

Transcription-Mediated Amplification 法を用いた RNA 増幅による
Chlamydia trachomatis および *Neisseria gonorrhoeae* の同時検出
—産婦人科および泌尿器科における臨床評価—

松田静治、佐藤郁夫、山田哲夫、菅生元康
野口昌良、岡本俊充、野口靖之、保條説彦
保田仁介、塚本泰司、高橋 聡、清水俊明
小六幹夫、石井延久、原 啓、高波真佐治
鈴木九里、出口 隆、石原 哲、藤本佳則
公文裕巳、津川昌也、門田晃一、近藤捷嘉
赤澤信幸、内藤誠二、田中正利、中山 宏

Transcription-Mediated Amplification 法を用いた RNA 増幅による *Chlamydia trachomatis* および *Neisseria gonorrhoeae* の同時検出 —産婦人科および泌尿器科における臨床評価—

Simultaneous Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*
on the Basis of RNA Amplification by the Method of Transcription-Mediated
Amplification—Clinical Evaluation at the Department of Obstetrics and Gynecology
and the Urology Department—

松田静治 ¹⁾	佐藤郁夫 ^{2)*}	山田哲夫 ^{2)*}
Seiji MATSUDA	Ikuo SATO	Tetsuo YAMADA
菅生元康 ³⁾	野口昌良 ⁴⁾	岡本俊充 ⁴⁾
Motoyasu SUGASE	Masayoshi NOGUCHI	Toshimichi OKAMOTO
野口靖之 ⁴⁾	保條説彦 ⁵⁾	保田仁介 ⁶⁾
Yasuyuki NOGUCHI	Tatsuhiko HOJO	Jinsuke YASUDA
塚本泰司 ⁷⁾	高橋 聡 ⁷⁾	清水俊明 ^{7)**}
Taiji TSUKAMOTO	Satoshi TAKAHASHI	Toshiaki SHIMIZU
小六幹夫 ⁸⁾	石井延久 ⁹⁾	原 啓 ⁹⁾
Mikio KOROKU	Nobuhisa ISHII	Hiroshi HARA
高波真佐治 ¹⁰⁾	鈴木九里 ¹⁰⁾	出口 隆 ¹¹⁾
Masaharu TAKANAMI	Kuri SUZUKI	Takashi DEGUCHI
石原 哲 ¹¹⁾	藤本佳則 ¹²⁾	公文裕巳 ¹³⁾
Satoshi ISHIHARA	Yoshinori FUJIMOTO	Hiromi KUMON
津川昌也 ^{13)***}	門田晃一 ¹³⁾	近藤捷嘉 ¹⁴⁾
Masaya TSUGAWA	Kouichi MONDEN	Katsuyoshi KONDO
赤澤信幸 ¹⁵⁾	内藤誠二 ¹⁶⁾	田中正利 ^{16)****}
Nobuyuki AKAZAWA	Seizi NAITO	Masatoshi TANAKA
中山 宏 ¹⁷⁾		
Hiroshi NAKAYAMA		

クラミジア (*Chlamydia trachomatis*) および淋菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) は、産婦人科および泌尿器科における性感染症の最も主要な起炎菌であり、両者の混合感染例も少なからず報告されている。今回、米国 Gen-Probe 社で開発された一度の検査でクラミジア、淋菌、もしくは両者の混在を検出できる新たな遺伝子増幅同定キット、APTIMA® Combo 2 Assay の臨床性能評価を多施設共同で実施した。クラミジアおよび淋菌の検出における従来品との比較では、抗原検出法よりも高感度であり、PCR 法とは同等の性能であることが示された。また、スワブ検体と尿検体の判定一致率は男性、女性共に良好であった。本キットでクラミジアと淋菌の検査を同時に行うことにより、それぞれの感染の有無を一度に検出でき、またその後の適切な治療方針の選択も可能に

なるので、臨床的に有用であると考えられる。

The department of obstetrics and gynecology and the urology department recognize that *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* are the most important causes of sexually transmitted diseases, and a fairly important number of dual infection cases have been reported. In this study, we performed a multicenter trial (involving 15 clinical sites) for the newly developed gene amplification and detection kit "APTIMA Combo 2 Assay" produced by Gen-Probe Inc. USA, which can detect *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* either separately or simultaneously. This kit showed a higher sensitivity than the widely used enzyme immunoassay kit, and a performance similar to that of the commonly used PCR based kit, in the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae*. It also showed a good concordance rate between swab and urine specimens. We therefore concluded that this kit is useful in clinical diagnosis, as by testing both *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* at the same time, it is possible to detect the infectious status of both organisms accurately and make an informed decision on the appropriate therapeutic strategy that should be employed for effective treatment.

Key words : *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, Transcription-mediated amplification, Simultaneous detection

-
- 1) 江東病院産婦人科 : Department of Obstetrics and Gynecology, Koto Hospital
 - 2) 自治医科大学産婦人科学教室 : Department of Obstetrics and Gynecology, Jichi Medical School
 - ※ 現 国際医療福祉病院産婦人科 : Department of Obstetrics and Gynecology, International University of Health and Welfare Hospital
 - 3) 長野赤十字病院産婦人科 : Department of Obstetrics and Gynecology, Nagano Red Cross Hospital
 - 4) 愛知医科大学産婦人科学教室 : Department of Obstetrics and Gynecology, Aichi Medical University
 - 5) 蒲郡市民病院産婦人科 : Department of Obstetrics and Gynecology, Gamagori City Hospital
 - 6) 松下記念病院産婦人科 : Department of Obstetrics and Gynecology, Matsushita Memorial Hospital
 - 7) 札幌医科大学医学部泌尿器科 : Department of Urology, School of Medicine Sapporo Medical University
 - ※※ 現 神居やわらぎ泌尿器科 : Kamui Yawaragi Urological Clinic
 - 8) 三樹会病院 : Sanjukai Hospital
 - 9) 東邦大学泌尿器科学第1講座 : First Department of Urology, Toho University School of Medicine
 - 10) 東邦大学佐倉病院泌尿器科学研究室 : Department of Urology, Toho University Sakura Hospital
 - 11) 岐阜大学医学部泌尿器病態学 : Department of Urology, Gifu University School of Medicine
 - 12) 大垣市民病院泌尿器科 : Department of Urology, Ogaki Municipal Hospital
 - 13) 岡山大学大学院医歯学総合研究科泌尿器病態学 : Department of Urology, Okayama University Graduate School of Medicine and Dentistry
 - ※※※ 現 岡山市立市民病院泌尿器科 : Department of Urology, Okayama Citizens' Hospital
 - 14) 岡山赤十字病院泌尿器科 : Department of Urology, Okayama Red Cross General Hospital
 - 15) 岡山済生会総合病院泌尿器科 : Department of Urology, Okayama Saiseikai General Hospital
 - 16) 九州大学大学院医学研究院泌尿器科学分野 : Department of Urology, Graduate School of Medical Science, Kyushu University
 - ※※※※ 現 福岡大学医学部泌尿器科学講座 : Department of Urology, Fukuoka University School of Medicine
 - 17) 中山泌尿器科医院 : Nakayama Urological Clinic
- 平成16年3月31日受付、平成16年4月27日掲載決定
 (〒136-0072)東京都江東区大島6-8-5 江東病院産婦人科 松田静治

緒言

近年、クラミジアおよび淋菌感染症の増加が報告されており、特に診断と治療が見直されてきている。

臨床診断においては、クラミジア感染症と淋菌感染症は症状がそれぞれ異なるため¹⁾、強い症状を伴う場合には感染の鑑別が比較的容易である。しかしながら症状が弱い場合や、まったく症状が現れないクラミジア感染および淋菌感染の場合には^{2),3)}、感染者に自覚症状が無く放置されることにより、感染の拡大や不妊、新生児への感染等の影響が危惧される。また、クラミジアと淋菌が混合感染した場合は、症状の強いどちらか一方の感染のみが診断され、もう一方の感染を見落とす危険性が考えられる。従って、初期診断においてクラミジアと淋菌を同時に検査することは、潜在的な感染を明らかにする意味でも重要である⁴⁾⁻⁶⁾。

また、近年薬剤耐性淋菌の存在が問題となっているが^{7),8)}、クラミジアおよび淋菌感染の有無を明確にすることで適切な薬剤選択が可能となり、薬剤耐性菌を生じさせないことに効果がある。さらに適切な薬剤を選択使用することは、医療費を抑える意味でも有効であると考えられる。

クラミジアおよび淋菌の検査においては、高感度であること、他の菌との交差反応性を持たないこと、そして侵襲性の低い尿検体を用いた場合に反応阻害を受けず検査が可能であることが必要である。

この度、米国 Gen-Probe 社においてクラミジアと淋菌を1回の検査で同時に検出できる診断キット、APTIMA[®] Combo 2 Assay (以下 Combo 2) が開発された。本キットはクラミジアと淋菌の rRNA を増幅することにより抗原検出法や培養法に比べ高感度であり、また検出部位に特異性の高い配列を選択したことにより他菌種との交差反応性は無く、標的遺伝子を捕捉する時に独自の検体前処理法により余分な検体成分を除去することにより反応阻害が抑えられることを特徴としている。

今回われわれは本キットに関して、産婦人科と泌尿器科の患者検体を用いて多施設における臨床評価を実施したので、ここに報告する。

対象と方法

1. 対象

2002年2月から2003年7月にかけて産婦人科外来を受診した女性患者および妊婦、また泌尿器科外来を受診した男性患者のうち、未治療である者を対象とした。産婦人科受診者からは子宮頸管スワブ 120 検体、尿 116 検体、一方、泌尿器科受診者からは尿 171 検体、尿道スワブ 28 検体をそれぞれ採取し検討に用いた。

2. 比較対照キット

比較の対照としては、核酸増幅法として PCR 法を用いたアンプリコア[®] STD-1 クラミジアトラコマチスおよびアンプリコア[®] STD-1 ナイセリアゴノレア(ともにロシュ・ダイアグノスティクス株式会社。以下アンプリコア[®]クラミジア、アンプリコア[®]ゴノレアと略す)を用いた。また、ELISA 法によるクラミジア抗原検出キットであるイデア PCE クラミジア(協和メテックス株式会社。以下イデアと略す)による測定も行った。

3. 検体採取

検体採取はすべて受診者の同意を得た上で実施した。尿検体は排尿後1時間以上経過してから、初尿 40~50ml を採取した。そのうち 2ml を Combo 2 の専用搬送容器に分注して搬送試薬と混合し、またアンプリコア[®]用、イデア用にそれぞれ 10ml ずつ分注した。これらの検体は、検査までそれぞれのキット所定温度にて保存した。また、残りの尿は予備検体用として、-20°C にて凍結保存した。子宮頸管スワブおよび尿道スワブはそれぞれの専用採取器材を用いて採取を行い、検査までそれぞれのキット所定の温度にて保存した。なお、子宮頸管スワブは Combo 2 用とアンプリコア[®]用に、それぞれ 1 本ずつ予備検体の採取を可能な施設では採取した。スワブ検体の採取は、採取の順番による偏りを防ぐため、各キット間で順不同に行った。

4. Combo 2 の測定原理

Combo 2 では、米国 Gen-Probe 社が開発した 3 つの主要な技術を採用している⁹⁾。

① Target Capture System (TCS)¹⁰⁾

標的遺伝子を磁性微粒子で特異的に捕獲し、残りの溶液を吸引除去する検体前処理技術。

② Transcription Mediated Amplification (TMA)¹¹⁾

T7 プライマー、non-T7 プライマー、逆転写酵素により標的 1 本鎖 RNA から 2 本鎖 DNA を合成し、それを鋳型として T7 RNA ポリメラーゼにより標的 RNA を増幅する遺伝子増幅技術。

③ Dual Kinetic Assay (DKA)¹²⁾

標的とする遺伝子増幅産物を特異的に検出する Hybridization Protection Assay (HPA)^{13),14)}の原理を基本とし、さらに 2 種類の発光特性の異なる発光基質 (アクリジニウムエステル) を、2 種類それぞれの標的遺伝子に相補的な配列に標識したプローブを用いて検出を行う 2 種遺伝子同時検出技術。

なお、Combo 2 ではクラミジア 23s rRNA および淋菌 16s rRNA が標的として増幅され、増幅産物それぞれと相補的な配列を持つ標識プローブを用いて反応を行うことにより、クラミジアと淋菌の鑑別検出が可能となっている。

5. 再検査

Combo 2 とアンプリコア®との検査結果が一致しなかった検体に関しての解析として、Combo 2 について

は検査に使った残りの検体を用いて再検査を行い、予備検体がある場合はその検査も行った。アンプリコア®については予備検体がある場合は予備検体の検査を行い、予備検体が無い場合のみ検査の残りの検体を用いて再検査を行った。最初の検査結果と再検査、予備検体検査の結果を両キットについて比較し、不一致例に関する解析を行った。

検査結果の比較 成績

(1) 産婦人科

1. アンプリコア®との比較

子宮頸管スワブ 120 検体について Combo 2 とアンプリコア®との判定結果の比較を Table 1 に示した。クラミジアについては両キットとも陽性が 26 例、Combo 2 陽性・アンプリコア®陰性が 2 例、両キットとも陰性が 92 例であり、Combo 2 陰性・アンプリコア®陽性の結果はなかった。両キットにおける判定結果の一致率は 98.3%である。淋菌については両キットとも陽性が 9 例、Combo 2 陽性・アンプリコア®陰性が 2 例、Combo 2 陰性・アンプリコア®陽性が 2 例、両キットとも陰性が 107 例であった。両キットにおける判定結果の一致率は 96.7%である。判定結果の一致しなかった症例に対する解析結果を Table 2 に示した。クラミジアにお

Table 1 Comparison of APTIMA® Combo 2 with AMPLICOR® for the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* in female endocervical swab specimens

<i>C. trachomatis</i>		AMPLICOR®		Total
		Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2	Positive	26	2	28
	Negative	0	92	92
Total		26	94	120

<i>N. gonorrhoeae</i>		AMPLICOR®		Total
		Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2	Positive	9	2	11
	Negative	2	107	109
Total		11	109	120

Concordance rate: *C. trachomatis*, 98.3%; *N. gonorrhoeae*, 96.7%

る2例中1例(No. 1)はCombo 2、アンプリコア®ともに初回測定時と同じ判定結果となった。また1例(No. 2)はCombo 2が初回測定で陽性であったが再測定で陰性となり、初回測定時と異なる判定結果となった。淋菌における4例中1例(No. 5)はCombo 2、アンプリコア®ともに初回測定時と同じ判定結果となった。また1例(No. 3)はアンプリコア®が初回測定で陰性であったが予備検体で陽性、1例(No. 6)はアンプリコア®が初回測定で陽性であったが再測定で陰性、1例(No. 4)はCombo 2が初回測定と再測定で陽性であったが予備検体で陰性となり、それぞれ初回測定時と異なる判定結果となった。

2. 子宮頸管スワブ検体と尿検体の比較

尿検体を採取できなかった4例を除いた116例に関して、Combo 2での測定における子宮頸管スワブ検体

と尿検体の判定結果の比較をTable 3に示した。クラミジアについては両検体種とも陽性が24例、スワブ検体のみ陽性・尿検体陰性が2例、両検体種とも陰性が90例であった。なお、スワブ検体陽性26例に対し、尿検体陽性は24例であった。淋菌については両検体種とも陽性が9例、スワブ検体のみ陽性・尿検体陰性が2例、両検体種とも陰性が105例であった。なお、スワブ検体陽性11例に対し、尿検体陽性は9例であった。また、クラミジア、淋菌ともに尿検体のみ陽性でスワブ検体陰性の検体は認められなかった。

3. 子宮頸管スワブ検体での試験結果に基づく感染の分類

子宮頸管スワブ検体について、Combo 2での測定結果に基づく感染状況の判定内訳をTable 4に示した。クラミジアまたは淋菌の陽性全36例中で、クラミジア

Table 2 Analysis of discrepant results between APTIMA® Combo 2 and AMPLICOR® for the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* in female endocervical swab specimens

No.	APTIMA® Combo 2				AMPLICOR®		
	Specimen*				Specimen*		
	Sample 1		Sample 2 ³⁾	Sample 1		Sample 2 ³⁾	
	First	Re-test ¹⁾		First	Re-test ²⁾		
<i>C. trachomatis</i>	1	+	+	+	-	n.d.	-
	2	+	-	n.d. ⁴⁾	-	-	n.d.
<i>N. gonorrhoeae</i>	3	+	+	+	-	n.d.	+
	4	+	+	-	-	n.d.	-
	5	-	-	-	+	n.d.	+
	6	-	-	n.d.	+	-	n.d.

*Specimens were taken by specific sampling instruments of each kit. At least one sample (sample 1) is taken from patients for each kit in every clinical site. A portion of clinical sites could take two specimens (sample 1, 2) for each kit from same patient. Sample 1 was used for first test of each kit. Re-test of sample 1 and additional test using sample 2 were performed as confirmation of discrepant results of each kit.

- 1) Sample 1 was re-tested in all cases.
- 2) Re-testing of sample 1 was done only when two samples couldn't be taken from same patient.
- 3) Additional assay using sample 2 was done when two samples could be taken from the same patient.
- 4) Not done

単独陽性は 25 例 (69.4%)、淋菌単独陽性は 8 例 (22.2%)、クラミジア・淋菌両陽性は 3 例 (8.3%) であつた。

4. イデアとの比較

子宮頸管スワブ 120 検体および尿 116 検体について、Combo 2 とイデアとの判定結果の比較を Table 5 に示した。子宮頸管スワブ検体については両方法とも陽性が 25 例、Combo 2 陽性・イデア陰性が 3 例、両方法とも陰性が 92 例であつた。尿検体については両方法とも陽性が 12 例、Combo 2 陽性・イデア陰性が 12 例、両方法とも陰性が 92 例であつた。なお子宮頸管スワブ検体および尿検体ともに Combo 2 陰性・イデア陽性の結果は得られなかつた。

(2) 泌尿器科

1. アンプリコア®との比較

尿 171 検体について Combo 2 とアンプリコア®との判定結果の比較を Table 6 に示した。クラミジアについては両キットとも陽性が 54 例、Combo 2 陽性・アンプリコア®陰性が 5 例、Combo 2 陰性・アンプリコア®陽性が 1 例、両キットとも陰性が 111 例であつた。判定結果の一致率は 96.5% である。淋菌については両キットとも陽性が 94 例、Combo 2 陰性・アンプリコア®陽性が 1 例、両キットとも陰性が 76 例であり、Combo 2 陽性・アンプリコア®陰性の結果はなかつた。判定結果の一致率は 99.4% である。判定結果の一致しなかつた症例に対する解析結果を Table 7 に示した。クラミジアにおける 6 例中 4 例 (No. 1、2、4、5) は Combo 2、

Table 3 Comparison of female endocervical swab specimens with urine specimens for the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae*

<i>C. trachomatis</i>		Urine		Total
		Positive	Negative	
Swab	Positive	24	2	26
	Negative	0	90	90
Total		24	92	116

<i>N. gonorrhoeae</i>		Urine		Total
		Positive	Negative	
Swab	Positive	9	2	11
	Negative	0	105	105
Total		9	107	116

Positive concordance rate (urine/swab): *C. trachomatis*, 92.3%; *N. gonorrhoeae*, 81.8%

Table 4 Classification of the positive swab specimens based on APTIMA® Combo 2 test results for female patients

Infectious Status	Number	%
<i>C. trachomatis</i>	25	69.4
<i>N. gonorrhoeae</i>	8	22.2
<i>C. trachomatis</i> & <i>N. gonorrhoeae</i>	3	8.3
Total	36	100

アンプリコア®とも初回測定時と同じ判定結果となった。また 1 例 (No. 3) はアンプリコア®が初回測定で陰性であったが予備検体で陽性、1 例 (No. 6) はアンプリコア®が初回測定で陽性であったが予備検体で陰性となり、初回測定時と異なる判定結果となった。淋菌における 1 例 (No. 7) は Combo 2、アンプリコア®とも初回測定時と同じ判定結果となった。

2. 尿検体と尿道スワブ検体の比較

尿検体を採取できなかった 2 例を除いた 26 例に関して、Combo 2 での測定における尿検体と尿道スワブ検体の判定結果の比較を Table 8 に示した。クラミジアについては両検体種とも陽性が 3 例、尿検体のみ陽性・スワブ検体陰性が 2 例、両検体種とも陰性が 21 例であった。なお、スワブ検体陽性例については、尿検体もすべて陽性であった。淋菌については両検体種とも陽性が 19 例、両検体種とも陰性が 7 例であった。

Table 5 Comparison of APTIMA® Combo 2 with IDEIA for the detection of *C. trachomatis* in female endocervical swab and urine specimens

Swab	IDEIA		Total
	Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2	Positive	25	28
	Negative	0	92
Total	25	95	120

Urine	IDEIA		Total
	Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2	Positive	12	24
	Negative	0	92
Total	12	104	116

Table 6 Comparison of APTIMA® Combo 2 with AMPLICOR® for the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* in male urine specimens

<i>C. trachomatis</i>	AMPLICOR®		Total
	Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2	Positive	54	59
	Negative	1	111
Total	55	116	171

<i>N. gonorrhoeae</i>	AMPLICOR®		Total
	Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2	Positive	94	94
	Negative	1	77
Total	95	76	171

Concordance rate : *C. trachomatis*, 96.5% ; *N. gonorrhoeae*, 99.4%

なお、スワブ検体陽性例については、尿検体もすべて陽性であった。また、クラミジア、淋菌ともにスワブ検体のみ陽性で尿検体陰性の検体は認められなかった。

染状況の判定内訳を Table 9 に示した。クラミジアまたは淋菌の陽性全 129 例中で、クラミジア単独陽性は 35 例 (27.1%)、淋菌単独陽性は 70 例 (54.3%)、クラミジア・淋菌両陽性は 24 例 (18.6%) であった。

3. 尿検体での試験結果に基づく感染の分類

尿検体について、Combo 2 での測定結果に基づく感

Table 7 Analysis of discrepant results between APTIMA® Combo 2 and AMPLICOR® for the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* in male urine specimens

No.	APTIMA® Combo 2		AMPLICOR®		
	Specimen*		Specimen*		
	Sample 1		Sample 1	Sample 2 ²⁾	
	First	Re-test ¹⁾	First		
<i>C. trachomatis</i>	1	+	+	-	-
	2	+	+	-	-
	3	+	+	-	+
	4	+	+	-	-
	5	+	+	-	-
	6	-	-	+	-
<i>N. gonorrhoeae</i>	7	-	-	+	+

*Urine was divided into both specific sampling instruments for APTIMA® Combo 2 and empty tube for AMPLICOR® (Sample 1). Remaining urine was reserved for AMPLICOR® assay (Sample 2) in the case of discrepant analysis.

1) Discrepant analysis was done by re-testing the original specimens.

2) Discrepant analysis was done by additional assay using reserved samples.

Table 8 Comparison of male urethral swab specimens with urine specimens for the detection of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae*

<i>C. trachomatis</i>		Urine		Total
		Positive	Negative	
Swab	Positive	3	0	3
	Negative	2	21	23
	Total	5	21	26

<i>N. gonorrhoeae</i>		Urine		Total
		Positive	Negative	
Swab	Positive	19	0	19
	Negative	0	7	7
	Total	19	7	26

Positive swab specimens were all positive in urine specimens from the same patients.

Table 9 Classification of positive urine specimens based on APTIMA® Combo 2 test results for male patients

Infectious Status	Number	%
<i>C. trachomatis</i>	35	27.1
<i>N. gonorrhoeae</i>	70	54.3
<i>C. trachomatis</i> & <i>N. gonorrhoeae</i>	24	18.6
Total	129	100

Table 10 Comparison of APTIMA® Combo 2 with IDEIA for the detection of *C. trachomatis* in male urine and urethral swab specimens

Urine	IDEIA		Total
	Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2 Positive	36	23	59
APTIMA® Combo 2 Negative	0	112	112
Total	36	135	171

Swab	IDEIA		Total
	Positive	Negative	
APTIMA® Combo 2 Positive	2	1	3
APTIMA® Combo 2 Negative	0	25	25
Total	2	26	28

4. イデアとの比較

尿 171 検体および尿道スワブ 28 検体について、Combo 2 とイデアとの判定結果の比較を Table 10 に示した。尿検体については両方法とも陽性が 36 例、Combo 2 陽性・イデア陰性が 23 例、両方法とも陰性が 112 例であった。尿道スワブ検体については両方法とも陽性が 2 例、Combo 2 陽性・イデア陰性が 1 例、両方法とも陰性が 25 例であった。なお尿検体および尿道スワブ検体ともに、Combo 2 陰性・イデア陽性の結果は得られなかった。

考 察

近年におけるクラミジアおよび淋菌の診断は、遺伝子増幅法の導入により従来に比べて検出感度が大幅に上昇した¹⁵⁾。本キットにおいても細胞内存在量の多い rRNA

を増幅し検出すること、また TCS 技術を用いていることにより前処理で検体中の反応阻害物質を除去できることから、高感度な検出が期待される^{16),17)}。実際、本試験において酵素免疫測定法を用いたイデアと判定一致率を検討した結果、女性子宮頸管スワブ 3/120 例 (2.5%)、女性尿 12/116 例 (10.3%)、また男性尿 23/171 例 (13.5%)、男性尿道スワブ 1/28 例 (3.6%) が不一致であり、それらはすべて Combo 2 陽性・イデア陰性であった。従って、本キットを用いることにより従来の抗原検出法では見落としていた感染を検出することが考えられ、特に標的物質の濃度が低いと思われる尿検体においてその検出率が大きく向上することが期待される。

既存の遺伝子増幅検出キットであるアンプリコア®との判定一致率の検討では、女性子宮頸管スワブおよび男性尿どちらの検体もクラミジアと淋菌の検出において同等の成績が得られた。Combo 2 とアンプリコア®での

判定結果が一致しなかった例については、再測定および予備検体測定の結果判定が一致した例もあったが、不一致のままであった例が女性子宮頸管スワブ検体で2例、男性尿検体で5例あった。そのうち Combo 2 陽性、アンプリコア®陰性であった例が、女性子宮頸管スワブ検体で2例中1例、男性尿検体では5例中4例と大半を占めた。結果が一致しなかった原因については、標的とする物質が Combo 2 では RNA であり、アンプリコア®の DNA とは異なっていること、感度差、反応阻害物質の影響、他菌種との交差反応性等が考えられる。今回は判定結果が一致しなかった例に対しては再測定および予備検体の測定を行ったが、本来であれば Combo 2 およびアンプリコア®と同等あるいはそれ以上の感度を有する他の方法で確認するのが妥当である。しかしながら、それに該当する適当な確認法は現在存在しないので、本試験において不一致原因の最終的な判断を行うことは不可能であった。

Combo 2 の試験結果において、女性のクラミジア検出ではスワブ検体陽性 26 例に対し尿検体の陽性 24 例（陽性一致率 92.3%）、淋菌検出ではスワブ検体陽性 11 例に対し尿検体の陽性 9 例（陽性一致率 81.8%）、また男性においてはクラミジア検出、淋菌検出ともにスワブ検体陽性例は尿検体でもすべて陽性と、いずれも良好な一致率を示した。泌尿器科では尿道スワブの採取は受診者に苦痛を与えるため、検体として尿を用いるのが一般的である。PCR 法は検体中に含まれる Mg²⁺などの陽イオン、リン酸、キレート剤による影響を受けることが知られている^{18),19)}。実際、PCR 法では尿中の反応阻害物質の影響を受けることが報告されており²⁰⁾、特に妊婦の尿では非妊婦に比べ阻害を受けやすいと報告されている¹⁷⁾。一方、本キットは検体前処理法として TCS を採用している。poly T を結合した磁性微粒子、標的遺伝子の一部と相補的な配列に poly A テールを結合したキャプチャープローブを検体と混合することにより、標的遺伝子はキャプチャープローブを介して磁性微粒子に捕獲される。磁性微粒子は磁石により反応チューブの壁面に回収され、残りの溶液は吸引除去される。続いて洗浄液を反応チューブに添加して攪拌後、再び磁性微粒子を回収し、洗浄液を吸引除去する洗浄操作を行う。この技術により、検体中に含まれる標的遺伝子以外の成分を除去することができるため、その後の反応における阻害物質の

影響を抑えることが可能となる。実際、Mg²⁺などの陽イオン、リン酸、血液などを高濃度で添加した検体でも反応に影響がないことが、Gen-Probe 社で確認されている。また、妊婦尿と非妊婦尿との比較においても、妊婦尿で反応阻害物質による影響が認められず、偽陰性となる頻度が極めて低いことが報告されている¹⁷⁾。従って Combo 2 を用いることにより、採取の容易な尿検体を用いて高感度な検査を実施することが可能となる。

近年における性的活動の多様化により、口腔内常在 *Neisseria* 属が性器から採取したスワブ検体にも混入する可能性が懸念されている。Combo 2 では *N. subflava* や *N. cinerea* 等の口腔内常在 *Neisseria* 属や、その他クラミジアおよび淋菌の近接種も含め合計 154 種類の微生物との交差反応性が認められないことが、Gen-Probe 社で確認されている。従って交差反応による影響が無いと考えられるため、本キットを検査に用いることにより測定結果への信頼性向上が期待できる。

Combo 2 の試験結果に基づき検査陽性者を分類すると、産婦人科を受診した女性でクラミジア単独陽性が約 70%、淋菌単独陽性が約 22%、クラミジア・淋菌両陽性が約 8%という結果となった。一方泌尿器科を受診した男性ではクラミジア単独陽性が約 27%、淋菌単独陽性が約 54%、クラミジア・淋菌の両陽性が約 19%という結果であった。近年女性の淋菌感染例も増加傾向にあり、特に無症候性の淋菌感染例が多いとの報告がなされている⁶⁾。

また、コマーシャルセックスワーカーや風俗店経験者などはクラミジアと淋菌の混合感染の可能性が高い確率で疑われるが、どちらか一方の症状が強い場合は臨床症状のみではもう一方の感染を見分けることは難しい。従来の単独検査ではこれら目に見えない感染を見つけにくいので、本人の気付かないところでの感染の拡大が懸念される。一方本キットを用いた場合、クラミジアおよび淋菌を同時に検出できるため、症状の有無に関わらず感染状態を明確にすることが可能である。

Combo 2 を使用し、性感染症の最も主要な起炎菌であるクラミジアおよび淋菌の 2 項目同時検査を実施することは、性感染症の蔓延阻止および適切な治療を行う上でその有用性が期待され、さらに医療経済上においても有用であると考えられる。

文 献

- 1) 性感染症診断・治療ガイドライン<日本性感染症学会 2001 年度版>. 日性感染症会誌, 12: 10-30, 2001.
- 2) 松田静治, 市瀬正之: クラミジア・トラコマチスと淋菌による性感染症 (STD) の動向—東京地区での検討を中心に—. 産婦の実際, 50: 999-1005, 2001.
- 3) 熊本悦明ほか: 日本における性感染症 (STD) サーベイランス—2001 年度調査報告—. 日性感染症会誌, 13: 147-167, 2002.
- 4) 狩野有作: クラミジア・淋菌感染症. 臨病理レビュー, 123: 57-61, 2002.
- 5) 江頭稔久: 泌尿器科領域におけるクラミジア感染症—男性性器クラミジア感染症の現況と治療. 医のあゆみ, 203: 419-421, 2002.
- 6) 熊本悦明: エイズ/性感染症をめぐる問題点. 海外医療, 30: 4-16, 2003.
- 7) Tanaka, M., et al.: Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* and high prevalence of ciprofloxacin-resistance isolates in Japan, 1993 to 1998. J. Clin. Microbiol., 38: 521-525, 2000.
- 8) 田中正利: STD と薬剤耐性—淋菌—. 日性感染症会誌, 13: 44-58, 2002.
- 9) 工藤勝康ほか: (投稿準備中)
- 10) Giachetti, C., et al.: Highly Sensitive Multiplex Assay for Detection of Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Hepatitis C Virus RNA. J. Clin. Microbiol., 40: 2408-2419, 2002.
- 11) McDonough, S.H., Bott, M.A. and Giachetti, C.: Application of transcription-mediated amplification to detection of nucleic acids from clinically relevant organisms. Nucleic acid amplification technologies: 113-123, BioTechniques Books, 1998.
- 12) Nelson, N.C., et al.: Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. Biochemistry, 35: 8429-8438, 1996.
- 13) Arnold, L.J., et al.: Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. Clin Chem., 35: 1588-1594, 1989.
- 14) Dhingra, K., et al.: Hybridization protection assay: a rapid sensitive, and specific method for detection of Philadelphia chromosome-positive leukemias. Blood, 77: 238-242, 1991.
- 15) 熊本悦明ほか: PCR 法による *C. trachomatis* 診断キット (アンプリコア®—クラミジアトラコマチス) の基礎的・臨床的検討. 日性感染症会誌, 6: 51-61, 1995.
- 16) Gaydos, C.A., et al.: Performance of the APTIMA Combo 2 Assay for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in female urine and endocervical swab specimens. J. Clin. Microbiol., 41: 304-309, 2003.
- 17) Chong, S., et al.: Specimen processing and concentration of *Chlamydia trachomatis* added can influence false-negative rates in the LCx assay but not in the APTIMA Combo 2 Assay when testing for inhibitors. J. Clin. Microbiol., 41: 778-782, 2003.
- 18) 納富 貴ほか: LCR 法による *Chlamydia trachomatis* 診断キットの基礎的検討. 日性感染症会誌, 8: 17-26, 1997.
- 19) Sambrook, J., et al.: *In vitro* amplification of DNA by the polymerase chain reaction. Molecular cloning. A laboratory manual. 2nd ed.: 14.2-14.35, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
- 20) 佐藤英子: 妊婦 *Chlamydia trachomatis* 感染症スクリーニング検査における尿検体の有用性に関する検討. 愛知医大医会誌, 27: 313-322, 1999.

クラミジア性尿道炎に対する治療後の治癒判定に関する問題点

高橋 聡、竹山 康、国島康晴、松川雅則
西村昌宏、塚本泰司

クラミジア性尿道炎に対する治療後の治癒判定に関する問題点

Clinical issue in the evaluation of a cure for male patients with *Chlamydia trachomatis* urethritis after treatment

高橋 聡¹⁾

Satoshi TAKAHASHI

松川雅則¹⁾

Masanori MATSUKAWA

竹山 康¹⁾

Koh TAKEYAMA

西村昌宏²⁾

Masahiro NISHIMURA

国島康晴¹⁾

Yasuharu KUNISHIMA

塚本泰司¹⁾

Taiji TSUKAMOTO

性器クラミジア感染症治療直後の核酸増幅法による偽陽性が指摘されている。この偽陽性を含む治療後の陽性結果となる要因について検討した。クラミジア性尿道炎症例に対して理論的には100%の除菌率である14日間の抗菌薬投与をし、投与終了時の治癒判定を核酸増幅法にて行った。90例中1例で偽陽性、2例で飲み忘れ、5例で結果として追加投与したものの偽陽性を疑う結果を得た。抗菌薬耐性化が問題となっていないクラミジア性尿道炎の治療後の陽性結果については、偽陽性のみならず服薬のコンプライアンスの問題も含めた様々な可能性を念頭に置いた診療が必要であると考えられた。

A false-positive result for the nucleic acid amplification test kit is sometimes problematic in antimicrobial chemotherapy for genital chlamydial infection. To clarify the factors involved in positive results for *Chlamydia trachomatis*, including the true false-positive, we studied clinical profiles of patients who showed positive after treatment for the organism determined using a commercially available nucleic acid amplification test kit in 90 of those who were diagnosed as having *Chlamydia trachomatis* urethritis and treated with appropriate antimicrobial agents for at least 14 days. There were 8 patients who were still positive for *Chlamydia trachomatis* in the first-voided urine after treatment. Of these, one patient was diagnosed as having a true false-positive result. Poor drug compliance was found in 2 patients. The remaining 5 patients were those who possibly but not definitely had a false-positive result. In conclusion, we should consider various factors that yield false-positive results, including a true false-positive one and poor drug compliance, when patients still show a positive result for *Chlamydia trachomatis*, even after having been treated with appropriate antimicrobial agents for the duration necessary to eliminate the organism.

Key words : *Chlamydia trachomatis*, Urethritis, Posttreatment, False-positive

結 言

非淋菌性クラミジア性尿道炎（以下、クラミジア性尿道炎）は、淋菌性尿道炎とともに、罹患率の高い性感染症である。クラミジア・トラコマティスは、淋菌とは異

なり、その抗菌薬耐性化は、ごく一部の報告を除いて問題となっていない¹⁾。耐性化しにくいのではないかとの *in vitro* の実験結果も報告されている²⁾。ただ、培養による検出が一般的ではないため、核酸増幅法により検出され、診断される。このため、治療直後の偽陽性が問題

1) 札幌医科大学医学部泌尿器科 : Department of Urology, Sapporo Medical University School of Medicine

2) 元町泌尿器科 : Motomachi Urologic Clinic

平成16年2月6日受付、平成16年3月26日掲載決定

(〒060-8543) 札幌市中央区南1条西16丁目 札幌医科大学医学部泌尿器科 高橋 聡

となる場合があり³⁾⁻⁵⁾、治療後 3～4 週間目での治癒判定も推奨されている⁶⁾。この治療後の偽陽性が一般的には問題点として取り上げられているが、はたして、このような真の偽陽性のみが問題なのであろうか？

われわれは、理論的には 100%の治療効果が期待できる、クラミジア性尿道炎に対する 14 日間の抗菌薬投与直後の治癒判定結果について、真の偽陽性を含めて、どのような問題点があるかを検討した。

対象と方法

対象は、2002 年 1 月～2003 年 8 月までに元町泌尿器科を受診した尿道炎症例のうち、核酸増幅法（アンプリコア[®] STD-1、ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社、東京）にてクラミジア・トラコマティスが検出され、核酸増幅法による治療後の判定が可能であった 90 例である。クラミジア性尿道炎の定義は、膿尿の有無にかかわらず、核酸増幅法にてクラミジア・トラコマティスが検出された場合とした。検体は、治療前後にかかわらず、初尿とした。前治療としての抗菌薬投与を受けておらず、クラミジア感染症に対する治療としての抗菌薬を 14 日間投与された症例を対象とした。

対象症例の年齢、主訴、治療前後の膿尿の有無、治療前後のクラミジア・トラコマティス検出の有無について retrospective に検討した。用いた抗菌薬は、いずれもク

ラミジア・トラコマティスに有効な minocycline (MINO) (1 日 200mg)、gatifloxacin (GFLX) (1 日 400mg)、levofloxacin (LVFX) (1 日 300mg) である。過去の報告では、これらの抗菌薬によるクラミジア・トラコマティスの除菌率はほぼ 100%である^{7,8)}。膿尿の記載は、UTI 薬効評価基準 第 4 版暫定案 追補⁹⁾に従った。治療後の偽陽性は、治癒判定時に核酸増幅法で陽性、その後の無治療での判定にて陰性であった場合とした。

成績

症例の平均年齢は 28.4 歳(16～51 歳)であった。感染源としては、non-commercial sex worker (non-CSW) が 53 例(58.9%)で、CSW が 11 例(12.2%)、不明が 26 例であった。主訴としては、排尿痛、射精時痛、尿道分泌物など何らかの症状を有したものが 67 例(74.4%)で、性的パートナーが性器クラミジア感染症と診断されたため、または、感染の機会があったための無症候例の STD 検査は 23 例(25.6%)であった。初診時の膿尿では、(0) が 13 例(14.4%)、(-) が 36 例(40.0%)、(±) が 29 例(32.2%)、(+) が 12 例(13.3%)であった。

治療として、MINO を投与したのは 78 例、GFLX を投与したのは 10 例、LVFX を投与したのは 2 例であった。

Table Patients with a positive result for *C. trachomatis* posttreatment

Patients	Symptoms	Pyuria : initial visit (1)	Drugs	Pyuria : second visit (1)	<i>C. trachomatis</i> : third visit
#1	miction pain	(-)	MINO	(-)	negative
#2	miction pain	(-)	MINO	(0)	unknown
#3	miction pain	(+)	MINO	(0)	negative (2)
#4	urethral itching	(+/-)	MINO	(0)	negative
#5	miction pain	(+)	MINO	(0)	unknown
#6	asymptomatic	(+/-)	MINO	(-)	negative
#7	miction pain	(+/-)	GFLX	(0)	unknown
#8	asymptomatic	(+/-)	GFLX	(-)	unknown

MINO : minocycline, GFLX : gatifloxacin

(1) : according to the criteria for evaluation of clinical efficacy of antimicrobial agents on urinary tract infection-supplement-, 1999

(2) : 2 months after treatment

このうち、治療開始 14 日目の核酸増幅法にて陰性化しなかったのは、MINO 投与症例で 6 例、GFLX 投与症例で 2 例であった (Table)。再々診時の評価可能であった症例では、無治療で 2 カ月後に評価できた 1 例以外の 3 例は治療開始 28 日目に検査を行った。治療開始 14 日目でクラミジア・トラコマティス陽性 8 例の陰性化しなかった原因としては、抗菌薬の飲み忘れと確認されたのが 2 例 (症例 4、6)、真の偽陽性が 1 例 (症例 3)、偽陽性を疑うが確認できなかった症例が 5 例であった。抗菌薬を飲み忘れた 2 例については追加投与を行い、その後陰性化を確認した。症例 1 については、GFLX の追加投与を行った後、陰性化を確認した。全例、再診時には明らかな自覚症状を認めなかった。

考 察

クラミジア・トラコマティスは、淋菌とともに最も罹患率の高い性感染症の原因微生物である。淋菌とは異なり、耐性化が、ごく一部にみられるのみで問題となっていない¹⁾。さらに、クラミジア・トラコマティスに対する抗菌薬治療での有効率が高いことより、理論的には、ほぼ 100% の除菌率が得られることになる。

近年、クラミジア・トラコマティスの検出は、核酸増幅法が一般的になっており、その高い感度と特異度より診断精度が著しく向上した。しかし、治療直後に残存したクラミジア・トラコマティスの核酸を検出することによる偽陽性³⁾⁻⁵⁾が問題点として指摘されている。

このように治療後の偽陽性が問題点として指摘されている現状を鑑み、治療後の核酸増幅法での検査結果について、理論的には 100% の除菌率である男性のクラミジア性尿道炎に対する 14 日間の治療前後の検討を行った。つまり、治療直後の陽性結果について、どのような因子がかかわっているかを本研究では検討した。

14 日間の抗菌薬投与後に核酸増幅法でクラミジア・トラコマティスが陽性であったのは 90 例中 8 例 (8.9%) であった。このうち、明らかに偽陽性であったのは、1 例であった。注目すべきは、飲み忘れが明らかに確認できた症例が 2 例 (2.2%) 認められたことであった。近年、クラミジア・トラコマティスによる性器感染症に対する適切な抗菌薬による治療後の陽性結果が問題となっており、特に、偽陽性がその主要な原因として指摘

され、強調されている。しかし、服薬のコンプライアンスの問題も少なからず指摘されている^{10),11)}。単回投与でも有効な抗菌薬が処方できない現状では、1~2 週間の抗菌薬の服薬は、時に、単なる、もしくは症状が消失したことによる飲み忘れを生じる可能性がある。適切な治療後に陽性結果となる可能性としては、多数の (無治療の) 性的パートナーや新しい性的パートナーからの再感染、不適切な処方や飲み忘れなど治療不十分による再発、などがまず考えられる。さらに、薬剤の吸収障害 (他剤や食事との相互作用などによる薬理学的因子を含め)、核酸増幅法による偽陽性の判定 (真の偽陽性)、きわめて少ないながらも抗菌薬耐性が挙げられており¹²⁾、様々な可能性を念頭に置いた診療が必要であると考えられる。結果として抗菌薬を追加投与した 5 例については、飲み忘れではないとの確認はできたが、偽陽性と明らかに判定できなかった。この点に関しては、性感染症患者の再診率の低さ、感染源とならないようにするための結果としての追加投与が明らかに判定できなかった理由ではあるが、retrospective 研究の問題点であると考ええる。しかし、前述したいくつかの可能性の中から推測すると偽陽性である可能性が高く、やはり、ガイドラインに沿った治療判定が適切であると考えられた。

したがって、クラミジア性尿道炎に対する、治療直後の陽性結果の中には、核酸増幅法の問題点でもある真の偽陽性ととも、抗菌薬の飲み忘れという服薬のコンプライアンスも影響しているという点を念頭に置く必要があると考えられた。

文 献

- 1) 高橋 聡: *Chlamydia trachomatis* と薬剤耐性. 日性感染症会誌, 13: 40-43, 2002.
- 2) Takahashi, S., et al.: *In vitro* analysis of the change in resistance of *Chlamydia trachomatis* under exposure to sub-MIC levofloxacin for a therapeutic term. *Chemotherapy*, 46: 402-407, 2000.
- 3) 前田真一ほか: 男子クラミジア性非淋菌性尿道炎の抗菌薬 7 日間治療の成績と治療後の Polymerase Chain Reaction 法によるクラミジア検出の問題点. 日性感染症会誌, 13: 81-86, 2002.
- 4) 本藤 徹ほか: Polymerase chain reaction 法を用いた

- Chlamydia trachomatis* 子宮頸管炎治療後の治療判定について. 日性感染症会誌, 14 : 97-101, 2003.
- 5) Takahashi, S., et al. : Detection of antimicrobial-treated *Chlamydia trachomatis* with Amplicor PCR test kit. J. Infect. Chemother., 6 : 211-215, 2000.
- 6) 性器クラミジア感染症, 性感染症 : 診断・治療ガイドライン 2002 年版. 日性感染症会誌, 12 : 18-20, 2001.
- 7) 熊本悦明ほか : 男子非淋菌性クラミジア性尿道炎に対する Ofloxacin および Doxycycline の治療効果. 日性感染症会誌, 1 : 67-74, 1990.
- 8) 河田幸道ほか : 淋菌性及び非淋菌性尿道炎に対する gatifloxacin の臨床効果. 日化療会誌, 47 : 786-793, 1999.
- 9) 河田幸道 : UTI 薬効評価基準 第 4 版暫定案 追補. 日化療会誌, 47 : 566-591, 1999.
- 10) Augenbraun, M., et al. : Compliance with doxycycline therapy in sexually transmitted diseases clinics. Sex. Transm. Dis., 25 : 1-4, 1998.
- 11) Beckman, LH., et al. : Measured versus self-reported compliance with doxycycline therapy for chlamydia-associated syndromes: high therapeutic success rates despite poor compliance. Sex. Transm. Dis., 26 : 272-278, 1999.
- 12) Mårdh, PA., Persson K. : Is there a need for rescreening of patients treated for genital chlamydial infections? Int. J. STD AIDS, 13 : 363-367, 2002.

**IS SEMINAL VESICULITIS A DISCRETE DISEASE
ENTITY? CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL
STUDY OF SEMINAL VESICULITIS IN PATIENTS
WITH ACUTE EPIDIDYMITIS**

**RYOJI FURUYA, SATOSHI TAKAHASHI, SEIJI FURUYA,
YASUHARU KUNISHIMA, KOH TAKEYAMA, AND
TAIJI TSUKAMOTO**

The Journal of Urology, Vol. 171, No. 4, April 2004

IS SEMINAL VESICULITIS A DISCRETE DISEASE ENTITY? CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL STUDY OF SEMINAL VESICULITIS IN PATIENTS WITH ACUTE EPIDIDYMITIS

RYOJI FURUYA, SATOSHI TAKAHASHI,* SEIJI FURUYA, YASU HARU KUNISHIMA,
KOH TAKEYAMA AND TAJI TSUKAMOTO

From the Departments of Urology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo and Furuya Hospital (SF), Kitami, Japan

ABSTRACT

Purpose: To our knowledge direct evidence of inflammatory involvement of the seminal vesicles has not previously been reported in patients with acute epididymitis. We verified the discrete disease entity of seminal vesiculitis associated with acute epididymitis.

Materials and Methods: The study included 13 patients who were clinically diagnosed with acute epididymitis. We report imaging, cytological and bacteriological findings in the seminal vesicles of patients with acute epididymitis.

Results: On transrectal ultrasonography 12 of the 13 patients (92.3%) had dilatation of the seminal vesicle on the side ipsilateral to epididymitis. Dilatation of the contralateral side was found in only 4 patients. Seminal vesicle fluid from the ipsilateral side showed inflammatory findings in all patients. In patients 40 years and younger *Chlamydia trachomatis* was detected in seminal vesicle fluid in 7 of the 8 patients with epididymitis with results positive for the microorganism on first voided urine.

Conclusions: Inflammatory responses were found in the seminal vesicles of patients with acute epididymitis. *Chlamydia trachomatis* was the causative pathogen most frequently detected in seminal vesicle fluid. Seminal vesiculitis is clearly associated with acute epididymitis and it may be a discrete disease entity.

KEY WORDS: testis, seminal vesicles, epididymitis, *Chlamydia trachomatis*, inflammation

Recent advances in imaging modalities such as transrectal ultrasonography (TRUS) have enabled us to investigate the external and internal architecture of the prostate and seminal vesicles. Christiansen and Purvis reported that 68% of patients with chronic abacterial prostatitis had inflammatory findings in the prostate and seminal vesicles on TRUS.¹ In addition, 72% of their patients had a history of epididymitis or a simultaneous association of inflammation in the epididymitis. When inflammatory findings were unilaterally found in 1 seminal vesicle, patients had epididymitis exclusively on the ipsilateral side. In a study of Littrup et al similar results were found and 62% of patients with "chronic prostatitis syndrome" had abnormalities of the seminal vesicles, characterized by elongation, dilatation and thickening of the septa.² Finally, Krishnan and Heal reported that the seminal vesicle on the side ipsilateral to epididymitis was enlarged in 13 of 18 patients who were evaluated by TRUS and 92% of enlarged seminal vesicles returned to normal size by 12 weeks after treatment.³ These studies suggest that the seminal vesicle was involved in the infection of epididymitis and prostatitis. However, no cytological and bacteriological analyses of fluid in the dilated or elongated seminal vesicles were done in the studies.¹⁻³ Thus, direct evidence of inflammatory involvement of the seminal vesicles has not been extensively studied in patients with acute epididymitis.

In this context we studied seminal vesicle involvement by imaging, and by cytological and microbiological examinations of seminal vesicle fluid in patients with acute epididymitis.

We determined whether seminal vesiculitis is a discrete disease entity.

PATIENTS AND METHODS

Patient evaluation. All patients who presented to us had typical symptoms and clinical signs of acute epididymitis, characterized by fever a few days in duration and markedly swollen scrotal contents with severe tenderness. Testicular torsion was carefully differentiated by skilled urologists. All patients had 10 or more white blood cells in the urinary sediment of first voided or midstream urine. Patients were evaluated by TRUS before and after treatment, and bacteriological and cytological studies before treatment. After diagnostic evaluations they were treated with appropriate antimicrobial chemotherapy for an adequate duration.

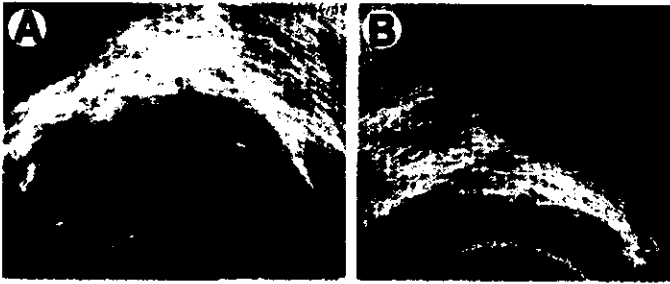
TRUS imaging and TRUS guided seminal vesicle puncture. TRUS was performed using an Aloka SSD-5000 ultrasound apparatus (Aloka Co., Ltd., Tokyo, Japan) with a bipplanar, high resolution 5.0 to 7.5 MHz transrectal transducer. The standard method was used for TRUS. Briefly, a probe covered by a rubber sack with a lubricant was gently inserted into the patient anus. In the transverse view of TRUS maximum right and left seminal vesicle areas were calculated automatically by instrument software. Seminal vesicle dilatation was defined by at least 1 finding on TRUS examination, namely 1) the area was 0.3 cm² larger than that of the opposite side according to the definition of Krishnan and Heal,³ 2) the anteroposterior dimension was greater than 1.5 cm according to the definition of Littrup et al² or 3) an obvious cystic change was found (see figure). To evaluate the efficacy of antimicrobial treatment maximum seminal vesicle areas examined by TRUS were calculated again after treatment.

The seminal vesicle was punctured in a standard manner 2

Accepted for publication November 7, 2003.

Study received institutional review board approval.

* Correspondence: Department of Urology, Sapporo Medical University School of Medicine, South 1, West 16, Chuo-Ku, Sapporo 060-8543, Japan (telephone: +81-11-611-2111, extension 3472; FAX: +81-11-612-2709; e-mail: stakahas@sapmed.ac.jp).



TRUS reveals seminal vesicle involvement in patient with left acute epididymitis. A, left seminal vesicle is enlarged and dilated with multicystic changes. B, right seminal vesicle is not dilated.

to 3 hours after the initial administration of an antimicrobial agent to eliminate the possibility of microorganism dissemination. Briefly, each patient was placed in the lithotomy position under caudal anesthesia. The puncture attachment, an Aloka MP-2451 (Aloka Co., Ltd.) equipped with a transrectal transducer to guide the needle, was used to puncture the seminal vesicle. With careful observation of the longitudinal section of the seminal vesicle being monitored by TRUS an 18, 20 or 22 gauge needle was introduced into the seminal vesicle through the perineum and bilateral seminal vesicle fluid was aspirated. The aspirated fluid from the seminal vesicle was then subjected to microbiological and cytological examinations.

Microbiological study. All patients underwent standard microbiological examinations, including urinalysis of first voided and midstream urine specimens, gram staining of urethral discharge and detection. *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* of the first voided urine and seminal vesicle fluid were detected by a commercially available polymerase chain reaction method, Amplicor STD-I (F. Hoffmann-La Roche, Ltd., Basel, Switzerland). Aerobic bacterial pathogens of the midstream urine and seminal vesicle fluid were detected with a standard method. Briefly, specimens were incubated with 5% sheep blood agar, mannitol salt agar and bromthymol blue lactose agar at 36C for 24 hours. Significant colonies were identified by the analytical profile index procedure using the MicroScan Walk/Away system (Dade Behring, Inc., Dade MicroScan, Inc., West Sacramento, California) according to manufacturer instructions. In the case of aerobic culture positive culture was defined as 10^4 cfu/ml or greater for any bacteria that grew in urine.

Cytological analysis of seminal vesicle fluid. For smear samples preparation seminal vesicle fluid was applied to the surface of a microscopic slide just after puncture and dried. It was fixed by methanol and stained by Giemsa, dried again and used for microscopic examination. On cytological examination the seminal vesicle was considered to show inflammation if white blood cells (neutrophils) were consistently found in the smear sample in a 400 \times high power field, in accordance with our previous study.⁴ The number of white blood cells is shown as the mean.

Treatment. When patients were tentatively diagnosed with acute epididymitis associated with chlamydial urethritis, in particular patients around 40 years and younger, they were treated orally with 100 mg levofloxacin 3 times daily or 200 mg clarithromycin twice daily for 2 to 3 weeks. When patients were older than 40 years or had a clinical history that excluded the possibility of sexually transmitted disease and they were diagnosed with an associated urinary tract infection, they were treated orally with 100 mg cefcapene pivoxil hydrochloride 3 times daily for 2 weeks.

Statistical analysis. The paired t test was used to assess the difference between the calculated area of the seminal vesicle before and after treatment.

Informed consent. Written informed consent was obtained from all patients who agreed to participate in this study.

RESULTS

Patient profiles and clinical outcomes. The study included 13 patients with acute epididymitis. Median patient age was 28 years (range 19 to 76). Epididymal involvement was on the right side in 5 patients and on the left side in 8 (table 1). All 13 patients showed improvement in symptoms and signs after appropriate treatment with antimicrobial agents at the last visit. We did not count the number of patients approached who did not agree to be studied.

Seminal vesicle findings. Dilatation of the seminal vesicle on the side ipsilateral to epididymitis was found in 12 of the 13 patients (92.3%) on TRUS examination. Only 4 patients (30.8%) had dilatation on the contralateral side with (3) or without (1) simultaneous ipsilateral dilatation. Seminal vesicle area on the ipsilateral side was significantly larger than on the contralateral side when it was evaluated before treatment (table 2).

Of the 13 patients 11 were evaluated again by TRUS status of the seminal vesicles after treatment. Although the time of evaluation after treatment varied from 6 to 96 days, vesicle size on the ipsilateral side was markedly reduced after treatment when compared in 11 patients with data available before and after treatment. However, no significant reduction was found between vesicle area on the contralateral side before and after treatment in 11 patients with data available. Cystic lesions of the seminal vesicle were found in 8 of the 13 patients with seminal vesicle involvement on the side ipsilateral to epididymitis. One patient also had these cystic lesions on the contralateral side. All visible cystic lesions disappeared after treatment.

The seminal vesicle on the side ipsilateral to epididymitis was successfully punctured in all patients but on the contralateral side in only 5 (38.5%). The mean volume of aspirated seminal vesicle fluid was 1.8 ml (range 0.2 to 4.0) on the ipsilateral side and 1.1 ml (range 0.1 to 2.0) on the contralateral side. Inflammation was found in the seminal vesicle ipsilateral to epididymitis in all 13 patients. However, only 2 of the 5 patients with successful vesicle puncture on the contralateral side showed inflammatory findings. No patients experienced any bleeding or infectious complications associated with seminal vesicle puncture, although there might have been bleeding from the prostate or subcutaneous tissue, or high grade fever due to sepsis as potential complications. We never tried to puncture the seminal vesicles of patients with shock status due to sepsis as a contraindication.

Microbiological findings. *C. trachomatis* was detected in patients 1 to 8 of the 13 patients (68.3%) in first voided urine. These 8 patients were younger than 40 years. Seven of them were also positive for this organism in seminal vesicle fluid from the ipsilateral side. In the remaining patient neither *C. trachomatis* nor bacteria were detected. *N. gonorrhoeae* was

TABLE 1. Age, epididymitis side and seminal vesicle dilatation on imaging

Pt No.—Age	Epididymitis Side	Seminal Vesicle Dilatation		Antimicrobial Treatment
		Ipsilat	Contralat	
1—19	Lt	Yes	No	Levofloxacin
2—22	Rt	Yes	Yes	Levofloxacin
3—22	Lt	Yes	No	Clarithromycin
4—23	Rt	Yes	No	Levofloxacin
5—26	Lt	Yes	No	Levofloxacin
6—26	Lt	Yes	No	Clarithromycin
7—28	Lt	Yes	No	Levofloxacin
8—37	Lt	No	No	Clarithromycin
9—40	Rt	No	Yes	Cefcapene pivoxil hydrochloride
10—43	Rt	Yes	Yes	Cefcapene pivoxil hydrochloride
11—57	Rt	Yes	No	Cefcapene pivoxil hydrochloride
12—74	Rt	Yes	No	Cefcapene pivoxil hydrochloride
13—76	Lt	Yes	Yes	Cefcapene pivoxil hydrochloride