

- [39] Vidarsson G, Sigurdardottir ST, Gudnason T, Kjartansson S, Kristinsson KG, Ingolfsdottir G, et al. Isotype and opsonophagocytosis of pneumococcus type 6B antibodies elicited in infants and adults by an experimental pneumococcus type 6B-tetanus toxoid vaccine. *Infect Immun* 1998;66:2866–70.
- [40] Lortan LE, Kaniuk AS, Monteil MA. Relationship of in vitro phagocytosis of serotype 14 *Streptococcus pneumoniae* to specific class and IgG subclass antibody in healthy adults. *Clin Exp Immunol* 1993;91:54–7.
- [41] Puumalainen T, Ekstrom N, Zeta-Capeding R, Ollgren J, Jousimies K, Lucero M, et al. Functional antibodies elicited by an 11-valent diphtheria-tetanus toxoid-conjugated pneumococcal vaccine. *J Infect Dis* 2003;187:1704–8.
- [42] Wuorimaa TK, Dagan R, Bailleux F, Haikala R, Ekstrom N, Eskola J, et al. Functional activity of antibodies after immunization of Finnish and Israeli infants with an 11-valent conjugated pneumococcal vaccine. *Vaccine* 2005;23:5328–32.
- [43] Ekstrom N, et al. Functional antibodies elicited by two heptavalent pneumococcal conjugate vaccines in the Finnish Otitis Vaccine Trial. *Infect Immun* 2007;75:1794–800.

ORIGINAL ARTICLE

Hiroshi Watanabe · Norichika Asoh · Shinobu Kobayashi
Kiwao Watanabe · Kazunori Oishi
Weerayut Kositsakulchai · Tippaya Sanchai
Banyong Khantawa · Prasit Tharavichitkul
Thira Sirisanthana · Tsuyoshi Nagatake

Clinical and microbiological characteristics of community-acquired pneumonia among human immunodeficiency virus-infected patients in northern Thailand

Received: January 16, 2007 / Accepted: November 2, 2007

Abstract Human immunodeficiency virus (HIV) infections are prevalent in Thailand. However, the clinical and microbiological characteristics of community-acquired pneumonia (CAP) in such patients are not completely clear at present. In the present study, we analyzed the characteristics of CAP in 191 HIV-infected patients (192 episodes, 130 males and 61 females, mean age 32.9 years, range: 20–62) who had been admitted to Nakornping Hospital in northern Thailand between December 1996 and January 2002. The mean peripheral blood CD4 lymphocyte count was 68.5/mm³ (range: 0–791). The most common organisms detected in the blood of the subjects were as follows: *Penicillium marneffei*, 13, *Salmonella* spp., 5, *Cryptococcus neoformans*, 4, *Staphylococcus aureus*, 3, and *Rhodococcus equi*, 3, and the most common organisms detected in sputum included *Haemophilus influenzae*, 38, *P. marneffei*, 10, *Streptococcus pneumoniae*, 10, *R. equi*, 9, and *S. aureus*, 9. Life-threatening meningitis in 5 (cryptococcal in 3 and tuberculous in 2), pneumothorax in 2, and tuberculous lymphadenitis in 1 were also noted, resulting in 21 fatalities (10.9%). The mean peripheral blood CD4 lymphocyte count for cases in which the subject died was 74.8/mm³ (range: 0–340). Logistic regression analysis demonstrated that high age (odds ratio of over 40 years: 15.62) and *R. equi* infection (odds ratio:

8.14) are related to death of HIV-infected patients with CAP. The above findings indicate that various types of organisms, including mixed organisms, cause CAP in HIV-infected patients in northern Thailand, and high age and *R. equi* infection seem to be risk factors for death.

Key words Community-acquired pneumonia · AIDS · Thailand

Introduction

Pulmonary infections are common complications and a major cause of mortality in human immunodeficiency virus (HIV)-infected individuals.^{1–3} They significantly reduce the quality of life and longevity, and exert a great influence on the cost of medical care. In countries where the majority of the population have access to highly active antiretroviral therapy (HAART), a dramatic decrease in morbidity and mortality in HIV-infected persons has already been reported.^{4,5} However, Thailand has not yet achieved that status during the period of this study, although HAART procedures have recently been initiated.⁶ The proportion of HIV-infected patients continues to be high at present,⁷ and it has been reported that Thailand has an estimated number of people living with HIV/AIDS of approximately 600,000.⁶ Prophylaxis and the treatment of pulmonary infections complicating HIV-infected patients are very important in their overall management, but the clinical and microbiological characteristics of pulmonary infections among such patients have not been carefully evaluated in Thailand. The aim of the present clinical study was to investigate the state of community-acquired pneumonia (CAP) complicating HIV infections in Thailand.

Methods

All studies described herein were approved by the Human Ethics Review Boards of our institutions, and informed consent was obtained from each subject.

H. Watanabe · N. Asoh · S. Kobayashi · K. Watanabe · K. Oishi · T. Nagatake
Department of Internal Medicine, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Nagasaki, Japan

W. Kositsakulchai · T. Sanchai
Nakornping Hospital, Chiang Mai, Thailand

B. Khantawa · P. Tharavichitkul
Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

T. Sirisanthana
Research Institute for Health Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

H. Watanabe (✉)
Division of Infectious Diseases, Department of Infectious Medicine, Kurume University School of Medicine, 67 Asahi-machi, Kurume, Fukuoka 830-0011, Japan
Tel. +81 942 317549; Fax +81 942 317697
e-mail: hwata@med.kurume-u.ac.jp

Patients

This study was performed in HIV-infected patients who had been admitted to Nakornping Hospital, which is a major community hospital and the center of HIV-infected patients in northern Thailand, between December 1996 and January 2002. Community-acquired pneumonia was diagnosed by new abnormal shadow likely infiltration on a chest roentgenogram with at least two of the following clinical and laboratory findings: fever (temperature $>37.8^{\circ}\text{C}$), cough, the production of purulent sputum, dyspnea, and leukocytosis (WBC count $>10000/\mu\text{l}$). Although a few patients in this study had such chronic lower respiratory tract diseases as chronic bronchitis or bronchiectasis, most cases did not have such underlying diseases. Also, no cases in this study receive HAART. Patients were excluded from the study when the abnormal shadow on a chest roentgenogram was due to other causes such as congestive heart failure, pulmonary infarction or lung cancer.

Microbiological studies

On admission, two sets of blood cultures using BACTEC Plus Aerobic and BACTEC Myco/F lytic medium (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD, USA) were obtained, and when good-quality sputum, based on the criteria of Bartlett⁸ was available, acid-fast staining, Gram staining, and a sputum culture using blood agar and chocolate agar for bacteria, Sabouraud dextrose agar for fungi, and a Lowenstein-Jensen medium for mycobacterium were performed using standard methods.

Clinical study

Serum samples were collected on admission and/or subsequently, to determine the CD4 lymphocyte count⁹ and other laboratory tests. Cases with CAP were analyzed for differences in age, sex, microbiological results, treatment, clinical outcome, and complications.

Statistical analysis

Logistic regression analysis was performed by SYSTAT 10.2 (Hulinks, Tokyo, Japan).

Results

Patient characteristics

A total of 191 patients, including 130 males and 61 females, with a mean age of 32.9 years (range: 20–62), and a total of 192 episodes of CAP were enrolled in the present study. The mean peripheral blood CD4 lymphocyte count was $68.5/\text{mm}^3$ (range: 0–791).

Microbiological results

Although approximately 10% of patients already received antibiotics such as penicillin before admission, blood, and sputum culture were collected in most cases. The most common organisms detected in the blood of the subjects were as follows: *Penicillium marneffei*, 13, *Salmonella* spp., 5, *Cryptococcus neoformans*, 4, *Staphylococcus aureus*, 3 and *Rhodococcus equi*, 3, and the most common organisms detected in the sputum were as follows: *Haemophilus influenzae*, 38, *P. marneffei*, 10, *Streptococcus pneumoniae*, 10, *R. equi*, 9, and *S. aureus*, 9 (Table 1). No significant organism could be detected in the 161 episodes (83.9%) from blood cultures and the 115 episodes (59.9%) from sputum cultures.

Complications and clinical outcome

Life-threatening meningitis in 5 (cryptococcal in 3 and tuberculous in 2), pneumothorax in 2, and tuberculous lymphadenitis in 1 were noted. One hundred and fifty patients (78.1%) improved and could be discharged, 21 patients (10.9%) failed to improve (i.e., transfer, discharge against advice, escape), and 21 patients (10.9%) died. The mean peripheral blood CD4 lymphocyte count for cases of patients who died was $74.8/\text{mm}^3$ (range: 0–340) and the admission period was 1–52 (mean 12.0) days. The organisms isolated from cases of death were *H. influenzae* from the sputum, 5, *R. equi* from sputum, 3, *P. marneffei* from sputum, 3, *S. aureus* from sputum, 1, and sputum and blood, 1, *Klebsiella pneumoniae* from sputum, 2, *S. pneumoniae* from sputum, 1, and blood, 1, *Moraxella catarrhalis* from sputum, 1, and *Nocardia* spp. from sputum, 1.

Characteristics of CAP caused by various organisms

Community-acquired pneumonia caused by *H. influenzae* in 38, *P. marneffei* in 18, *S. pneumoniae* in 11, *R. equi* in 10, and *S. aureus* in 10 patients were compared (Table 2). The mean ages were almost similar. The ratio male to female in CAP caused by *S. pneumoniae* seemed to be lower, and mixed infections could occasionally be seen in each group (data not shown). The mean peripheral blood CD4 lymphocyte count for CAP caused by *R. equi* (7.9) was lower than those by other kinds of organisms, and the mortality rate of CAP caused by *R. equi* (30.0%) tended to be higher compared to other types of infections.

Statistical analysis concerning death

Some kinds of factors were compared between survivor and dead cases with CAP (Table 3). The mean CD4 and prevalence of septicemia seems to be similar between these two groups, but ratio male to female, high age, and *R. equi* infection appear to be higher in dead cases. Logistic regression analysis demonstrated that high age (odds ratio of over 40 years: 15.62) and *R. equi* infection (odds ratio: 8.14) are

Table 1. Pathogens isolated from blood and sputum from HIV-infected subjects with community-acquired pneumonia

Blood culture		Sputum culture	
<i>Penicillium marneffeii</i>	11	<i>Haemophilus influenzae</i>	27
<i>P. marneffeii</i> + <i>Rhodococcus equi</i>	1	<i>H. influenzae</i> + <i>Moraxella catarrhalis</i>	1
<i>P. marneffeii</i> + <i>Cryptococcus neoformans</i>	1	<i>H. influenzae</i> + <i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
<i>Salmonella</i> spp.	5	<i>H. influenzae</i> + <i>Staphylococcus aureus</i>	1
<i>Cryptococcus neoformans</i>	3	<i>Rhodococcus equi</i>	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	<i>R. equi</i> + <i>Salmonella enteritidis</i>	1
<i>Rhodococcus equi</i>	2	<i>R. equi</i> + <i>Escherichia coli</i>	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	<i>R. equi</i> + <i>Penicillium marneffeii</i>	1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	<i>Penicillium marneffeii</i>	4
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	<i>P. marneffeii</i> + <i>H. influenzae</i>	2
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1	<i>P. marneffeii</i> + <i>K. pneumoniae</i>	1
Negative	161 (83.9%)	<i>P. marneffeii</i> + <i>Cryptococcus neoformans</i>	1
		<i>P. marneffeii</i> + <i>H. influenzae</i> + <i>S. pneumoniae</i> + <i>K. pneumoniae</i>	1
		<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4
		<i>S. pneumoniae</i> + <i>H. influenzae</i>	1
		<i>S. pneumoniae</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
		<i>S. pneumoniae</i> + <i>H. influenzae</i> + <i>S. aureus</i>	1
		<i>S. pneumoniae</i> + <i>H. influenzae</i> + <i>S. aureus</i> + <i>K. pneumoniae</i>	1
		<i>Staphylococcus aureus</i>	6
		<i>Escherichia coli</i>	3
		<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2
		<i>M. tuberculosis</i> + <i>S. pneumoniae</i>	1
		<i>M. tuberculosis</i> + <i>H. influenzae</i>	1
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2
		<i>P. aeruginosa</i> + <i>M. catarrhalis</i>	1
		<i>Nocardia</i> spp.	2
		<i>Nocardia</i> spp.+ <i>H. influenzae</i>	1
		<i>Salmonella enteritidis</i>	1
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
		Negative	115 (59.9%)

Table 2. Comparison of characteristics among community-acquired pneumonia caused by various organisms

	<i>Haemophilus influenzae</i> (n = 38)	<i>Penicillium marneffeii</i> (n = 18)	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (n = 11)	<i>Rhodococcus equi</i> (n = 10)	<i>Staphylococcus aureus</i> (n = 10)
Age distribution, years (mean)	20–48 (30.2)	24–44 (33.5)	23–38 (31.4)	21–42 (31.6)	25–35 (29.6)
Male/Female	24/14	15/3	5/6	9/1	7/3
Detection site					
sputum and blood	0	5	0	2	2
sputum	38	4	10	7	7
blood	0	4	1	1	1
others	0	5 ^a	0	0	0
CD4 distribution (mean)	0–708 (84.2)	0–114 (37.9)	0–114 (30.9)	0–21 (7.9)	6–431 (84.5)
Dead cases (%)	5 (13.2%)	3 (16.7%)	2 (18.2%)	3 (30.0%)	2 (20.0%)

^aThree from blood and skin, 1 from skin, and 1 from sputum, blood, and skin

Table 3. Comparison of characteristics between survivor and dead cases of HIV-infected subjects with community-acquired pneumonia

	Survivors (n = 171)	Dead cases (n = 21)
Mean CD4	67.9	74.8
Ratio male to female	1.9	6.0
Age, %		
20–29	38.2	19.0
30–39	45.3	47.6
over 40	16.5	33.3
Septicemia	29	2
<i>Rhodococcus equi</i> infection	7	3

related to death, but septicemia (odds ratio: 0.83) and CD4 (odds ratio of below 50: 0.14) are not concerned with death in our study (Table 4).

Discussion

The incidence of specific opportunistic infections in HIV-infected individuals varies in different countries, since the prevalence of microorganisms in a given environment determines the patterns of the invading pathogens. In the

Table 4. Logistic regression analysis to predict death in HIV-infected subjects with community-acquired pneumonia

	Odds ratio	95% confidence interval
Age group (years)		
20-29	1.0	-
30-39	5.48	0.55-55.04
over 40	15.63	1.31-186.1
<i>Rhodococcus equi</i> infection	8.14	1.02-65.06
Male	1.76	0.32-9.71
Septicemia	0.83	0.14-4.92
CD4		
below 50	0.14	0.01-1.89
50-199	0.59	0.05-7.49
over 200	1.0	-

United States, disseminated *Mycobacterium avium* complex disease was reported to be the most common opportunistic infection in homosexual patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS).¹⁰ On the other hand, in South Korea tuberculosis was the most frequent opportunistic infection in HIV-infected subjects.¹¹ Thailand has one of the most explosive HIV/AIDS epidemics in the world. Penicilliosis due to *P. marneffei* was the third most frequent AIDS-defining infection after tuberculosis and cryptococcosis in northern Thailand prior to the introduction of HAART, and is endemic in Southeast Asia.¹² In our study, CAP caused by *P. marneffei* in HIV-infected patients was frequent, different from other countries. Community-acquired pneumonia caused by *R. equi* was also frequently seen in our study, which tended to appear in the later stages of HIV infections and was fatal compared to other types of infections. In fact, the CD4 count of patients with CAP caused by *R. equi* was lower than those of other types of infection and the mortality rate was significantly high compared to other kinds of infection in our study. A marked increase in the incidence of infections caused by *R. equi* has been reported since the start of the HIV epidemic in 1981,^{13,14} and the outcome has been reported to be fatal in 60% of HIV-infected patients and in 28% of HIV-negative individuals.¹⁵ Recent studies indicate that pulmonary infections caused by *R. equi* are not uncommon in HIV-infected patients in northern Thailand.¹⁶ Since Chiang Mai is surrounded by much farmland in northern Thailand, many farmers were involved in our study. This might be one reason that the rate of *R. equi* infection as zoonosis was relatively high. In pulmonary nocardiosis and CAP caused by *R. equi*, cavitory pulmonary lesions, similar to pulmonary tuberculosis, were noted.¹⁷ Therefore, a misdiagnosis of pulmonary tuberculosis should be avoided by a careful examination, laboratory tests, and a radiological workup. Other common pathogens causing CAP in our study were *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, and *S. aureus*, and these organisms are similar to those reported in previous reports on non HIV-infected^{18,19} and HIV-infected patients.^{1,2} In addition to differences in pathogenic microorganisms and the proportion of mixed infection between deceased cases in the present study and survivors, we should also recognize differences in the general condition of a patient and accompanying socioeconomic problems. Although high

age was significantly related to death among HIV-infected patients with CAP, CD4 was not concerned with mortality. Since the CD4 was already low in most patients of our study thus meaning that most cases were already in the later stages of HIV infections, it might have influenced the result. Although HAART has recently been started,⁷ its effect has not been fully evaluated in Thailand. In such situations, immunization and prophylaxis defined in a number of studies should be considered.²⁰⁻²² In conclusion, various types of organisms, including mixed organisms, cause CAP in HIV-positive patients in northern Thailand.

Acknowledgments We thank the staff of the Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University and Nakornping Hospital, for their help in completing this study. We also thank Yupa Kasempitak for coordinating the completion of the study. This study was supported by Monbusho Grant-in-Aid for Scientific Research (09045083), Japanese Government. The authors declare that they have no conflict of interest.

References

1. Afessa B, Green W, Chiao J, Frederick W. Pulmonary complications of HIV infection: autopsy findings. *Chest* 1998;113:1225-9.
2. Gatell JM, Marrades R, el-Ebiary M, Torres A. Severe pulmonary infections in AIDS patients. *Semin Respir Infect* 1996;11:119-28.
3. Murray JF. Pulmonary complications of HIV infection. *Annu Rev Med* 1996;47:117-26.
4. Ashley EA, Johnson MA, Lipman MC. Human immunodeficiency virus and respiratory infection. *Curr Opin Pulm Med* 2000;6:240-5.
5. Abrams EJ. Opportunistic infections and other clinical manifestations of HIV disease in children. *Pediatr Clin North Am* 2000;47:79-108.
6. Phanuphak P. Antiretroviral treatment in resource-poor settings: what can we learn from the existing programmes in Thailand? *AIDS* 2004;18 Suppl 3:S33-8.
7. Phanuphak P, Grayson ML, Sirivichayakul S, Suwanagool S, Ruxrungham K, Hanvanich M, et al. A comparison of two dosing regimens of zidovudine in Thai adults with early symptomatic HIV infection. Conducting clinical HIV trials in South-East Asia. *Aust N Z J Med* 2000;30:11-20.
8. Bartlett RC. *Medical microbiology: quality, cost and clinical relevance*. New York: Wiley; 1974. p. 24-31.
9. Vithayasai V, Sirisanthana T, Sakonwasun C, Suvanpiyasiri C. Flow cytometric analysis of T-lymphocytes subsets in adult Thais. *Asian Pac J Allergy Immunol* 1997;15:141-6.
10. Jones JL, Hanson DL, Dworkin MS, Kaplan JE, Ward JW. Trends in AIDS-related opportunistic infections among men who have sex with men and among injecting drug users, 1991-1996. *J Infect Dis* 1998;178:114-20.
11. Oh MD, Park SW, Kim HB, Kim US, Kim NJ, Choi HJ, et al. Spectrum of opportunistic infections and malignancies in patients with human immunodeficiency virus infection in South Korea. *Clin Infect Dis* 1999;29:1524-8.
12. Chariyalertsak S, Sirisanthana T, Supparatpinyo K, Nelson KE. Seasonal variation of disseminated *Penicillium marneffei* infections in northern Thailand: a clue to the reservoir? *J Infect Dis* 1996;173:1490-3.
13. Weingarten JS, Huang DY, Jackman JD Jr. *Rhodococcus equi* pneumonia. An unusual early manifestation of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Chest* 1988;94:195-6.
14. Harvey RL, Sunstrum JC. *Rhodococcus equi* infection in patients with and without human immunodeficiency virus infection. *Rev Infect Dis* 1991;13:139-45.
15. Votava M, Skalka B, Hrstkova H, Tejkalova R, Dvorska L. Review of 105 cases of isolation of *Rhodococcus equi* in humans. *Cas Lek Cesk* 1997;136:51-3.

16. Sirisanthana T, Supparatpinyo K. Pulmonary infection caused by *Rhodococcus equi* in patients with human immunodeficiency virus infection: report of 23 cases from Chaing Mai. *J Infect Dis Anti-microb Agents* 1996;13:95-9.
17. Gallant JE, Ko AH. Cavitory pulmonary lesions in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1996;22:671-82.
18. Ishida T, Hashimoto T, Arita M, Ito I, Osawa M. Etiology of community-acquired pneumonia in hospitalized patients. A 3-year prospective study in Japan. *Chest* 1998;114:1588-93.
19. Ewig S, Torres A. Severe community-acquired pneumonia. *Clin Chest Med* 1999;20:575-87.
20. Navin TR, Rimland D, Lennox JL, Jernigan J, Cetron M, Hightower A, et al. Risk factors for community-acquired pneumonia among persons infected with human immunodeficiency virus. *J Infect Dis* 2000;181:158-64.
21. Supparatpinyo K, Perriens J, Nelson KE, Sirisanthana T. A controlled trial of itraconazole to prevent relapse of *Penicillium marneffeii* infection in patients infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1998;339:1739-43.
22. Guerrero M, Kruger S, Saitoh A, Sorvillo F, Cheng KJ, French C, et al. Pneumonia in HIV-infected patients: a case-control survey of factors involved in risk and prevention. *AIDS* 1999;13:1971-5.

肺炎球菌ワクチン—5年後の再接種の是非—

大石 和徳

要 旨

肺炎球菌ワクチン接種の成人における市中肺炎の重症化阻止効果が明らかになり、本邦における高齢者における接種率も徐々に増加してきている。肺炎球菌ワクチンの再接種を希望する患者が増加する状況下で、本邦ではその再接種が未だ禁忌となっている事が問題視されている。現在までに、国内関連4学会から厚生労働省に対して再接種の要望書が提出されている。高齢者や慢性呼吸器疾患においては、肺炎球菌ワクチンの初回接種後の血清中特異IgG濃度は免疫原性の低い血清型によっては5年以内に接種前値以下に低下することから、再接種の承認が必要である。再接種による血清中特異IgG抗体応答は初回時のそれより低下するものの、副反応も重篤なものは無く安全である。本邦では通常65歳以上の高齢者に初回接種されることから、当面は初回接種の5年後の再接種の承認に向けて国民の意識を高めていく必要がある。

〔日内会誌 97:836~841, 2008〕

Key words: 肺炎球菌ワクチン, 再接種, 特異IgG抗体, 副反応

はじめに

肺炎球菌は最も重要な呼吸器病原性菌である。本菌はグラム陽性双球菌で多糖体（ポリサッカライド）からなる莢膜に覆われており、この莢膜ポリサッカライド（CPS）には少なくとも90の莢膜血清型が存在する。このCPS特異的IgGによる補体依存性オプソニン活性は肺炎球菌感染症に対する宿主感染防御の中心的役割を果たすとされている。

米国で肺炎球菌ポリサッカライドワクチンが承認されて以来、これまでに多くの肺炎球菌ワクチンによる免疫能正常者における菌血症を伴う肺炎、髄膜炎などの侵襲性肺炎球菌性感染症に対する予防効果に関する報告がある。これら

の研究から、米国Advisory Committee on Immunization Practice (ACIP)は肺炎球菌ワクチン接種を表1に示す対象者に推奨している¹⁾。本邦では肺炎球菌ワクチンは1988年に承認され、最近になって公費負担を行う地方自治体も64カ所の市区町村と増加し、65歳以上の高齢者における接種率は現在3.9%に達している。このような情勢から、肺炎球菌ワクチンの再接種を患者が要望するケースが増加している。しかしながら、我が国においては肺炎球菌ワクチンの再接種は禁忌となっている。日本呼吸器学会、日本感染症学会、日本化学療法学会、日本臨床微生物学会から、厚生労働省に対して再接種の承認要望書が提出されている。本稿では肺炎球菌ワクチンの今日の位置付けに加え、再接種の是非と今後の問題解決策について記述する。

おおいし かずのり：大阪大学微生物病研究所、感染症国際研究センター

表 1. 肺炎球菌ワクチンの適応および勧告

接種推奨の対象	期待される有効性	再接種
65 歳以上	A	接種後 5 年以上経過しており、かつ前回接種が 65 歳未満であった場合
2～64 歳で 慢性心疾患、慢性肺疾患、糖尿病	A	必要なし
2～64 歳で 慢性肺疾患、髄液漏、 アルコール依存症	B	必要なし
2～64 歳で 機能的または解剖的無脾症	A	・10 歳以上：前回接種後 5 年以上経過 ・10 歳あるいは未満：前回接種後 3 年
2～64 歳で 肺炎球菌全身性感染のリスクの高い 人種・民族	C	必要なし
2 歳以上の免疫不全状態 ① HIV 感染、②悪性腫瘍、 ③ネフローゼ症候群、慢性腎不全、 ④免疫抑制状態（臓器移植、長期にわたるス teroid療法など）	C	・初回接種後 5 年以上経過 ・10 歳以上で前回接種後 3 年

期待される有効性

A：疫学的、臨床的に高い有効性あり

B：疫学的、臨床的に満足できる有効性あり

C：有効性は必ずしも証明されていないが、ハイリスクであり個々における有効性を期待

免疫能正常者では 65 歳以上の高齢者、2～64 歳で慢性心疾患、慢性肺疾患、糖尿病の患者、無脾状態の患者に対して明らかな証拠に基づく A ランクの推奨をしている。免疫正常者でも 2～64 歳で慢性肝疾患、アルコール中毒、脳脊髄液漏の患者には B ランク（中等度の証拠）、HIV 感染者を含む免疫不全患者には C ランク（明かな有効性の証明が無い）の推奨をしている。

1. 肺炎球菌ワクチンの肺炎に対する効果

肺炎球菌感染症の大半は菌血症を伴わない（非侵襲性）肺炎である。今日まで、肺炎球菌ワクチンの成人における肺炎の予防効果は明らかになっていないが、Fismanらは彼らの実施した 62,918 例の市中肺炎で入院した成人の成績から、先行する肺炎球菌ワクチン接種が市中肺炎患者の入院中の死亡を 50% 減少させ、呼吸不全を 33% 減少させると報告している³⁾。同様に、Jhonstoneらも 3,415 例の市中肺炎患者の前向き研究から、肺炎球菌ワクチン接種により市中肺炎患者の死亡もしくは集中治療室入室の頻度を 40% 減少できるとしている⁶⁾。このような最近の報告から、肺炎球菌ワクチンの成人の市中肺炎に対する重

症化阻止効果が示唆される。

2. 肺炎球菌ワクチンの慢性閉塞性肺疾患（COPD）における効果

本邦における COPD 患者数は 500 万人以上に及ぶとされている。COPD は市中肺炎のリスクグループであり、またしばしば急性増悪を惹起する。肺炎球菌はこれらの病態でも主要な原因菌である。最近、Alfagemeらは COPD 患者を対象とした前向き無差別比較試験の結果を報告している。彼らは、肺炎球菌ワクチン接種により 65 歳以下の COPD 患者では 76% の肺炎予防効果を認め、また %1 秒量が 40% 未満の COPD 患者においては 48% の予防効果を認めたとしている⁷⁾。Global Initiative for Chronic Obstructive Lung

表2. 応答者と低応答者間のワクチン接種前, 1ヵ月後の血清中特異IgG濃度

血清型	時期	IgG 相乗平均 ($\mu\text{g/ml}$) (95% CI)		
		全体 (n = 84)	応答者 (n = 58)	低応答者 (n = 26)
6B	前	4.33(3.51~5.36)	3.9 (3.01~5.04)	5.48(3.80~7.89)
	1ヵ月後	6.44(5.11~8.11)**	6.81(5.04~9.21)**	5.68(4.02~8.03)
14	前	6.35(5.25~7.68)	5.82(4.71~7.17)	7.73(5.14~11.63)
	1ヵ月後	14.84(11.51~19.14)**	18.42(13.45~25.22)**	9.16(6.17~13.60)**
19F	前	5.25(4.29~6.43)	4.74(3.70~6.07)	6.62(4.62~9.48)
	1ヵ月後	7.27(6.04~8.75)**	7.63(6.09~9.55)**	6.53(4.63~9.21)
23F	前	3.05(2.53~3.67)	2.91(2.37~3.57)	3.37(2.24~5.07)
	1ヵ月後	6.51(5.01~8.46)**	8.39(6.10~11.52)**	3.7 (2.45~5.58)#

** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ (前値に対し); # $P < 0.05$ (応答者の接種1ヵ月後に対し)

Diseases (GOLD) のガイドライン 2006 年は, この肺炎球菌ワクチンのCOPDに対する効果をエビデンスBとして記載している.

一方, スエーデンにおいてインフルエンザワクチンと肺炎球菌ワクチンによる高齢者を対象とした大規模な前向き研究が実施され⁵⁾, 両ワクチン接種群では, 非接種群に対して, 肺炎球菌性肺炎の発症率, および死亡率の有意な減少が認められている. 本邦では 65 歳以上の高齢者に対してインフルエンザワクチンが定期接種化されていることから, 今後は肺炎球菌ワクチン単独の効果よりも肺炎球菌ワクチンとインフルエンザワクチンの併用接種の効果を評価するのが現実的と考えられる. 最近, 我々は慢性肺疾患患者におけるインフルエンザワクチンと肺炎球菌ワクチンの併用接種の肺炎および急性増悪に対する効果を評価する目的で, 前向き無作為比較研究を実施した. その結果, インフルエンザワクチンと肺炎球菌ワクチンとの併用接種が, インフルエンザワクチン単独接種に比較して, 慢性肺疾患, とりわけCOPD患者の急性増悪を有意に減少させることを明らかにしている. COPDの急性増悪にも高額な医療費がかかることから, 併用接種による費用対効果が期待できる.

3. 肺炎球菌ワクチン初回接種後の特異免疫応答とその維持

肺炎球菌ワクチン接種後に感染防御抗体として機能する血清型特異抗体は一般に5年間は維持されるとされている. しかしながら, 宿主側要因や血清型により肺炎球菌ワクチン接種後の特異抗体応答の程度や抗体濃度の維持期間は異なっている. また, 肺炎球菌ワクチンに対する低応答者が存在することも知られている. 筆者らは84例の慢性肺疾患患者(平均68.1歳)に肺炎球菌ワクチンを接種し, 接種後2年間の主要4血清型に対する血清中特異IgG濃度を第三世代EIA法で測定した⁶⁾. 4血清型のすべてにおいて接種1ヵ月後の特異IgG濃度が接種前値の2倍以下であった症例を低応答者と定義したところ, 84例中26例(31%)が低応答者であった. 84例中の応答者と低応答者の接種前後の特異IgG濃度を表2に示した. 近年の肺炎球菌コンジュゲートワクチンの研究から, 侵襲性肺炎球菌感染症を予防できる特異IgG閾値濃度は $0.35\mu\text{g/ml}$ とされているが, 慢性肺疾患患者の血清中特異IgG濃度はどの血清型においてもワクチン接種前からこの閾値より高値であることが注目される. この高い血清中特異IgG抗体濃度が慢性肺疾患患者において肺炎球菌ワクチンの低応答者が多かつ

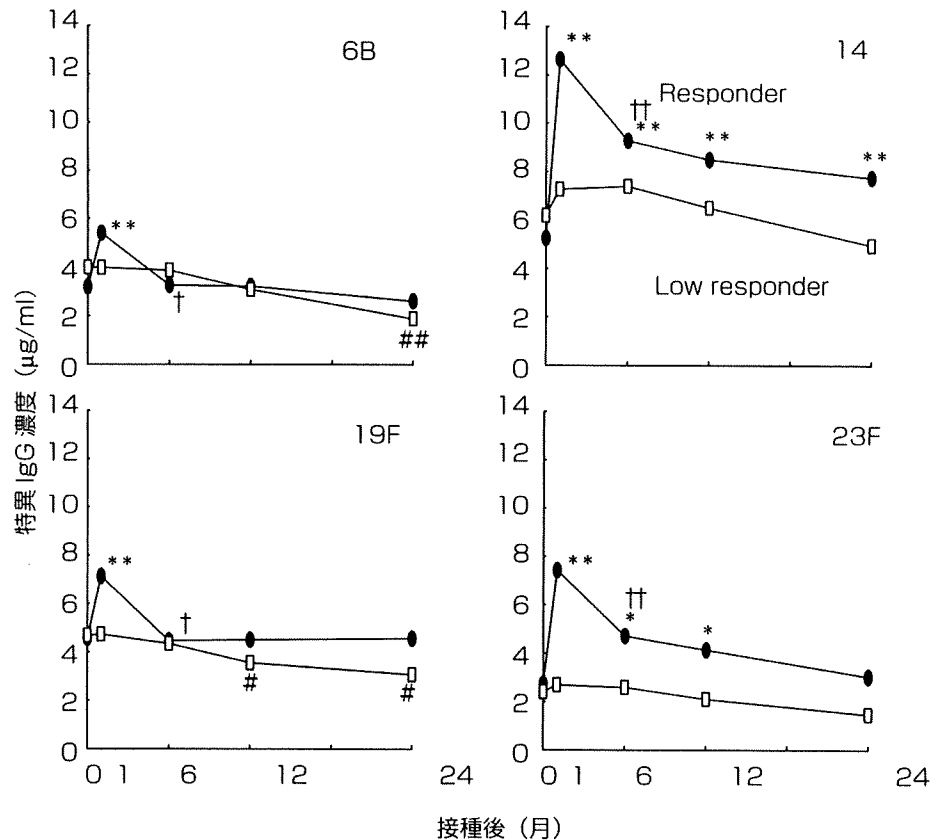


図1. 慢性肺疾患患者84例における肺炎球菌ワクチン接種後2年間の特異IgG濃度の推移。応答者58例の相乗平均値(●), 低応答者26例の相乗平均値(□) (文献6より改変)

た原因と推察される。一方、血清中特異IgG濃度が高いにもかかわらず、慢性肺疾患患者は肺炎球菌に易感染性である事も注目すべき点である。全体症例、応答者では接種1カ月後に有意な特異IgG濃度の増加を認めるが、低応答者では血清型14を除いた他の血清型でIgG抗体の増加が見られていない。また、接種後2年間の血清中特異IgG濃度の推移は、4つの血清型で全く異なることが判る(図1)。応答者の血清中特異IgG濃度は、どの血清型においても、ワクチン接種1カ月後から6カ月後までに速やかに減少している。特異IgG濃度が接種前のレベルに低下するまでの期間は、血清型6Bで0.87年、血清型19Fで1.1年、血清型23Fで2.5年、血清型14では8.3年であった。これらの成績は高齢者でも慢性肺疾患患者のような特定のリスクグループに対しては

初回接種3年以内の再接種が必要であることを示唆している。また、低応答者に対しては肺炎球菌ワクチン再接種の効果も期待できないことから、新たな救済策が必要である。

4. 肺炎球菌ワクチン再接種後の血清型特異免疫応答

Mufsonらは14価ワクチンを接種した56~79歳の15名に6年後に23価ワクチンを接種し、その後の血清中特異抗体濃度の動態を検討した⁸⁾。初回接種後に、12価の特異的抗体レベルは接種前の3.1倍の上昇が認められたのに対し、再接種後には平均1.5倍の上昇が認められた。Davidsonらは、慢性疾患患者において23価肺炎球菌ワクチン接種の初回接種と6年以上後の再接種によ

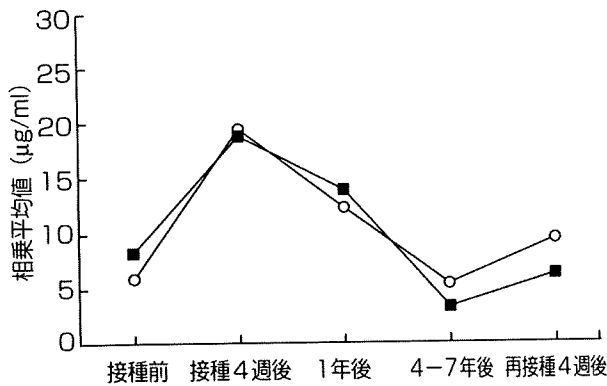


図2. 肺炎球菌ワクチン初回接種と4～7年後の再接種時の6つの血清型に対する血清中特異IgG濃度の相乗平均値の推移。50～68歳(○), 69歳以上(■) (文献9より改変)

る免疫誘導能についてRIA法で比較した⁹⁾。彼らは12名の血清中特異抗体濃度を測定し、初回接種後の抗体濃度が全値の1.4倍以上となった割合(平均54%)と再接種後の抗体濃度が全値の1.4倍以上となった割合(平均54.7%)を比較し、両者の特異抗体応答は同等であったと報告している。

一方、比較的最近、Torlingらは過去に肺炎の治療歴のある高齢者に対する肺炎球菌ワクチンの再接種を試み、血清免疫学的応答を第二世代EIA法で測定している⁹⁾。彼らは6種の血清型について特異IgG濃度を測定し、初回接種4～7年後の再接種4週後の抗体濃度(7.47µg/ml)は再接種前より有意に増加するが、初回接種後のピーク(19.06µg/ml)より有意に低かったと報告している。また、これらの結果を50～68歳と69歳以上の2群に分けた場合、その初回接種および再接種後の特異IgG濃度は同等であった(図2)。また、接種前後の増加比は、初回接種が2.73に対し、再接種では1.84であった。表3には各血清型の初回接種、再接種時の増加比を示している。また、彼らは6つの血清型の増加比のうち2血清型以上で2以上であった人を応答者と定義した場合に、低応答者の頻度が初回接種では16%であり、再接種では41%に増加したとしている。

表3. 接種前後の各血清型および全血清型の特異IgG濃度の増加比

血清型	初回接種	再接種	P
1	2.04	2.21	0.34
4	1.8	1.51	0.4
7F	3.05	1.79	0.001
14	3.52	1.78	0.002
18C	3.27	1.97	0.004
19F	3.22	1.84	0.003
全血清型	2.73	1.84	0.001

(文献9から改変)

5. 肺炎球菌ワクチンの再接種と副反応

Jacksonらは50歳から74歳までの年齢層で、過去に肺炎球菌ワクチン接種歴のない901名、少なくとも5年前に肺炎球菌ワクチン接種歴のある513名を対象として、接種前の血清中特異IgG濃度とワクチン接種による副反応について検討した¹⁰⁾。その結果、接種後6日以内の発熱は初回接種、再接種いずれにおいてもほとんど認められなかったが、局所反応は再接種群が、初回接種群に比較して有意に多かった。また、接種後2日間における症状としては腕の痛みが頻繁に認められ、初回接種が57%に対し、再接種では74%であった。さらに、再接種と局所副反応の関連性について検討したところ、大きな局所反応(少なくとも10.2cm以上)の頻度が再接種群(11%)で初回接種群(3%)に比較して有意に多かった。しかしながら、これらの局所反応は接種後平均3日以内に自然に消失した。さらに、免疫能の正常な成人において、接種前の血清型特異IgG濃度と大きな局所反応との関連性を検討したところ、4, 14, 23Fのすべての血清型において高い血清中特異IgG濃度を有する人においてより大きな局所反応が認められた。Torlingらも再接種による副反応について報告し、局所反応は63%と高率であるが、ほとんどの副反応は再接種24時間以内に出現し、48時間以内に消失したとしている⁹⁾。これらの副作用情報から、

肺炎球菌ワクチン再接種は安全であり、その副反応により再接種が禁忌となることは無いと結論できる。

6. 5年後の再接種の是非

これまでに、米国ACIPは65歳以上の免疫能の正常な高齢者で、肺炎球菌ワクチン接種後5年以上経過し、かつ前回接種が65歳未満であった場合には再接種をAランクで推奨している(表1)。また、機能的または解剖学的無脾症の11歳以上で前回接種5年以上経過した人、あるいは10歳以下で前回接種後3年経過した人にも同様のAランク推奨をしている。しかしながら、前述の如く本邦においては1988年の肺炎球菌ワクチンの認可時に再接種は禁忌とされたままであり、その後の添付文書の改訂は実施されていない。高齢者や慢性肺疾患患者における肺炎球菌ワクチン接種後の血清中特異IgG濃度の推移、再接種後の安全性と免疫応答の成績から、これらの対象において初回接種5年後以降の再接種は妥当と考えられる。本邦ではほとんどの初回接種が65歳以上の高齢者を対象とされること、年齢による再接種後の免疫応答に差がないことから⁹⁾、再接種の対象は肺炎球菌ワクチン接種後5年以上経過し、前回接種が65歳以上の高齢者が適切と考えている。我が国の平均寿命が男性78歳、女性85歳であることを勘案すれば、肺炎球菌ワクチンの効果を最大限に活用するべきであろう。

おわりに

肺炎球菌感染症の頻度の高い米国アラスカ州の原住民では、55歳以上では6年毎の肺炎球菌ワクチン再接種が実施されている¹¹⁾。しかしなが

ら、再接種後の特異IgG応答は初回接種時より低下し、また低応答者の頻度も増加する事実から、65歳以上の高齢者における2回以上の再接種の是非については今後の検討が必要と考えられる。本邦では通常65歳以上の高齢者に初回接種されることから、当面は初回接種の5年後の再接種の認可に向けて国民の意識を高めていく必要がある。

文 献

- 1) Center for Disease Control Prevention of pneumococcal diseases: Recommendations of Advisory Committee on Immunization Practice. MMRW 46(No. RR8): 1-23, 1997.
- 2) Fisman DN, et al: Prior pneumococcal vaccination is associated with reduced death, complications, and length of stay among hospitalized adults with community-acquired pneumonia. Clin Infect Dis 42: 1093-1101, 2006.
- 3) Jhonstone J, et al: Effect of pneumococcal vaccination in hospitalized adults with community-acquired pneumonia. Arch Intern Med 167: 1938-1943, 2007.
- 4) Alfageme I, et al: Clinical efficacy of anti-pneumococcal vaccination in patients with COPD. Thorax 61: 189-195, 2006.
- 5) Christenson B, et al: Effects of a large-scale intervention with influenza and 23-valent pneumococcal vaccines in adult aged 65 years or older: a prospective study. Lancet 357: 1008-1011, 2001.
- 6) Chen M, et al: Comparative immune response of patients with chronic pulmonary diseases during the 2 year period after pneumococcal vaccination. Clin Vaccine Immunol 14: 139-145, 2007.
- 7) Mufson MA, et al: Revaccination with pneumococcal vaccine of elderly persons 6 years after primary vaccination. Vaccine 9: 403-407, 1991.
- 8) Davidson M, et al: Immunogenicity of pneumococcal revaccination in patients with chronic diseases. Arch Intern Med 154: 2209-2214, 1994.
- 9) Torling J, et al: Revaccination with the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in middle-aged and elderly persons previously treated for pneumonia. Vaccine 22: 96-103, 2003.
- 10) Jackson LA, et al: Safety of revaccination with pneumococcal polysaccharide vaccine. JAMA 281: 243-248, 1999.
- 11) Walker FJ, et al: Reactions after 3 or more doses of pneumococcal polysaccharide vaccine in adults in Alaska. Clin Infect Dis 40: 1730-1735, 2005.

細菌ワクチンの現状

Current situation of bacterial vaccines

大石 和徳

大阪大学微生物病研究所 感染症国際研究センター



大石 和徳 (おおいし かずのり)
1980年長崎大学医学部卒業。'87~88年
米国Uniformed Services University留学。
'97~2005年長崎大学熱帯医学研究所助
教授, '06年より現在に至る。研究テ
マ: 熱帯感染症, 呼吸器感染症の病態
と予防に関する研究。

■ Abstract ■

高齢者や慢性閉塞性肺疾患に対する肺炎球菌ワクチンの有効性が明らかになりつつある。本邦における早期の定期接種化と再接種の承認が望まれる。肺炎球菌結合型ワクチンは乳幼児の侵襲性感染症(敗血症, 髄膜炎)のみならず肺炎に対する予防効果が高く, 中耳炎にも中等度の効果を示した。Hibワクチンも乳幼児のHibによる侵襲性感染症に対する高い予防効果を示した。我が国における肺炎球菌結合型ワクチン, Hibワクチンの早期の導入が待たれる。また, Global Allianceは低所得国を含めた世界レベルでの乳幼児死亡抑制に向けた肺炎球菌結合型ワクチン, Hibワクチンによる世界戦略を推進している。近年, 我が国において15歳以上の百日咳症例が増加していることから, 思春期, 成人における百日咳ワクチンの追加接種導入が望まれる。

■ はじめに

現在までに, 日本で承認されている細菌ワクチンには, ジフテリアトキソイド, 百日咳トキソイド, 破傷風トキソイド, BCGワクチン, 肺炎球菌ワクチン, ワイル病秋やみ混合ワクチン, コレラワクチン, ペストワクチン, Hibワクチンがある。これらに加え, 海外で開発された未承認の細菌ワクチンとして, 肺炎球菌結合型ワクチン, 髄膜炎菌ワクチン, 腸チフスワクチン等がある。

本稿では肺炎球菌ワクチン, 肺炎球菌結合型ワクチン, Hibワクチン, 百日咳トキソイドの最新動向, 問題点について取り上げる。

Key Words: 肺炎球菌ワクチン, 肺炎球菌結合型ワクチン, Hibワクチン, 百日咳トキソイド

■ 肺炎球菌ワクチン

肺炎球菌莢膜ポリサッカライド(PS)には少なくとも90の莢膜血清型が存在する。PSはT細胞非依存性(TI)抗原であり, ヒトにおいて主にIgG₂サブクラスを誘導する。しかしながら, 乳幼児における免疫誘導能を欠いている。血清型特異IgG抗体は補体依存性オプソニン活性を介して, 肺炎球菌感染症における主要な感染防御の役割を果たしている。一般に, 肺炎球菌ワクチン接種により得られた血中特異IgG抗体は5年以上持続するとされている。

23価肺炎球菌ワクチン(Polysaccharide vaccine :以下PV)はその侵襲性感染症に対する予防効果が明らかにされており, 我が国では1988年に認可された。現在はニューモバックス®NPとして販売されている。米国では65歳以上の高齢者におけるPVのカバー率は70%に達しているのに対し, 我が国ではPVは任意接種のままで, 65歳以上の高齢者におけるカバー率は5%程度に留まっている。

1997年に米国予防接種諮問委員会(ACIP)は, PVを免疫能正常者では65歳以上の高齢者, 2-64歳で慢性心疾患, 慢性肺疾患, 糖尿病の患者, 無脾状態の患者に推奨している。また, 我が国ではPVの再接種が承認されておらず, 医療現場では再接種

■ Kazunori Oishi, M.D., Ph.D.

International Research Center for Infectious Diseases, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University

承認を要望する声が高まっている。

米国では肺炎球菌性肺炎は年間50万例、敗血症は年間5万例、髄膜炎は年間3,000例と推定されているが、我が国における成人における肺炎球菌性肺炎、敗血症、髄膜炎の実数は明らかでない。

1) 肺炎球菌ワクチンとインフルエンザワクチンの併用効果

我が国においてはインフルエンザワクチン(IV)が65歳以上の高齢者にして定期接種が実施されているため、高齢者に対するIVとPVによる併用接種による効果が期待される。海外の大規模研究では、IVとPVの併用接種によって肺炎による入院頻度や死亡数が、非接種者に比較して、有意に減少すると報告されている¹⁾。

我々は慢性肺疾患患者を対象にPV+IV併用接種群とIV単独群による2年間のオープンラベル比較試験を実施し、肺炎と急性増悪の予防効果について検討した²⁾。この結果、併用による肺炎に対する効果は明らかでなかったものの、感染性急性増悪は有意に減少し、とりわけ慢性閉塞性肺疾患(COPD)において感染性急性増悪の予防効果は明らかであった。一方、最近の海外研究では、肺炎球菌ワクチン接種により65歳以下で低肺機能(%1秒量が40%以下)のCOPD患者においては有意に肺炎を予防できることが報告されている³⁾。

2) 肺炎球菌ワクチンの展望

我が国の65歳以上の高齢者に対するPV接種の公費補助を実施する地方自治体も毎年増加し、2008年3月までに70自治体に達している。今後、我が国において、高齢者に対するPVの定期接種化に向けたエビデンスの蓄積とPVの再接種の早期承認が期待される。

■肺炎球菌結合型ワクチン

肺炎球菌結合型ワクチン(Conjugate vaccine: CV)は莢膜ポリサッカライドに無毒化した変異ジフテリアトキシン(CMR₁₉₇)などを結合させることで、CD4+T細胞ヘルプを可能にしている。この結果、莢膜ポリサッカライドに対する抗体のクラススイ

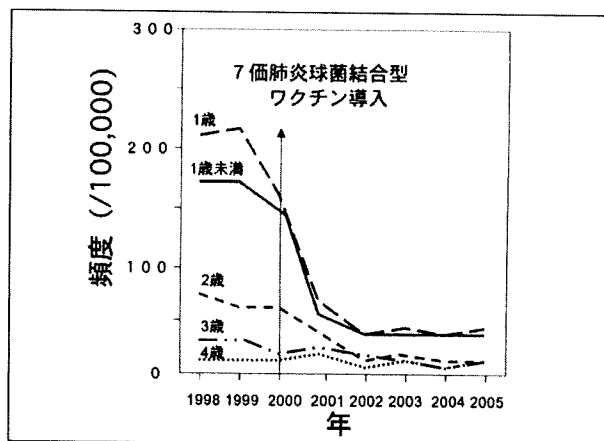


図1 7価肺炎球菌結合型ワクチン導入後の5歳未満の小児における侵襲性肺炎球菌感染症の年齢別頻度(1998-2005年、米国8州)(文献⁶⁾より改変)

ッチング、アフィニティー成熟、およびメモリーB細胞産生が誘導される。初回免疫で誘導される血清型特異IgGはIgG₁が主体であり、二回目以降の接種ではIgG₁とIgG₂が誘導される⁴⁾。

CVの導入前の米国の5歳未満の小児におけるIPDは毎年17,000例、そのうち髄膜炎は700例で死亡は200例に及んでいた。一方、我が国の5歳未満の小児における髄膜炎が100-300例で、そのうち肺炎球菌性髄膜炎による死亡が30%を占める。

1) 侵襲性肺炎球菌感染症と肺炎に対する効果

Blackらは米国北カリフォルニアで37,868人の乳幼児を対象とした7価CVの二重盲検試験(NCKP研究)を実施している。ワクチン接種は、生後2,4,6と12-15ヶ月に実施し、乳幼児のワクチン血清型株によるIPDに対する効果は97.4%と極めて高かった⁵⁾。一方、NCKP研究では、IPDのみならず画像陽性肺炎に対するワクチン効果も検討され、1歳未満では32.2%、2歳未満では23.4%の減少効果が認められた。米国CDCによる7価CV導入前後(1998-2005年)の米国8州における年齢別のIPD発生頻度を図1に示した⁶⁾。導入後の2歳未満の乳幼児におけるIPDの頻度は顕著に減少している。また、CVの副反応は局所反応程度で、安全性に問題はなかった。

一方、Klugmanらは9価のPncCRM₁₉₇の肺炎に対する効果を南アフリカの乳幼児において評価し、HIV感染を伴わない小児ではX線診断肺炎を20%、すべての小児では同様の肺炎を17%減少させたと報告した⁷⁾。その後、9価PncCRM₁₉₇のガンビアにおける乳幼児に対するトライアルでは、初回のX

線診断肺炎エピソードを37%減少させ、さらに死亡率を16%減少することが報告されている。

WHO working groupは乳幼児においてCV接種後に住民レベルで侵襲性感染症を予防できる血清中特異IgGの仮想濃度を0.35 µg/mlとし、この濃度が血清オプソニン活性 ≥ 8 とよく相関するとしている。しかしながら、血清中特異IgG濃度はそのオプソニン活性と相関しない成人の事例の報告もあり、今後何をワクチン効果予想の指標とすべきかについては検討の余地がある⁸⁾。

2) 中耳炎に対する効果

Eskolaらは1,662人の乳幼児を対象とした7価CVの二重盲検試験を実施している⁹⁾。7価CVのワクチンタイプの臨床的に診断された急性中耳炎に対する効果は57%で、すべての中耳炎に対しての効果は6%であり、CVの中耳炎に対する効果は中等度であった。

最近になって、PrymulaらGSKのグループはキャリア蛋白としてインフルエンザ菌由来Dタンパク質を用いた結合型ワクチン (PD CV) を製造し、その肺炎球菌とインフルエンザ菌非莢膜株 (Non-typeable *H. influenzae*: NTHi) による急性中耳炎に対する効果を報告している¹⁰⁾。この二重盲検試験では、ワクチンは乳幼児に対し生後3,4,5,12-15,15-18ヶ月の計6回接種され、生後24-27ヶ月まで経過観察された。この結果、PD CVの効果はすべての急性中耳炎に対して33.6%であり、ワクチン型の肺炎球菌感染に対しては52.6%、NTHi感染に対しては35.3%であった。このPD CVは肺炎球菌のみならずNTHi感染にも効果がある点で画期的である。

3) 肺炎球菌結合型ワクチンの展望

CVのインパクトは、乳幼児におけるIPDに対する高い予防効果、さらにはアフリカの途上国における乳幼児の肺炎予防効果、死亡率の減少が明らかになったことである。CV接種により米国では10万人あたり6人の死亡数を減少できるのに対し、ガンビアでは10万人あたり700人の死亡数減少が期待できる¹¹⁾。実に100倍以上の効果である。世界における1,060万人の5歳未満の小児死亡のうち、200

万人が肺炎による死亡である。このうち、50%がサハラ以南のアフリカで発生し、あとの30%は南アジア地域で発生している。

この事実から、CVをアジア、アフリカの途上国の乳幼児に普及させることは、今後の重要な課題である。しかしながら、高価なCVを低所得の国々に供給するには資金面での問題が大きい。このために、Global Alliance for Vaccine and Immunization (GAVI)と世界銀行がこの問題解決のために立ち上がっている。Sinhaらは、総年収US\$1,000以下のGAVI支援該当72ヶ国を対象に、乳幼児にCVを接種した場合のワクチン効果とコストについての解析結果を報告している¹²⁾。72ヶ国では3-29ヶ月の小児死亡が379万人と予想され、CV接種導入によりその7%、262,000人の死亡を予防できると報告している。

■Hibワクチン

インフルエンザ菌は非莢膜保有株(NTHi)と莢膜保有株に分類され、莢膜保有株のうち最も重要なのが*H. influenzae* type b (Hib)である。NTHiは肺炎を含む呼吸器感染症、中耳炎を発症するのに対し、Hibは髄膜炎、敗血症、肺炎などの侵襲性感染症を惹起する。世界では5歳未満の小児におけるHibによる髄膜炎、肺炎が年間300万例発生し、約386,000人が死亡している¹³⁾。本邦における1996年以降の前向き研究では、Hib髄膜炎は対5歳未満10万人比で8.6-8.9人と報告されている。当時の出生児数120万人で年間600人が罹患し、約20%が予後不良と推定されている。

Hibの表層の莢膜は貪食細胞からの殺菌に抵抗する重要な病原性因子である。この莢膜はpolyribose-ribitol-phosphate(PRP)からなり、肺炎球菌の莢膜と同様にT細胞非依存性抗原である。このため、乳幼児に免疫原性を誘導するためにCRM₁₉₇や破傷風トキソイドなどを結合したHibコンジュゲートワクチンが開発されている。Hibワクチンは生後2,4,6ヶ月の乳幼児に反復接種し、安全性、免疫原性も高いことが確認されている。これらのHibワクチン接種後の侵襲性感染症に対する効果は95-100%と極め

て高かった¹⁴⁾。また、安全性にも問題は無かった。図2には米国CDCによるHibワクチン導入前後のHibおよび非Hibによる5歳未満の小児における侵襲性感染症の頻度を示している¹⁵⁾。1991年のHibワクチン導入後のHib侵襲性感染症の顕著な減少がわかる。一方、非Hib侵襲性感染症の頻度は不変である。

世界におけるHib感染症の大半が低所得国に発生することから、結合型肺炎球菌ワクチン同様に、これらの低所得国にHibワクチンを供給することが重要な課題となる。このために、2000年からGAVI allianceは支援該当72ヶ国におけるHibワクチンの資金援助を開始している。2004-2007年までにHibワクチンを使用もしくは使用承認したGAVI該当国数は13(18%)から47ヶ国(65%)と増加している¹⁶⁾。一方、本邦においては2000-2002年にHibワクチンの治験が開始され、2003年に承認申請、2007年1月26日に承認となった。国内供給は2008年内に見込まれている。

■百日咳ワクチン

百日咳はグラム陰性菌の*Bordetella pertussis*によって惹起される呼吸器感染症である。いずれの年齢でも発症するが、小児が中心となる。また、重症化しやすく、死亡者の大半を占めるのは生後6ヶ月未満の乳児である。WHOは世界で毎年4,500万人の患者が発生し、2002年には約30万人が死亡したと報告している。我が国では1982年以降患者数は確実に減少しているが、15歳以上の患者が2002年頃より増加傾向を示し、とりわけ2005年以降は顕著に増加している¹⁶⁾。とりわけ、2007年には大学生における集団発生事例も報告されている。

米国では1940年代から全菌体ワクチンが小児に接種され、患者数は激減した。その後、我が国では全菌体ワクチン接種で死亡者が発生したことから、無細胞ワクチンが国内メーカーから製造された。1981年からDPT三種混合ワクチン(DTaP)が導入され、定期接種スケジュールでは乳幼児期に4回の接種が推奨されている。

最近になって、我が国の15歳以上の患者数が増

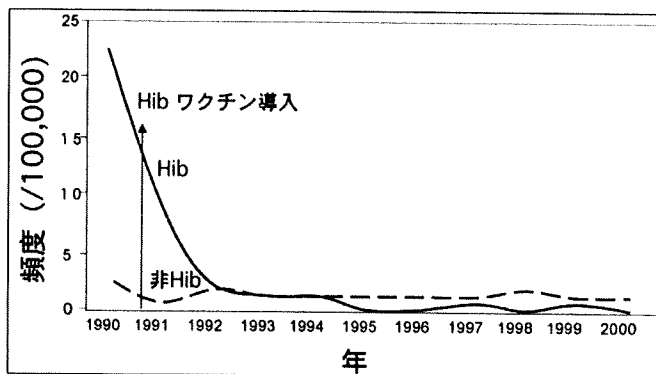


図2 Hibワクチン導入後の5歳未満の小児におけるHibおよび非Hibによる侵襲性感染症の頻度 (1990-2000年, 米国) (文献¹⁵⁾より改変)

加している事実から、思春期、成人における百日咳対策の必要性が指摘されている。多くの欧米諸国では、思春期のTdap追加接種を推奨されているが、我が国では、成人におけるDTaPの追加接種の安全性、免疫原性が検討されている。麻疹ワクチンと同様に、思春期の追加接種の導入が望まれる。

■おわりに

世界的評価の高い肺炎球菌結合型ワクチン、Hibワクチンの我が国における早期導入が望まれる一方、現有の肺炎球菌ワクチンの高齢者対策としての有効利用も重要である。

文献

- 1) Christenson B, et al. Lancet 357:1081-1011,2001.
- 2) Furumoto A, et al. Vaccine 26:4284-4289, 2008.
- 3) Alfageme I, et al. Thorax 61:189-195,2006.
- 4) Goldblat D, et al. American Society of Microbiology, p67-82, 2008.
- 5) Black S, et al. Pediatr Infect Dis J 19: 187-195, 2000.
- 6) Invasive pneumococcal disease in children 5 years after conjugate vaccine introduction—eight states, 1998-2005. MMWR 57:114-148,2008.
- 7) Klugman KP, et al. N Eng J Med 349:1341-1348,2003
- 8) Chen M, et al. Induction of opsonophagocytic killing activity with pneumococcal conjugate vaccine in human immunodeficiency virus-infected Ugandan adults. Vaccine (in press)
- 9) Eskola J, et al. N Eng J Med 344: 403-409, 2003.
- 10) Prymula R, et al. Lancet 367:740-748,2006.
- 11) Levine OS, Greenwood B. American Society of Microbiology, 2008, p405-418.
- 12) Sinha A, et al. Lancet. 369:389-396,2007.
- 13) Progress toward introduction of *Haemophilus influenzae* type b vaccine in low-income countries-Worldwide, 2004-2007. MMWR, 57: 148-151, 2008.
- 14) Chandran A, et al. Vaccines(Plotkin S, Orestein W, Offit P eds) Saunders, p157-176, 2008.
- 15) Progress toward elimination of *Haemophilus influenzae* type b invasive disease among infants and children-United States, 1998-2000. MMWR 51:234-237, 2002.
- 16) Han H-J, et al. Vaccine 26:1530-1534,2008.

Clonal dissemination of human isolates of *Streptococcus suis* serotype 14 in Thailand

Anusak Kerdsin,¹ Kazunori Oishi,² Saowalak Sripakdee,¹
Nitsara Boonkerd,^{1,3} Pitimol Polwichai,¹ Shota Nakamura,⁴
Ryuichi Uchida,⁴ Pathom Sawanpanyalert¹ and Surang Dejsirilert¹

Correspondence

Kazunori Oishi

oishik@biken.osaka-u.ac.jp

¹National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Tiwanon Road, Muang, Nonthaburi 11000, Thailand

²Laboratory for Clinical Research on Infectious Diseases, International Research Center for Infectious Diseases, Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, 3-1 Yamadaoka, Suita 565-0871, Japan

³Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

⁴Thailand–Japan Research Collaboration Center for Emerging and Re-Emerging Infections, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Tiwanon Road, Muang, Nonthaburi 11000, Thailand

Most cases of *Streptococcus suis* infection in humans are caused by serotype 2 strains, and only a few cases caused by other serotypes have been reported. Among 177 human isolates of *S. suis* in Thailand, 12 (6.8%) were identified as being of serotype 14, and an occurrence of sporadic *S. suis* serotype 14 infection was noted during 2006–2008, particularly in northern Thailand. Clinical presentations of the 12 patients (median age 62.9 years) included meningitis (58.3%), septic arthritis (25%) and sepsis (16.7%). These clinical features were similar to those previously reported for *S. suis* infections, except that there were no fatal cases. All of the 12 serotype 14 strains belonged to the multilocus sequence types (ST) 105 ($n=11$) and the novel ST127 ($n=1$). Molecular typing by PFGE revealed four different pulsotypes, including an identical pattern for nine ST105 strains and three closely related patterns for two ST105 strains and one ST127 strain. Our PFGE data suggested clonal dissemination of ST105 strains in Thailand. Because serotype 14 is becoming a more common cause of *S. suis* infections in humans, diagnostic tests for serotype 14 should be performed in South-East Asian countries.

Received 19 June 2009

Accepted 31 July 2009

INTRODUCTION

Streptococcus suis, an important zoonotic pathogen, causes meningitis and sepsis including streptococcal toxic shock syndrome in humans who are in close contact with infected pigs or contaminated pork-derived products (Lun *et al.*, 2007). Based on capsular polysaccharides, 33 serotypes of *S. suis* have been identified. Serotype 2 is the most common cause of human disease (Lun *et al.*, 2007; Wertheim *et al.*, 2009). Currently, only seven human cases worldwide have been attributed to serotype 14 (Gottschalk *et al.*, 1989; Haleis *et al.*, 2009; Mai *et al.*, 2008; Poggenborg *et al.*, 2008; Takamatsu *et al.*, 2008; Watkins *et al.*, 2001; Ye *et al.*, 2008).

In 1987, two human cases of *S. suis* infection were first reported in Thailand (Phuapradit *et al.*, 1987). Since the

occurrence of a large outbreak of *S. suis* serotype 2 infection in Sichuan Province, China, in 2005 (Ye *et al.*, 2006), this disease has been increasingly recognized worldwide. During the past decade, the number of reported human cases has increased, particularly in South-East Asia, with more than 700 *S. suis* infections reported worldwide (Wertheim *et al.*, 2009). To date, the number of *S. suis* infections in humans reported in previous studies from Thailand (Wertheim *et al.*, 2009; Wangkaew *et al.*, 2006; Rasmeechan & Sribusara, 2008; Wangsomboonsiri *et al.*, 2008; Khadthasrima *et al.*, 2009) and on the website of the Bureau of Epidemiology, Ministry of Public Health, Thailand, exceeds 300 cases. Therefore, *S. suis* is an emerging human pathogen in Thailand.

Because of the variable biochemical characteristics (Lun *et al.*, 2007; Ma *et al.*, 2008), *S. suis* infection is often either undiagnosed or misdiagnosed by the local hospital laboratories in South-East Asian countries, including

Abbreviations: MLST, multilocus sequence typing; NIAH, National Institute of Animal Health; 89K PAI, an ~89 kb candidate pathogenicity island; ST, sequence type.

Thailand. In 2006, therefore, the Miscellaneous Bacteriology Laboratory, National Institute of Health (NIH), initiated a microbiological service for the identification of *S. suis* in clinical isolates from laboratories of local hospitals in Thailand. Through this microbiological service, 177 clinical isolates were confirmed as *S. suis* and 12 were determined to be of serotype 14.

Herein, we report on both the clinical features of 12 human cases of *S. suis* serotype 14 infection that occurred in 2006–2008 in Thailand and the clonal dissemination of the serotype 14 isolates.

METHODS

Bacterial isolates and identification. A total of 1154 unidentified streptococcal isolates from blood or cerebrospinal fluid were collected from hospitals in all 76 provinces of Thailand by the Miscellaneous Bacteriology Laboratory, NIH, between January 2006 and September 2008 for species identification. Biochemical tests including API Strep (bioMérieux), and specific PCR amplification of the *S. suis* 16S rRNA gene generating a 294 bp PCR product, confirmed 177 isolates of *S. suis* from 34 hospitals in 25 provinces of Thailand (Marois *et al.*, 2004). A previous study reported that four genes of *S. suis* serotype 1 specifically hybridized with serotype 1 and 14 strains only, while five genes of *S. suis* serotype 2 specifically hybridized with serotype 2 and 1/2 strains only (Smith *et al.*, 1999). Based on these findings, the 177 isolates of *S. suis* were designed to be serotyped for 1 or 14 and 2 or 1/2 using duplex PCR. The following primers were used for duplex PCR: SS-cps1 J-F, 5'-gatagagtagtattgactga-3'; SS-cps2 J-F, 5'-gttgagtcctatacacctg-3'; and SS-cpsJ-R, 5'-aacattaRtaagctataataaa-3'. The PCR products detected for reference strains of serotype 1 (NIAH 10227) or 14 (NIAH 13730) were 217 bp in size, while those for serotype 2 (CCUG 7984, provided by the US Centers for Disease Control) or 1/2 (NIAH 11318) were 515 bp (Fig. 1). NIAH 10227, 13730 and 11318 were kindly provided by the National Institute of Animal Health (NIAH), Japan. No PCR products were detected for the reference strains of other serotypes such as 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 or 16. Of the 177 strains, 165 (93.2%) had PCR products of 515 bp, while 12 strains (6.8%) had 217 bp PCR products. Coagglutination tests using rabbit antisera (Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark) showed that the strains that gave 515 bp PCR products were of serotype 2 and the strains that gave 217 bp PCR products belonged to serotype 14. These results were confirmed by Dr M. Gottschalk at the International Reference Laboratory, Université de Montréal, Canada.

Molecular characterization of isolates. The 12 serotype 14 strains were examined using multilocus sequence typing (MLST) as previously described with some modifications (King *et al.*, 2002). eBURST was used to identify clonal complexes in the MLST database, which can be accessed at <http://ssuis.mlst.net> (Feil *et al.*, 2004). The 12 serotype 14 strains were subjected to PFGE using the restriction enzyme *Sma*I (Luey *et al.*, 2007). PCR was used to test the serotype 14 strains for the virulence-associated gene profile, including the extracellular factor gene (*epf*), the sullysin gene (*sly*) and the muramidase-released protein gene (*mrp*) (Silva *et al.*, 2006), as well as for an ~89 kb candidate pathogenicity island (89K PAI), which were identified in serotype 2 isolates obtained from a previous outbreak of infections in Sichuan, China (Chen *et al.*, 2007).

Patients. The medical records of the 12 patients whose cultures were positive for *S. suis* serotype 14 were retrospectively reviewed by attending physicians at local hospitals in Thailand. Meningitis was

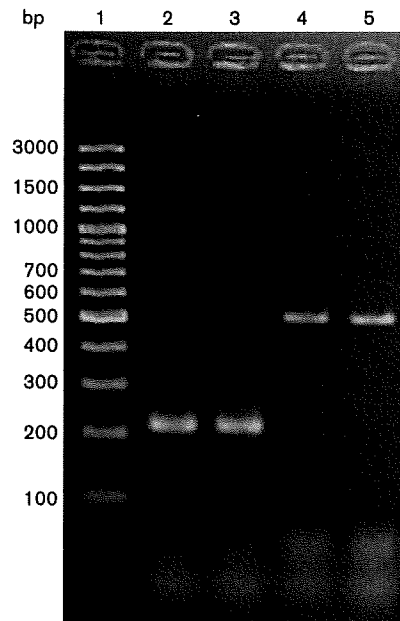


Fig. 1. Differentiation of *S. suis* serotype 1 or 14 and serotype 2 or 1/2 by duplex PCR serotyping. The 217 bp amplification products for serotype 1 and 14 are shown in lanes 2 and 3 and the 515 bp amplification products for serotype 2 and 1/2 are shown in lanes 4 and 5. Lanes: 1, molecular markers; 2, serotype 1 strain (NIAH 10227); 3, serotype 14 strain (NIAH 13730); 4, serotype 2 strain (CCUG 7984); 5, serotype 1/2 strain (NIAH 11318).

defined as a presentation of nuchal rigidity of acute onset and a positive culture from either cerebrospinal fluid or blood. Sepsis was defined as a presentation of systemic inflammatory response syndrome without localized infection and a positive blood culture (Muckart & Bhagwanjee, 1997). Septic arthritis was defined as a presentation of acute arthritis and a positive blood culture.

RESULTS AND DISCUSSION

Patients

Of the 12 serotype 14 strains, 11 were isolated on different occasions in northern Thailand (Table 1). Another strain was isolated in central Thailand. *S. suis* serotype 14 infections that occurred sporadically were noted, especially in northern Thailand. The median age (range) of the 12 patients was 62.9 (40–79) years and 58.3% were male. Two patients (16.7%) had a history of eating raw pork or blood. No patients had occupational contact with raw pork. Clinical presentations included meningitis (58.3%), septic arthritis (25.0%) and sepsis (16.7%). Hearing loss was a complication in five cases (41.7%) and four of these cases were associated with meningitis. Acute respiratory distress syndrome and extradural and subdural abscesses were also found as a complication for each patient with meningitis.

Table 1. Clinical and microbiological features of 12 cases of *S. suis* serotype 14 infection in Thailand

M, Male; F, female; CSF, cerebrospinal fluid; ST, sequence type; VAG, virulence-associated gene; 89K PAI, a candidate pathogenicity island ~89 kb in length.

Case no.	Age	Sex	Diagnosis	Complication	Outcome	Duration of admission (days)	Strain no.*	Isolation site	Province/region†	ST	VAG profile	89K PAI
1	48	F	Meningitis	Hearing loss	Survived	18	21928	CSF	Lampang/North	105	<i>epj</i> ⁺ / <i>sly</i> ⁺ / <i>mrp</i> ⁺	-
2	79	M	Septic arthritis	None	Survived	8	27964	Blood	Sukhothai/North	105	<i>epj</i> ⁺ / <i>sly</i> ⁺ / <i>mrp</i> ⁺	-
3	63	F	Meningitis	Hearing loss	Survived	31	27578	CSF	Phechabul/North	105	<i>epj</i> ⁺ / <i>sly</i> ⁺ / <i>mrp</i> ⁺	-
4	68	M	Meningitis	Acute respiratory distress syndrome	Survived	5	27071	Blood	Lampang/North	105	<i>epj</i> ⁺ / <i>sly</i> ⁺ / <i>mrp</i> ⁺	-
5	78	F	Septic arthritis	None	Survived	12	26012	Blood	Phechabul/North	105	<i>epj</i> ⁺ / <i>sly</i> ⁺ / <i>mrp</i> ⁺	-
6	48	M	Sepsis	None	Survived	16	25780	Blood	Tak/North	105	<i>epj</i> ⁺ / <i>sly</i> ⁺ / <i>mrp</i> ⁺	-
7	78	F	Sepsis	None	Survived	14	24524	Blood	Phayao/North	105	<i>epj</i> ⁺ / <i>sly</i> ⁺ / <i>mrp</i> ⁺	-
8	70	M	Meningitis	Hearing loss	Survived	28	24451	CSF	Lampang/North	105	<i>epj</i> ⁺ / <i>sly</i> ⁺ / <i>mrp</i> ⁺	-
9	62	F	Septic arthritis	Hearing loss	Survived	37	22695	Blood	Phechabul/North	105	<i>epj</i> ⁺ / <i>sly</i> ⁺ / <i>mrp</i> ⁺	-
10	48	M	Meningitis	None	Survived	1	22692	Blood	Lampang/North	105	<i>epj</i> ⁺ / <i>sly</i> ⁺ / <i>mrp</i> ⁺	-
11	71	M	Meningitis	Extradural and sub-dural abscess	Survived	45	26390	Blood	Bangkok/Central	105	<i>epj</i> ⁺ / <i>sly</i> ⁺ / <i>mrp</i> ⁺	-
12	40	M	Meningitis	Hearing loss	Survived	15	27024	CSF	Lampang/North	127	<i>epj</i> ⁺ / <i>sly</i> ⁺ / <i>mrp</i> ⁺	+

*DMST (Department of Medical Science, Thailand) number.

†Province and region of Thailand where the serotype 14 strain was isolated.

The median duration (range) of admission was 15.5 (1–45) days and no fatalities were reported.

Patients with serotype 14 infection in the present study were approximately 10 years older than those with *S. suis* infections in previous reports (Wertheim *et al.*, 2009; Mai *et al.*, 2008; Wangkaew *et al.*, 2006; Wangsomboonsiri *et al.*, 2008). However, the clinical manifestations of patients with *S. suis* serotype 14 infection, including hearing loss, were similar to previously reported findings of *S. suis* infections that were caused mostly by serotype 2, with the noted exception of a lack of fatalities (Wertheim *et al.*, 2009; Mai *et al.*, 2008; Wangkaew *et al.*, 2006; Wangsomboonsiri *et al.*, 2008). Complications of subdural abscess and acute respiratory distress syndrome found in this study were also reported in previous studies in Thailand (Wangsomboonsiri *et al.*, 2008) and China (Tang *et al.*, 2006), respectively.

A recent outbreak of *S. suis* infection, including 29 laboratory confirmed cases, occurred in Phayao Province during May 2007 (Khadthasrima *et al.*, 2009). A major route of transmission during this outbreak was consumption of raw blood from infected pigs. A retrospective study of 66 cases of *S. suis* infection in humans living in northern Thailand also found that the majority (59%) had a history of eating undercooked pork (Wangsomboonsiri *et al.*, 2008). The general public should be made aware of the risks associated with the traditional Thai custom of consuming uncooked pork products. In the present study, only two (16.7%) of the 12 patients with *S. suis* serotype 14 infection reported a history of eating raw pork or blood and no occupational exposure to raw pork was found. However, these results might be due to inadequate evaluation of traditional dietary practice at the time of admission. Although previous studies reported low proportions of female patients with *S. suis* infections (13.3–28.1%) (Wangkaew *et al.*, 2006; Wangsomboonsiri *et al.*, 2008; Ma *et al.*, 2008), a relatively high proportion of female patients (41.7%) was found in this study. Collectively, these findings indicate that local residents, including housewives, may have unintentional exposure during cooking to contaminated pork products that are sold at markets in northern Thailand, because a recent study from Hong Kong demonstrated a dense contamination of *S. suis* in raw pork meats available in local supermarkets or at wet markets (Cheung *et al.*, 2008).

Molecular characterization of isolates

MLST analysis using seven selected housekeeping genes (*aroA*, *cpn60*, *dpr*, *gki*, *mutS*, *recA* and *thrA*) confirmed that 11 of the 12 strains had identical sequence type (ST) profiles (1,1,1,52,1,1,1) (King *et al.*, 2002). The ST profile of the strain that differed from the others was 1,1,1,1,1,1,18. These strains were assigned to ST105 and the novel ST127 (Table 1). Snapshots of all isolates of *S. suis* generated by eBURST, including those of our 12 serotype 14 isolates and all 408 isolates available in the MLST

dataset (Feil *et al.*, 2004), suggested six major clonal complexes: ST1, ST17, ST27, ST29, ST87 and ST94 (Fig. 2). The ST105 and ST127 strains in this study were derived from ST1, which is the primary strain of the ST1 complex.

All 12 serotype 14 strains were positive for three virulence-associated genes (Table 1). However, the 11 ST105 serotype 14 strains were negative for the 89K PAI, while the ST127 strain was positive for the 89K PAI since three sets of PCR for the 89K PAI were positive (Chen *et al.*, 2007). Because all of the ST105 serotype 14 strains were positive for the three virulence-associated genes, but negative for the 89K PAI, the ST105 human isolates may have another PAI. However, the role of the 89K PAI remains to be determined. PFGE typing revealed four different DNA profiles among the 12 serotype 14 isolates (Fig. 3). An identical pattern, type A, was found for nine of the ST105 strains. Closely related patterns – A1 and A2 – were also noted for each of the ST105 serotype 14 isolates. The pulsotypes of ST105 strains were assigned to clusters of isolates with >70% similarity in the dendrogram. Other closely related patterns – A3 and A4 – were found for the ST127 strain of serotype 14 as well as a serotype 14 reference strain (NIAH 13730).

Of the 177 *S. suis* isolates identified in the present study, 12 strains (6.8%) were serotype 14 with STs 105 and 127. By contrast, in southern Vietnam, only one (1.1%) of 92 human isolates of *S. suis* was of serotype 14; all other strains belonged to serotype 2 (Mai *et al.*, 2008). Our data on PFGE suggest that clonal dissemination of serotype 14 with ST105 occurred in Thailand, and an involvement of three pulsotypes in 11 ST105 strains indicates that PFGE is more discriminatory than MLST, which corresponds to a previous report (Ma *et al.*, 2008). Of the seven serotype 14 isolates previously reported, the STs of five strains were determined as follows: ST1 from China (Ye *et al.*, 2008) and England (<http://ssuis.mlst.net>), ST6 from the Netherlands (Ye *et al.*, 2008; King *et al.*, 2002), ST11 from Thailand (Takamatsu *et al.*, 2008) and ST105 from Vietnam (Mai *et al.*, 2008). Collectively, all of the serotype 14 strains reported in our and previous studies belonged to the ST1 complex (Fig. 2). Interestingly, the pulsotype of the serotype 14 strain with ST105 isolated from Vietnam in 2004 appears to be identical or closely related to the type A of serotype 14 strains with ST105 in the present study (Mai *et al.*, 2008).

The results of the present study and earlier reports (Lun *et al.*, 2007; Ma *et al.*, 2008) indicate that this pathogen is often either undiagnosed or misdiagnosed by the laboratories of local hospitals in South-East Asian countries, including Thailand. Given the increased awareness of this disease on the part of clinicians and the availability of diagnostic tests for this pathogen at local hospitals, the true prevalence of this disease in this region will be determined.

In conclusion, over the past 3 years, 12 cases of *S. suis* serotype 14 infection have occurred sporadically in Thailand. The clinical features of these patients were