

原 著

結核性髄膜炎における髄液 adenosine deaminase (ADA)
の経時的変動について

野崎博之・福内靖男・厚東篤生
田中耕太郎・小張昌宏

慶應義塾大学医学部神経内科

受付 平成6年6月8日

受理 平成6年7月4日

TIME-COURSE OF ADENOSINE DEAMINASE ACTIVITY IN
THE CEREBROSPINAL FLUID IN PATIENTS WITH
TUBERCULOUS MENINGITIS

Hiroyuki NOZAKI*, Yasuo FUKUUCHI, Atsuo KOTO,
Kortaro TANAKA and Masahiro KOBARI

(Received 8 June 1994/Accepted 4 July 1994)

The level of adenosine deaminase (ADA) activity in the cerebrospinal fluid is used as a supportive diagnostic measure for tuberculous meningitis. However the time-course of adenosine deaminase activity of the cerebrospinal fluid in patients with tuberculous meningitis remains unknown. The present study describes 4 patients with tuberculous meningitis in whom ADA activity in the cerebrospinal fluid was serially determined in order to clarify the effects of anti-tuberculous chemotherapy on ADA activity in the cerebrospinal fluid. In two of these patients the ADA did not show a high activity in the early stage of the disease. But in all cases the ADA showed a high activity after all, and gradually declined and reached the normal level at approximately 1 month after the initiation of chemotherapy. It seems that the decrease in the ADA activity was seen when T cells in the cerebrospinal fluid returned to a static state upon removal of mycobacterial antigen by the treatment. The level of ADA in the cerebrospinal fluid is considered to be one of the useful measures for diagnosis and follow-up in patients with tuberculous meningitis.

Key words : Tuberculous meningitis, Adenosine deaminase, Cerebrospinal fluid

キーワード : 結核性髄膜炎, アデノシンデアミナーゼ, 髄液

* From the Department of Neurology, School of Medicine, Keio University 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160 Japan.

はじめに

近年中枢神経系結核は化学療法の進歩とともに発生頻度は激減し、先進国では全結核症の0.5%にみられるに過ぎない¹⁾。しかしその死亡率は25~35%と依然として高率で、診断の遅れがその原因として指摘されている²⁾。一方、結核菌の培養には4~8週間を要するため、結核性髄膜炎の早期診断は必ずしも容易ではない。そこで、補助的検査法として髄液中の adenosine deaminase (ADA) 活性の測定が注目されている³⁾⁻⁶⁾。一般には結核性髄膜炎で髄液 ADA 値が高値を示すと言われているが、必ずしも高値を示さない症例も存在する⁷⁾。しかし、結核性髄膜炎症例で髄液 ADA 値を経時的に観察した報告はほとんどない。そこで今回われわれは、結核性髄膜炎患者4例において髄液 ADA 値の経時の変化を検討したので報告する。

症 例

対象は、1987年以降当院神経内科に入院し、臨床的に結核性髄膜炎と診断し治療した患者9例のうち、髄液 ADA 値を複数回測定した4症例である。

[症例1] 46歳・女性。既往歴では幼少期に結核性股関節炎があったが、家族歴には特記すべきものはない。1989年10月13日頃より頭痛・鼻閉感が出現し、上気道炎の診断で治療を受けたが改善しなかった。10月18日より頭痛・発熱を認め、嘔吐を伴うため髄膜炎の診断

で入院した。

身体所見では特記すべきものではなく、神経学的にも頭部硬直の他異常を認めなかった。検査所見では赤沈1時間値23mmと軽度亢進していたが、白血球数6500/mm³(分画正常)、CRP 0.03 mg/dl と正常範囲内であった。検尿・検便では異常を認めなかった。生化学的検査でも特に異常を認めなかった。入院時の髄液検査では細胞数38/mm³(すべて単核球)、総蛋白100 mg/dl と上昇していたが、糖57 mg/dl、ADA 3.2 U/l であった。髄液の細菌学的検査では結核菌・一般細菌・真菌ともに塗抹・培養いずれにても陰性であった。画像診断では頭部CT・MRIともに異常は認められなかった。

髄液所見からヘルペス性髄膜炎の可能性を考え acyclovir 1,500 mg/日を開始したが、頭痛は持続し意識障害も伴うようになった。10月24日再度髄液検査を施行したところ、細胞数82/mm³(単核球75/mm³)、総蛋白268 mg/dl と上昇し、糖49 mg/dl と低下していた。結核性髄膜炎と診断し isoniazid (INH) 300 mg/日、rifampicin (RFP) 450 mg/日を開始した。その後も一時意識障害の増悪を認めたが streptomycin (SM)・pyrazinamide (PZA) の併用により改善を認めた。治療開始時には髄液 ADA 値は15.3 U/l と上昇を認めたが、その後症状の改善とともに徐々に低下した(図1)。

[症例2] 67歳・女性。既往歴では結核性胸膜炎(18歳)があり、家族歴には姉に肺結核症がある。1992年

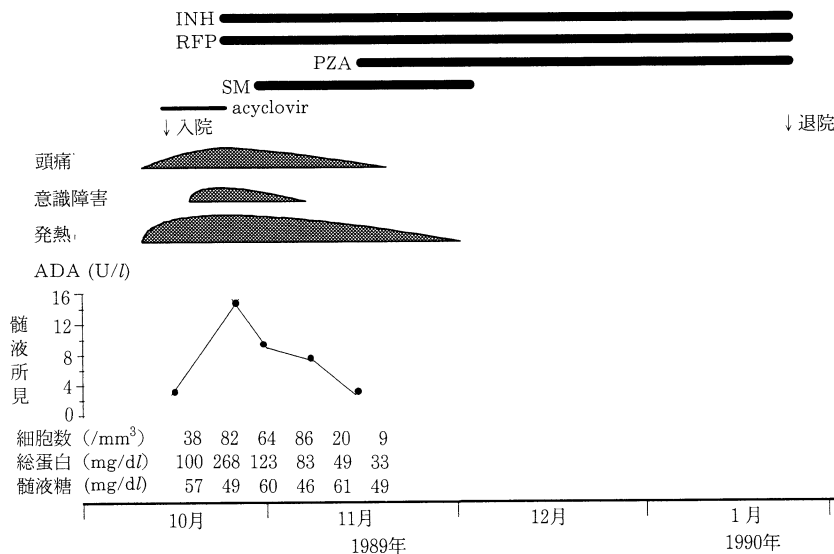


図1 症例1(46歳・女性)の臨床経過を示す。抗結核療法を開始し、臨床症状の改善とともに、ADAの低下を認めた。

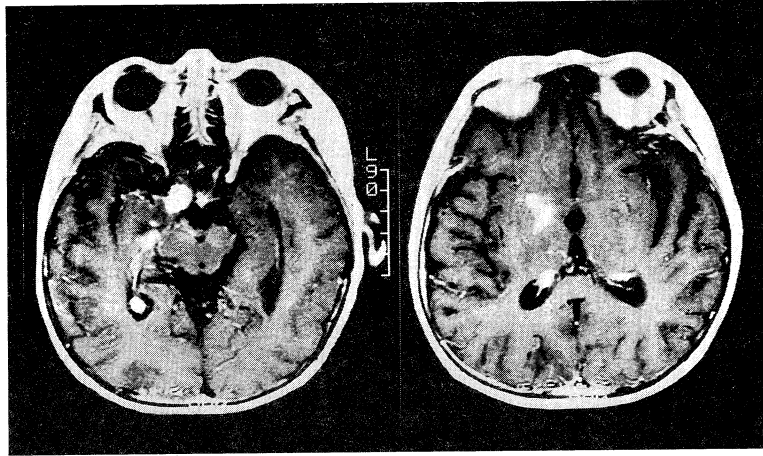


図2 症例2の Gd-DTPA 造影頭部 MRI (T₁ 強調画像: 1992年11月2日): 鞍上部近傍に造影される病変の他に, 基底核部にも造影される病変を認めた。

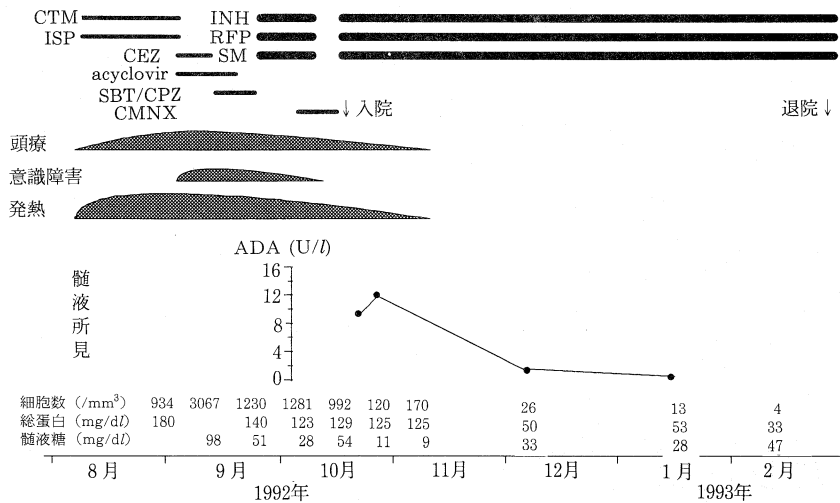


図3 症例2 (67歳・女性)の臨床経過を示す。抗結核療法を継続したところ, 臨床症状は徐々に改善し, ADA も低下した。

8月初旬頃より頭痛を認め, 同年8月7日発熱が出現した。近医にて感冒の診断で治療を受けたが改善しなかった。8月14日には悪心・嘔吐が出現したため某院に入院し, 細菌性髄膜炎の診断で cefotiam (CTM)・ise-pamicin (ISP) の投与を受けたが改善しなかった。頭痛・嘔吐も悪化し意識障害も伴うようになったため他院に転院し, ヘルペス脳炎を疑われ acyclovir の投与を受けたが改善せず, 9月24日結核性髄膜炎の診断で治療 (INH・RFP・SM) が開始された。抗結核療法施行中にもかかわらず症状の増悪を認めたため一時治療中

断し cefminox (CMNX) の投与が行われたが, その後痙攣を伴うようになったため当院に転院した。

身体所見では軽度の貧血を認める他には特記すべき所見はなく, 神経学的には左上1/4半盲と項部硬直の他には明らかな異常を認めなかった。

検査所見では赤沈1時間値9mmと正常で, 白血球数も3,900/mm³(分画正常)で, CRP 0.64 mg/dlと軽度上昇していた。赤血球数3.05×10⁶/mm³, ヘモグロビン9.4 g/dlと軽度の貧血を認めた。検尿・検便ともに異常を認めなかった。生化学的検査では, 総蛋白

6.1 g/dlと軽度低下している他には特記すべき異常を認めなかった。髄液検査では細胞数 $120/\text{mm}^3$ (単核球 $70/\text{mm}^3$)、総蛋白 125 mg/dl と上昇し、糖は 11 mg/dl と減少していた。髄液 ADA 10.4 U/l と上昇を認めた。髄液の細菌学的検査では結核菌・一般細菌・真菌ともに塗抹・培養いずれにても陰性であった。頭部 CT では鞍上部に異常造影を伴う結節性陰影を認め、MRI (図2)では同部と基底核部に Gd-DTPA で造影される結節性陰影を認めた。

入院後も INH・RFP・SM による抗結核療法を継続したところ、症状は徐々に改善し、検査所見(髄液所見を含む)や CT・MRI 像にも改善を認めた(図3)。

[症例 3] 74歳・男性。既往歴・家族歴には特記すべき所見はない。1992年10月12日頃より頭痛・発熱(38°C)が出現した。10月15日嘔吐・歩行障害が出現したため近医を受診し検査を受けたが、特に治療されなかった。症状が徐々に増悪するため10月26日当院を受診し緊急入院した。

身体所見では上腹部に軽度の圧痛を認める他には異常を認めなかった。神経学的には脳神経系には異常を認めなかったが、両上肢に軽度の筋力低下を認め、腱反射は両側性に亢進し、Babinski 反射も両側で認めた。また錐体外路症状も認められた。項部硬直・Kernig 徴候も陽性であった。

検査所見では赤沈は1時間値 6 mm と正常で、白血球数も $8,200/\text{mm}^3$ (分画正常)で、CRP 0.04 mg/dl とほぼ正常範囲内であった。検尿・検便ともに異常を認めなかった。また生化学的検査にても異常を認めなかった。髄液検査では細胞数 $49/\text{mm}^3$ (すべて単核球)、総

蛋白 112 mg/dl と上昇していた。また糖は 57 mg/dl と正常下限を呈していた。髄液 ADA 値は 7.1 U/l であった。髄液の細菌学的検査では結核菌・一般細菌・真菌ともに塗抹・培養いずれにても陰性であったが、髄液の polymerase chain reaction (PCR) で結核菌の DNA が検出された。頭部 CT・MRI 像では多発性脳梗塞と思われる所見を認めるのみであった(図4)。

入院後結核性髄膜炎と診断し INH・RFP を開始したところ症状・炎症反応ともに改善し、髄液 ADA 値も徐々に低下した(図5)。

[症例 4] 17歳・男性。既往歴には特記すべきものはなく、ツ反は BCG 施行により陽転し、以後陽性であった。家族歴では結核性疾患を認めなかった。1993年6月頃より頭痛が出現し、徐々に増悪した。7月18日全身の強直性痙攣発作が出現したため、当院救急外来を受診し、翌7月19日精査・治療目的にて入院した。

身体所見では体温 37.5°C で、表在リンパ節は触知せず、胸腹部に理学的に異常を認めなかった。神経学的には意識は清明であったが、軽度の運動性失語を認めた。その他の脳神経障害、運動障害、感覚障害はなく、項部硬直・Kernig 徴候などの髄膜刺激症状も明らかではなかった。

検査所見では赤沈は1時間値 26 mm と軽度亢進していたが、白血球数は $8,900/\text{mm}^3$ で分画も正常であった。CRP も陰性で、貧血もなく生化学的検査では異常を認めなかった。髄液検査では単核球優位の細胞増多(細胞数 $47/\text{mm}^3$ (単核球 $36/\text{mm}^3$))、軽度の蛋白上昇(総蛋白 57 mg/dl)、糖の低下(56 mg/dl)を認めたが、結核菌・一般細菌・真菌ともに塗抹・培養いずれにても

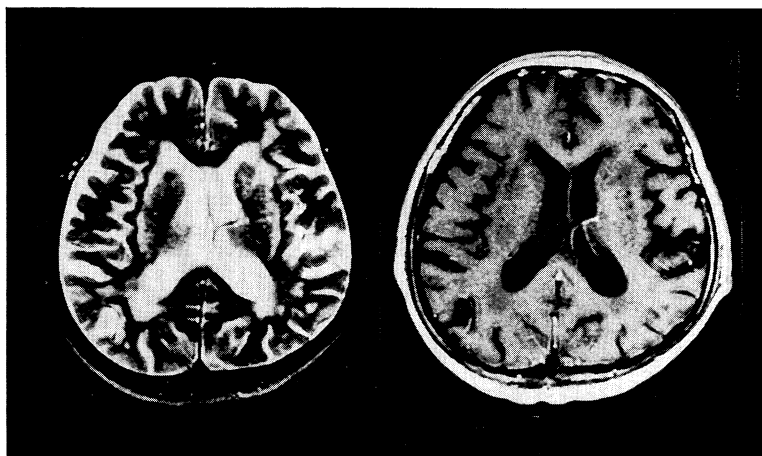


図4 症例3の頭部MRI (1992年11月8日): 左 T_2 強調画像, 右 T_1 強調画像。 T_2 強調画像にて基底核部に高信号域を多発性に認めており、多発性脳梗塞の所見を呈した。

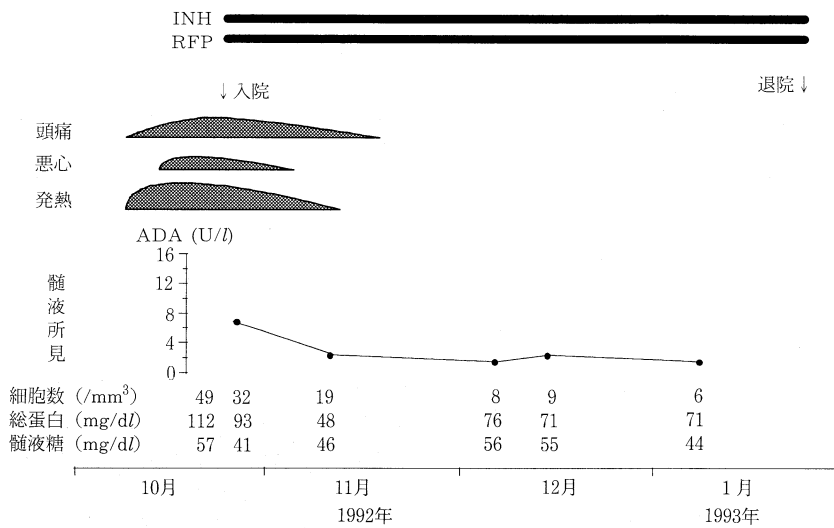


図5 症例3 (74歳・男性)の臨床経過を示す。抗結核療法を開始したところ、すみやかに臨床症状は改善し、ADAの低下を認めた。

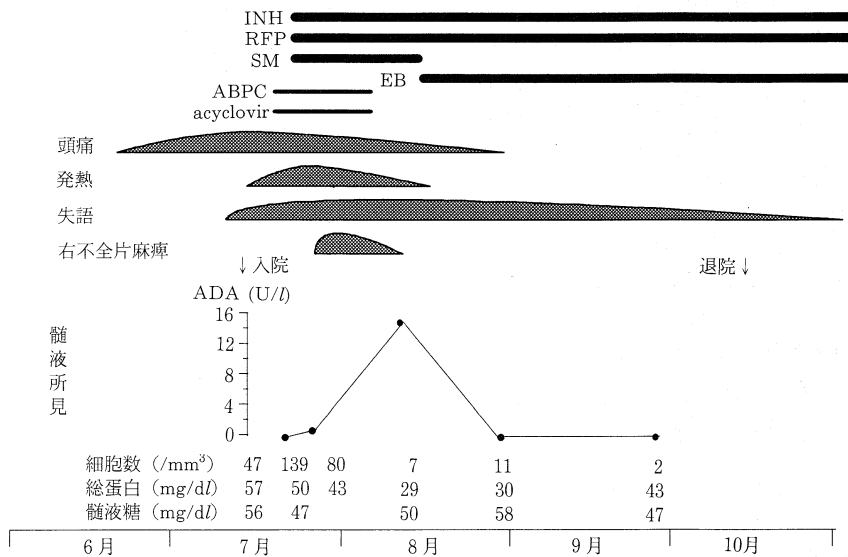


図6 症例4 (17歳・男性)の臨床経過を示す。入院後徐々に症状は増悪したが、抗結核療法を開始してから改善した。髄液総蛋白の上昇は軽度だが、髄液ADAは上昇していた。

陰性であった。

画像診断(頭部CT・MRI・SPECT)では明らかな異常を認めなかった。脳波では左側頭部～頭頂部を中心とした徐波の混入を認めた。髄液検査ならびに脳波所見より髄膜炎・脳炎と診断し、ampicillin (ABPC)・

acyclovirの投与を開始した。7月23日より精神機能の低下・全失語・右不全片麻痺を認めたため、7月24日より抗結核療法(INH・RFP・SM)を開始した。軽度の聴力障害が出現したため、8月15日よりSMを中止し ethanbutol (EB)に変更した。その後徐々に右

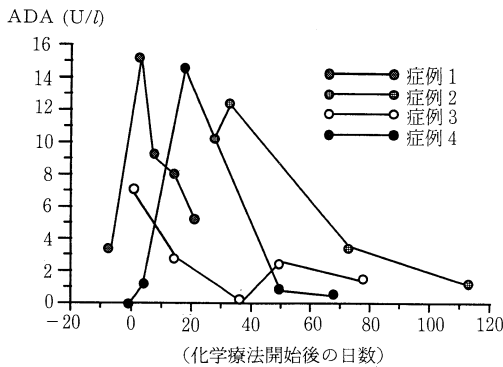


図7 抗結核療法と髄液 ADA 活性値の変化：治療開始日を0日として4症例の髄液 ADA 値を示している。

不全片麻痺は改善した。また失語も改善し軽度の健忘失語を残すのみとなった。髄液中の ADA 値も入院時には 0.1 U/l であったが、8月11日には 14.5 U/l と高値を呈した (図6)。

図7に今回検討した4症例の髄液 ADA 値の推移を示す。髄液検査施行の時期が一定せず、また治療開始前の ADA 値が不明の症例もあるが、治療開始後に最高値を呈する症例がみられた。また治療中断期間のある症例2を除くと、治療開始1カ月後には髄液 ADA 値は正常化していた。

今回われわれの検討した症例のうち2例では、入院後病状がさらに進行してから、初めて髄液 ADA 値の上昇を認めており、当初は髄液 ADA 値は高値を示さなかった。また他の2例では入院当初の髄液 ADA 値が最も高値であったが、この2例は入院後の症状の悪化のみられない症例であり、髄液 ADA 値は症状の経過と比較的一致した消退を示した。

考 案

今回検討した4例では全例結核菌は検出されていないが、いずれも亜急性の経過で発症した髄膜炎で、髄液検査では単核球優位の細胞増多と糖の低下を認めた。また一般の抗生剤は無効で抗結核療法のみが有効と考えられた症例であった。症例1・2では結核性疾患の既往 (化学療法歴なし) があり、また症例2では頭部 CT で鞍上部を中心とした異常造影像を認めた。また症例3では髄液の PCR で結核菌の DNA が検出されている。以上よりいずれの症例も臨床的に結核性髄膜炎と診断した。

松島ら²⁾の集計によれば、結核性髄膜炎と診断した70例中29例は診断困難で、その理由として菌陰性や非定型の症状、髄液所見などを挙げている。髄液より結核菌が検出されるのは、松島ら²⁾は37%、Wrightら⁸⁾

は79.2%としている。しかも塗抹で判明するのは、Wrightら⁸⁾は36.7%、Hinmanら⁹⁾は20%としており、早期診断のためには補助的検査が必要となる。

Malanら⁵⁾は結核性髄膜炎42例全例において髄液 ADA 値が 6.0 U/l 以上であったと報告している。また Riberaら⁶⁾は髄液 ADA 値は発症初期の診断に非常に有効であり、ADA 値が 9.0 U/l 以上であれば結核性髄膜炎の可能性が高いと報告している。さらに結核性髄膜炎症例において抗結核薬の投与により結核菌が除去された場合、治療開始早期 (10日間) に髄液 ADA 値は有意に上昇するが、その後徐々に低下し 80~100日 で正常化するとしている⁶⁾。その機序として治療開始約3~4週間で Mycobacterial antigen が除去され、T細胞が再び静止状態となるため ADA 活性値は低下していくとしている⁶⁾。結核性胸膜炎においても胸水 ADA 値が同様の経過をとることが報告されており¹⁰⁾、われわれの検討でも2症例は髄液 ADA 値が治療開始後に一時上昇しその後正常化した。

われわれが調べ得た限りでは、本邦の結核性髄膜炎報告例で髄液 ADA 値を経時的に測定しているのは3例にすぎない。小林ら³⁾の例では治療開始後に症状の増悪とともに髄液 ADA 値は上昇したが、その後臨床経過と並行して髄液 ADA 値は徐々に低下した。井谷ら¹¹⁾の例では治療開始前高値であった ADA 値が治療開始後、臨床経過と並行して徐々に低下している。新美ら¹²⁾の報告では、治療開始前高値であった ADA 値が治療開始後一時低下するが、症状の一過性の増悪とともに再度上昇し、その後 prednisolone (PSL) 併用後症状の改善とともに低下をみており、髄液 ADA 値は臨床症状と比較的一致した経過を呈していた。われわれの検討した症例でも髄液 ADA 値は比較的臨床経過と並行しており、補助的検査として有用と考えられた。しかしリンパ球 (特に T細胞) の異常増殖を伴う病態や寄生虫疾患、真菌感染症などの細胞性免疫反応が関係する病態においても、ADA 活性値が上昇する可能性は十分予想される¹³⁾ ので、その利用には注意が必要である。

ADA 活性値の上昇は T細胞の成熟期に認められるため、細胞性免疫が関与する疾患で活性値が上昇すると言われている^{14)~16)}。ADA は胸腺、リンパ腺、脾臓などのリンパ系臓器¹⁷⁾¹⁸⁾をはじめ、生体内に広く分布しており、特に赤血球中の ADA は血清の 40~70 倍も活性が強く¹⁹⁾、白血球内にも含まれている。今回検討した症例では血性髄液 (穿刺時の出血に伴うものを含む) はなく、赤血球由来の ADA である可能性は低く、髄液 ADA 値を比較的良好に反映しているものと思われた。

肺結核症では血清 ADA 値が高値を呈すると報告されており^{20)~23)}、結核性髄膜炎でも高値を呈する可能性

が考えられる。一方髄液の蛋白はそのほとんどが血漿由来と言われており²⁴⁾、低分子量のものほど移行しやすいと言われている²⁵⁾。髄膜炎では血液脳関門の破綻があり、そのため血漿蛋白の髄液移行がしやすくなると言われている²⁶⁾。そこで今回認められた髄液 ADA 値の上昇が、髄液蛋白上昇に伴ったものである可能性も考えられる。しかし症例2では髄液蛋白量とほぼ同様な経過を髄液 ADA 値がとっているものの、症例4では髄液蛋白の上昇は軽度であり、また症例1では髄液蛋白の消退とは必ずしも一致していなかった。そのため今回検討した髄液 ADA 値が血漿蛋白由来のみと考えるのは困難と思われた。さらに結核性胸膜炎においては ADA 活性由来細胞として、T細胞、マクロファージが推定されており¹⁶⁾²⁷⁾、今回検討した症例の髄液 ADA 値も髄液のT細胞を反映したものと考えられた。最近 ADA には ADA₁ と ADA₂ の2種があり²⁸⁾、結核を含む感染症では ADA 値が高値となり ADA₂ がその主成分であると言われている²⁹⁾。そこで今後はT細胞由来の髄液 ADA₂ の検討が必要と思われた。

近年 PCR 法の開発により細菌、ウイルスなどの病原体 genomic DNA の同定が鋭敏かつ迅速に可能となり、感染症の臨床診断に応用されつつある³⁰⁾³¹⁾。しかし結核性髄膜炎症例における髄液からの *M. tuberculosis* genomic DNA の検出率は報告によっては20%弱であり³²⁾、高感度な nested PCR³³⁾³⁴⁾ は未だ検査室レベルでは行えず、現時点では普遍的な検査とは言いがたいと思われる。そのため結核性髄膜炎において早期診断のための補助的診断として髄液 ADA 値は重要なものと思われた。しかし髄液検査の時期によっては必ずしも高値を示さない可能性があり注意が必要と思われた。

今後さらに症例数を重ねて、経時的に髄液 ADA 値の検討を続けていく予定である。

ま と め

①結核性髄膜炎4症例で髄液 ADA 値を経時的に経過観察した。

②髄液 ADA 値は結核性髄膜炎発症当初必ずしも高値を示すとは限らなかった。

③高値を示した髄液 ADA 値は症状の改善と比較的一致した経過で低下した。

④髄液 ADA 値は発症当初必ずしも高値を示さないことがあることに注意すれば結核性髄膜炎の早期診断および経過観察のための補助的検査として重要と思われた。

本論文の要旨は第69回結核病学会総会(1994年4月長崎)にて報告した。

謝 辞

御校閲を賜った国立療養所東埼玉病院青柳昭雄名誉院長に深謝いたします。

文 献

- 1) Sheller JR, Des Prez RM : CNS tuberculosis. *Neurol Clin.* 1986 ; 4 : 143-158.
- 2) 松島敏春 : 結核性髄膜炎. *結核.* 1985 ; 60 : 88-90.
- 3) 小林 理, 国定 薫, 土屋俊昌, 他 : 結核性髄膜炎の3例. *呼吸.* 1987 ; 6 : 890-896.
- 4) Blake J, Berman P : The use of adenosine deaminase assays in the diagnosis of tuberculosis. *S Afr Med J.* 1982 ; 62 : 19-21.
- 5) Malan C, Donald PR, Golden M, et al. : Adenosine deaminase levels in cerebrospinal fluid in the diagnosis of tuberculous meningitis. *J Trop Med Hyg.* 1984 ; 87 : 33-40.
- 6) Ribera E, Martinez-Vazquez JM, Ocaña I, et al. : Activity of adenosine deaminase in cerebrospinal fluid for the diagnosis and follow-up of tuberculous meningitis in adults. *J Infect Dis.* 1987 ; 155 : 603-607.
- 7) Fernandez CJM, Guijarro CIC, Munoz LS, et al. : Adenosin-deaminasa. Falsos negativos en meningitis tuberculosa. *Neurologia.* 1992 ; 7 : 202.
- 8) Wright NL : Observations on the diagnosis of tuberculous meningitis. *J Lab Clin Med.* 1958 ; 52 : 48-52.
- 9) Hinman AR : Tuberculous meningitis at Cleveland Metropolitan General Hospital, 1959 to 1963. *Am Rev Respir Dis.* 1967 ; 95 : 670-673.
- 10) 矢木 晋, 渡辺正俊, 橋口浩二, 他 : 結核性胸膜炎における胸水中 adenosine deaminase 活性値の経時的変化に関する臨床的検討. *呼吸.* 1990 ; 9 : 596-602.
- 11) 井谷隆典, 駿田英俊, 大畑雅洋, 他 : Adenosine Deaminase Activity (ADA) が高値を示した結核性髄膜炎の一例. *和歌山医学.* 1988 ; 39 : 587-591.
- 12) 新美 岳, 長谷川由美, 杉浦芳樹, 他 : MRI, 造影 MRI 所見を経時的に観察し得た脳結核の1例. *結核.* 1992 ; 67 : 27-32.
- 13) 中村淳一, 松島敏春, 原 宏紀, 他 : 結核性髄膜炎

- における ADA 値の有用性. 結核. 1991 ; 66 : 226.
- 14) Huang AT, Logue GL, Engelbrecht HL : Two biochemical markers in lymphocyte subpopulations. Br J Haematol. 1976 ; 34 : 631-638.
 - 15) Sullivan JL, Osbrone WRA, Wedgwood RJ : Adenosine deaminase activity in lymphocytes. Br J Haematol. 1977 ; 37 : 157-158.
 - 16) Barton R, Martiniuk F, Hirschhorn R, et al. : The distribution of adenosine deaminase among lymphocyte populations in the rat. J Immunol. 1979 ; 122 : 216-220.
 - 17) Lee PC : Developmental changes of adenosine deaminase, xanthine oxidase, and uricase in mouse tissues. Develop Biol. 1973 ; 31 : 227-233.
 - 18) Adams A, Harkness RA : Adenosine deaminase activity in thymus and other human tissues. Clin Exp Immunol. 1976 ; 26 : 647-649.
 - 19) Müller-Beissenhirtz W, Keller H : Die Bestimmung der Adenosindeaminase im Serum. Dtsch Med Wschr. 1966 ; 91 : 159-168.
 - 20) 伊藤正己, 神代尚芳, 森脇優司, 他 : 肺結核患者における血清可溶性インターロイキン2レセプター. 日胸疾会誌. 1989 ; 27 : 25-28.
 - 21) Yasuhara A, Nakamura M, Shuto H, et al. : Serum adenosine deaminase activity in the differentiation of respiratory diseases in children. Clin Chim Acta. 1986 ; 161 : 341-345.
 - 22) 林隆司朗, 高久史磨 : アデノシンデアミナーゼ (ADA). 呼吸. 1988 ; 7 : 167-171.
 - 23) 井田 隆, 谷合 哲, 新田政男, 他 : 肺結核患者における血清 ADA 活性の推移とその臨床的意義について. 結核. 1990 ; 65 : 477-481.
 - 24) 高柳哲也 : 髄液の性状. Clinical Neuroscience. 1990 ; 8 : 837-839.
 - 25) Felgenhauer K : Protein size and cerebrospinal fluid composition. Klin Wschr 1974 ; 52 : 1158-1164.
 - 26) 高瀬貞夫, 野村 宏 : 髄液検査の臨床的意義. 神経内科. 1992 ; 37 : 215-232.
 - 27) 和田茂比古 : 結核性胸水における adenosine deaminase (ADA) 活性の高値と PPD 特異的 T 細胞増殖反応. 信州医誌. 1987 ; 35 : 592-600.
 - 28) 倉田矩正, 鬼原道夫 : 血清 Adenosine Deaminase 活性と分子多様性. 臨床病理. 1984 ; 32 : 875-880.
 - 29) 倉田矩正, 鬼原道夫, 重田英夫, 他 : 胸水中 Adenosine Deaminase (ADA) 活性とそのアイソザイム—癌性胸膜炎と結核性胸膜炎の鑑別—. 臨床病理. 1987 ; 35 : 192-196.
 - 30) Rowley AH, Whitley RJ, Lakeman FD, et al. : Rapid detection of herpes-simplex-virus DNA in cerebrospinal fluid of patients with herpes simplex encephalitis. Lancet. 1990 ; 335 : 440-441.
 - 31) Wren B, Clayton C, Tabaqchali, S : Rapid identification of toxigenic *Clostridium difficile* by polymerase chain reaction. Lancet. 1990 ; 335 : 423.
 - 32) Shankar P, Manjunath N, Lakshmi R, et al. : Identification of *Mycobacterium tuberculosis* by polymerase chain reaction. Lancet. 1990 ; 335 : 423.
 - 33) 早河秀治, 成田光生, 加藤敏行, 他 : Nested PCR (polymerase chain reaction) 法が診断に有用であった結核性髄膜炎の1例. 日本小児科学雑誌. 1992 ; 96 : 1274-1278.
 - 34) 早河秀治, 成田光生, 加藤敏行, 他 : Nested polymerase chain reaction 法による結核性髄膜炎の経時的検討. 感染症学雑誌. 1992 ; 66 : 1479-1482.