

Fig. 1. Phylogenetic tree of NoV GII nucleotide sequences detected in pairs of stool and serum samples. The tree was constructed from partial nucleotide sequences of the capsid region. Reference strains of NoV were selected from the DDBJ DNA/GenBank database under the accession numbers indicated in the text. Strains detected in this study are highlighted in bold. Percentage bootstrap values above 70% are shown at the branch nodes. The scale indicates nucleotide substitutions per position.

significance in reviewing the current concept of human NoV, which focuses on intestinal infection. The murine model is consistent with our findings that suggest extr-intestinal spread of NoV during NoV gastroenteritis.

Acknowledgements

This study was supported by Grants-in-Aid from the Ministry of Education, Culture, Sports, Sciences and Technology and the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan.

References

- Lopman BA, Reacher MH, van Duynhoven Y, Hanon FX, Brown D, Koopmans M. Viral gastroenteritis outbreaks in Europe, 1995–2000. *Emerg Infect Dis* 2003;**9**:90–6.
- Okitsu-Negishi S, Nguyen TA, Phan TG, Ushijima H. Molecular epidemiology of viral gastroenteritis in Asia. *Pediatr Int* 2004;**46**:245–52.
- Estes MK, Prasad BV, Atmar RL. Noroviruses everywhere: has something changed? *Curr Opin Infect Dis* 2006;**19**:467–74.
- Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of acute gastroenteritis associated with Norwalk-like viruses among British military personnel, Afghanistan, May 2002. *Morb Mortal Wkly Rep* 2002;**51**:477–9.
- Ito S, Takeshita S, Nezu A, Aihara Y, Usuku S, Noguchi Y, et al. Norovirus-associated encephalopathy. *Pediatr Infect Dis J* 2006;**25**:651–2.
- Chiappini E, Azzari C, Moriondo M, Galli L, de Martino M. Viraemia is a common finding in immunocompetent children with rotavirus infection. *J Med Virol* 2005;**76**:265–7.
- Ushijima H, Xin KQ, Nishimura S, Morikawa S, Abe T. Detection and sequencing of rotavirus VP7 gene from human materials (stools, sera, cerebrospinal fluids, and throat swabs) by reverse transcription and PCR. *J Clin Microbiol* 1994;**32**:2893–7.
- Iturriza-Gomara M, Aucterlonie IA, Zaw W, Molyneux P, Desselberger U, Gray J. Rotavirus gastroenteritis and central nervous system (CNS) infection: characterization of the VP7 and VP4 genes of rotavirus strains isolated from paired fecal and cerebrospinal fluid samples from a child with CNS disease. *J Clin Microbiol* 2002;**40**:4797–9.
- Lynch M, Shieh WJ, Tatti K, Gentsch JR, Ferebee-Harris T, Jiang B, et al. The pathology of rotavirus-associated deaths, using new molecular diagnostics. *Clin Infect Dis* 2003;**15**:1327–33.
- Saulsbury FT, Winkelstein JA, Yolken RH. Chronic rotavirus infection in immunodeficiency. *J Pediatr* 1980;**97**:61–5.
- Blutt SE, Kirkwood CD, Parreno V, Warfield KL, Ciarlet M, Estes MK, et al. Rotavirus antigenaemia and viraemia: a common event? *Lancet* 2003;**362**:1445–9.
- Fischer TK, Ashley D, Kerin T, Reynolds-Hedmann E, Gentsch J, Widdowson MA, et al. Rotavirus antigenemia in patients with acute gastroenteritis. *J Infect Dis* 2005;**192**:913–9.
- Nakagomi T, Nakagomi O. Rotavirus antigenemia in children with encephalopathy accompanied by rotavirus gastroenteritis. *Arch Virol* 2005;**150**:1927–31.
- Phan TG, Nguyen TA, Yan H, Yagyu F, Kozlov V, Kozlov A, et al. Development of a novel protocol for RT-multiplex PCR to detect diarrheal viruses among infants and children with acute gastroenteritis in Eastern Russia. *Clin Lab* 2005;**51**:429–35.
- Kojima S, Kageyama T, Fukushima S, Hoshino FB, Shinohara M, Uchida K, et al. Genogroup specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. *J Virol Methods* 2002;**100**:107–14.
- Shinohara M, Kageyama T. Rapid and efficient detection method of Norwalk virus. *Nippon Rinsho* 2002;**60**:1181–7.
- Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, et al. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol* 2003;**41**:1548–57.
- Kageyama T, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, Kojima S, et al. Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan. *J Clin Microbiol* 2004;**42**:2988–95.
- Wobus CE, Thackray LB, Virgin 4th HW. Murine norovirus: a model system to study norovirus biology and pathogenesis. *J Virol* 2006;**80**:5104–12.
- Mumphrey SM, Changotra H, Moore TN, Heimann-Nichols ER, Wobus CE, Reilly MJ, et al. Murine norovirus 1 infection is associated with histopathological changes in immunocompetent hosts, but clinical disease is prevented by STAT1-dependent interferon responses. *J Virol* 2007;**81**:3251–63.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Virological Methods

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jviromet



Short communication

Immunochromatography test for rapid detection of norovirus in fecal specimens

Pattara Khamrin^a, Sayaka Takashi^b, Wisoot Chan-it^b, Masaaki Kobayashi^c, Syuichi Nishimura^a,
Noriko Katsumata^d, Shoko Okitsu^e, Niwat Maneekarn^f, Osamu Nishio^a, Hiroshi Ushijima^{a,b,*}

^a Aino Health Science Center, Aino University, Tokyo, Japan

^b Department of Developmental Medical Sciences, Institute of International Health, Graduate School of Medicine, the University of Tokyo, Tokyo, Japan

^c Kobayashi Children's Clinic, Shizuoka, Japan

^d Morinaga Milk Industry Co., Ltd., Kanagawa, Japan

^e Aino Health Science Center, Aino College, Tokyo, Japan

^f Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

ABSTRACT

Article history:

Received 15 October 2008
Received in revised form 11 December 2008
Accepted 15 December 2008
Available online xxx

Keywords:

Norovirus
Immunochromatography
Rapid detection
Acute gastroenteritis
Japan

An immunochromatography (IC) assay for rapid detection of norovirus (NoV) was evaluated with fecal samples collected from children who suffered from acute gastroenteritis during the winter season of 2007–2008 in Japan. A total of 75 fecal specimens were tested for NoV by the newly developed IC kit and by a gold standard RT-PCR method. The sensitivity, specificity, and agreement of this IC kit were 75.4%, 100%, and 80%, respectively. In addition, phylogenetic analysis revealed that the majority of NoV circulating in Japan during 2007–2008 belonged to the new variant GII/4 2006b genetic cluster. It was demonstrated that the IC kit evaluated in this study could detect these new variant NoV strains, which emerged recently in Japan. Therefore, it is suggested that this NoV IC kit could be used as an alternative method for the screening of NoV in fecal specimens, especially during the season of acute gastroenteritis outbreak.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

Viral enteric infections affect millions of people worldwide. The major agents include rotavirus, astrovirus, adenovirus, and enteric caliciviruses (norovirus and sapovirus) (Clark and Kendrick, 2004; Wilhelmi et al., 2003). These viruses are transmitted mainly via fecal–oral route through person-to-person contact or consumption of contaminated food. Recently, norovirus (NoV) has been emerged as significant etiologic agent and is recognized as the major cause of non-bacterial acute gastroenteritis in all age groups. The virus is a member of the family *Caliciviridae*, which is nonenveloped, positive-sense, single-stranded RNA virus (Green, 2007).

Because no readily available cell culture system exists for NoV, characterization and classification of NoV is based on reverse transcription–polymerase chain reaction (RT-PCR), genomic sequencing, and phylogenetic analysis (Kageyama et al., 2004; Zheng et al., 2006). In recent years, extensive molecular epidemiological studies of calicivirus infections in humans have been conducted. These detection techniques have markedly enhanced our understanding of the epidemiology and genetic diversity of NoVs. According to the latest scheme for NoV nomenclature, NoVs

have been classified into five separate genogroups (GI to GV) and at least 29 genotypes (Zheng et al., 2006). Several epidemiological studies have clearly indicated that NoV GII/4 has been the most highly prevalent genotype in humans worldwide during the past decade (Buesa et al., 2008; Bull et al., 2006; Hansman et al., 2004; Khamrin et al., 2007; Malasao et al., 2008; Motomura et al., 2008; Reuter et al., 2008; Tu et al., 2007).

Recently, large outbreaks of NoV have occurred in various epidemiological settings in Japan and the main causative agent was the NoV GII/4 genotype (Morioka et al., 2006; Motomura et al., 2008; Okada et al., 2007; Sasaki et al., 2006). When patients are diagnosed with severe diarrhea, rapid virus identification is essential to ensure administration of the appropriate treatment and control. For this reason, a rapid and sensitive diagnostic tool, such as the immunochromatography (IC) test, is required for NoV detection.

Most recently, two reports on the evaluation of IC test (IP-Noro; Immuno Probe Co., Ltd., Saitama, Japan) for rapid detection of NoV directly from stool samples collected in Japan and Vietnam demonstrated the sensitivity, specificity, and overall agreement of the tests at 78.9% and 73.7%, 96.4% and 100%, 92.4% and 95.2%, respectively (Khamrin et al., 2008; Nguyen et al., 2007). However, that commercial IC test was developed by using specific antibodies against NoV GII/3 and GII/4, which previously showed broad reactivity with several NoV VLP genotypes (Shiota et al., 2007). In this report, we have evaluated the efficacy of the newly developed IC kit (Morinaga Milk

* Corresponding author at: Aino Health Science Center, Aino University, 4F, 2-17-3 Shibuya, Shibuya-ku, Tokyo 150-0002, Japan. Tel.: +81 3 3486 8481; fax: +81 3 3486 8481.

E-mail address: ushijima-hiroshi@com.home.ne.jp (H. Ushijima).

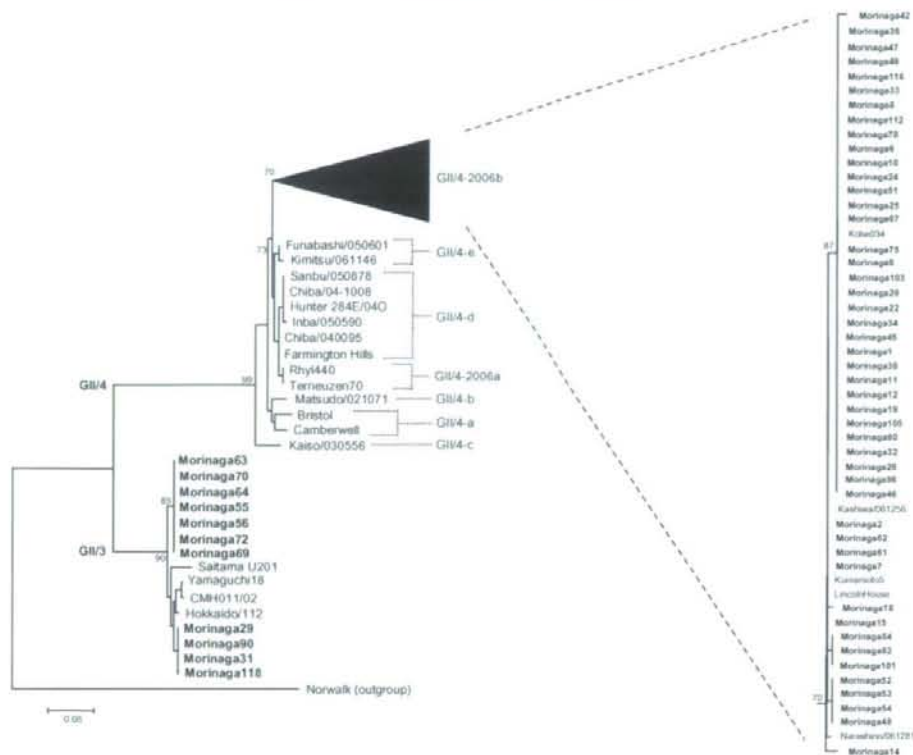


Fig. 1. Phylogenetic analysis of partial capsid sequences of NoV detected in Japan during December 2007 to January 2008. The tree was constructed on the basis of the neighbor-joining method using the MEGA 4 software package, and the numbers on each branch indicate the bootstrap values. The NoV strains detected in the present study are presented in boldface.

Industry Co., LTD.) which was developed for broad detection of several NoV genotypes including GI/1, GI/11, GI/2, GI/3, GI/4, GI/5, and GI/6.

A total of 75 fecal specimens were tested for rapid detection of NoV by the IC kit. All of these samples were collected from children who suffered from acute gastroenteritis in Shizuoka and Kyoto, Japan. The study period was during the peak season for NoV, winter, from December 2007 to January 2008. To evaluate the sensitivity and specificity of the IC test kit, all 75 fecal samples were tested. This IC test was performed according to the manufacturer's directions. Briefly, 10–20% of stool samples were prepared in tubes containing buffer. Then, stool suspensions were mixed by vortexing for 2 min and centrifuging at 3000 × g for 10 min. This was followed by adding the strip test into the tube which contained the stool mixture. It took only 15 min to obtain the result of the assay.

Table 1
 Comparison of NoV detection in stool samples between the newly developed IC kit and the RT-PCR method.

		RT-PCR		Total (%)
		Positive	Negative	
IC	Positive	46	0	46 (61.3)
	Negative	15	14	29 (38.7)
	Total (%)	61 (81.3)	14 (18.7)	75 (100)

For the IC strip test, latex conjugated rabbit polyclonal antibodies against NoV GI/1, GI/11, GI/2, GI/3, GI/4, GI/5, and GI/6 genotypes were coated at the conjugate pad. The test line was also coated with immobilized polyclonal antibodies against NoV GI/1, GI/11, GI/2, GI/3, GI/4, GI/5, and GI/6 genotypes, while the control line was coded with anti-rabbit immunoglobulin.

For the reference test, the RNA genome of NoV was first extracted from 10% to 20% fecal supernatant using the QIAamp viral RNA Mini Kit (Qiagen, Germany). The presence of the NoV in fecal specimens was confirmed by RT-PCR using the protocol described previously (Yan et al., 2003). A forward primer, G1-SKF (nt 5342–5261) 5'-CTGCCCGAATTGTAAATGA-3', was used in combination with the reverse primer G1-SKR (nt 5653–5671) 5'-CCAACCCARCCATRTTACA-3' for the amplification of NoV GI. For NoV GI/1 identification, a forward primer, COG2F (nt 5003–5028) 5'-CARGARBCNATGTTYAGRTGGATGAG-3', was used in combination with the reverse primer G2-SKR (nt 5367–5389) 5'-CCRCNCGATRHCCRTTRTACAT-3'. All of the NoV positive samples were analyzed further for their genotypes by nucleotide sequence and phylogenetic analyses.

For NoV sequence and phylogenetic analysis, the PCR products were purified with a Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Madison, WI) and sequenced using the BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Perkin Elmer-Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA) on an automated sequencer (ABI 3100; Perkin Elmer-Applied Biosystems, Inc.). The primers used for amplification

of the partial capsid genes were also used as sequencing primers. The sequences obtained were compared with those of NoV strains deposited in the GenBank using BLAST searches. The genotypes of NoV were classified using the phylogenetic clustering methods determined previously by Kageyama et al. (2004).

To evaluate sensitivity, specificity, and overall agreement of this newly developed IC kit, a panel of 75 stool samples was tested and the results were compared with those of the RT-PCR gold standard method and sequence analysis. As shown in Table 1, 46 out of 75 (61.3%) samples were positive for NoV by this IC kit, while the RT-PCR standard method showed NoV detection rate of 81.3%; 61 out of 75 samples were positive for NoV. This result indicated 75.4% sensitivity for the IC assay. No false positive for NoV detection was observed for this IC test. Fourteen samples that tested negative for NoV by RT-PCR were also negative by this IC kit, resulting in a specificity of 100%. In addition, by comparing this IC assay and the RT-PCR method, the total agreement of this newly developed IC kit was 80%.

For NoV detection by RT-PCR screening method, a total of 75 fecal specimens were tested and 61 (81.3%) were positive for NoV. Of these, all positive samples were identified as NoV GII genogroup, and only 2 genotypes, GII/3 and GII/4, were identified by sequence and phylogenetic analyses. Fig. 1 shows the phylogenetic analysis of partial NoV capsid sequences detected in this study. It was observed that GII/4 was the most predominant genotype and accounted for the majority (48 out of 61; 78.7%) of NoV detected.

Interestingly, all the NoV GII/4 analyzed in this study belonged to a new variant GII/4 2006b subtype, which differs from NoV subtypes GII/4-a-e, and from 2006a (Okada et al., 2007; Siebenga et al., 2008; Tu et al., 2008). All of the NoV GII/4 strains detected in this study were clustered together in the same branch and showed a close genetic lineage with the NoV 2006b reference strains recently circulating in Japan (Kobe034, Kashiwa/061256, Kumamoto5, and Narashino/061281). NoV GII/3 was detected at a lower prevalence in 11 of 61 samples (18.0%), while genotypes of NoV in 2 samples could not be identified because of insufficient stool samples.

In recent years, molecular techniques have revolutionized the diagnosis of NoV and led to the recognition that NoV is one of the major viruses responsible for non-bacterial gastroenteritis in humans of all age groups (Clark and McKendrick, 2004; Wilhelm et al., 2003; Green, 2007). The conventional diagnostic methods to detect and identify NoV in stool samples (RT-PCR and sequence analysis) require experience, specialized laboratory equipment, and time. Therefore, a rapid, sensitive, and simple diagnostic tool, such as the IC test, is required, especially during an outbreak of NoV. The advantages of the IC assay are cost effectiveness, speed (15–20 min), and ease of use at the bedside without special laboratory equipment.

Recently, the sensitivity and specificity of the IC assay for detection of NoV in stool samples (IP-Noro; Immuno Probe Co., Ltd., Japan) have been evaluated (Khamrin et al., 2008; Nguyen et al., 2007). Those reports demonstrate that the sensitivity and specificity of the IP-Noro strip test ranged from 73.7% to 78.9% and 96.4% to 100%, respectively. Compared with this newly developed IC kit, the sensitivity and specificity are in good agreement with those previously reported (sensitivity: 75.4% and specificity: 100%). Moreover, this new IC kit was developed for the detection of several NoV genotypes using antibodies against NoV GI/1, GI/11, GII/2, GII/3, GII/4, GII/5, and GII/6 genotypes in the IC strip test.

Several NoV-VLP genotypes were used to test this IC kit to determine reactivity with NoV genotypes. It was found that this IC kit could detect other NoV genotypes of GI/1, GI/11, GII/2, GII/3, GII/4, GII/5, and GII/6 VLPs (data not shown). However, to clarify this point, additional testing with several other NoV genotypes from clinical samples is essential. The limitation of this study is that only a small number of negative samples were included. There

were only 14 negative samples, which could affect the specificity test.

The data from phylogenetic analysis clearly demonstrate that this new IC assay can detect the new NoV variant GII/4 2006b strains which have recently begun circulating in Japan. Therefore, this study demonstrates that the new IC kit can be used as an alternative method for detecting NoV in fecal specimens and may be practical for NoV screening during outbreaks of viral gastroenteritis.

Acknowledgements

This research was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research under the JSPS Postdoctoral Fellowships and by Grants-in-Aid from the Ministry of Education and Sciences and the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan.

References

- Buesa, J., Montava, R., Abu-Mallouh, R., Fos, M., Ribes, J.M., Bartolomé, R., Vana-clocha, H., Torner, N., Domínguez, A., 2008. Sequential evolution of genotype GI.4 norovirus variants causing gastroenteritis outbreaks from 2001 to 2006 in Eastern Spain. *J. Med. Virol.* 80, 1288–1295.
- Bull, R.A., Tu, E.T., McIver, C.J., Rawlinson, W.D., White, P.A., 2006. Emergence of a new norovirus genotype II.4 variant associated with global outbreaks of gastroenteritis. *J. Clin. Microbiol.* 44, 327–333.
- Clark, B., McKendrick, M.A., 2004. Review of viral gastroenteritis. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 17, 461–469.
- Green, K.V., 2007. The noroviruses. In: Knipe, D.M., Howley, P.M. (Eds.), *Fields Virology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, pp. 949–979.
- Hansman, G.S., Katayama, K., Maneekarn, N., Peerakorn, S., Khamrin, P., Tonusin, S., Okitsu, S., Nishio, D., Takeda, N., Ushijima, H., 2004. Genetic diversity of norovirus and sapovirus in hospitalized infants with sporadic cases of acute gastroenteritis in Chiang Mai, Thailand. *J. Clin. Microbiol.* 42, 1305–1307.
- Kageyama, T., Shinohara, M., Uchida, K., Fukushi, S., Hoshino, F.B., Kojima, S., Takai, R., Oka, T., Takeda, N., Katayama, K., 2004. Coexistence of multiple genotypes, including newly identified genotypes, in outbreaks of gastroenteritis due to Norovirus in Japan. *J. Clin. Microbiol.* 42, 2988–2995.
- Khamrin, P., Maneekarn, N., Peerakorn, S., Tonusin, S., Malasao, R., Mizuguchi, M., Okitsu, S., Ushijima, H., 2007. Genetic diversity of noroviruses and sapoviruses in children hospitalized with acute gastroenteritis in Chiang Mai, Thailand. *J. Med. Virol.* 79, 1921–1926.
- Khamrin, P., Nguyen, T.A., Phan, T.G., Satou, K., Masuoka, Y., Okitsu, S., Maneekarn, N., Nishio, D., Ushijima, H., 2008. Evaluation of immunochromatography and commercial enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection of norovirus antigen in stool samples. *J. Virol. Methods* 147, 360–363.
- Malasao, R., Maneekarn, N., Khamrin, P., Pantip, C., Tonusin, S., Ushijima, H., Peerakorn, S., 2008. Genetic diversity of norovirus, sapovirus, and astrovirus isolated from children hospitalized with acute gastroenteritis in Chiang Mai, Thailand. *J. Med. Virol.* 80, 1749–1755.
- Morioka, S., Sakata, T., Tamaki, A., Shioji, T., Funaki, A., Yamamoto, Y., Naka, H., Terasoma, F., Imai, K., Matsuo, K., 2006. A food-borne norovirus outbreak at a primary school in Wakayama Prefecture. *Jpn. J. Infect. Dis.* 59, 205–207.
- Motomura, K., Oka, T., Yokoyama, M., Nakamura, H., Mori, H., Ode, H., Hansman, G.S., Katayama, K., Kanda, T., Tanaka, T., Takeda, N., Sato, H., The Norovirus Surveillance Group of Japan, 2008. Identification of monomorphic and divergent haplotypes in 2006/2007 Norovirus GII.4 epidemic population by genome-wide tracing of evolutionary history. *J. Virol.* 82, 11247–11262.
- Nguyen, T.A., Khamrin, P., Takamashi, S., Le Hoang, P., Le Pham, D., Hoang, K.T., Satou, K., Masuoka, Y., Okitsu, S., Ushijima, H., 2007. Evaluation of immunochromatography tests for detection of rotavirus and norovirus among Vietnamese children with acute gastroenteritis and the emergence of a novel norovirus GII.4 variant. *J. Trop. Pediatr.* 53, 264–269.
- Okada, M., Ogawa, T., Yoshizumi, H., Kubonoya, H., Shinozaki, K., 2007. Genetic variation of the norovirus GI.4 genotype associated with a large number of outbreaks in Chiba prefecture, Japan. *Arch. Virol.* 152, 2249–2252.
- Reuter, G., Pankovics, P., Szucs, G., 2008. Genetic drift of norovirus genotype GI.4 in seven consecutive epidemic seasons in Hungary. *J. Clin. Virol.* 42, 135–140.
- Sasaki, Y., Kai, A., Hayashi, Y., Shinkai, T., Noguchi, Y., Hasegawa, M., Sadamasu, K., Mori, K., Tabei, Y., Nagashima, M., Morozumi, S., Yamamoto, T., 2006. Multiple viral infections and genomic divergence among noroviruses during an outbreak of acute gastroenteritis. *J. Clin. Microbiol.* 44, 790–797.
- Shiota, T., Okame, M., Takamashi, S., Khamrin, P., Takagi, M., Satou, K., Masuoka, Y., Yagyu, F., Shimizu, Y., Kohno, H., Mizuguchi, M., Okitsu, S., Ushijima, H., 2007. Characterization of a broadly reactive monoclonal antibody against norovirus genogroups I and II: recognition of a novel conformational epitope. *J. Virol.* 81, 12298–12306.
- Siebenga, J., Kroneman, A., Vennema, H., Duizer, E., Koopmans, M., Food-borne Viruses in Europe Network, 2008. Food-borne viruses in Europe network report: the norovirus GII.4 2006b (for US named Minerva-like, for Japan Kobe034-like,

- for UK V6) variant now dominant in early seasonal surveillance. *Euro. Surveill.* 13, 1–4.
- Tu, E.T., Bull, R.A., Greening, G.E., Hewitt, J., Lyon, M.J., Marshall, J.A., McIver, C.J., Rawlinson, W.D., White, P.A., 2008. Epidemics of gastroenteritis during 2006 were associated with the spread of norovirus GII.4 variants 2006a and 2006b. *Clin. Infect. Dis.* 46, 413–420.
- Tu, E.T., Nguyen, T., Lee, P., Bull, R.A., Musto, J., Hansman, G., White, P.A., Rawlinson, W.D., McIver, C.J., 2007. Norovirus GII.4 strains and outbreaks, Australia. *Emerg. Infect. Dis.* 13, 1128–1130.
- Wilhelmi, I., Roman, E., Sánchez-Fauquier, A., 2003. Viruses causing gastroenteritis. *Clin. Microbiol. Infect.* 9, 247–262.
- Yan, H., Yagyu, F., Okitsu, S., Nishio, O., Ushijima, H., 2003. Detection of norovirus (GI, GII). Sapovirus and astrovirus in fecal samples using reverse transcription single-round multiplex PCR. *J. Virol. Methods* 114, 37–44.
- Zheng, D.P., Ando, T., Fankhauser, R.L., Beard, R.S., Glass, R.I., Monroe, S.S., 2006. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology* 346, 312–323.

【性感染症への対応と治療 7】

梅毒

谷口 晴記*

田中 浩彦

伊藤 譲子

吉田 佳代

朝倉 徹夫

はじめに

歴史的には、梅毒の伝播は1493年にコロンブスがアメリカ大陸から持ち帰ってから始まったという一方で、コロンブス以前からすでにスペインやフランスに伝播していたという説もある。いずれにせよ以後ヨーロッパから世界中に蔓延し、モーツァルト、ベートーベンやシューベルトも罹患していたといわれる¹⁾。1940年代にペニシリンによる治療が奏効して以来、梅毒の発生は激減した。しかし各国で幾度かの再流行がみられている。近年、HIVの出現により、同じ性行為感染症である梅毒は改めて注目されている。WHOは1999年に全世界で1,200万人の新規梅毒患者の発生を予測しており、その90%以上が開発途上国であるとしている²⁾。日本では1980年代に一時増加がみられたもののその後報告が減少していたが、感染症法の下での感染症発生動向調査によると2007年には、714名の届け出があり再び増加の傾向にあるといえる(図1)。

病原体

梅毒はスピロヘータ属の1つである *Treponema pallidum* による感染症である。性行為あるいは類似行為によって感染する性感染症の疾患である。

1998年に *Treponema pallidum* の全ゲノムが解析された³⁾。感染力は硬性下疳や扁平コンジローマのような菌を排出する活動性病変のみられる時期に高く、次第に低下する。血清診断法の進歩により輸血による感染はほとんど報告がないが、新鮮血の輸血の場合は感染の可能性はある。活動期には針刺し事故で感染する可能性がある。梅毒感染妊婦では、経胎盤的に胎児に感染し先天梅毒を起こす。

症状

梅毒は初期感染からの時期によりおおむね4期に分けられる。

第1期梅毒：梅毒は一般に *Treponema pallidum* の進入した局所に、約3週間の潜伏期間を経て初期硬結とよばれる丘疹を生じ急速に潰瘍を形成する。これを硬性下疳と呼ぶが、痛みに乏しく無治療でも数週間で軽快してしまうことがあり自覚されない場合がある。ことに女性や男性同性愛者ではその初発部位が陰内や直腸にある場合、見過ごされることが多い。硬い局所のリンパ節腫脹(無痛性横痃)がみられることがある。

第2期梅毒：硬性下疳の出現から2から8週間を経て第2期梅毒の症状が出現する。 *Treponema pallidum* が血流にのり全身に広がる時期である。最も一般的な症状は皮膚に出現する。パラ疹、丘疹性梅毒、膿疱性梅毒、梅毒性乾癬、扁平コンジローマ、梅毒性アンギーナ、爪梅毒、梅毒性脱毛症などの多彩な像を呈する。また発熱、倦怠感の

* たにぐちはるき、たなかひろひこ、いとうまさこ、よしだかよ、あさくらてつお：三重県立総合医療センター産婦人科 (〒510-8561 三重県四日市市大字日永5450-132)

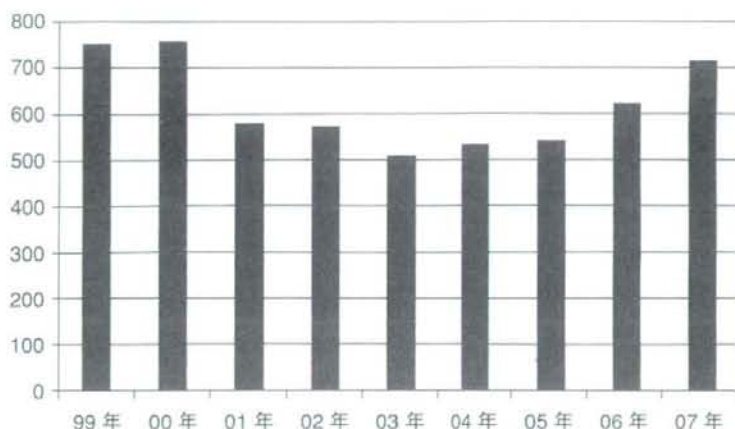


図1 梅毒患者届け出数の推移
(資料：厚生労働省「感染動向調査」より)

全身症状や頭痛、脳神経障害など中枢神経症状も出現することがある。

第3期梅毒：感染後3年以上を経過して、ゴム種、結節性梅毒疹がみられる。ゴム種は深部皮下組織、骨、筋肉リンパ節に発生し深い潰瘍をつくる。結節性梅毒疹は主に顔面にみられ癒合・瘢痕化する。現在ではほとんどみられない。

第4期梅毒：心臓血管系や中枢神経系が侵され大動脈炎、大動脈瘤、脊髓癆、進行麻痺がみられる。第4期梅毒も現在ではほとんどみられない。

一方、梅毒に感染していても症状がないものを潜伏梅毒、あるいは無症候性梅毒という。梅毒血清反応陽性のものをいう。初感染後まったく症状を呈しないものや、第1期から第2期への移行期、第2期の発疹消退期や陈旧性梅毒のことがある。

先天性梅毒

梅毒に感染した母親から経胎盤的に *Treponema pallidum* に胎児が感染するものをいう。以前は胎盤が完成する妊娠5か月以降に感染が起こるとされていたが、妊娠初期の感染も報告されている。第1期、第2期梅毒は感染力が強いので、未治療の場合、正常児は20%程度で、流産や子宮内胎児死亡は40%、先天梅毒は40%にみられる⁴⁾。厚生労働省の感染動向調査によれば0から4歳までの期間に、毎年数名の報告がある。社会情勢

の変化により、飛び込み分娩 (= 未検査妊婦の分娩) も増加の兆しがあるので注意が必要である。

HIVとの合併

HIV感染症と梅毒はともに性行為で感染する疾患であるので、両疾患が合併することは多い。HIV感染症と合併した梅毒は、非合併例と比較して、臨床症状が非典型的であることが多い⁵⁾。本邦でも、発熱や痒いそりを伴い皮膚症状が悪化するHIV感染と合併した悪性梅毒の報告がみられる⁶⁾。

診断

確定診断の基本は病原体の分離・検出である。1期や2期の病巣部の滲出液をパーカーインクで染色して顕微鏡観察を行い *Treponema pallidum* を確認する方法である。実地臨床では皮膚症状と血清診断の組み合わせで行われることが多い。血清反応は抗原の種類により大きく2種類に分けられる。1つはリン脂質のカルジオリピンを抗原とするSTS (serologic test for syphilis) 法である。カルジオリピンはウシの心臓から抽出され、梅毒抗体と反応する。ガラス板法、RPR (rapid plasma reagin card test) 法、梅毒凝集法、緒方法などがこの方法に当たる。STS法は *Treponema pallidum* を直接の抗原としていないため、梅毒に感

表1 梅毒血清反応検査の結果の解釈

STS	TPHA	判定
1 陰性	陰性	梅毒感染なし 梅毒感染間もないもの ごく早期に梅毒を治療したもの
2 陽性	陰性	梅毒感染初期 生物学的偽陽性
3 陰性	陽性	梅毒治療後長期間経過したもの 梅毒感染後長期間経過したもの
4 陽性	陽性	梅毒感染例 梅毒治療後間もないもの

(文献8より引用)

染していなくても、ときに陽性反応を示す生物学的偽陽性反応 (biological false positive : BFP) が生じることがあり、妊婦で経験することがある。もう一方は、*Treponema pallidum* を抗原として用いる方法で、菌体成分による感作血球を用いる間接赤血球凝集反応であるTPHA (*Treponema pallidum* hemagglutination) 法と、菌体成分を吸着したラテックスと抗*Treponema pallidum*抗体を反応させるFTA-ABS (fluorescent treponemal antibody-absorption) 法などがある。抗梅毒抗体価は感染後3～4週間の抗体陰性期を経て、まずSTSが陽性になる。TPHAはSTSが陽性になってから2～3週間遅れて陽性となる⁷⁾。判定上の注意として第1期梅毒の初期(感染後2～3週間)には抗体陰性期(STS陰性、TPHA陰性)がある。また、第1期梅毒では、STS陽性、TPHA陰性のこともありBFPと誤診するおそれがある。

実際の臨床の場では表1に示す表にしたがって診断・治療を行うが、ときに判定に迷う場合がある。梅毒は液性免疫が成立する感染症であるので、初感染後約1週間で*Treponema pallidum* に対するIgM抗体が産生され約1か月でピークに達し、そのころからIgG抗体が出現し3か月ごろにピークになる。治療が奏効すれば第1期梅毒で6か月以内に、第2期梅毒でも2年以内にIgM抗体が消失しIgG抗体が長期間存続する⁸⁾。IgM-FTA-ABSやIgG-FTA-ABSを組み合わせることで、より正確な早期診断や治療判定が可能である。

治療

治療の基本はペニシリンの使用である。ペニシリンは*Treponema pallidum*の細胞壁の合成阻害により殺菌的に作用し、いまだ耐性の報告もないので第一選択薬剤として用いられている。日本での抗生物質の使用は保険適用可否かで厳密に制限されている。そのため日本性感染症学会のガイドライン⁹⁾ではすべて保険適用の薬剤が以下のように推奨されている。「経口合成ペニシリン剤(AMPC, ABPC)を1日500 mg×3を内服させる。ペニシリンアレルギーの場合は塩酸ミノサイクリン(ミノマイシン[®])を1日100 mg×2、ただし妊婦の場合にはアセチルスピラマイシン(アセチルスピラマイシン[®])を1日200 mg×6を内服する。投与期間は、第1期は2～4週間、第2期は4～8週間、第3期以降は8～12週間を必要とする。神経梅毒では、ベンジルペニシリンカルシウム(結晶ペニシリンGカリウム[®])を1日200～400万単位×6を点滴静注で10日から2週間投与する。先天梅毒の治療もベンジルペニシリンカルシウム(結晶ペニシリンGカリウム[®])の点滴静注を行う。」治療を開始後数時間で*Treponema pallidum*が破壊されるため発熱などの反応がみられることがあり、これをJarisch Herxheimer反応と呼ぶが、事前に患者に説明しておくことが望ましいとされる。治療効果の判定は必要かつ十分な量の抗生物質をはじめに投与し、STS法で抗体価を1か月ごとに検査し、抗体価の上昇がなく低値で安定しているのが確認できれば治癒と考える。

外国では、CDCのガイドライン¹⁰⁾で推奨されているベンザチンペニシリン(日本では未発売)は早期であれば240万単位1回の筋肉注射ですむ。その他の治療法としてアジスロマイシン(ジスロマック[®])2 gの経口単回投与が、ベンザチンペニシリンの単回投与と同等の効果があるとの報告がなされ、低開発国での治療に期待が持たれている¹¹⁾。

おわりに

梅毒は過去の病気ではなくわが国でも増加の傾向

に転じてきた。梅毒患者はHIVに感染しやすいと同時に、HIV感染者には梅毒が多くみられる。先進国のなかで唯一HIV感染者が増加している現状から、梅毒などの性行為感染症を診断した場合、患者にHIV抗体検査を勧めるべきである。

文 献

- 1) Franzen C : Syphilis in composers and musicians - Mozart, Beethoven, Paganini, Schubert, Schumann, Smetana. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008 Jul 1. [Epub ahead of print]
- 2) Gerbase AC, Rowley JT, Mertens TE : Global epidemiology of sexually transmitted diseases. *Lancet* 351(Suppl 3) : 2-4, 1998
- 3) Fraser CM, Norris SJ, Weinstock GM, et al : Complete genome sequence of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete. *Science* 281(5375) : 375-388, 1998
- 4) Mascola L, Pelosi R, Alexander CE, et al : Inadequate treatment of syphilis in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 150 : 945-947, 1984
- 5) 柳澤如樹, 味澤 篤 : 現代の梅毒. *モダンメディア* 54 : 42-49, 2008
- 6) 片田桐子, 嶋田八恵, 割田昌司, 他 : HIV感染者に生じた悪性梅毒の1例. *臨床* 58 : 519-521, 2004
- 7) 大里和久 : 蔓延するSTDの現況と治療的戦略 梅毒. *産婦実務* 52 : 2133-2141, 2003
- 8) 濱松 優 : 梅毒血清反応. *Medicina* 42(suppl) : 398-401, 2005
- 9) 日本性感染症学会(編) : 性感染症診断・治療ガイドライン2006. *日本性感染症学会誌* 17(suppl), 2006
- 10) Workowski KA, Berman SM : Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 55(RR-11) : 1-94, 2006
- 11) Riedner G, Rusizoka M, Todd J, et al : Single-dose azithromycin versus penicillin G benzathine for the treatment of early syphilis. *N Engl J M* 353 : 1236-1244, 2005

特 論

性感染症と母子感染

三井真理 塚原優己

STD and mother to child transmission

Mari Mitsui, Yuki Tsukahara

Department of Perinatal Medicine and Maternal Care,
National Center for Child Health and Development

Abstract

Sexually transmitted disease (STD) is the disease that is spread by sexual contact, including chlamydial infection, gonorrhea, genital warts, herpes, syphilis, and infection with human immunodeficiency virus (HIV). STDs are the most common contagious diseases among young people in Japan.

People with an STD may not have any symptoms and may not know they have it. Even if there are no symptoms, their health can be affected. Advanced STDs can cause severe damage to body. Often, symptoms occur only if the disease becomes more advanced. Untreated chlamydia or gonorrhea can cause pelvic inflammatory disease (PID) in women. PID is an infection of the uterus, fallopian tubes, and ovaries. It can cause infertility and ectopic pregnancy. If patient who has STD is pregnant, it can cause abortion, premature delivery and intrauterine infection.

Key words: sexually transmitted disease (STD), mother to child transmission, screening test

はじめに

性行為感染症 (sexually transmitted disease: STD) は、性行為によって感染するすべての感染症を示す。進行すると骨盤腹膜炎や不妊症・子宮外妊娠などを併発することもあり、また妊娠中に罹患した場合は流産や子宮内感染の原因となることもある。

性感染症には表1に示すような疾患があげられる。今日では妊娠初期でのスクリーニング項目に性感染症も含まれている。

本稿では妊娠中に特に注意すべき性感染症について述べる。表1の疾患のうち太字で示してあるものについては、日本産科婦人科学会より検査を推奨あるいは考慮すべきであるとされている。

1. 性器クラミジア感染症

a. 疫 学

10-20歳代に多く、我が国の性感染症の中で最も多い。クラミジア・トラコマチスが子宮頸管に感染して1-3週間で発症する。約70%が

表1 妊娠初期のスクリーニング項目

ウイルス
単純ヘルペスウイルス(性器ヘルペス)
ヒト乳頭腫ウイルス(尖圭コンジローマ, 子宮頸癌)
B型肝炎
C型肝炎
ヒト免疫不全ウイルス感染症(HIV/AIDS)
成人T細胞白血病(HTLV-1)
サイトメガロウイルス感染症
伝染性軟属腫
細菌
梅毒
性器クラミジア感染症(鼠径リンパ肉芽腫症)
淋病(淋菌感染症)
軟性下疳
寄生虫, 原虫
トリコモナス原虫による感染症
毛じらみ症
疥癬, 白癬

無症状のまま経過する。妊婦のクラミジア感染率は約4%で、なかでも未婚妊婦の感染率が突出して高く、10歳代では25.1%、20-24歳は19%、25-29歳は9.6%である。全年齢でも未婚妊婦は13.6%と高い。

b. 症 状

感染しても無症状で経過することが多い。自覚症状は乏しく、帯下の増量や不正出血を伴う軽い下腹部痛があり、進行すると腔から子宮内へ上行し、子宮内の炎症を起こし、不妊や子宮外妊娠、妊娠中の場合は絨毛膜羊膜炎を惹起し、流早産の原因にもなる。新生児に感染すると結膜炎や肺炎を起こすことがある。

c. 検 査

子宮頸管の分泌物や擦過検体を用いて核酸増幅法、核酸検出法、EIA法、分離同定法などを行い診断する。血清学的診断では、クラミジアIgG抗体(既往感染の有無)、クラミジアIgA抗体(活動性感染の有無)、クラミジアIgM抗体(新生児感染の判定に有用)を測定する。治療確認は抗原検査で行い、偽陽性・偽陰性を避けるために、治療終了後少なくとも3週間あけて検査することが推奨されている¹⁾。

d. 治 療

妊娠女性である場合、クラミジア陽性者は新

生児への感染を回避するために、分娩前に治療しておくことが望ましく(妊娠30週までに評価することが推奨されている)。アジスロマイシン(ジスロマック)1,000mg×1/day 1日間、クラリスロマイシン(クラリス)200mg×2/day 7日間など抗菌薬の内服治療が中心となる。

e. 新生児への影響

通常の経膈分娩であっても新生児へのクラミジア感染は3%程度とされている。出生後、新生児の咽頭、鼻腔の検査をすることが推奨されており、出産後の母児の隔離の必要はない。

分娩時にクラミジア感染が認められた場合、垂直感染をきたし、新生児結膜炎、新生児クラミジア肺炎を起こす。無治療の場合、18-50%の児が結膜炎、3-18%が肺炎に罹患する。結膜炎は生後5日目以降、肺炎は生後2カ月以降で発症することが多い。

産道感染による新生児クラミジア結膜炎、咽頭炎、肺炎などの新生児クラミジア感染症発症を未然に防ぐには、妊娠中に臨床症状が乏しいクラミジア頸管炎のスクリーニング検査を行い、陽性者は分娩前に治療しておくことが考慮される²⁾。

2. 性器ヘルペス

単純ヘルペスウイルス(herpes simplex virus: HSV)には1型と2型があり、およそ口唇ヘルペスは1型で性器ヘルペスは2型に分類される。

a. 症 状

感染すると、潜伏期(2-10日間)を経て口周囲や外陰部に水疱形成する。水疱はほどなく潰れ、潰瘍状になり色素沈着を呈し激しい痛みを伴う。また、患部近くの神経麻痺を起こす可能性があり、排尿障害や排便障害などの機能障害をきたすこともある。

b. 検 査

特有の水疱と浅い潰瘍で診断は容易である。不顕性感染の場合は血液検査で判断し、血清抗体測定(ELISA)によりIgG、IgMを測定する。

c. 診 断

病原診断により性器ヘルペスであることを確認し、抗体の測定により初感染か再発かを判断

することが一般的である。

初感染型…ヘルペスウイルスに対する抗体を保有しない

非初感染初発型…他の型のヘルペスウイルスに対する抗体を保有する

再発型…同型のウイルスに対する抗体をもつ

d. 治療

抗ヘルペス剤(商品名:バルトレックス・ゾピラックス)の内服と抗ヘルペス剤軟膏塗布の両方を行うことが多い。特に、妊娠中は体の免疫力が低下して再発しやすいことに注意を要する。

治療のポイントとして①分娩時期近くでの妊婦の感染を予防すること、②分娩中に児がウイルスに曝露するのを避けることがあげられる。

e. 新生児への影響

新生児に感染するのは性器に症状を認めるときであり、黄疸や脳炎を起こすこともあり、分娩直前まで治療しないときは帝王切開を選択する。出生時に新生児の耳・口・鼻などからのヘルペスウイルスの検査を行う。

分娩時に性器ヘルペスがあれば、妊婦の初感染では新生児感染が約50%に、再発で1-3%にみられる。胎内感染は5%で催奇形性はほとんど問題ない。

新生児に感染すれば、(1)全身型(1週間以内に発症して30%は死亡)、(2)中枢神経型(死亡率は低い)が2/3に神経の重篤な後遺症が残る)などがある。

全妊婦の0.5%前後が無症候性に産道にHSVを保有し、その5%から新生児ヘルペスが発症するとされている³⁾。

f. 分娩様式を選択

分娩時に外陰部病変を認める場合は選択的帝王切開とする。

初感染型の場合、我が国では分娩時に外陰部病変を認めなくとも発症より1カ月未満の場合は選択的帝王切開が勧められており、発症より1カ月以上の場合は経膈分娩が可能とされている。

また再発型または非初感染初発の症例におい

ては、発症より1週間未満の場合に選択的帝王切開とし、発症より1週間以上の場合は経膈分娩が可能とされている⁴⁾。

3. B型肝炎

a. 疫学

我が国における生殖年齢層でのHBs抗原陽性率は、19歳以下で0.23%、20-29歳で0.52%、30-39歳で0.84%である。HBVキャリア妊婦の頻度は約1.6%であり、HBe抗原陽性率は22.8%とされている。HBVキャリアでHBe抗原陽性妊婦では、未治療ではほぼ100%垂直感染し、85-90%の児がキャリア化する。HBVキャリア妊婦は妊娠中ほとんどが無症候性に経過するが、妊娠末期～産褥期に肝障害の急性発症や慢性肝炎の急性増悪を認めることがある。

b. 検査

妊娠初期にHBs抗原検査を行う。

HBs抗原陽性の場合、HBe抗原・肝機能検査を行い、HBs抗原検査・HBe抗原検査の結果については、陽性・陰性だけでなく判別がつかかねる結果(疑陽性)の場合、陽性と同等に扱って以後予防措置することが望ましい。

c. 治療

HBs抗原陽性の妊婦に対してHBe抗原検査を必ず行い、母子感染の危険度を的確に把握するとともに妊婦の健康管理を行う。肝硬変、肝癌の早期発見により適切な治療を行うため、定期的に医療機関に受診することが勧められている。

d. 新生児への影響

HBVキャリアでHBe抗原陰性妊婦では、10-15%に垂直感染するがキャリア化することはまれであるが、生後2-3カ月で急性肝炎や劇症肝炎を発症することがある。感染経路は経産道感染であるが、HBe抗原陽性妊婦では3.5%に経胎盤感染を認める。

母乳栄養児と人工栄養児のキャリア化に差はないとされており、授乳は制限をする必要がないが、乳首に明らかな傷・出血がある場合は治療するまで授乳は控える。出生児に対して'B型肝炎感染防止対策'を行う⁵⁾。

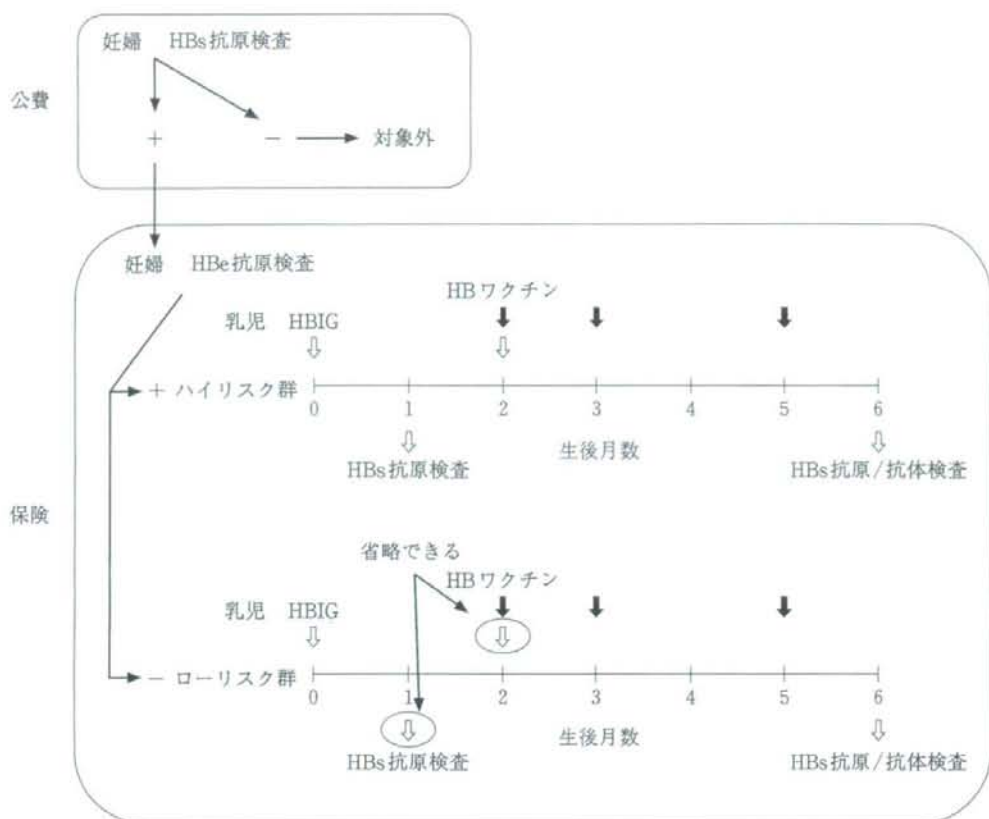


図1 B型肝炎母子感染防止対策プロトコール(文献⁶⁾より引用)

e. ワクチンの投与

児が感染・キャリア化しないためには、'B型肝炎感染防止対策'に従い最後まで治療することが大切である(図1)⁶⁾。

(1) 出生直後(できるだけ早く、遅くとも48時間以内)に抗HBsヒト免疫グロブリン(HBIG)1.0mLを児に筋肉注射を行う[0.5mLずつ大腿前外側または臀筋に筋注。ヒト血漿製剤であることを両親に伝え、同意を得る]。

(2) 生後1カ月、児のHBs抗原検査を行う。陽性の場合には胎内感染と診断する(HBe抗原陰性妊婦は省略できる)。

(3) 生後2カ月、HBIG 1.0mLを児に筋注(HBe抗原陰性妊婦は省略できる)。

(4) 生後2カ月、B型肝炎ワクチン(HBワクチン)0.25mLを児に皮下注射(HBIGと同時に投与可能)。

(5) 生後3カ月、HBワクチン0.25mLを児に皮下注射。

(6) 生後5カ月、HBワクチン0.25mLを児に皮下注射。

(7) 生後6カ月、児のHBs抗原検査・HBs抗体検査を行う。

注意：HBs抗原陽性となった場合、予防措置が成功しなかったと判断して以後のHBワクチンは投与しない。もしHBs抗体陰性もしくは低値の場合、HBs抗原陰性であればHBワクチンを追加接種して、約1カ月後にHBs抗体・抗原を検査する。

4. C型肝炎

a. 疫学

一般妊婦のHCV抗体陽性率は0.3-0.8%であり、その70%にHCV RNAが検出される。肝硬

変、肝癌への移行が最も高率であり長期予後は極めて悪い。血液が主な感染経路であり、かつては輸血による感染が多かったが、先進国では検査体制が確立したためほとんどみられない。現在は針刺し事故や覚醒剤注射の回し打ちなどによるものが主であるが、臓器移植によるものもみられる。

b. 検査

血清中の HCV RNA 検査を行う。

血清中の HCV RNA が「検出せず」であれば母子感染の心配はないとされている。「検出」の場合の母子感染率は約 10%とされている。

c. 治療

抗ウイルス療法インターフェロンを投与する。慢性肝炎ではインターフェロン単独投与とインターフェロン+リバビリン併用療法が原則的な治療法である。ほかに対症療法、肝庇護療法などがある。肝硬変、肝癌の早期発見により適切な治療を行うため、定期的に医療機関で受診することが勧められている。

d. 新生児への影響

血中 HCV RNA 量高値例において予定帝王切開は、経膣分娩・緊急帝王切開に比して HCV 母子感染率を明らかに低くする可能性があり、母子感染予防対策としてウイルス量が多ければ帝王切開も考慮する。授乳、妊婦の輸血歴、肝疾患歴、妊娠中の異常、HCV の genotype と母子感染率とは関連がないとされている。血清中の HCV RNA が検出されても、母子感染予防目的のために授乳を制限する必要はないとされている⁷⁾。

5. Human immunodeficiency virus (HIV) 感染症

HIV は非常に弱いウイルスであり、一般に普通の社会生活の中で感染する確立は極めて低い。全体の多くは性行為による感染で、注射器の使い回しによる感染、母子感染などが後に続く。一般に感染源となりうるだけのウイルスの濃度をもっている体液は血液・精液・膣分泌液・母乳である。

表 2 分娩様式別母子感染率

分娩様式	非感染	感染	感染率
選択的帝王切開	218	1	0.46%
緊急帝王切開	16	1	5.88%
経膣	22	6*(14)	21.43%
合計	256	8 (16)	3.03%

*児の異常による受診を契機に母親の HIV 感染と母子感染が判明した 8 例を除く。

(平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金(エイズ対策研究事業)「周産期・小児・生殖医療における HIV 感染対策に関する集学的研究」より抜粋)

a. 検査

スクリーニング検査陽性の場合、ウェスタンブロット法や RT-PCR 法により感染確認検査を行う。感染の機会があつてから 3 カ月以上経過した後であれば、採血による血液検査で HIV 特異抗体を検出し、感染の有無を確認することができる。確定診断として、血中のウイルス RNA を RT-PCR 法によって検出するウイルス DNA 検査も広く行われている。

b. 治療

逆転写酵素阻害剤 (NRTI)、非核酸系逆転写酵素阻害剤 (NNRTI)、プロテアーゼ阻害剤が開発され治療薬として使われている。それら治療薬による多剤併用療法 (highly active anti-retroviral therapy: HAART) が施行されている。

c. 新生児への影響

母子感染の経路として ① 出産時の産道感染、② 母乳の授乳による感染、③ 妊娠中の胎内感染がある。産道感染は子供が産まれてくる際、産道出血による血液を子供が浴びることで起こる。帝王切開を行い母親の血液を付着させない方法があり、効果を上げている。表 2 に平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金(エイズ対策研究事業)「周産期・小児・生殖医療における HIV 感染対策に関する集学的研究」班による分娩様式別母子感染率を示す。

母子感染の経路として母乳による感染が報告されており、HIV に感染した母親の母乳を与えることは危険とされている。この場合は子供に粉ミルクを与えることによって、感染を回避す

ることができる。母子感染を避ける方法として、妊娠中に母親がHAART療法により血中のウイルス量を下げ、子供に感染する確率を減らす方法がとられている。

我が国では、HIV感染妊婦には母子感染予防を目的に①妊娠中の抗HIV薬投与、②選択的帝王切開術、③人工栄養、④新生児に抗HIV薬予防投与のすべてを行うことが推奨されている⁸⁾。

6. 梅毒

a. 症状

感染後3週間ほどで性器に小さな硬いしこりができ、潰瘍を呈する。痛みがないために見過ごされやすく、感染後3カ月くらいで全身に湿疹を認め診断がつくことが多い。そのまま進行すると約3年後には全身に硬い腫瘍状の湿疹ができ、約10年後には心臓や血管、脳に障害をきたすこともある。

b. 検査

妊娠初期に血液検査で抗体を調べる。

c. 治療

早期に抗菌薬を使って治療すれば胎児への影響は予防することが可能である。妊娠中に診断されれば、抗生物質(ペニシリン)の投与が必要である。

d. 新生児への影響

梅毒に感染した母親から胎盤を経由して胎児に感染した場合、死産または早産となることがある。出産できた場合は生後数週あるいは学童期、思春期になって内臓、菌、皮膚、中枢神経などに様々な病変をきたすことがある。出生時に臍帯血の検査(IgM-TPHA)を行う。陰性であれば治療は必要ないが、陽性の場合にはペニシリンによる治療が必要である。

7. 尖圭コンジローマ

尖圭コンジローマは、ヒト乳頭腫ウイルス(human papilloma virus: HPV)の感染によって発症する。肛門・小陰唇・大陰唇・陰内・会陰部・大腿・まれに口唇・口腔内に、乳頭状・鶏冠状の疣贅(ゆうぜい)を形成する。良性の病変

で悪性化はないとされている。

a. 病因

尖圭コンジローマの主な原因ウイルスとなるのは、主にHPV6型と11型である。

b. 症状

一般に1-2カ月の潜伏期間を経て、陰部に先の尖った‘イボ’を形成してくる。自覚症状はなく、痛みもかゆみもない。しかし最初のイボを形成してから短期間で次々と新しいイボを形成し増殖していく。また治療しても他の部位への接触転移が多く、再発を繰り返すことが多い。

c. 検査

尖圭コンジローマは表皮や粘膜上皮の感染であるため、体内組織に移行することはなく、血液検査などは必要ない。

d. 治療

現在、薬剤治療と外科手術があり、一般に予後は良いが完治するまで長期間を要する。次々と再発を繰り返すので治療も根気が必要となってくる。女性の場合は症状がなくなり、細胞診による結果が陰性となれば完治と考えられる。

e. 新生児への影響

胎児への影響はない。分娩前に治療してコンジローマが消失していれば普通経陰分娩となる。出産後の母児の隔離の必要はない。

8. 子宮頸癌

HPVは性行為によって誰にでも感染する可能性があり、通常の性行為によって一般の人々に広く感染する。HPVは性活動が活発になる10歳代後半から20歳代の初交後数年以内に子宮頸部に感染し、多くは一過性のもので、自然に消滅するが、ハイリスク型HPV感染が持続した場合に子宮頸癌に進行することがわかってきている。

a. 疫学

子宮頸癌は、日本では女性性器癌の中で最も頻度が高く、年間約18,000人が罹患するといわれている。子宮頸癌合併頻度は上皮内癌が1.3/1,000人-4.7/1,000人、浸潤癌が1/2,200人、子宮頸癌患者の42-55人に1人は妊娠に合併するとされている。妊娠の子宮頸癌に対する影響

は明確にされていない⁹⁾。

b. 症 状

不正出血または性交時出血を認めることがあるが、一般的に初期の症状は乏しい。

c. 治療と予防

子宮腔部細胞診 IIIa 以上または HPV 陽性例に対しては定期的に細胞診を施行し、進行を認めた時点で治療の対象となる。組織診が微小浸潤癌の場合、組織診は上皮内癌までであるが、細胞診で浸潤癌を疑う所見がある場合、組織診が⁸⁾上皮内腺癌の場合は円錐切除の適応となる。妊娠継続した場合は定期的に細胞診を施行し、分娩 4-8 週後に再び細胞診、コルポスコピー、組織診などを施行する¹⁰⁾。

d. ワクチン

近年子宮頸癌の原因ウイルスである HPV ワクチンが開発され、諸外国では既に実用化されている。HPV に感染していない女性を対象にした大規模臨床試験では、80% 近い予防効果があったと報告されている。

9. 淋菌感染症

自覚症状は乏しく、黄色い膿のような帯下を認めることがある。

進行すると腔や子宮内に炎症を起こし、不妊症や子宮外妊娠の原因となることがある。また、妊娠中に感染した場合、流産、早産、子宮内胎児発育遅延を併発することがあり、産道感染をきたすと新生児結膜炎を併発する。抗菌薬など

の内服や注射で治療を行う。

10. 腔トリコモナス症

トリコモナス原虫の感染によって発症する。黄緑色の臭いの強い帯下が出て、性器に炎症が起こり、強いそう痒感を認める。進行すると子宮内や卵管に炎症が広がり、不妊や流産、早産の原因となることがある。抗トリコモナス薬や腔錠を服用すると、10日-2週間で治療可能とされている。

おわりに

性感染症は、性的接触により誰もが感染する可能性があり、生殖年齢にある男女を中心とした大きな健康問題の一つである。感染しても無症状であることが多く、進行した場合は不妊や子宮外妊娠など様々な合併症をもたらすことがあり、特に、生殖年齢にある女性が性感染症に罹患した場合には、母子感染による新生児への影響が懸念される。

性感染症の予防には、正しい知識とそれに基づく注意深い行動が重要であり、早期発見および早期治療により治癒、重症化の防止または感染の拡大防止が可能な疾患である。

特に妊娠女性に対しては妊娠初期に性感染症スクリーニングを施行することが推奨される。また性感染症罹患率を減少傾向へ導くため、正しい知識の普及と性感染症の予防対策を行うことが重要であると考えられる。

■ 文 献

- 1) Takushi M, et al: Management of invasive carcinoma of the uterine cervix associated with pregnancy : outcome of intentional delay in treatment. *Gynecol Oncol* 87: 185-189, 2002.
- 2) Centers for Disease Control and Prevention, Workowski KA, Berman SM: Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006. *MMWR Recomm Rep* 55(RR-11): 1-94, 2006.
- 3) ACOG educational bulletin. Viral hepatitis in pregnancy. Number 248, July 1998(replaces No.174, November 1992). American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet* 63 (2): 195-202, 1998.
- 4) ACOG Committee on Practice Bulletins: ACOG Practice Bulletin. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists. Number 81, May 2007. *Obstet Gynecol* 109: 1233-1248, 2007.
- 5) B型肝炎について(一般的な Q & A), 厚生労働省, 平成 18 年 3 月改訂.
- 6) 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課長: B型肝炎母子感染防止対策の周知徹底について. 雇児母発 2004; 第 0427002 号(III).

- 7) 稲葉憲之: 肝炎ウイルス. 産婦人科の実際 55: 1694-1700, 2006.
- 8) Perinatal human immunodeficiency virus testing. Provisional Committee on Pediatric AIDS. American Academy of Pediatrics. Pediatrics 95: 303-307, 1995.
- 9) Palle C, et al: Cervical intraepithelial neoplasia in pregnancy. Acta Obstet Gynecol Scand 79: 306-310, 2000.
- 10) Wright TC Jr, et al, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology: 2001 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia. Am J Obstet Gynecol 189: 295-304, 2003.