

膀胱炎様症状を主訴に受診した子宮頸管炎症例

¹⁾札幌医科大学医学部泌尿器科, ²⁾京都府立医科大学産婦人科

高橋 聡¹⁾ 岩破 一博²⁾

症例：19歳，女性

主訴：下腹部痛と排尿時痛

現病歴：数ヶ月前から症状の発現を繰り返していたが，症状の程度には波があり様子を見ていた。しかし，症状の改善が無いため受診した。経過中には，時に頻尿も認めた。自覚的な帯下の異常ははっきりせず，発熱は認めなかった。妊娠の可能性は（恐らく）無いとのことであった。

既往歴：生来健康

生活歴：大学生で，未婚。喫煙習慣無し。飲酒は付き合い程度。アレルギー歴無し。

身体所見：外見上は真面目そうで，垢抜けしていない印象。中肉中背で，下腹部に軽度の圧痛あるが，触知可能な腫瘍は無い。術創は無く，熱感も無い。

初診時検査所見：検尿では，pH：7，尿タンパク（-），尿糖（-）。尿沈渣では，赤血球が1~4/high power field (hpf)，白血球が5~10/hpf，扁平上皮細胞の混入を認めた。

臨床経過：膿尿の程度は軽度であったが，症状から急性膀胱炎を疑った。中間尿を培養検査に提出し，cefepodoxime proxetil (CPDX-PR) (1回100mg, 1日2回, 7日間)を処方した。1週間後に再診とした。

再診時検査結果：初診時の尿培養検査の結果は，*Staphylococcus epidermidis* (10⁴cfu/mL)であった。投与したCPDX-PRは，*S. epidermidis*には感受性を

有していた。しかし，再診時の検尿では，初診時と同じ所見であった。

臨床経過：症状に改善は無かった。性交渉の有無を尋ねたところ，性交渉経験はあるとのことであったが，性的パートナーの有無については返答を得られなかった。臨床経過から，急性膀胱炎は否定的であると判断し，クラミジア性子宮頸管炎を疑った。

近医婦人科に症状と治療経過を詳細に記し，*Chlamydia trachomatis*感染を疑う旨を強調して紹介受診させた。

近医婦人科での経過：婦人科での診察では内診時に圧痛を認め，子宮頸管スメアを検体とした核酸増幅法の検査にて*C. trachomatis*が陽性，*Neisseria gonorrhoeae*が陰性という結果であった。この検査結果より，クラミジア性子宮頸管炎と診断し，clarithromycin (CAM) (1回200mg, 1日2回, 7日間)を処方し，その後，症状は軽快した。

“本症例の疑問点”から“研究的考察”へ

¹⁾札幌医科大学医学部泌尿器科, ²⁾京都府立医科大学産婦人科

高橋 聡¹⁾ 岩破 一博²⁾

本症例 (*Chlamydia trachomatis* 感染症) の疑問点

疫学的特徴は？

診断 (検出法) の注意点とピットフォールは？

病原性・上皮の親和性は？

特徴的な所見は？

性器クラミジア感染症は、主要な性感染症の一つであり、男女共に罹患率が高いことが知られている。性器クラミジア感染症の原因菌である *C. trachomatis* は、古くは眼感染症であるトラコーマの原因菌として重要であった。実際、アフリカでは未だにトラコーマが小児の失明の原因として問題となっている。近年では、*C. trachomatis* は、最も代表的な性感染症の原因菌であり、女性の不妊症や腹膜炎にも関与するという意味で、公衆衛生学的にも重要な細菌である。

性器クラミジア感染症、特にクラミジア性尿道炎とクラミジア性子宮頸管炎は、軽度の自覚症状により診断されることが多いが、感染者の多くは無症状であることが知られている。したがって、米国 Centers for Disease Control and Prevention (CDC) では、感染の危険性の高い女性に対するスクリーニングを推奨している¹⁾。しかし、日本においては、妊婦健診のみがスクリーニングの貴重な機会であり、そのような機会がなければ、無症状のまま感染源となっている可能性がありえる。また、男性でも同様に無症候性感染があることが知られている²⁾が、男性ではスクリーニングの機会がほぼ皆無である。無症候性感染が多いことが特徴ではあるが、時に骨盤内炎症性疾患 (Pelvic inflammatory disease ; PID)、Fitz-Hugh-Curtis 症候群、急性精巣上体炎など重症化する場合もある。

治療は、推奨されている標準的治療が有効であり、耐性菌 (もしくは、低感受性菌) も散見されるのみである。

疫学的特徴は？

性器クラミジア感染症は、男女比としては女性で罹患率が高く、20~24歳の女性が罹患率のピークであり15~19歳と25~29歳の女性も同様に罹患率が高い。この傾向は、2002年の9モデル道府県でのサーベイランス調査³⁾ (Table 1)、2000年から2012年

までの年齢別定点当たり報告数の年次推移⁴⁾、共に同様の結果である。ただし、ほとんどの患者は、何らかの症状を有しているか、受診の契機となる所見を自覚するか、受診の必要性が生じたことにより医療機関を受診する訳であり、受診する契機の無い無症候性感染例も、さらに多く存在していると考えられる。実際には、無症候性感染例の把握が完璧にできない限りは正確な罹患率を明示することは困難である。したがって、定点報告の統計などは、性器クラミジア感染症罹患率の増減など、あくまで傾向をつかむための情報と考えるほうがよいかもしれない。さらに、国内外の罹患率の比較に関しても、サーベイランス法の相違があり、その比較は困難である。例えば、2011年に米国の全州で行われたサーベイランス⁵⁾と2002年に行われた日本の9道県で行われたサーベイランス³⁾では、15歳から19歳までの女性の罹患率は大きく異なる。米国のサーベイランスでは、この年代のクラミジア感染者は、女性10万人あたり3416.5人で、日本のサーベイランスでは967.6人である。この相違は、米国ではスクリーニングを受ける女性の数が多いことに起因していると推測される。また、米国では、性感染症専門のクリニック以外のプライマリ・ケアクリニックにも患者は受診しており、そのような施設からの報告もまとめられていることも大いに関係があると思われる。逆に考察すると、日本の罹患数は、さらに多い可能性がある。このように、女性の性器クラミジア感染症罹患者は、かなり多いことが予想され、性風俗など特別な環境の特別な感染症ではないことが明らかである。つまり、性感染症に罹患する危険因子が明らかではないような女性でも感染する機会があり、そして、無症状で気づかないまま経過する可能性がある。

もう一つの代表的な性感染症である淋菌感染症との比較では、日本のサーベイランスにおいては、女性の淋菌感染症の罹患率は男性よりも低い³⁾ (Table 2)。女性の子宮頸管スメアでは、他の細菌の混入によりグラム染色での診断が困難であるが、核酸増幅法では淋菌検出の感度は高い。しかし、近年の核酸増幅法の普及にもかかわらず淋菌感染症の罹患率は増加していない。ただ、米国のサーベイランス報告では、淋菌感染症の罹患率には性差はない⁵⁾。この相違が、

Table 1 2002年度の性器クラミジア感染症罹患率（10万人・年対罹患率）

年齢	15～19歳	20～24歳	25～29歳	30～34歳	35～39歳	40～44歳
女性	967.6	1183.1	876.7	505.8	234.0	106.4
男性	237.8	463.2	475.5	369.7	266.2	144.5

Table 2 2002年度の女性における性器クラミジア感染症と淋菌感染症の罹患率（10万人・年対罹患率）

年齢	15～19歳	20～24歳	25～29歳	30～34歳
性器クラミジア感染症	967.6	1183.1	876.7	505.8
淋菌感染症	175.1	204.7	152.2	100.8

Table 3 国内で使用可能な核酸増幅法を用いた検出キット

核酸増幅法	TMA法	SDA法	real-time PCR法	real-time PCR法
製造会社	ホロジック/ジェンブ ローブ	ベクトン・ディッキ ンソン	ロシュ・モレキュ ラーシステムズ	アボット
増幅標的	ribosomal RNA	DNA	DNA	DNA
検体	男性尿道擦過物・子 宮頸管擦過物・(男 性)尿・咽頭擦過物	男性尿道擦過物・子 宮頸管擦過物・(男 性)尿・咽頭擦過物	子宮頸管擦過物・(男 性)尿・咽頭うがい液	男性尿道擦過物・子 宮頸管擦過物・(男 性)尿・陰擦過物

検査法によるものか、対象集団の相違によるものかは明らかではない。

このような原因菌による男女間の感染率の相違に関する細菌学的、もしくは、感染免疫の研究は非常に興味深いところであるが、現状では十分には明らかになっていない分野である。今後の研究への発展として挙げられるのは、全都道府県の性感染症診療の医療機関を対象としたサーベイランス実施、それによる国内外の罹患率の比較、さらに、感染率の性差の解明である。

診断（検出法）の注意点とピットフォールは？

C. trachomatis を検出する方法としては、核酸増幅法が最も高感度である。分離培養や蛍光抗体法による観察は可能ではあるが、煩雑であり臨床現場では有用ではない。抗体測定法は、感染時期の特定が困難であり治療効果を反映しないことから、日常的な検査としての意義はない。抗原検出法は、比較的短時間で結果を得られる利便性はあるものの、核酸増幅法と比較すると感度で劣る。核酸増幅法を用いた検出キットは、国内では4種類が使用可能である（Table 3）。いずれも過去の研究結果から、男性の初尿と女性の子宮頸管スミアを検体として検査を行うこととなっている。男性の初尿を検体とすることは、男性患者にとって非侵襲的であり、検体採取に特別

な技術が必要ないことから、いずれの診療科においても検査が可能である。しかし、女性の子宮頸管スミアは、婦人科での内診により採取・提出されることになり、婦人科以外での検査は困難である。核酸増幅法が極めて高感度な検査法であることから、女性の初尿や陰擦過物を検体とする方法⁶⁾⁷⁾も研究されている。より簡便な検体採取と、子宮頸管スミアを検体とした場合と比較した感度が非劣性であるような方法が研究課題として挙げられる。また、核酸増幅法よりも低感度である抗原検出法であるが、検査キットによっては30分程度で結果が判明することから、スクリーニングの普及において、その活用を検討する意義はあると考える。

2006年に、従来のPCR法を用いた検出キットでは検出ができない*C. trachomatis* 変異株がスエーデンから報告された⁸⁾。この変異株は、従来のPCR法を用いた検出キットが増幅の標的とする cryptic plasmid DNAの一部に変異があることが明らかとなった。他の核酸増幅法では検出は可能であり、現状では、従来のPCR法を用いた検出キットも改良されたことから検出に関する問題は無い。ただし、核酸増幅法では、標的とする遺伝子の一部に変異が生じた場合、同様の状況が起こりえる。また、国内での変異株の有無については公式には明らかになっていない。幸いなことに、米国、フランス、イギリス

では検出していないとされており、限定された地域での検出と考えられている。ただ、このような状況が生じた場合に、国内で分離された株に変異株が検出されるかどうかのスクリーニングが、迅速に行うことが出来る体制を整えることは必要であろう。

病原性・上皮の親和性は？

C. trachomatis は、円柱上皮に親和性が高いことから、円柱上皮が存在する結膜、尿道、子宮頸管粘膜に感染するとされている。また、同様に円柱上皮の存在する直腸や咽頭にも感染することが知られるようになった。前述したように、性器クラミジア感染症には、その罹患率に明らかな性差があることから、尿道と子宮頸管粘膜における親和性の相違が推測されている。また、尿道は排尿という物理的な排除機構が存在するとも考えられる。ただ、直腸や咽頭も含めた感染部位における菌と宿主細胞の親和性と病原性の相違については、今後の研究課題と考えられる。ただし、*C. trachomatis* の培養が、一般的には HeLa 細胞を用いるのは、その培養に最も適しているからである。つまり、他の細胞を用いた *in vitro* の研究は、*C. trachomatis* の培養が HeLa 細胞以外では容易ではないことから、実際には難しいと推測される。

特徴的な所見は？

C. trachomatis が感染することにより影響を受けるのは、主として女性であるが、その特徴的な所見は組織の線維化であり、線維化により卵管性不妊や Fitz-Hugh-Curtis 症候群など重篤な病態を引き起こす⁹⁾。この、組織の線維化については、以前から様々な研究が行われてきた。例えば、クラミジア Heat Shock Protein (HSP) の免疫反応における意義¹⁰⁾、そして、それに関連した細胞障害性 T 細胞の役割などである。これらが、感染免疫として重要な役割を果たしており、各種動物モデルなどにおいても、詳細な研究が進められている。しかし、残念ながら、この病態に対する特異的な治療、そして、何より感染予防のためのワクチン開発については、未だ途上である¹¹⁾。病態の理解としては確立されていると考えられることから、ワクチンも含めた特異的な病態に対する治療法が今後の研究課題であろう。

文献

- 1) Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010. MMWR 2010 ; 59 : RR-12.

<http://www.cdc.gov/std/treatment/2010/STD-Treatment-2010-RR5912.pdf>

- 2) Takahashi S, Takeyama K, Miyamoto S, Ichihara K, Maeda T, Kunishima Y, *et al.* : Incidence of sexually transmitted infections in asymptomatic healthy young Japanese men. J Infect Chemother. 2005 ; 11 : 270—3.
- 3) 熊本悦明, 塚本泰司, 杉山 徹, 赤座英之, 野口昌良, 納谷敦夫, 他 : 日本における性感染症サーベイランス—2002年度調査報告—. 日性感染症会誌 2004 ; 15 : 17—45.
- 4) 岡部信彦, 山岸拓也, 多田有希 : (研究分担報告) 感染症発生動向調査から見たわが国の性感染症の動向, 2012年, 厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業), 「性感染症に関する特定感染症予防指針に基づく対策の推進に関する研究」平成24年度総括・分担研究報告書(研究代表者: 荒川創一), 2013 ; p. 29—55.
- 5) Centers for Disease Control and Prevention, Sexually Transmitted Disease Surveillance 2011. <http://www.cdc.gov/std/stats11/Surv2011.pdf>
- 6) Moller JK, Pedersen LN, person K : Comparison of the Abbott RealTime CT new formulation assay with two other commercial assays for detection of wild-type and new variant strains of *Chlamydia trachomatis*. J Clin Microbiol. 2010 ; 48 : 440—3.
- 7) van Dommelen L, Dukers-Muijers N, van Tiel FH, Brouwers EE, Hoebe CJ. : Evaluation of one-sample testing of self-obtained vaginal swabs and first catch urine samples separately and in combination for the detection of *Chlamydia trachomatis* by two amplified DNA assays in women visiting a sexually transmitted disease clinic. Sex Transm Dis. 2011 ; 38 : 533—5.
- 8) Ripa T, Nilsson P. : A variant of *Chlamydia trachomatis* with deletion in cryptic plasmid : implications for use of PCR diagnostic tests. Euro surveill. 2006 ; 11, pii=3076, <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=3076>
- 9) Schachter J. : Infection and disease epidemiology. In : Stephens RS, ed. *Chlamydia : intracellular biology, pathogenesis, and immunity*. American Society for Microbiology, Washington DC, 1999 ; p. 139—69.
- 10) Hjelholt A, Christiansen G, Johannesson TG, Ingerslev HJ, Birkelund S. : Tubal factor infertility is associated with antibodies against *Chlamydia trachomatis* heat shock protein 60 (HSP60) but not human HSP60. Human Reprod. 2011 ; 26 : 2069—76.
- 11) Huston WM, Harvie M, Mittal A, Timms P, Beagley KW. : Vaccination to protect against infection of the female reproductive tract. Expert Rev Clin Immunol. 2012 ; 8 : 81—94.

原 著

Real time PCR 法を用いた淋菌，クラミジア診断の有用性の検討

¹⁾ 産業医科大学泌尿器科, ²⁾ かわい泌尿器科クリニック, ³⁾ 安藤ゆきこレディースクリニック,
⁴⁾ 泌尿器科いとうクリニック, ⁵⁾ さとうレディースクリニック, ⁶⁾ 西村泌尿器科, ⁷⁾ 山口皮フ・泌尿器科医院,
⁸⁾ 守恒レディースクリニック, ⁹⁾ 株式会社キューリン

濱砂 良一¹⁾ 川井 修一²⁾ 安藤由起子³⁾ 伊東 健治⁴⁾
 倉島 雅子⁵⁾ 西村 敬史⁶⁾ 山口 隆正⁷⁾ 吉村 誠⁸⁾
 小林とも子⁹⁾ 村谷 哲郎⁹⁾ 松本 哲朗¹⁾

(平成 22 年 7 月 14 日受付)

(平成 22 年 8 月 25 日受理)

Key words: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, real time PCR, strand displacement amplification

要 旨

Real-time PCR 法を用いて *Chlamydia trachomatis* (クラミジア) および *Neisseria gonorrhoeae* (淋菌) を検出する Abbott RealTime CT/NG assay (realtime 法: アボットジャパン) の有用性を, 女性子宮頸管スワブ検体, 女性初尿検体, 男性初尿検体を用いて検討した. 対象は北九州市内の産科・婦人科施設, 泌尿器科施設, 皮膚泌尿器科施設を受診し, 子宮頸管炎または尿道炎が疑われた患者, 女性 88 名, 男性 100 名である. これらの検体を BD プローブテック ET CT/GC (プローブテック: 日本ベクトン・ディッキンソン) と比較した. クラミジアに対する全検体の陽性一致率は 97.1% (66/68), 陰性一致率は 99.0% (206/208), 淋菌に対する全検体の陽性一致率は 100% (33/33), 陰性一致率は 100% (243/243) であった. 女性の子宮頸管スワブでは 3 検体の不一致例が, 男性初尿では 1 検体の不一致例があった. 女性初尿においては 2 検査間の不一致例はなかったが, 子宮頸管スワブと初尿との間に realtime 法で 3 症例, プローブテックで 4 症例の不一致があった. realtime 法とプローブテックの不一致例のうち 3 検体でアプティマ Combo 2 クラミジア/ゴノレア (富士レビオ) による再検査を行い, すべて陽性であった. 女性では子宮頸管スワブ, 初尿のいずれかのうち 2 つ以上の検査で陽性の場合, 男性では初尿で 2 つ以上の検査で陽性の場合, 「真のクラミジア陽性」症例と仮定すると, realtime 法における子宮頸管スワブ, 女性初尿, 男性初尿の感度はそれぞれ 94.4%, 77.8%, 97.4% であった. これに対しプローブテックではそれぞれ 88.8%, 77.8%, 100% であった. 淋菌に対する感度はいずれの検査でも 100% であり, realtime 法は女性の子宮頸管スワブ, 男性の初尿を用いると, 淋菌, クラミジアに対してプローブテックと同等かそれ以上の有用性を示した.

[感染症誌 85:1~7, 2011]

序 文

わが国における性感染症 (sexually transmitted infections; STI) は性的活動期の男女に蔓延している. この中で性器 *Chlamydia trachomatis* (クラミジア) 感染症が最も頻度が高く, *Neisseria gonorrhoeae* (淋菌) 感染症がこれに次ぐ¹⁾. 淋菌感染症に関しては, 尿道分泌物または膣分泌物のグラム染色による顕微鏡検査が最も簡便で, 安価な診断法である. しかし, 膣分泌物における顕微鏡検査には熟練を要する. また, 男性

尿道炎患者を診察する際にも, 尿道分泌物をグラム染色にて検査している施設は, 残念ながら減少している²⁾. クラミジアの検出法には培養法, enzyme immunoassay, 遺伝子診断法があるが, その検出感度, 特異度を考慮すると, 遺伝子診断法が最も優れている. このため, 近年の淋菌, クラミジアの診断には, 遺伝子診断法が重要な地位を確立していると言ってよい.

わが国における遺伝子診断法では polymerase chain reaction (PCR) 法 (コバス アンプリコア STI-1 クラミジアトラコマトイス ナイセリアゴノレア, ロッシュ・ダイアグノスティックス, 東京) が 1990 年代より頻用されてきた. しかし, 淋菌に対する検出

別刷請求先: (〒106-8535) 東京都港区六本木 1-9-9
 アボットジャパン株式会社モレキュラー事業開発部 小口 晃

Table 1 Overall performance of real-time PCR vs. SDA for detecting *C. trachomatis* in all specimens

		SDA			Concordance	
		positive	negative	total		
Real-time PCR	positive	66	2	68	Positive	97.1% (66/68)
	negative	2	206	208	Negative	99.0% (206/208)
	total	68	208	276	Total	98.6% (272/276)

Real-time PCR refers to the Abbott RealTime PCR CT/NG assay.

Standard displacement amplification (SDA) refers to BD ProbeTec ET CT/GC.

Tested specimens were first-voided urine (FVU) and cervical swabs from 88 women with cervicitis and FVU from 100 men with urethritis

感度、特異度がやや低いこと、咽頭における *Neisseria* 属の診断ができないこと、近年北欧において検出されている new variant (nv) クラミジアに対応できないことより³⁾⁴⁾、他の検出法が求められてきた。2006年にわが国で保険適用となった strand displacement amplification (SDA) 法 (BD プローブテック ET CT/GC, 日本ベクトン・ディッキンソン, 福島市) および transcription mediated amplification (TMA) 法 (アプティマ Combo 2 クラミジア/ゴノレア, 富士レボ, 東京) は PCR 法の弱点を解消する検査法として、現在頻用されるようになった。しかし、これらの 2 検査法以外にも Abbott 社が開発した real time PCR (realtime) 法 (Abbott RealTime CT/NG assay, アボットジャパン, 東京) も同様に PCR 法の問題点をクリアした検査法であり、ヨーロッパ, 北米を中心にその有用性が示されている^{5)~7)}。本検討は尿道炎, 子宮頸管炎患者の検査として realtime 法と SDA 法を比較し, Abbott RealTime CT/NG assay の有用性を検証したわが国では初めての研究である。

対象および方法

対象は 2009 年 6 月から 2009 年 11 月までに北九州市内の泌尿器科 (かわい泌尿器科クリニック, 西村泌尿器科, 泌尿器科いとうクリニック), 皮膚泌尿器科 (山口皮フ・泌尿器科) を受診した尿道炎患者と産婦人科 (安藤ゆきこレディースクリニック・さとうレディースクリニック・守恒レディースクリニック) を受診した子宮頸管炎患者で, クラミジアおよび淋菌感染症の疑いのある患者である。被験者に対しては, 担当医師が同意説明文書を用いて研究の目的, プライバシーの保護, 参加への自由意志を説明し, 参加への同意意志を確認した患者から採取した検体を用いた。なお, 本研究は NPO 法人 CREC NET (北九州市) にて倫理申請を行い, 同法人の倫理委員会にて了承を受けた。

尿道炎と考えられる男性患者の尿は, 最後の排尿後, 2 時間以上経過して排尿した初尿を採取した。子宮頸管炎と考えられる女性に対しては, 最初に初尿を採取

した。その後, 子宮頸管のスワブを専用の綿棒にて 2 本採取した。それぞれの検体は Abbott RealTime CT/NG assay 用 (アキュージン マルチコレクト検体採取用キット) の 1.2mL の検体採取緩衝液入りのチューブおよび, BD プローブテック ET CT/GC 専用容器に採取した。

採取した検体からのクラミジアおよび淋菌の検出は, realtime 法 (アボットジャパン, 松戸市) および SDA 法 (キューリン, 北九州市) にて行った。上記 2 検査法が不一致の場合には, それぞれの検体の残りをを用いて TMA 法 (エスアールエル, 東京) にて再検査した。検体は, 淋菌, クラミジアそれぞれの検査で 2 つ以上の検査法で陽性の場合, 「淋菌陽性」, 「クラミジア陽性」とした。また, 男性では初尿が「陽性」と判断されれば, 女性では, 初尿, 子宮頸管スワブのうちいずれかの検体が「陽性」と判断されれば, その症例は「真の陽性症例」と判断した。

結 果

検討を行った検体は, 女性患者 88 名より採取した初尿 88 検体, 子宮頸管スワブ 88 検体, 男性患者 100 名より採取した初尿 100 検体の計 276 検体である。これらの検体を用いて realtime 法と SDA 法によりクラミジアおよび淋菌の検出を行った。クラミジアの検出において, 女性初尿, 子宮頸管スワブ, 男性初尿すべての検体を合わせた realtime 法と SDA 法による結果の相関を Table 1 に示す。両方法の陽性一致率, 陰性一致率, 全体の一致率はそれぞれ 97.1%, 99.0%, 98.6% であった。Table 2, 3 に子宮頸管スワブ, 女性初尿それぞれの結果を示す。初尿では両検査法による結果は一致したが, 子宮頸管スワブでは 3 検体の結果が一致しなかった。realtime 法による子宮頸管スワブと初尿との間には, 3 症例で不一致例がみられ, これらの不一致例はすべて子宮頸管スワブで陽性, 初尿で陰性であった (Table 4)。男性初尿では, realtime 法と SDA 法との間に 1 例の不一致例がみられ, realtime 法では陰性, SDA 法では陽性を示した (Table 5)。

淋菌に対する子宮頸管スワブ, 女性初尿, 男性初尿

Table 2 Performance of real time PCR vs SDA in cervical swabs for detecting *C. trachomatis*

		SDA			Concordance	
		positive	negative	total		
Real-time PCR	positive	15	2	17	Positive	93.8% (15/16)
	negative	1	70	71	Negative	97.2% (70/72)
	total	16	72	88	Total	96.6% (85/88)

Real-time PCR refers to the Abbott RealTime PCR CT/NG assay.

Standard displacement amplification (SDA) refers to BD ProbeTec ET CT/GC.

Tested specimens were the cervical swabs from 88 female patients with cervicitis

Table 3 Performance of real-time PCR vs. SDA in first-voided urine of women for detecting *C. trachomatis*

		SDA			Concordance	
		positive	negative	total		
Real-time PCR	positive	14	0	14	Positive	100% (14/14)
	negative	0	74	74	Negative	100% (74/74)
	total	14	74	88	Total	100% (88/88)

Real-time PCR refers to the Abbott RealTime PCR CT/NG assay.

Standard displacement amplification (SDA) refers to BD ProbeTec ET CT/GC.

Tested specimens were the first voided urine from 88 female patients with cervicitis.

Table 4 Cervical swabs vs. first-voided urine from women in real time PCR for detecting *C. trachomatis*

		Cervical swabs			Concordance	
		positive	negative	total		
First-voided urine	positive	14	0	14	Positive	82.4% (14/17)
	negative	3	71	74	Negative	100% (71/71)
	total	17	71	88	Total	96.6% (85/88)

Cervical swabs and first-voided urine from women with cervicitis used Abbott Real-time PCR.

すべての検体を合わせた realtime 法と SDA 法による結果を Table 6 に示す。276 検体のうち realtime 法、SDA 法とも 33 検体が陽性であり、二つの検査間に不一致例は見られなかった。女性検体では、子宮頸管スワブ、女性初尿ともそれぞれ 3 検体が淋菌陽性であり、両検査法との間に不一致はみられなかった。男性初尿では両検査法とも 27 検体が陽性であり、二つの検査間の結果は一致した。

realtime 法および SDA 法による結果の不一致、また、女性患者における子宮頸管スワブと初尿の不一致計 6 例を Table 7 に示す。クラミジアに対する realtime 法と SDA 法間の不一致が 4 例、子宮頸管スワブと女性初尿の realtime 法による不一致が 3 例、子宮頸管スワブと女性初尿の SDA 法による不一致が 4 例みられた。realtime 法と SDA 法間の不一致 4 例のうち、子宮頸管スワブ 2 例、男性初尿 1 例で TMA 法による再検査を行い、TMA 法ではいずれも陽性であっ

た。これらの結果をまとめると、Table 7 の 6 症例は、いずれも「真のクラミジア陽性」と判定された。Female 14, 66 は初尿でいずれも陰性であったが、子宮頸管スワブでは 2 検査で陽性であった。Female 21, 30 は初尿は陰性だが、子宮頸管スワブの再検査で TMA 陽性が確認された。Female 49 は子宮頸管スワブでは TMA 法による再検査はできなかったが、初尿が 2 検査で陽性であった。male 77 は TMA 法の再検査で陽性であった。

上記をまとめて、realtime 法におけるクラミジア、淋菌の感度を判定すると、女性では初尿検体のクラミジアに対する sensitivity は 77.8% であったが、子宮頸管スワブ検体では 94.4% であった。男性の初尿検体では 97.4% であった。また、淋菌に対しては、女性の初尿、子宮頸管スワブ、男性の初尿検体とも 100% の感度を示した (Table 8)。

Table 5 Performance of real-time PCR and SDA in first-voided urine of men for detecting *C. trachomatis*

		SDA			Concordance	
		positive	negative	total		
Real-time PCR	positive	37	0	37	Positive	97.4% (37/38)
	negative	1	62	63	Negative	100% (62/62)
	total	38	62	100	Total	99.0% (99/100)

Real-time PCR refers to the Abbott RealTime PCR CT/NG assay.

Standard displacement amplification (SDA) refers to BD ProbeTec ET CT/GC.

Tested specimens were first-voided urine from man with urethritis

Table 6 All results by real-time PCR vs. SDA for detecting *N. gonorrhoeae*

		SDA			Concordance	
		positive	negative	total		
Real-time PCR	positive	33	0	33	Positive	100% (33/33)
	negative	0	243	243	Negative	100% (243/243)
	total	33	243	276	Total	100% (276/276)

Real-time PCR refers to the Abbott RealTime PCR CT/NG assay.

Standard displacement amplification (SDA) refers to BD ProbeTec ET CT/GC.

Tested specimens were first-voided urine and cervical swabs from 88 women with cervicitis and first-voided urine from 100 men with urethritis

Table 7 Discordant results for real-time PCR and SDA by specimen type

Case	Specimens	<i>C. trachomatis</i>			<i>N. gonorrhoeae</i>			Final determination *1
		Real-time	SDA	TMA	Real-time	SDA	TMA	
Female 14	FVU*2	-	-	NT*3	-	-	NT	True positive of CT True negative of NG
	Swab*4	+	+	NT	-	-	NT	
Female 21	FVU	-	-	NT	-	-	NT	True positive of CT True negative of NG
	swab	+	-	+	-	-	NT	
Female 30	FVU	-	-	NT	-	-	NT	True positive of CT True negative of NG
	swab	-	+	+	-	-	NT	
Female 49	FVU	+	+	NT	-	-	NT	True positive of CT True negative of NG
	swab	+	-	NT*5	-	-	NT	
Female 66	FVU	-	-	NT	+	+	NT	True positive of CT True positive of NG
	swab	+	+	NT	+	+	NT	
Male 77	FVU	-	+	+	+	+	NT	True positive of CT True positive of NG

NT = not tested

*1: Two methods showing positive assume subjects are "true positive" and vice versa "true negative".

*2: First voided urine specimen

*3: not tested

*4: cervical swab specimen

*5: not tested by TMA due to insufficient volume.

考 察

Abbott RealTime CT/NG assay はリアルタイム PCR 法を用いたクラミジアおよび淋菌遺伝子検出のための検査法である⁵⁾。本法はクラミジアに対しては cryptic plasmid の二つの領域をターゲットとしている。元来、Abbott 社製のクラミジアに対する核酸増幅法 (改良前 Abbott RealTime CT/NG assay, M

2000) では、標的領域が単一であった。しかし、北欧のスウェーデンにて検出された nv クラミジアではこの標的領域を含んだ 377bp が欠損しており、PCR 法および改良前 Abbott RealTime CT/NG assay では false negative となることが報告された^{3,4)}。このため本法では、cryptic plasmid の open reading frame (ORF) 3 にさらに新たな標的領域を設けている。そ

Table 8 Abbott RealTime CT/NG performance for detecting *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae*

Pathogens		Female				Male	
		First-voided urine		Cervical swab		First-voided urine	
		Real time	SDA	Real time	SDA	Real time	SDA
<i>C. trachomatis</i>	true positive	14	14	17	16	37	38
	false positive	0	0	0	0	0	0
	true negative	70	70	70	70	62	62
	false negative	4	4	1	2	1	0
	% sensitivity	77.8	77.8	94.4	88.8	97.4	100
	% specificity	100	100	100	100	100	100
<i>N. gonorrhoeae</i>	true positive	3	3	3	3	27	27
	false positive	0	0	0	0	0	0
	true negative	85	85	85	85	73	73
	false negative	0	0	0	0	0	0
	% sensitivity	100	100	100	100	100	100
	% specificity	100	100	100	100	100	100

それぞれの5'末端には蛍光標識であるFAMをラベルし、これをモニタリングする。同じ蛍光標識であるため、検出されたクラミジアが野生株か、nvクラミジアかの区別はつかないが、いずれの株にも対応が可能である⁷⁾。我々の検討では、nvクラミジアは北九州地区には存在しないことが確認されている (Matsumoto T, abstract p160, 17th ISSTD and 10th IUSTI, Seattle, USA, 2007)。しかし、交通の発達した今日においては、nvクラミジアを含めた変移株が急速に全世界に広がることが想定される。

クラミジアに対する realtime 法の有用性を検討すると、女性子宮頸管スワブ、女性初尿、男性初尿とも、いずれの検体に対して SDA 法とはほぼ同等であった。「少なくとも2つ以上の検体で陽性であるなら、その症例はクラミジアが陽性である」という仮説をたて、個々の症例に対するそれぞれの検体、検査法の有用性を示した (Table 8)。いずれの検体も特異度は100%であった。しかし、女性の初尿検体では realtime 法、SDA 法ともに、感度がいずれも77.8%となった。女性において初尿検体を陰部洗浄液と考えるなら、子宮頸管炎患者において、初尿検体が直接子宮頸管より採取する子宮頸管スワブより結果がおとるのは当然であるといえる。しかし、診察台に上がらずに検査ができるため、無症候性クラミジアのスクリーニングに使用できるかもしれない。Van Der Pol らの SDA 法における子宮頸管スワブと女性初尿の比較検討でも、症候性子宮頸管炎患者で、子宮頸管スワブおよび初尿の感度はそれぞれ90.0%、76.9%で、我々の結果とほぼ同様である⁸⁾。また、Walsh らの realtime 法による検討でも、女性の初尿は子宮頸管スワブに劣っていた⁷⁾。ただし、男性では尿道スワブと初尿の検体に差がないため、初尿が推奨される。

淋菌に対する本法の標的領域は、opa 遺伝子であ

る⁵⁾。PCR 法では *Neisseria cinerea* や *Neisseria subflava* など、多くの *Neisseria* 属において淋菌と cross reaction をおこすことが知られている⁹⁾。また、SDA 法においても *Neisseria* 属の数株において cross reaction が起こることが報告された⁹⁾¹⁰⁾。realtime 法では、上記 *Neisseria* 属を含む111菌種の細菌、真菌、ウイルスに対して cross reaction をおこさないことが証明されている⁵⁾。

今回の検討では、女性では淋菌陽性検体は3症例であったが、realtime 法と SDA 法の結果は完全に一致し、realtime 法は男女の性器淋菌感染症の診断に有用である。ただし、本検討では咽頭検体における realtime 法の有用性を述べることはできない。近年、女性咽頭の淋菌、クラミジアが、男性尿道炎の原因として問題となっている¹¹⁾¹²⁾。多くは oral sex を行う女性性風俗嬢の咽頭であるが、一般女性においても咽頭から淋菌、クラミジアが検出される¹¹⁾¹²⁾。加えて、heterosexual な男性からも、淋菌、クラミジアが咽頭より分離される¹¹⁾¹³⁾。ヒトの口腔内には、多くの *Neisseria* 属が常在しており、PCR 法は口腔内の淋菌の検出には適さなかった。しかし、SDA 法、TMA 法などの新しい方法では口腔内 *Neisseria* 属の cross reaction が少なく、わが国でも咽頭に対する検査が保険適用となった。realtime 法は、SDA 法より口腔内常在菌に cross reaction がないため、咽頭検査にも十分有用であることが想定される。

Abbott RealTime CT/NG assay では核酸抽出に「Abbott m2000 sp 自動核酸抽出装置」を、ターゲットの増幅検出に「Abbott m2000 rt アナライザー」を用いる。これらの装置は、HCV-RNA や HIV-1-RNA を測定でき、それぞれ2008年2月と2008年12月よりわが国で保険適用となった。また、PCR 法、SDA 法、TMA 法は semi-automatic 方式とよばれ、一度に

検査される検体数が少ない。しかし、クラミジアは患者数の増加とともにその検査の需要が増加しており、よりオートマティック化された検査法が必要である。本検査は、クラミジアに対する2つの標的部分、淋菌に対する標的部分と internal control を増幅する multiplex realtime PCR 法であり、クラミジア淋菌、internal control の検出には、それぞれ異なる蛍光色素を検出するため、1検体で同時にこれらの検出が可能である。さらに、測定に96穴 microtiter plate を使用し、最大93検体と3つのコントロール検体のアッセイが可能となり、多くの検体を検査する検査機関にはより使いやすいシステムになると思われる。

現在、本検査はヨーロッパを中心に採用されている。北欧にて nv クラミジアが広がり、ヨーロッパの検査室では、検査システムの変更が進んだ¹⁴⁾。現在、SDA 法がもっとも使用され、ついで PCR 法であり、その他7つの商業ベースの検査が行われている。PCR 法を使用する検査室では、結果が陰性であると、他の方法で確認試験が必要となっており、さらに PCR 法は減少するとみられる。わが国では2004年からクラミジア感染症の減少が見られている。これが、STI 予防キャンペーンの結果なのか、スウェーデンのような検出精度の低下による減少なのか、性行動の変化によるものなのか、現在では結論は出ていない。realtime 法は SDA 法と同等の検出精度を持つ検査法である。今後わが国へも入ってくると思われる nv クラミジアを含めた遺伝子変異をもつ STI 起炎菌に対して、有用な検査法と思われる。

文 献

- 1) 小野寺昭一：感染症と感染制御 Update 診断・治療から地域ネットワークまで；最新ガイドライン&診断・治療の現況 尿路感染症および性感染症における最近の動向。医学のあゆみ 2009；231：53—8。
- 2) 田上英毅，岡村基弘，中川雅之，吉田浩士，上田朋宏，飛田収一：性感染症治療に関する泌尿器科医を対象としたアンケート調査。日本性感染症学会誌 2007；18：64—72。
- 3) Ripa T, Nilsson P: A variant of Chlamydia trachomatis with deletion in cryptic plasmid: implications for use of PCR diagnostic tests. Euro Surveill. 2006；11: E061109 2www.eurosurveillance.org.
- 4) Magbanua JP, Goh BT, Michel CE, Aguirre-Andreasen A, Alexander S, Ushiro-Lumb I, et al.: Chlamydia trachomatis variant not detected by plasmid based nucleic acid amplification tests: molecular characterisation and failure of single dose azithromycin. Sex Transm Infect 2007；83：339—43。
- 5) Marshall R, Chernesky M, Jang D, Hook EW, Cartwright CP, Howell-Adams B, et al.: Characteristics of the m2000 automated sample preparation and multiplex real-time PCR system for detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. J Clin Microbiol 2007；45：747—51。
- 6) Levett PN, Brandt K, Olenius K, Brown C, Montgomery K, Horsman GB: Evaluation of three automated nucleic acid amplification systems for detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in first-void urine specimens. J Clin Microbiol 2008；46：2109—11。
- 7) Walsh A, Rourke FO, Laoi BN, Crowley B: Evaluation of the Abbott RealTime CT assay with the BD ProbeTec ET assay for the detection of Chlamydia trachomatis in a clinical microbiology laboratory. Diagn Microbiol Infect Dis 2009；64：13—9。
- 8) Van Der Pol B, Ferrero DV, Buck-Barrington L, Hook E 3rd, Lenderman C, Quinn T: Multicenter evaluation of the BDProbeTec ET System for detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in urine specimens, female endocervical swabs, and male urethral swabs. J Clin Microbiol 2001；39：1008—16。
- 9) Whiley DM, Tapsall JW, Sloots TP: Nucleic acid amplification testing for Neisseria gonorrhoeae: an ongoing challenge. J Mol Diagn 2006；8：3—15。
- 10) Palmer HM, Mallinson H, Wood RL, Herring AJ: Evaluation of the specificities of five DNA amplification methods for the detection of Neisseria gonorrhoeae. J Clin Microbiol 2003；41：835—7。
- 11) Hamasuna R, Hoshina S, Imai H, Jensen JS, Osada Y: Usefulness of oral wash specimens for detecting Chlamydia trachomatis from high-risk groups in Japan. Int J Urol 2007；14：473—5。
- 12) 余田敬子，田中伸明，北嶋 整，金山明子，小林寅詰，尾上泰彦：口腔咽頭における Neisseria gonorrhoeae および Chlamydia trachomatis の BD Probe Tec ET を用いた検出の検討。日本性感染症学会誌 2005；16：66。
- 13) Takahashi S, Kurimura Y, Hashimoto J, Takeyama K, Koroku M, Tanda H, et al.: Pharyngeal Neisseria gonorrhoeae detection in oral-throat wash specimens of male patients with urethritis. J Infect Chemother 2008；14：442—4。
- 14) Unemo M, Rossouw A, James V, Jenkins C: Can the Swedish new variant of Chlamydia trachomatis (nvCT) be detected by UK NEQAS participants from seventeen European countries and five additional countries/regions in 2009? Euro Surveill 2009 May 14 ,www.eurosurveillance.org.

Usefulness of Real-time PCR in Detecting *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in Endocervical Swabs and First-voided Urine Specimens

Ryoichi HAMASUNA¹⁾, Shuichi KAWAI²⁾, Yukiko ANDO³⁾, Kenji ITO⁴⁾, Motoko KURASHIMA⁵⁾, Hirohumi NISHIMURA⁶⁾, Takamasa YAMAGUCHI⁷⁾, Makoto YOSHIMURA⁸⁾, Tomoko KOBAYASHI⁹⁾, Tetsuro MURATANI⁹⁾ & Tetsuro MATSUMOTO¹⁾

¹⁾Department of Urology, University of Occupational and Environmental Health, ²⁾Kawai Urology Clinic,

³⁾Ando Yukiko Ladies Clinic, ⁴⁾Ito Urology Clinic, ⁵⁾Sato Ladies Clinic, ⁶⁾Nishimura Urology Clinic,

⁷⁾Yamaguchi Dermatology and Urology Clinic, ⁸⁾Moritsune Ladies Clinic, ⁹⁾Kyurin Corporation

We evaluated performance of Abbott RealTime CT/NG assay (real-time PCR, Abbott Japan) for detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by real-time PCR in 88 female patients with cervicitis symptoms seen at gynecological clinics and 100 male patients with urethritis symptoms seen at urological or dermatology clinics in Kitakyushu, Japan. Endocervical swab and first-voided urine (FVU) specimens were then collected from women and FVU specimens from men. Detection rates of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* by real-time PCR in the 3 types of specimens were compared to those by ProbeTec ET assay (ProbeTec, BD Diagnostic System). The overall positive concordance between real-time PCR and ProbeTec were 97.1% (66/68) for *C. trachomatis* and 100% (33/33) for *N. gonorrhoeae*. *C. trachomatis* detection yielded 3 discordant results in endocervical specimens and 1 discordant result in male FVU by real-time PCR and ProbeTec. Three of 4 reexamined using Aptime Combo 2 Assay (Fuji Rebio Inc.) were positive for *C. trachomatis*. Endocervical swab and FVU specimen results for *C. trachomatis* were discordant in 3 cases in real-time PCR and 4 in ProbeTec. Subjects with 2 or more positive endocervical swab results in female or male FVU specimens were assumed to be "true positive" for *C. trachomatis*. The sensitivities of real-time PCR for detecting *C. trachomatis* was 94.4% in endocervical swabs, 77.8% in female FVU and 97.4% in the male FVU. The sensitivities for real-time PCR for detecting *N. gonorrhoeae* was 100% in all 3 specimen types. Abbott RealTime CT/NG assay was useful for detecting *C. trachomatis* using endocervical swabs or male FVU specimens and for detecting *N. gonorrhoeae* using endocervical swabs and all FVU specimens.

ORIGINAL ARTICLE

Satoshi Takahashi · Kou Takeyama · Yasuharu Kunishima
Toshiaki Shimizu · Naotaka Nishiyama · Hiroshi Hotta
Masanori Matsukawa · Masumi Minowa · Takeo Tanihata
Yoshiaki Kumamoto · Taiji Tsukamoto

Incidence of sexually transmitted diseases in Hokkaido, Japan, 1998 to 2001

Received: January 20, 2004 / Accepted: April 19, 2004

Abstract The objective of this study was to provide precise data on the incidence of sexually transmitted diseases (STDs) in Hokkaido. The goal of this prospective surveillance study was to clarify the STD incidence between 1998 and 2001 in Hokkaido, Japan. The incidence of gonococcal infection in men was found to be 127–199 per 100 000 people per year, which was three or four times higher than that for women. Female genital chlamydial infection had an incidence of 300–400 with a female to male ratio of two or three to one. Younger adults had higher incidences of gonococcal and chlamydial infections than older people. In conclusion, the current study of STDs revealed high incidences of gonococcal and chlamydial infections in the Hokkaido area, and there was no decreasing trend in STD incidence during these 4 years.

Key words Sexually transmitted diseases · Surveillance · Hokkaido

Introduction

Chlamydia trachomatis and *Neisseria gonorrhoeae* are commonly prevalent in Japan. While there have been a few reports in Japan of *C. trachomatis* resistant to antimicrobial agents, many studies have indicated an increase of *N. gonorrhoeae* resistant to the conventional agents, especially to quinolone.¹ Thus, information on the incidence of sexually transmitted diseases (STDs) must be delivered to the

public to establish effective countermeasures against the diseases. Unfortunately, until now, there have been no sources of data in Japan to determine the current incidences of STDs.

In this context, the Selected Prefectures Survey for STDs started in 1998 in eight prefectures of Japan with the support of Health and Labor Sciences Research Grants (Research on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases) from the Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan.^{2–5} The results of the studies in all selected prefectures will be reported separately. We are actively engaged in the study and responsible for data collection in Hokkaido which is the northern main island of Japan. We determined in this study the incidence of STDs in Hokkaido from 1998 through 2001.

Patients and methods

Subjects and data collection

Hokkaido has a population of 5 700 000, and approximately 1 800 000 people live in Sapporo, the capital. The study consisted of collecting the age and sex of all newly diagnosed symptomatic patients with STDs, including syphilis; chancroid; genital herpes infection; condyloma acuminatum; and gonococcal, chlamydial, and nongonococcal and nonchlamydial infections of the urethra or uterine cervix, in June and November in 1998, 1999, 2000, and 2001. The data were requested from all clinics and hospitals that were engaged in the treatment of patients with STDs. By mail, we asked all these clinics and hospitals in Hokkaido to participate in the study and report these data.

Diagnosis of STDs

The early stage of symptomatic syphilis was diagnosed by skin manifestation and standard serum tests. Chancroid, genital herpes infection, and condyloma acuminatum were

S. Takahashi · K. Takeyama · Y. Kunishima · T. Shimizu · N. Nishiyama · H. Hotta · M. Matsukawa · Y. Kumamoto · T. Tsukamoto (✉)

Department of Urology, Sapporo Medical University School of Medicine, South 1, West 16, Chuo-ku, Sapporo 060-8543, Japan
Tel. +81-11-611-2111 (ext. 3480); Fax +81-11-612-2709
e-mail: taijit@sapmed.ac.jp

M. Minowa · T. Tanihata
Department of Epidemiology, National Institute of Public Health, Wako, Japan

basically diagnosed through inspection by physicians to identify typical clinical lesions. Symptomatic patients with urethritis or cervicitis were diagnosed as having gonococcal infection when *N. gonorrhoeae* was detected in urethral discharge or the first voided urine in male patients and cervical smears in female patients. The detection methods for this organism depended on the clinic and included Gram staining, culture, polymerase chain reaction (PCR), and ligase chain reaction (LCR). Symptomatic patients with *C. trachomatis* infection were diagnosed as having the infection by enzyme-linked immunoassay, PCR, or LCR methods in specimens similar to those used in gonococcal detection. When neither *C. trachomatis* or *N. gonorrhoeae* was detected in symptomatic patients, they were diagnosed as having nonchlamydial and nongonococcal (NC-NG) infection of the urethra or cervix. If examination to detect *C. trachomatis* was not done and patients showed no typical findings of gonococcal infection, they were diagnosed as having nongonococcal infection with chlamydia not determined (NG-CND) of the urethra or cervix.

Estimation of incidence of STDs

The incidence of STDs was determined as the number of patients per 100 000 people per year, based on the results of the two months (June and November) and the total population of Hokkaido in the corresponding year. The final incidence was adjusted by the response rates of institutes in a given year.

Results

During the 4 years of the study, the number of institutes asked to report information about patients with STDs varied from 578 to 711 as a result of the opening of new opened hospitals and the closure of old ones (Table 1). However, response rates were consistently high at around 80%, suggesting that most of the clinics and hospitals actively participated in the study.

When all STDs were taken into consideration, the mean incidences from 1998 through 2001 were 590 male patients and 816 female patients per 100 000 people per year (Table 2). Although classic STDs such as syphilis and chancroid showed very low incidences, the rates of gonococcal and chlamydial infections in male patients and chlamydial infection in female patients were high in Hokkaido. In particular, the incidence of chlamydial infection in female patients was

Table 1. Number of institutes asked to participate and response rates in June and November each year

	No. of institutes	Response rate (%)
1998		
June	584	82.2
November	578	80.3
1999		
June	711	78.9
November	697	84.1
2000		
June	683	78.6
November	679	79.2
2001		
June	656	87.8
November	644	87.1
Mean		82.3

Table 2. Incidence (per 100 000 people per year) of sexually transmitted diseases (STDs) from 1998 through 2001 in Hokkaido prefecture

STD	1998		1999		2000		2001	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
All STDs	444 (436.0–453.7)	688 (677.5–698.7)	630 (619.6–640.4)	910 (897.7–921.7)	621 (610.2–631.2)	853 (840.9–864.6)	663 (652.2–672.9)	813 (801.7–823.6)
Syphilis	1.4 (0.9–1.9)	1.3 (0.8–1.8)	1.9 (1.3–2.5)	1.5 (1.0–2.0)	2.5 (1.9–3.2)	5 (0.2–0.8)	1.0 (0.6–1.4)	0.7 (0.4–1.0)
Chancroid	0	0	0	0	0	0	0	0.2 (0.1–0.4)
Genital herpes infection	31 (29.1–33.8)	67 (63.4–70.0)	33 (30.6–35.4)	64 (61.2–67.6)	35 (32.4–37.4)	71 (68.0–74.9)	33 (30.2–34.8)	65 (61.6–67.8)
Condyloma acuminatum	20 (17.9–21.6)	26 (24.0–28.1)	26 (23.5–27.7)	33 (31.0–35.6)	28 (25.9–30.4)	35 (32.8–37.6)	23 (21.0–24.8)	29 (26.7–30.8)
Gonococcal infection	127 (121.9–131.3)	30 (27.7–32.1)	190 (184.4–195.8)	51 (48.7–54.4)	162 (156.8–167.6)	53 (50.5–56.4)	199 (193.4–204.9)	62 (59.1–65.2)
Chlamydial infection	100 (96.2–104.6)	273 (266.1–279.5)	146 (141.4–151.5)	378 (370.3–385.8)	156 (150.7–161.3)	341 (333.6–348.6)	178 (172.8–183.5)	353 (345.5–360.0)
NC-NG infection	139 (134.4–144.3)	240 (233.9–246.3)	197 (191.3–203.0)	316 (308.6–322.8)	210 (203.7–215.9)	313 (305.8–320.1)	217 (211.1–222.9)	281 (274.5–287.5)
CND-NG infection	26 (23.7–28.0)	51 (48.4–54.2)	36 (33.3–38.2)	41 (38.4–43.5)	26 (24.3–28.6)	16 (15.9–14.3)	11 (10.1–12.8)	5 (4.1–5.8)

Data are median incidence values with the 95% confidence interval in parentheses

NC-NG, nonchlamydial and nongonococcal infection; CND-NG, nongonococcal infection with chlamydia not determined

two to three times higher than in male patients. This finding was consistent throughout the 4 years. In contrast, gonococcal infection was predominantly found in male patients.

Gonococcal infection (Table 3) and genital chlamydial infection (Table 4) were high in younger people. The peak incidence was found at the ages of 20–24 years for both infections, followed by 15–19 and 25–29. In younger people, there was a much higher incidence of female chlamydial infection than male gonococcal infection.

Discussion

Countermeasures to prevent the spread of STDs have been a major medical and public health issue. Some countries have been very active in the prevention of STDs because prevention is closely linked with a decrease in the incidence of HIV infection.^{6,7} Thus, it is crucial as a first step in the prevention of STDs to understand current trends in STD incidence. Unfortunately, we have not had appropriate sources of data in Japan to estimate the incidence of STDs. The major purpose of this study is to provide such data and to estimate the incidences of STDs.^{2-5,8}

Hokkaido is located in northern Japan and is the largest prefecture in Japan. It is rich in natural resources and has many tourist attractions and many tourists from not only other cities in Japan but also other Asian countries. Sapporo is the capital of Hokkaido with a population of

approximately 2 million. Sapporo's Susukino entertainment district has been thought to be a major source of STDs. In addition, the style of sexual activity has been changing slowly since the late 1990s, with oral sex becoming more common. We have already investigated differences in STD incidence between urban Sapporo and the rural areas of Hokkaido.⁸ The levels of chlamydial infection were almost the same in urban and rural areas; however, the incidence of gonococcal infection in male patients was higher in urban areas than in rural areas.

The Centers for Disease Control and Prevention (CDC), USA, reported the overall rates of chlamydial infection in the USA in 1995 to be 290.3 in women and 52.1 in men per 100000 population.⁹ In the CDC report, the incidence had declined substantially for all age groups over a seven-year period, although they were persistently highest among young adolescents. In Birmingham, UK, the overall prevalence of chlamydia was reported to be 129 per 100000.¹⁰ Northern Australia had a reported incidence of female chlamydial infection of 250 per 100000.¹¹ The rate for women was approximately six times higher than that for men. In addition, the report indicated that those aged 15–19 years accounted for 46% of those infected, followed 20–24 years at 33% and 14 years and younger at 4%. Thus, the report cautioned that a higher incidence of the infection was evident in the younger generation. Similar findings were apparent in our study. Moreover, the incidence of chlamydial infection in the study was higher than those reported in other countries. Simple comparison of the incidence levels

Table 3. Incidence (per 100000 people per year) of gonococcal infections according to age category

Age (years)	Gonococcal infection (male)				Gonococcal infection (female)			
	1998	1999	2000	2001	1998	1999	2000	2001
10–14	0	4 (0.9–7.6)	0	8 (3.5–12.3)	0	13 (7.2–19.4)	23 (14.7–31.0)	0
15–19	166 (146.2–186.0)	252 (227.4–275.8)	241 (216.6–264.8)	245 (221.7–267.9)	170 (139.2–190.3)	224 (201.0–247.9)	232 (207.6–256.0)	227 (204.5–249.9)
20–24	513 (478.6–547.4)	715 (674.6–755.1)	579 (541.9–615.5)	613 (576.6–648.6)	165 (145.4–184.5)	309 (282.6–335.6)	263 (238.6–288.3)	312 (285.8–337.1)
25–29	401 (368.3–435.3)	749 (703.5–793.9)	545 (506.6–584.4)	875 (827.9–922.3)	41 (30.5–50.9)	100 (83.9–115.6)	185 (163.5–207.4)	205 (182.6–226.4)
30–34	325 (295.2–355.3)	517 (480.0–554.5)	414 (379.7–447.9)	522 (485.6–558.3)	24 (20.0–37.1)	60 (47.7–72.3)	54 (41.9–65.5)	93 (78.4–108.0)
35–39	172 (150.4–193.6)	219 (195.0–243.3)	252 (226.1–278.8)	295 (267.6–321.6)	21 (13.2–27.9)	36 (26.7–45.9)	21 (13.4–28.2)	49 (38.1–59.6)
40–44	89 (74.8–103.1)	129 (112.2–145.9)	133 (115.8–150.7)	172 (153.4–191.0)	0	10 (5.3–14.4)	14 (8.2–19.0)	21 (15.0–27.9)
45–49	65 (53.1–76.1)	73 (60.8–84.9)	56 (44.9–66.3)	80 (67.5–91.9)	0	6 (2.6–9.1)	9 (4.9–13.2)	5 (2.4–8.5)
50–54	53 (41.6–65.1)	68 (55.2–81.6)	71 (57.0–84.3)	34 (24.8–42.7)	7 (3.2–11.4)	0	4 (0.8–6.7)	13 (8.1–18.7)
55–59	9 (3.8–13.6)	17 (10.3–23.9)	13 (7.2–19.3)	10 (12.9–27.0)	8 (3.4–12.2)	0	0	7 (3.1–11.2)
60–64	13 (7.2–19.3)	9 (3.8–13.5)	22 (14.4–30.3)	40 (30.2–50.4)	4 (0.9–7.4)	8 (3.6–12.7)	0	0
65+	4 (1.9–6.6)	2 (0.4–3.7)	11 (6.9–14.6)	4 (1.7–6.1)	2 (0.3–2.8)	2 (0.3–2.8)	0	0

Table 4. Incidence (per 100000 people per year) of chlamydial infections according to age category

Age (years)	Chlamydial infection (male)				Chlamydial infection (female)			
	1998	1999	2000	2001	1998	1999	2000	2001
10-14	0	4 (0.9-7.6)	0	8 (3.5-12.3)	9 (4.0-14.1)	31 (21.7-40.3)	23 (14.7-31.0)	12 (6.7-18.1)
15-19	185 (163.9-205.9)	377 (347.7-407.1)	290 (263.9-316.8)	303 (277.7-329.1)	1255 (1199.4-1311.2)	1540 (1479.0-1601.6)	1547 (1484.1-1608.9)	1439 (1381.7-1496.1)
20-24	451 (418.4-483.0)	665 (625.8-703.4)	664 (624.6-703.4)	723 (684.0-762.1)	1481 (1422.5-1539.5)	2286 (2213.8-2357.6)	1893 (1826.1-1959.1)	1892 (1828.9-1955.3)
25-29	269 (241.9-296.7)	381 (348.6-413.1)	608 (566.3-649.1)	653 (612.5-694.1)	757 (713.0-801.2)	1125 (1072.1-1178.6)	940 (890.1-988.9)	1253 (1199.0-1307.4)
30-34	277 (249.2-304.6)	293 (264.8-321.2)	285 (256.5-313.0)	381 (350.3-412.5)	326 (297.4-355.4)	380 (349.0-410.9)	405 (372.3-437.2)	432 (400.4-464.2)
35-39	103 (86.5-119.9)	156 (135.6-176.3)	192 (168.6-214.5)	208 (185.5-230.9)	115 (97.8-132.3)	153 (133.4-172.8)	175 (153.3-196.1)	195 (173.7-216.7)
40-44	68 (55.3-79.9)	84 (70.1-97.3)	79 (65.8-92.7)	120 (104.5-136.0)	40 (31.0-49.5)	49 (39.2-59.4)	68 (55.8-79.9)	31 (22.9-38.3)
45-49	32 (24.2-40.4)	51 (40.6-60.7)	43 (33.2-51.9)	71 (59.3-82.3)	24 (17.2-30.6)	29 (21.9-36.6)	18 (12.3-24.0)	22 (15.7-27.9)
50-54	29 (20.1-37.4)	28 (19.7-36.6)	54 (42.1-65.9)	49 (38.0-59.5)	11 (5.9-16.0)	29 (20.7-36.8)	26 (18.2-33.7)	17 (10.8-22.7)
55-59	13 (7.1-19.1)	30 (21.0-38.9)	18 (10.7-24.7)	24 (16.2-31.7)	16 (9.5-21.9)	12 (6.6-16.8)	4 (0.8-7.1)	7 (3.1-11.2)
60-64	4 (0.9-7.9)	4 (0.9-7.8)	9 (3.9-14.0)	12 (6.5-17.6)	12 (6.7-18.1)	12 (6.6-17.7)	8 (3.7-13.1)	8 (3.3-11.8)
65+	2 (0.4-3.8)	2 (0.4-3.7)	2 (0.4-3.9)	4 (1.7-6.1)	2 (0.3-2.8)	3 (1.4-4.8)	3 (1.4-5.0)	0

sometimes is not appropriate because of different backgrounds of study design. However, the results of our study suggest that we need to provide immediately effective countermeasures to prevent chlamydial infection in the younger generation.

In our study, the incidence of male gonococcal infection was 127-199 per 100000 people per year and the incidence for women was 30-62. In other reports, the overall incidence of male gonococcal infection was 98.4 per 100000 men and the estimated incidence of female gonococcal infection was 370 per 100000.¹¹ In the USA, the incidence of gonococcal infection declined 71.3% between 1981 and 1996.¹² However, there were some regions still having high rates of infection, such as 547.4 per 100000 in Kansas City, MO, 669.7 in Detroit, MI, 939.8 in Baltimore, MD, and 942.5 in Newark, NJ. Interestingly, there were some states, such as Montana (4.4 per 100000) and North Dakota^{9,12} with low infection rates. In Hokkaido, there was no declining trend of the disease during the 4 years of the study. The incidence of gonococcal infection in men was three to four times higher than that in women, and the trend is clearly different from that of chlamydial infection. We still cannot explain exactly why the incidence of male gonococcal infection is higher than that of female infection. The traditional explanation of the mild nature of the infection in women may be valid, because some screening programs for high-risk groups have a nonnegligible detection rate of gonococcal infection.^{13,14} Screening programs for gonococcal infection may reveal higher incidences of the infection. In

our study, only symptomatic patients were asked to be reported, so that nonsymptomatic patients with the infection would have been excluded from the data provided by institutes.

The incidence of genital herpes infection and condyloma acuminatum were low in this study. The incidence of latent or subclinical infections with herpes simplex virus (HSV) and human papillomavirus (HPV) has been reported to be higher than that of symptomatic infection.^{15,16} Indeed, we already reported that HPV was detected in healthy men and men with urethritis. In particular, 18% of those with urethritis had HPV DNA on their external genitalia.¹⁷ It is noteworthy that more than 80% of positive patients had high- or intermediate-oncogenic-risk HPV DNA. However, the detection seems to be transient so that symptomatic infection may be less prevalent, as found in our study.

Our study had several limitations in design. Although there were consistently high response rates throughout the 4 years of the study, variation in the institutes that participated may have affected the number of patients with STDs being reported, so that the total numbers might vary somewhat. The second is that diagnostic procedures for STDs, in particular for gonococcal or chlamydial infections, might not be the same in different clinics and hospitals. Some nongonococcal infections with chlamydia not determined may have been chlamydial infections because a specific detection test for chlamydia was not done. Furthermore, some detection procedures such as Gram staining for gonococcus have a definitely lower sensitivity than PCR or LCR. Each

institute that participated in the study had its own detection policy for the causative agent of STDs. This might also have affected the results. Nevertheless, the study is the first comprehensive one that allows us to estimate much more precisely the incidence of STDs. Thus, we now clearly understand that the incidence of STDs in our prefecture is higher than previously anticipated, in particular, those of gonococcal and chlamydial infections in younger people. These results emphasize the need to establish effective countermeasures for prevention, such as robust health education about STDs.

In conclusion, we conducted a prefecture-wide survey for STDs. High response rates for reporting the number of patients from each institute enabled us to estimate the incidence of STDs in Hokkaido. Incidences of gonococcal and chlamydial infections were prominently high, especially in younger people. The results clearly indicate the need for prompt establishment of practical countermeasures for prevention of these diseases.

Acknowledgments This study was partly supported by Health and Labor Sciences Research Grants (Research on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases) from the Ministry of Health, Labor, and Welfare of Japan.

References

1. Tanaka M, Nakayama H, Haraoka M, Saika T, Kobayashi I, Naito S. Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* and high prevalence of ciprofloxacin-resistant isolates in Japan, 1993 to 1998. *J Clin Microbiol* 2000;38:521–5.
2. Kumamoto Y, Tsukamoto T, Nishiya I, Akaza H, Noguchi M, Kamidono S, et al. Sexually transmitted disease surveillance in Japan (rate per 100000/year by disease, age and gender: 1998). *Jpn J Sex Transm Dis* 1999;10:40–60.
3. Kumamoto Y, Tsukamoto T, Nishiya I, Kagabe T, Akaza H, Noguchi M, et al. Epidemiological survey of sexually transmitted disease prevalence in Japan: sentinel surveillance of STD in 1999. *Jpn J Sex Transm Dis* 2000;11:72–103.
4. Kumamoto Y, Tsukamoto T, Kagabe T, Akaza H, Noguchi M, Kamidono S, et al. Epidemiological survey of sexually transmitted disease prevalence in Japan: sentinel surveillance of STD in 2000. *Jpn J Sex Transm Dis* 2001;12:32–67.
5. Kumamoto Y, Tsukamoto T, Kagabe T, Akaza H, Noguchi M, Takasugi Y, et al. STD surveillance 2001 in Japan. *Jpn J Sex Transm Dis* 2002;13:147–67.
6. Wilkinson D, Rutherford G. Population-based interventions for reducing sexually transmitted infections, including HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2001;2:CD001220.
7. Alary M, Mukenge-Tshibaka L, Bernier F, Geraldo N, Lowndes CM, Meda H, et al. Decline in the prevalence of HIV and sexually transmitted diseases among female sex workers in Cotonou, Benin, 1993–1999. *AIDS* 2002;16:463–70.
8. Nishiyama N, Takahashi S, Furuya R, Takeyama K, Shimizu T, Kunishima Y, et al. Epidemiological survey of sexually transmitted disease prevalence in Hokkaido. *Jpn J Sex Transm Dis* 2001;12:117–22.
9. CDC. *Chlamydia trachomatis* genital infections – United States, 1995. *MMWR* 1997;46:193–8.
10. Shahmanesh M, Gayed S, Ashcroft M, Smith R, Roonnarainsingh R, Dunn J, et al. Geomapping of chlamydia and gonorrhoea in Birmingham. *Sex Transm Infect* 2000;76:268–72.
11. Bowden FJ, Paterson BA, Mein J, Savage J, Fairley CK, Garland SM, et al. Estimating the prevalence of *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and human papillomavirus infection in indigenous women in northern Australia. *Sex Transm Infect* 1999;75:431–4.
12. Fox KK, Whittington WL, Levine WC, Moran JS, Zaidi AA, Nakashima AK. Gonorrhoea in the United States, 1981–1996: demographic and geographic trends. *Sex Transm Dis* 1998;25:386–93.
13. Mertz KJ, Voigt RA, Hutchins K, Levine WC (Jail STD Prevalence Monitoring Group). Findings from STD screening of adolescents and adults entering correctional facilities: implications for STD control strategies. *Sex Transm Dis* 2002;29:834–9.
14. Niccolai LM, Ethier KA, Kershaw TS, Lewis JB, Ickovics JR. Pregnant adolescents at risk: sexual behaviors and sexually transmitted disease prevalence. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:63–70.
15. Wald A, Zeh J, Selke S, Ashley RL, Corey L. Virologic characteristics of subclinical and symptomatic genital herpes infections. *N Engl J Med* 1995;333:770–5.
16. Peyton CL, Gravitt PE, Hunt WC, Hundley RS, Zhao M, Apple RJ, et al. Determinants of genital human papillomavirus detection in a US population. *J Infect Dis* 2001;183:1554–64.
17. Takahashi S, Shimizu T, Takeyama K, et al. Detection of human papillomavirus DNA on the external genitalia of healthy men and male patients with urethritis. *Sex Transm Dis* 2003;30:629–33.