類のoligonucleotide (NG-A, 5'-AGGCTGTTGCCAATATCG-3'; NG-B, 5'-ACACTCGAGTCGCCCAGTTC-3')をプライマーとして用いた⁷⁾。*C. trachomatis* 検出用には、*C. trachomatis* 血清型 L₂ の major outer membrane protein 遺伝子の塩基配列¹¹⁾に相補的な2種類のoligonucleotide (CT-A₁, 5'-GATAGCGAGCACAAAGAGAGCTAA-3'; CT-B₁, 5'-CCATAGTAACCCATACGCATGCTG-3')をプライマーとして用いた⁴⁾。尿道擦過材料からの PCR のための template DNA の抽出は、proteinase K, NP-40, Tween 20により行い⁵⁾、淋菌と *C. trachomatis* の検出用 DNA とした。PCR による淋菌および *C. trachomatis* の検出は個々に行ったが、PCR の反応液の各々のプライマー以外の組成と PCR の反応条件は全く同一とした。PCR の反応溶液は、10×PCR 緩衝液(500mM 塩化カリウム, 100 mM トリス塩酸緩衝液, pH 8.3, 15mM 塩化マグネシウム, 0.1%ゲラチン)を10μl, dATP, dCTP, dGTP, dTTP 各2mM の濃度の混合液を5μl, 1unit/μl の耐熱性 DNA polymerase(Ampli Taq)を1μl, 4μM の2種類のプライマーを5 μl ずつ、被検 DNA 溶液を10μl 各々を加え、蒸留水にて100μl に調整した。最後にミネラルオイルを100μl に加え反応中の PCR 混合液の蒸発を防いだ。PCR の反応条件は、変性95℃, 30秒, アニーリング55℃, 20秒, 伸長72℃, 30秒とし温度サイクルを32回自動的に繰り返した。淋菌および *C. trachomatis* 検出用 PCR のそれぞれの陽性コントロールとして尿道炎患者から分離された淋菌と *C. trachomatis* E/UW-5/CX より抽出した DNA を template として用い、両者の陰性コントロールとしては、被検 DNA 溶液の代わりに蒸留水を用いて PCR を行った。PCR 後、PCR 混合液の10μl を DNA 分子量マーカー (ϕ ×174/Hinf I digest) と共に2%アガロースゲルにて電気泳動を行い、ethidium bromide 染色にて塩基配列より予想される淋菌の206bp の DNA 断片

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis profile of PCR products indicating a case of gonococcal and chlamydial urethritis. M, DNA molecular size markers (ϕ ×174/Hinf I digest);

1, positive control for *C. trachomatis*; 2, negative control for *C. trachomatis*; 3, positive control for *N. gonorrhoeae*; 4, negative control for *N. gonorrhoeae*; 5, urethral sample examined by PCR with *C. trachomatis*-specific primers; 6, urethral sample examined by PCR with *N. gonorrhoeae*-specific primers.

と *C. trachomatis* の242bp の DNA 断片の増幅を観察した。

結 果

1. PCR 法による尿道炎診断

淋菌検出用プライマーNG-A と NG-B による PCR にて206bp の DNA 断片が増幅され、*C. trachomatis* 検出用 CT-A₁ と CT-B₁ により242bp の DNA 断片が増幅された症例 (Fig. 1) を淋菌性クラミジア性尿道炎と診断した。プライマーNG-A と NG-B により206bp の淋菌の DNA 断片が増幅され、プライマーCT-A₁ と CT-B₁ により DNA 断片の増幅を認めない症例 (Fig. 2) を淋菌性非クラミジア性尿道炎とし、プライマーNG-A と NG-B により DNA 断片の増幅が認められず、プライマーCT-A₁ と CT-B₁ により242bp の *C. trachomatis* の DNA 断片のみが増幅された症例 (Fig. 3) を非淋菌性クラミジア性尿道炎とした。NG-A と NG-B あるいは CT-A₁ と CT-B₁ のいずれの組のプライマーによっても目的の DNA 断片が増幅されない症

Fig. 2 Agarose gel electrophoresis profile of PCR products indicating a case of gonococcal and non-chlamydial urethritis. M, DNA molecular size markers ($\phi \times 174$ /Hinf I digest) ; 1, positive control for *C. trachomatis* ; 2, negative control for *C. trachomatis* ; 3, positive control for *N. gonorrhoeae* ; 4, negative control for *N. gonorrhoeae* ; 5, urethral sample examined by PCR with *C. trachomatis*-specific primers ; 6, urethral sample examined by PCR with *N. gonorrhoeae*-specific primers.

Fig. 3 Agarose gel electrophoresis profile of PCR products indicating a case of non-gonococcal and chlamydial urethritis. M, DNA molecular size markers ($\phi \times 174$ /Hinf I digest) ; 1, positive control for *C. trachomatis* ; 2, negative control for *C. trachomatis* ; 3, positive control for *N. gonorrhoeae* ; 4, negative control for *N. gonorrhoeae* ; 5, urethral sample examined by PCR with *C. trachomatis*-specific primers ; 6, urethral sample examined by PCR with *N. gonorrhoeae*-specific primers.

例 (Fig. 4) を非淋菌性非クラミジア性尿道炎と診断した。診断に要した時間は、proteinase K 処理による DNA の抽出から PCR をおこない電気泳動による DNA 断片の観察まで約 6 時間であった。PCR 法による 40 例の尿道炎診断は、8 例が淋菌性クラミジア性尿道炎、10 例が淋菌性非クラミジア性尿道炎、14 例が非淋菌性クラミジア性尿道炎、8 例が非淋菌性非クラミ

ジア性尿道炎であった。
2. 淋菌培養法と *C. trachomatis* 培養法による尿道炎診断と PCR 法による尿道炎診断との比較 (Table 1)
淋菌培養法と *C. trachomatis* 培養法とにより尿道炎診断がなされた 37 例において 8 例が淋菌性クラミジア性尿道炎であり、そのうち 6 例 (75%) が PCR 法に

Table 1 Comparison of PCR to cultures for *N. gonorrhoeae* and *C. trachomatis* in diagnosis of urethritis

		PCR				Total
		G(+)C(+)	G(+)C(-)	G(-)C(+)	G(-)C(-)	
Cultures for <i>N. gonorrhoea</i> and <i>C. trachomatis</i>	G(+)C(+)	6(75%)	1	1		8
	G(+)C(-)	1	9(90%)			10
	G(-)C(+)			9(100%)		9
	G(-)C(-)			2	8(80%)	10
Total		7	10	12	8	37

G: Gonococcus C: Chlamydia trachomatis

Fig. 4 Agarose gel electrophoresis profile of PCR products indicating a case of non-gonococcal and non-chlamydial urethritis. M, DNA molecular size markers ($\phi \times 174$ /Hinf I digest) ; 1, positive control for *C. trachomatis* ; 2, negative control for *C. trachomatis* ; 3, positive control for *N. gonorrhoeae* ; 4, negative control for *N. gonorrhoeae* ; 5, urethral sample examined by PCR with *C. trachomatis*-specific primers ; 6, urethral sample examined by PCR with *N. gonorrhoeae*-specific primers.

においても同一の診断であったが、1例が淋菌性非クラミジア性尿道炎、1例が非淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された。培養法で非淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された10例では、9例(90%)がPCR法にて同一の診断であったが、1例で淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された。非淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された9例では、全てでPCR法にても同一の診断で

あった。非淋菌性非クラミジア性尿道炎の10例では、8例(80%)がPCR法にて同一の診断であったが、2例で非淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された。全体での尿道炎診断における一致率は、37例中32例であり86.5%であった。

3. 淋菌培養法とChlamydiazymeによる尿道炎診断とPCR法による尿道炎診断との比較 (Table 2)

淋菌培養法とChlamydiazymeとにより尿道炎診断がなされた34例において4例が淋菌性クラミジア性尿道炎であり、4例(100%)すべてがPCR法においても同一の診断であった。同様に非淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された10例では、9例(90%)がPCR法にて同一の診断であったが、1例で淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された。非淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された例では、12例(100%)全てでPCR法にても同一の診断であった。非淋菌性非クラミジア性尿道炎の8例では、7例(88%)がPCR法にて同一の診断であったが、1例で非淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された。全体での尿道炎診断における一致率は、34例中32例であり94.1%であった。

4. 淋菌培養法と*C. trachomatis*培養法あるいはChlamydiazymeによる尿道炎診断とPCR法による尿道炎診断との比較 (Table 3)

*C. trachomatis*培養法とChlamydiazymeとの2法をおこなった31例において、培養法陽性12例は、すべてChlamydiazyme陽性であり、培養法陰性の19例中1例のみChlamydiazyme陽性で、残り18例は陰性であった。今回の検討では、淋菌培養法の結果と*C. trachomatis*培養法あるいはChlamydiazymeの少なくともいずれか一方が陽性である場合をクラミジア性尿道炎として尿道炎診断を行った。その結果、40例において9例が淋菌性クラミジア性尿道炎であり、7例(78%)でPCR法においても同一の診断であったが、

Table 2 Comparison of PCR to cultures for *N. gonorrhoeae* and enzyme-immunoassay (Chlamydiazyme) for *C. trachomatis* in diagnosis of urethritis

		PCR				Total
		G(+)C(+)	G(+)C(-)	G(-)C(+)	G(-)C(-)	
Cultures for <i>N. gonorrhoea</i> and EIA* for <i>C. trachomatis</i>	G(+)C(+)	4(100%)				4
	G(+)C(-)	1	9(90%)			10
	G(-)C(+)			12(100%)		12
	G(-)C(-)			1	7(88%)	8
Total		5	9	13	7	34

G : Gonococcus C : Chlamydia trachomatis EIA* : enzyme-immunoassay (Chlamydiazyme)

Table 3 Comparison of PCR to cultures for *N. gonorrhoeae* and culture and/or enzyme-immunoassay (Chlamydiazyme) for *C. trachomatis* in diagnosis of urethritis

		PCR				Total
		G(+)C(+)	G(+)C(-)	G(-)C(+)	G(-)C(-)	
Cultures for <i>N. gonorrhoea</i> and culture and/or EIA* for <i>C. trachomatis</i>	G(+)C(+)	7(78%)	1	1		9
	G(+)C(-)	1	9(90%)			10
	G(-)C(+)			12(100%)		12
	G(-)C(-)			1	8(89%)	9
Total		8	10	14	8	40

G: *Gonococcus* C: *Chlamydia trachomatis* EIA*: enzyme-immunoassay (Chlamydiazyme)

1例が淋菌性非クラミジア性尿道炎，1例が非淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された。同様に，非淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された10例では，8例(90%)がPCR法にて同一の診断であったが，1例で淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された。非淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された12例では，全てでPCR法にても同一の診断であった。非淋菌性非クラミジア性尿道炎の9例では，8例(89%)がPCR法にて同一の診断であったが，1例で非淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された。全体での尿道炎診断における一致率は，40例中36例(90.0%)であった。

考 察

淋菌性尿道炎の診断は，尿道スミア中の多核白血球内にグラム陰性双球菌を認めれば，かなりの確率にて診断は可能である¹²⁾。しかしながら，確定診断には淋菌培養法，酵素抗体法(Gonozyne¹³⁾)やDNAプローブ法¹⁴⁾による淋菌の検出が必要である。一方，クラミジア性尿道炎の診断のためには，培養法⁹⁾，蛍光抗体法(MicroTrak¹⁵⁾)，酵素抗体法(Chlamydiazyme¹⁶⁾，IDEIA Chlamydia¹⁷⁾)やDNAプローブ法¹⁴⁾による*C. trachomatis*の検出が必須である。臨床の場では，各種の方法を組み合わせる淋菌性尿道炎およびクラミジア性尿道炎の診断がなされてきた。今回，尿道炎診断における従来の方法のうちの培養法とChlamydiazymeとPCR法との比較を試みた。男子尿道炎患者40例での検討では，淋菌培養法および*C. trachomatis*培養法とPCR法との一致率は86.5%であり不一致例は5例で，淋菌培養法およびChlamydiazymeとPCR法との一致率は94.1%で不一致例は2例であった。全体での従来の方法とPCR法との一致率は90.0%で不一致例は4例(10%)であった。淋菌性培養法および*C. trachomatis*培養法にて淋菌性クラミジア性尿道炎と診断されPCR法にて淋菌性非クラミジア性尿道炎と

診断された1例は，*C. trachomatis*培養にてcover slip 当り1封入体を形成したのみでありPCR法による*C. trachomatis*検出の感度以下のためのPCR法偽陰性と思われた。同様に培養法にて淋菌性クラミジア性尿道炎と診断されPCR法にて非淋菌性クラミジア性尿道炎と診断された1例では，尿道スミア中にもグラム陰性双球菌を認め，何らかの原因によるDNAの分解，PCRの抑制などによるPCR法淋菌偽陰性と考えられた。淋菌と*C. trachomatis*培養法にて淋菌性非クラミジア性尿道炎と診断された1例と，非淋菌性非クラミジア性尿道炎と診断された2例とで，PCR法にてそれぞれ淋菌性クラミジア性尿道炎と非淋菌性クラミジア性尿道炎と診断されたが，培養法で非淋菌性非クラミジア性尿道炎の1例はChlamydiazymeにて*C. trachomatis*陽性であり，*C. trachomatis*培養法が偽陰性と考えられ，従来法による診断とPCR法による診断は一致したものと判断した。他の2例については，同時に施行されたChlamydiazymeでも*C. trachomatis*陰性であったことより，*C. trachomatis*の菌数が少なく検出感度以下のためChlamydiazymeで偽陰性となり，さらに，培養条件の不備による培養偽陰性か，あるいはPCR法が偽陽性なのかは不明であった。しかしながら全体では，従来の方法とPCR法との尿道炎診断における一致率は90.0%(36/40)と高く，PCR法が他の感染症と同様に尿道炎診断においても臨床応用可能な方法であることが示された。

従来の方法ではDNAプローブ法を除き，淋菌と*C. trachomatis*とを検出するためには，それぞれ一つの検査に尿道擦過物1検体ずつの採取を必要とし，さらに一般細菌や*Ureaplasma urealyticum*の検出などのために複数の検体の採取を必要とした。尿道擦過物採取時の患者に与える苦痛を考えると，1検体から複数の病原体の検出を可能にし，尿道擦過物の採取を最小

限にとどめることが望まれる。今回の検討から示されたように尿道擦過物1検体からPCRにより淋菌および*C. trachomatis*の検出は可能であり、さらに淋菌および*C. trachomatis*検出の条件は全く同一であり、一つのPCR装置を用いて同時に両者を検出することができた。検出に要した時間もDNAの抽出から電気泳動によるDNA断片の増幅の有無の観察まで約6時間であった。これらの点も尿道炎診断におけるPCR法の利点と考えられた。

さらに、現在、各種の検出方法を駆使しても非淋菌性尿道炎の約30%に起炎菌が不明の尿道炎が存在する¹⁸⁾。*U. urealyticum*やvirusを含む多数の病原体が想定されている¹⁸⁾が、検出方法がそれぞれの病原体により異なるため検出は煩雑となり、臨床的には各々の病原体の検出は行われていない。PCR法においては同一検体を用い、それぞれの病原体に特異的なプライマーによるPCRにて容易にそれらの検出も可能となり、未だ不明な点の多い非淋菌性非クラミジア性尿道炎の病因の解明にもPCR法は有力な手段になるものと思われる。

一方、PCR法は、*in vitro*におけるDNA増幅法であるために検体処理時あるいは検出時のわずかなDNAのcontaminationによっても偽陽性を呈し、また検体の種類によっては、検体に含まれる成分によりPCRそのものが抑制され¹⁹⁾、逆に偽陰性を呈することもあり、解決されるべき課題を残している。しかしながら、今回の検討で示されたように、PCR法は臨床的に尿道炎診断に応用可能であり、かつ、従来の方法に比較して多くの利点を持ち、今後、尿道炎診断および尿道炎の病因の解明に利用されるものと期待される。

文 献

- 1) 出口 隆, 河田幸道: 泌尿器領域におけるクラミジア感染症. 臨床と微生物, 18, 755-758, 1991.
- 2) Saiki, R.K., Golfando, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B. and Erlich, H.A.; Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science, 239, 487-491, 1988.
- 3) Highfield, P.E. and Dougan, G.: DNA probes for microbial diagnosis. Med. Lab. Sci., 42, 352-360, 1985.
- 4) 出口 隆, 山本啓之, 岩田英樹, 山本直樹, 伊藤康久, 坂 義人, 斉藤 功, 江崎孝行, 河田幸道: Polymerase chain reaction法によるChlamydia trachomatis検出の基礎的検討. 感染症誌, 65, 1183-1187, 1991.
- 5) 出口 隆, 山本啓之, 岩田英樹, 伊藤康久, 坂 義人, 玉木正義, 前田真一, 斉藤 功, 江崎孝行, 河田幸道: Polymerase chain reaction法による男子尿道炎患者の尿道擦過材料からのChlamydia trachomatisの検出. 感染症誌, 65, 1555-1559, 1991.
- 6) 出口 隆, 山本啓之, 多田晃司, 岩田英樹, 米田尚生, 斉藤昭弘, 伊藤康久, 坂 義人, 玉木正義, 前田真一, 斉藤 功, 江崎孝行, 河田幸道: 男子尿道炎患者からのChlamydia trachomatis検出におけるpolymerase chain reaction法と酵素抗体法(Chlamydiazyme™)との比較. 感染症誌, 66, 172-176, 1992.
- 7) 出口 隆, 山本啓之, 多田晃司, 米田尚生, 岩田英樹, 伊藤康久, 斉藤昭弘, 坂 義人, 玉木正義, 前田真一, 斉藤 功, 江崎孝行, 河田幸道: Polymerase chain reaction法による男子尿道炎患者からの淋菌の検出. 感染症誌, 66, 555-560, 1992.
- 8) 黒木俊郎, 渡辺祐子, 山井志朗, 滝沢金次郎: Gnochek-IIキットによる病原菌ナイセリア属菌種の迅速同定. 感染症誌, 61, 581-586, 1987.
- 9) 加藤直樹, 伊藤康久, 出口 隆, 兼松 稔, 坂 義人, 河田幸道, 西浦常雄, 鄭 漢彬, 土井達朗, 酒井俊助, 松田聖士: Chlamydia trachomatisの尿道炎患者からの分離. 感染症誌, 58, 29-38, 1984.
- 10) Rossan, R., Heyndrickz, L. and Heuverscoyn, H.V.: Nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from Neisseria gonorrhoeae. Nucleic Acids Res., 16, 6227, 1988.
- 11) Stephens, R.S., Mullenbach, G., Sanchez-Pescador, R. and Agabian, N.; Sequence analysis of the major outer membrane protein gene from Chlamydia trachomatis serovar L₂. J. Bacteriol., 168, 1277-1282, 1986.
- 12) 斉藤 功: 淋菌感染症, STD Sexually Transmitted Disease 実地医家のための診断と治療. p. 70-98, 新興医学出版社, 東京, 1988.
- 13) 黒木俊郎, 渡辺祐子, 山井志朗, 小原 寧, 滝沢金次郎: 酵素抗体法(Gonozyne)によるリン菌抗原の検出. 感染症誌, 59, 1236-1240, 1985.
- 14) 岡崎武二郎, 町田豊平, 小野寺昭一: クラミジアおよび淋菌に対するDNAプローブの臨床的検討. 臨床と微生物, 16, 98-103, 1989.
- 15) 西浦常雄, 加藤直樹, 中尾 亨, 熊本悦明, 橋爪 壮, 北川龍一, 林 康之, 中村正夫, 長田尚夫, 小島弘敬, 赤尾頼幸, 萩尾敏旦, 藤森一平, 高瀬善次郎: FITC 標識モノクローナル抗体(MicroTrak™法)によるChlamydia trachomatisの検出. 感染症誌, 58, 1305-1314, 1984.
- 16) 加藤直樹, 坂 義人, 西浦常雄, 熊本悦明, 橋爪 壮, 小島弘敬, 斉藤 功, 長田尚夫, 野口昌良, 中

- 野 博：Chlamydia trachomatis 感染症診断試薬としての Chlamydiazyme™の有用性—尿路性器感染症における検討—。感染症誌，60，378—386，1986。
- 17) 熊本悦明，熊澤浄一，松田静治，橘爪 壮：“IDEIA クラミジア”の基礎的，臨床的研究—共同研究 summary—。Prog. Med. 10，2948—2955，1990。
- 18) 河田幸道：非淋菌性尿道炎（NGU）：新しいSTD。日本臨床，44，2104—2111，1986。
- 19) 米田尚生，出口 隆，山本啓之，岩田英樹，伊藤康久，齊藤昭弘，坂 義人，玉木正義，前田真一，齊藤 功，江崎孝行，河田幸道：Polymerase chain reaction 法を用いた初尿沈渣からの Chlamydia trachomatis の検出。感染症誌，66，831—836，1992。

（1992年 7 月16日受理）