

## OTOLARYNGEAL *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* INFECTIONS AND DIAGNOSTIC TECHNIQUES

Hiroshi Ogawa

E. N. T. clinic, Kitasato Institute Hospital, Tokyo

Yukimasa Kazuyama

Research and Development Center of Hygienic Science, Kitasato University, Tokyo

Kazuhiro Hashiguchi

Department of Otorhinolaryngology, Keio University School of Medicine, Tokyo

Although *C. trachomatis* is becoming the more common pathogens of otolaryngeal infections, our diagnostic methods are inadequate. The most recommended procedure for primary isolation of *C. trachomatis* is the tissue culture technique, but it necessitates special facilities and experienced technicians. Results with this approach are often too delayed to be of immediate clinical benefit.

Recently techniques for rapid and easier diagnostic methods have been developed and are now commercially available; enzyme-linked immunosorbent assay (Chlamydiazyme, Abbott Co.) and immunofluorescence method (MicroTrak, Syva Co.). We compared results by these methods to those by tissue

culture. Reliability of Chlamydiazyme, that is, agreement with culture results, occurred in 84.6% of specimens from patients with tonsillitis. But sometimes after treatment with antibiotics, non-viable agents were detected by immunological methods. In cases with otitis media with effusion, 5 of 10 effusions from which *C. trachomatis* was not isolated had MicroTrak-positive particles, and anti-chlamydial antibodies were detected by micro-IF test<sup>6)</sup> in 4 of them. It seems that antigen-antibody complexes formed in middle ear fluids, and it may suggest that immune complexes of *C. trachomatis* are involved in the pathogenesis of otitis media with effusion.

## *Chlamydia trachomatis* による 耳鼻咽喉科疾患と検査法の問題点について

小川浩司

北里研究所病院耳鼻咽喉科

和山行正

北里大学衛生科学検査研究センター

橋口一弘

慶応義塾大学医学部耳鼻咽喉科

はじめに

近年 *Chlamydia trachomatis* が再び脚光を浴びるようになり、この病原体による感染症の範疇に入る疾患は急速に増えている。耳鼻咽喉科領域では咽頭や中耳に感染することが知られており<sup>1)2)</sup>、我々が *C. trachomatis* を検出した疾患は急性扁桃炎、遷延性扁桃炎、反復性扁桃炎、急性反復性中耳炎と滲出性中耳炎である<sup>3)4)</sup>。*C. trachomatis* は細胞寄生性微生物であるため、一般細菌のように人工培地では増殖せず、培養による診断のためにはウィルスと同じように感受性のある培養細胞に接種して増殖させなければならず、一般の医療施設でこれを行なうのは困難である。今日一般的には酵素抗体法や蛍光抗体法による *C. trachomatis* 抗原検索や患者血中抗体価を測るのが普通である。しかし咽頭や中耳腔から、*C. trachomatis* が感染した十分な量の細胞が採れるか否か、また交叉反応などの非特異的反応が問題となると思われる。我々は扁桃炎および滲出性中耳炎からの検体を採取して、分離培養法、ELISA 法、蛍光抗体法による *C. trachomatis* 感染の診断を行ない比較し、現在行なえる簡易診断法の耳鼻咽喉科領域疾患での抗原検索法としての有用性について検討した。

対象

北里研究所病院耳鼻咽喉科を受診した種々の扁桃炎患者 33 名および滲出性中耳炎患者 16 名である。

方法

(1) 分離培養法 扁桃陰窩および中耳貯留液より細い綿棒で採取した検体を、Kuo らの方法<sup>5)</sup> によって培養 HeLa229 細胞に接種し 72 時間培養増殖後、ギムザ染色をして封入体を観察した。

(2) ELISA 法 扁桃陰窩より綿棒で検体を採取し、市販の Chlamydiazyme 診断用キット (Abbott 社) を用いて測定した。

(3) 蛍光抗体法 扁桃陰窩および中耳貯留液から綿棒で検体を採りスライドグラスに塗抹、風乾後冷アセトンにて固定し MicroTrak (Syva 社) によって検査した。

(4) 抗体測定 国立予防衛生研究所標準株を使って、Wang らの Micro-IF 法<sup>6)</sup> によって滲出性中耳炎貯留液中の *C. trachomatis* に対する抗体を測定した。8 倍以上の希釈で蛍光が認められたものを陽性とした。

結果

(1) 扁桃炎同一患者検体を用いた分離培養法と Chlamydiazyme の結果は表 1 に示すが、84.6% において結果が一致し、15.4% では一致しなかった。分離培養法で陰性、Chlamydiazyme 陽性の 2 例はいずれも治療後の症例で、この他に他院で 1 ヶ月以上治療したのにもかかわらず、Chlamydiazyme の結果が陰性化せず来院し、分離培養法で陰性だったものが 3 症例ある。

(2) 扁桃炎同一患者検体の分離培養法と MicroTrak の結果は表 2 に示す。分離培養法で陰性であるが MicroTrak が陽性のものは 5 例あるが、既往 2 とあるのは、分離培養で陽性だった者が治療を行なった後の症例である。

(3) 滲出性中耳炎貯留液の場合は同一患者貯留液を用いて、分離培養および蛍光抗体法 (MicroTrak) によって *C. trachomatis* に対する抗体を調べた。表 3 に示すように分離培養で陰性だったものが 10 例あるが、その中には蛍光抗体法で抗原が検出され、しかも抗体も検出されたものが 4 例あった。

(表 1) 扁桃炎同一患者検体による分離培養法とクラミジアザイムの検査結果

		クラミジアザイム	
		陽性	陰性
分離培養	陽性	1	2
	陰性	2	21

(表2) 扁桃炎同一患者検体による分離培養法とマイクロトラックの検査結果

		マイクロトラック	
		陽性	陰性
分離培養	陽性	1	1
	陰性	5(既往2)	0

(表3) 同一患者中耳貯留液の分離培養、蛍光抗体法による抗原検出および貯留液中の抗体検出の結果

症例	分離培養	MicroTrak	Micro-IF
1	(-)	(-)	(-)
2	(-)	(-)	(-)
3	(+)	(+)	(+)
4	(+)	(+)	(+)
5	(+)	(+)	(+)
6	(+)	(-)	(-)
7	(+)	n. d.	(-)
8	(-)	(+)	(-)
9	(-)	(+)	(+)
10	(-)	(+)	(+)
11	(-)	(+)	(+)
12	(-)	(-)	(+)
13姉	(-)	(-)	n. d.
14弟	n. d.	(+)	(+)
15	(-)	(+)	(+)
16	(-)	(-)	n. d.

## 考 察

### (1) 扁桃の診断法に関して

Chlamydiazyme 診断用キットは大抵の施設で使える最も簡単な診断法であるが、クラミジア属特異性抗体を用いているために *C. psittaci* (オーム病) とも反応し、また種々の一般細菌とも交叉反応をすることが考えられるので生殖器や泌尿器以外の検体の診断には用いないことになっている。しかし我々の検討では扁桃陰窩の検体を用いてもスクリーニングテストとしては使えそうである。

*C. psittaci* によるオーム病は臨床症状が異なる。我々の症例中2例は、分離培養で陽性だったために抗生剤による治療を行ない、分離培養では陰性だったが Chlamydiazyme では陽性であった。同様な症例が他院からの紹介で3例あったので、Chlamydiazyme はすでに viability を失った病原体とも反応する可能性があり、治療の経過観察には使えそうもない。MicroTrak については、今回検索した症例数が少ないので結論は先に延ばすが、やはり治療済みの症例で陽性にでた症例があり治療の経過観察には使えないと思われた。吉沢ら<sup>7)</sup> は *C. trachomatis* による肺炎が疑われた乳児の咽頭および鼻咽腔の擦過材料について、分離培養法と蛍光抗体法による直接染色法 (MicroTrak) を行ない、12 例中ともに陽性だったものは1例、培養で陰性、直接法で陽性だったのが6例あったことから種々検討し、咽頭および鼻咽腔の侵出液中には *C. trachomatis* 感染粒子を不活化する物質が存在するとし、直接塗抹材料を用いた蛍光抗体法を行なうことを推奨している。しかし我々の検索では、治療済みで、すでに viability を失っていると思われた病原体でも反応しており、蛍光抗体法単独では不十分であると思われる。また MicroTrak に用いられているモノクローナル抗体が Protein A と反応することから *S. aureus* でも蛍光を発するので<sup>8)</sup>、扁桃の材料では十分な注意が必要であると思われる。

### (2) 滲出性中耳炎の場合

我々が分離培養を行なった中耳貯留液15例で、MicroTrak との陽性一致例は3 (75%) で陰性一致例は5 (50%) であった。分離培養が陰性で、MicroTrak が陽性だったのは5例あるが、その中4例は抗体も検出されており免疫複合体になっている可能性が考えられた。滲出性中耳炎の発症機作は未だ不明な点が少ないが免疫複合体が何らかの役割を演じていることが考えられており興味ある検

査結果である。従って滲出性中耳炎や急性中耳炎からの検体で蛍光抗体法による病原体検索を行なう場合、検体中の抗体も同時に検出することが臨床上必要になってくるものと考ええる。

### ま と め

現在 *Chlamydia trachomatis* による耳鼻咽喉科疾患は扁桃炎と中耳炎である。*C. trachomatis* の診断法としては分離培養が最も確実であるが、設備や技術上の問題からどこの施設でもできる検査法ではない。そこで我々は現在市販されているより簡便な診断法である Chlamydiazyme と MicroTrak を用い、扁桃および滲出性中耳炎の検体で培養法と同時に施行し比較した。

(1) 扁桃炎陰窩より採取した検体では、Chlamydiazyme でも MicroTrak でもすでに viability を失っている病原体とも反応するので、治療結果を判定するには不都合である。

(2) 診断に用いる場合には感染経路に関するアナムネーゼや血清抗体価検査を同時に行なう必要がある。

(3) 中耳貯留液では分離培養陰性であるのに、MicroTrak 陽性のものが相当数あり、しかもその 80% で貯留液中の *C. trachomatis* に対する抗体も検出された。滲出性中耳炎の発症と関連した免疫複合体を形成していることが考えられた。

### 文 献

- 1) Dawson CR and Schachter J : TRIC agent infection of the eye and genital tract. Am J Ophthal 63 : 1288-1298, 1967.
- 2) Tipple MA, Beem MO and Saxon EM : Clinical characteristics of the afebrile pneumonia associated with *Chlamydia trachomatis* infection in infants less than 6 months of age. Pediatr 63 : 192-197, 1979.

- 3) 小川浩司、田中寿一、和山行正他 : *Chlamydia trachomatis* による慢性扁桃炎。日耳鼻 91 : 333-340, 1988.
- 4) 小川浩二司 : 耳鼻咽喉科領域のクラミジア感染症。耳鼻展 31 : 273-278, 1988.
- 5) Kuo CC, Wang SP, Wentworth BB et al. : Primary isolation of TRIC organisms in HeLa 229 cells treated with DEAE-dextran. J Infect Dis 125 : 665-668, 1972.
- 6) Wang SP and Graystone JT : Immunological relationship between genital TRIC, lymphogranuloma venereum, and related organisms in a new microtiter indirect immunofluorescence test. Am J Ophthal 70 : 367-374, 1970.
- 7) 吉沢花子、橋爪壮、藤田秀雄 : *Chlamydia trachomatis* の分離培養法の検討と分離成績。臨床とウィルス 13 : 247-252, 1985.
- 8) Krech T, Gerhard-Fsadni D, Hofmann N et al : Interference of *Staphylococcus aureus* in the detection of *Chlamydia trachomatis* by monoclonal antibodies. Lancet 8438 : 1161-1162, 1985.

## 質 疑 応 答

**質問** 木村繁（東京都）

滲出性中耳炎における感染経路は。

**応答** 小川浩司（北里研究所病院）

感染経路は出産時産道感染症が最も考えられる。

**質問** 荒牧元（東女医大・第二病院耳鼻科）

咽喉頭異常感症の患者でクラミシアが検出された例はありますか。

**応答** 小川浩司（北里研究所病院）

咽喉頭異常感症の検出率は5%以下で低い  
が、本病原体による感染が分った後で異物感を訴えるものは多い。

**質問** 馬場駿吉（名市大）

扁桃から検出された症例では臨床上何か特徴はなかったか。

**応答** 小川浩司（北里研究所病院）

臨床的特徴としては、反復性と遷延性炎症の傾向が見られますが、局所所見には特別なものはありません。