

表2 肺炎球菌コンジュゲートワクチン (PCV7) の乳幼児における臨床効果

	ワクチン効果(%)	95%信頼区間	P
侵襲性感染症			
PP 解析	97.4	82.7~99.9	<0.001
ITT 解析	93.9	79.6~98.5	<0.001
肺炎			
PP 解析	30.3	10.7~45.7	0.043
ITT 解析	25.5	6.5~40.7	0.011
中耳炎	57.0	44.0~67.0	—

PP : Perprotocol, ITT : Intention to treat

(文献14, 18, 19より)

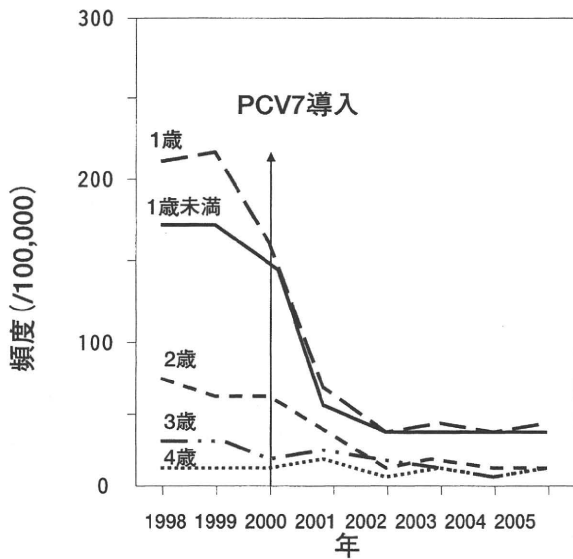


図6 米国8州における肺炎球菌コンジュゲートワクチン (PCV7) の定期接種導入後の小児における侵襲性感染症の劇的な効果. (文献15より改変)

6. 成人における肺炎球菌ワクチンの効果

これまでに蓄積された多くの成人に対するPPV23の臨床試験において、免疫不全のない高齢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が報告されているものの、すべての原因による肺炎の予防効果は明らかになっていない<sup>22)</sup>。しかしながら、これまでにPPV23接種による成人肺炎の重症度、死亡リスクの低下が報告されている<sup>23,24)</sup>。

最近になって、PPV23接種のわが国における高齢者に対する肺炎予防効果が2グループから報告されている。Maruyamaらは、1,006人の

高齢者介護施設入所者（平均年齢85歳）を無作為にPPV23接種群（502人）と非接種群（504人）に割りつけ、3年間の肺炎、肺炎球菌肺炎の発症および死亡について比較検討した二重盲検試験の結果を報告した<sup>4)</sup>。この研究では、PPV23接種群では肺炎球菌肺炎のみならず、すべての肺炎に対する予防効果が認められ、さらにPPV23群では肺炎球菌性肺炎による死亡率が有意に減少した。

さらに、著者らはインフルエンザワクチン定期接種を受けた65歳以上の高齢者786人を対象として、PPV23接種群（391人）と非接種群（387人）の2群に割りつけたオープンラベル無作為比較試験の結果を報告した<sup>25)</sup>。本研究において、全症例（65歳以上の高齢者）ではPPV23接種群、PPV23非接種群において肺炎罹患率に有意な差は認めなかったものの、75歳以上の高齢者ではPPV23接種群で肺炎罹患率が有意に減少した。また、慢性肺疾患、歩行困難者においてもPPV23接種により肺炎罹患率の有意な減少が認められた。さらに、65歳以上の高齢者全体においてPPV23接種群ですべての肺炎による医療費の削減効果も示された。このように、わが国におけるPPV23の高齢者肺炎に対する予防効果、死亡抑制効果、医療費削減効果が明らかにされたことから、高齢者に対するPPV23の定期接種化の早期実現が望まれる。

サハラ以南のアフリカではHIV感染者における肺炎球菌による侵襲性感染症や肺炎の罹患率が高い。しかしながら、HIV感染成人に対するPPV23の臨床効果は明らかになっていない。

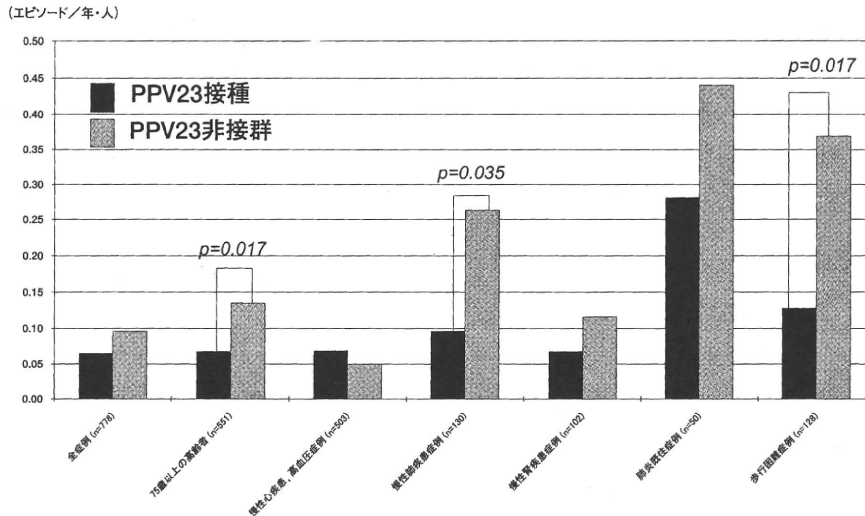


図7 高齢者における23価肺炎球菌ポリサッカライドワクチン接種によるすべての肺炎に対する予防効果。(文献25より改変)

このため、French Nらは496名マラウイの青年と成人(88%がHIV感染者)を対象としてPCV7の二重盲検試験を実施し、PCV7接種がワクチン(ワクチンは4週間の間隔で2度接種)含有血清型と6Aによる繰り返す侵襲性肺炎球菌感染症を74%予防することを報告した<sup>26)</sup>。

また、DansfieldらはCOPD患者においてはPCV7とPPV23の初回接種の免疫原性をELISA IgGとOPAで比較検討し、PCV7がPPV23に比較して優れていると結論している<sup>27)</sup>。さらには、成人におけるPCV7およびPPV23の連続接種による複数の免疫原性試験が実施されており<sup>28-30)</sup>、今後の成人におけるこれらのワクチンの交互接種の可能性が示唆されている。このように、成人においてもPPV23のみならず、PCVの役割が少しずつ明らかにされつつある。

## 7. おわりに

小児と成人における肺炎球菌感染症に対する予防効果がポリサッカライドベースワクチンにより可能になった。さらには、世界的には小児におけるPCV7はPCV13に切り替えが進んでおり、わが国でも小児に対するPCV13は臨床試験中、成人に対するPCV13は臨床試験が終了している。今後、成人においては、PPV23とPCV13の組み合わせ接種法についての検討が必要と考えられる。

## 参考文献

- 1) van der Poll T, Opal SM : Pathogenesis, treatment, and prevention of pneumococcal pneumonia. *Lancet* 374 : 1534-1556, 2009
- 2) Flamaing J, Peetermans WE, Vadeven J, Verhaegen TJ : Pneumococcal colonization in older persons in a nonoutbreak setting. *J Am Geriatr Soc* 58 : 396-398, 2010
- 3) Bogaert D, De Groot R, Hermans PW : Streptococcus pneumoniae colonisation: the key to pneumococcal disease. *Lancet Infect Dis* 4 : 144-154, 2004
- 4) Maruyama T, Taguchi O, Niederman MS, Morser J, Kobayashi H, Kobayashi T, D'Alessandro-Gabazza C, Nakayama S, Nishikubo K, Noguchi T, Takei Y, Gabazza EC : Efficacy of 23-valent pneumococcal vaccine in preventing pneumonia and improving survival in nursing home residents : double blind, randomized and placebo controlled trial. *BMJ* 340 : c1004, 2010
- 5) Chiba N, Morozumi M, Sunaoshi K, Takahashi S, Takano M, Komori T, Sunakawa K, Ubukata K : IPD Surveillance Study Group : Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal disease in Japan. *Epidemiol Infect* 138 : 61-68, 2010
- 6) Available at : <http://strep.umin.jp/>
- 7) Oishi K, Yoshimine H, Watanabe H, Watanabe K, Tanimura S, Kawakami K, Iwagaki A, Nagai H,

- Goto H, Kudoh S, Kuriyama T, Fukuchi Y, Matsushima T, Shimada K, Matsumoto K, Nagatake T : Drug-resistant genes and serotypes of pneumococcal strains of community-acquired pneumonia among adults in Japan. *Respirology* 11 : 429-436, 2006
- 8) Available at : <http://www.vaccine.uab.edu/>
- 9) Kayhty H, Lockhart S, Schuerman L : Immunogenicity and reactogenicity of pneumococcal conjugate vaccines in infants and children. *In* Textbook of Pneumococcal vaccines. Eds. Siber GR, Klugman KP, Makela PH. ASM Press, Washington, D.C., 2007, pp.227-243
- 10) Chen M, Hisatomi Y, Furumoto A, Kawami K, Masaki H, Nagatake T, Sueyoshi Y, Iwanaga T, Aizawa M, Oishi K : Comparative immune response of patients with chronic pulmonary diseases during the 2 year period after pneumococcal vaccination *Clin Vaccine Immunol* 14 : 139-145, 2007
- 11) Musher DM, Monoff SB, Liss C, McFetridge RD, Marchese RD, Bushnell B, Alveretz F, Painter C, Bum MD, Siber JL : Safety and antibody response, including antibody persistence for 5 years, after primary vaccination or revaccination with pneumococcal polysaccharide vaccine in middle-ages and older adults. *J Infect Dis* 201 : 516-524, 2010
- 12) Schenkein JG, Park S, Nham MH : Pneumococcal vaccination in older adults increases antibodies with low opsonic capacity and reduced antibody potency. *Vaccine* 26 : 5521-5526, 2008
- 13) Chen M, Ssali F, Mulungi M, Awio P, Yoshimine H, Kuroki R, Furumoto A, Tanimura S, Kityo C, Nagatake T, Mugenyi P, Oishi K : Induction of opsonophagocytic killing activity with pneumococcal conjugate vaccine in human immunodeficiency virus-infected Ugandan adults. *Vaccine* 26 : 4962-4968, 2008
- 14) Black SB, Shinefield H, Fireman B, Lewis E, Ray P, Hansen JR, Elvin L, Ensor KM, Hackell J, Siber G, Malinoski F, Madore D, Chang I, Kohberger R, Watson W, Austrian R, Edwards K : Efficiency, safety and Immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children younger than five years of age for prevention of pneumonia. *Pediatr Infect Dis J* 19 : 187-195, 2000
- 15) Invasive pneumococcal disease in children 5 years after conjugate vaccine introduction — eight states, 1998-2005. *MMWR* 57 : 114-148, 2008
- 16) Pilishvili T, Lexau C, Farley MM, Hadler J, Harrison LH, Bennett NM, Reingold A, Thomas A, Schaffner W, Craig AS, Smith PJ, Beall BW, Whitney CG, Moore MR : Active Bacterial Core Surveillance/Emerging Infections Program Network : Sustained reductions in invasive pneumococcal disease in the era of conjugate vaccine. *J Infect Dis* 201(1) : 32-41, 2010
- 17) Gertz RE Jr, Li Z, Pimenta FC, Jackson D, Juni BA, Lynfield R, Jorgensen JH, Carvalho Mda G, Beall BW : Active Bacterial Core Surveillance Team : Increased penicillin nonsusceptibility of nonvaccine-serotype invasive pneumococci other than serotypes 19A and 6A in post-7-valent conjugate vaccine era. *J Infect Dis* 201 : 770-775, 2010
- 18) Black SB, Shinefield HR, Ling S, Hansen J, Fireman B, Spring D, Noyes J, Lewis E, Ray P, Lee J, Hackell J : Effectiveness of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children younger than five years of age for prevention of pneumonia. *Pediatr Infect Dis J* 21 : 810-815, 2002
- 19) Eskola J, Kilpi T, Palmu A, Jokinen J, Haapakoski J, Herva E, Takala A, Käyhty H, Karma P, Kohberger R, Siber G, Mäkelä PH : Finnish Otitis Media Study Group : Efficacy of a pneumococcal conjugate vaccine against acute otitis media. *N Engl J Med* 344 : 403-409, 2003
- 20) Levine OS, Greenwood B : Opportunities and challenges for pneumococcal conjugate vaccines in low- and middle-income countries. *In* Textbook of Pneumococcal vaccines. Eds. Siber GR, Klugman KP, Makela PH. ASM Press, Washington, D.C., 2007, pp.405-418
- 21) Sinha A, Levine O, Knoll MD, Muhib F, Lieu TA : Cost-effectiveness of pneumococcal conjugate vaccination in the prevention of child mortality : an international economic analysis. *Lancet* 369 : 389-396, 2007
- 22) Jackson LA, Janoff EN : Pneumococcal vaccination of elderly adults : new paradigms for protection.

- Clin Infect Dis 47 : 1328-1338, 2008
- 23) Fisman DN, Abrutyn E, Spaude KA, Kim A, Kirchner C, Daley J : Prior pneumococcal vaccination is associated with reduced death, complication, and length of stay among hospitalized adults with community-acquired pneumonia. Clin Infect Dis 42 : 1093-1101, 2006
  - 24) Johnstone J, Marrie TJ, Eurich DT, Majumdar SR : Effect of pneumococcal vaccination in hospitalized adults with community-acquired pneumonia. Arch. Intern Med 167 : 1938-1943, 2007
  - 25) Kawakami K, Ohkusa Y, Kuroki R, Tanaka T, Koyama K, Harada Y, Iwanaga K, Yamaryo T, Oishi K : Effectiveness of pneumococcal polysaccharide vaccine against pneumonia and cost analysis for the elderly who receive seasonal influenza vaccine in Japan. Vaccine 28 : 7063-7069, 2010
  - 26) French N, Gordon SB, Mwalukomo T, White SA, Mwafuilirwa G, Longwe H, Mwaiponya M, Zijlstra EE, Molyneux ME, Gilks CF. A trial of a 7-valent pneumococcal conjugate vaccine in HIV-infected adults. N Eng J Med 362 : 812-822, 2010
  - 27) Dransfield MT, Nahm MH, Han MK, Harnden S, Criner GJ, Martinez FJ, Scanlon PD, Woodruff PG, Washko GR, Connett JE, Anthonisen NR, Bailey WC : COPD Clinical Research Network. Superior immune response to protein-conjugate versus free pneumococcal polysaccharide vaccine in chronic obstructive pulmonary disease. Am J Crit Care Respir Med 180 : 499-505, 2009
  - 28) de Roux A, Schmoele-Thoma B, Siber GR, Hackell JG, Kuhnke A, Ahlers N, Baker SA, Razmpour A, Emini EA, Fernsten PD, Gruber WC, Lockhart S, Burkhardt O, Welte T, Lode HM : Comparison of pneumococcal conjugate polysaccharide and free polysaccharide vaccines in elderly adults : conjugate vaccine elicits improved antibacterial immune responses and immunological memory. Clin Infect Dis 46 : 1015-1023, 2008
  - 29) Musher DM, Rueda AM, Nahm MH, Graviss EA, Rodriguez-Barradas MC : Initial and subsequent response to pneumococcal polysaccharide and protein-conjugate vaccines administered sequentially to adults who have recovered from pneumococcal pneumonia. J Infect Dis 198 : 1019-27, 2008
  - 30) Goldblatt D, Southern J, Andrews N, Ashton L, Burbidge P, Woodgate S, Pebody R, Miller E : The immunogenicity of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine versus 23-valent polysaccharide vaccine in adults aged 50-80 years. Clin Infect Dis 49 : 1318-1325, 2009

## Laboratory and Epidemiology Communications

### Isolation of *Streptococcus pneumoniae* Serotypes 6C and 6D from the Nasopharyngeal Mucosa of Healthy Japanese Children

Bin Chang\*, Taketo Otsuka<sup>1</sup>, Atsushi Iwaya<sup>2</sup>, Minoru Okazaki<sup>1</sup>,  
Satoko Matsunaga, and Akihito Wada

Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640;

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Sado General Hospital, Niigata 952-1209; and

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, Ryotsu Hospital, Niigata 952-0007, Japan

Communicated by Yoshichika Arakawa

(Accepted August 24, 2010)

*Streptococcus pneumoniae*, a primary causative agent of otitis media, pneumonia, bacteremia, and meningitis in children, results in substantial morbidity and mortality in many countries, including Japan (1–3). Of the 93 *S. pneumoniae* serotypes identified to date, serotypes 6C and 6D were recently differentiated from the classical serotypes 6A and 6B, respectively (4–6). Serotype 6C was subsequently reported to be isolated in several countries (5–9), especially as an important replacement serotype after introduction of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) (7,9,10). The naturally occurring *S. pneumoniae* serotype 6D was isolated from the Fiji Islands, Korea, and Poland (4,11,12). In this study, 32 6C and 1 6D *S. pneumoniae* isolates were identified from the nasopharyngeal mucosa of healthy children who had not received PCV7 residing on Sado Island, Niigata Prefecture, by using serological and genetic characterization.

*S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and other pathogens among children residing on Sado Island, Niigata Prefecture, are monitored as part of the Sado Island, Antimicrobials, Day-care attendance, Older siblings (SADO) Study (13). In SADO study, which was conducted in 2008, pharyngeal swabs obtained from healthy children at check-up periods of 4, 7, 10, and 18 months old (mo) were cultured. Two of the children included had received PCV7. Fifty-two percent of the children at 18 mo had been attending day nursery. All *S. pneumoniae* isolates were serotyped using the conventional Quellung reaction using commercially available pneumococcal antisera (Statens Serum Institut [SSI], Copenhagen, Denmark) and home-made factor antiserum (designated factor 6dh [h indicates home-made]) for serotypes 6C and 6D. The factor 6b antiserum used in this study could react with both serotypes 6A and 6C; the new version of the factor 6b antiserum from SSI only reacts with serotype 6A (14,15). Factor 6dh antiserum was prepared by immunization of rabbits with formaldehyde-fixed serotype 6C whole cells and subse-

quent absorption of the antiserum with serotype 6A whole cells. In addition to the serological examination, serotypes 6C and 6D of the isolates were confirmed by genetic characterization involving comparison of the *wciN* region of 6A, 6B, 6C, and 6D isolates using PCR with primers 5106 and 3101 (5), and DNA sequencing of the *wciP* gene. The size of the *wciN* PCR products was determined by electrophoresis with 0.8% SeaKem GTG agarose gel (Takara Bio, Otsu, Japan). The DNA sequence of the *wciP* gene was determined using BigDye v1.1 (Applied Biosystems, Foster City, Calif., USA) and 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems). The antibiotic susceptibility of the isolates was analyzed by the microbroth dilution method according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI M100-S18). Multi-locus sequence typing (MLST) was performed as described by Enright and Spratt (16).

A total of 337 *S. pneumoniae* isolates were obtained in this study. All isolates were initially serotyped using the Quellung reaction, and those that exhibited positive reactions with serogroup 6 antiserum were further tested using factor 6b, 6c, and 6dh antisera. Serotypes 6A and 6C exhibited positive reactions with factor 6b antiserum, whereas serotypes 6B and 6D exhibited positive reactions with factor 6c antiserum. Serotypes 6A and 6B exhibited negative reactions, and serotypes 6C and 6D exhibited positive reactions, with factor 6dh antiserum (Fig. 1). Thirty-two isolates (9.5%) exhibited positive reactions with both factor 6b and 6dh antisera, thus suggesting that they expressed the serotype 6C capsule. Furthermore, 1 isolate (0.3%) exhibited positive reactions with factor 6c and 6dh antisera, thus suggesting that it expressed serotype 6D capsule.

The *wciN* gene of the *S. pneumoniae* isolates was subsequently examined using PCR. The lengths of the PCR products for serotype 6A and 6B isolates found to be 2.0 (Fig. 2, lane 1) and 2.0/2.2 kb (Fig. 2, lanes 2 and 3), respectively. The length of each of the PCR products of the putative serotype 6C and 6D isolates was 1.8 kb (Fig. 2, lanes 4 and 5). The 2.0- and 2.2-kb *wciN* PCR products indicate the presence of capsular polysaccharide (PS) containing galactose, whereas the 1.8-kb PCR product indicates substitution of galactose by glucose (5). The DNA sequences of the *wciP* gene were determined for the isolates (4,5,11). The 138th amino acid residue in WciP for the 6A isolate is serine (AGT),

\*Corresponding author: Mailing address: Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan. Tel: +81-3-5285-1111 ext. 2228, Fax: +81-3-5285-1163, E-mail: b-chang@nih.go.jp

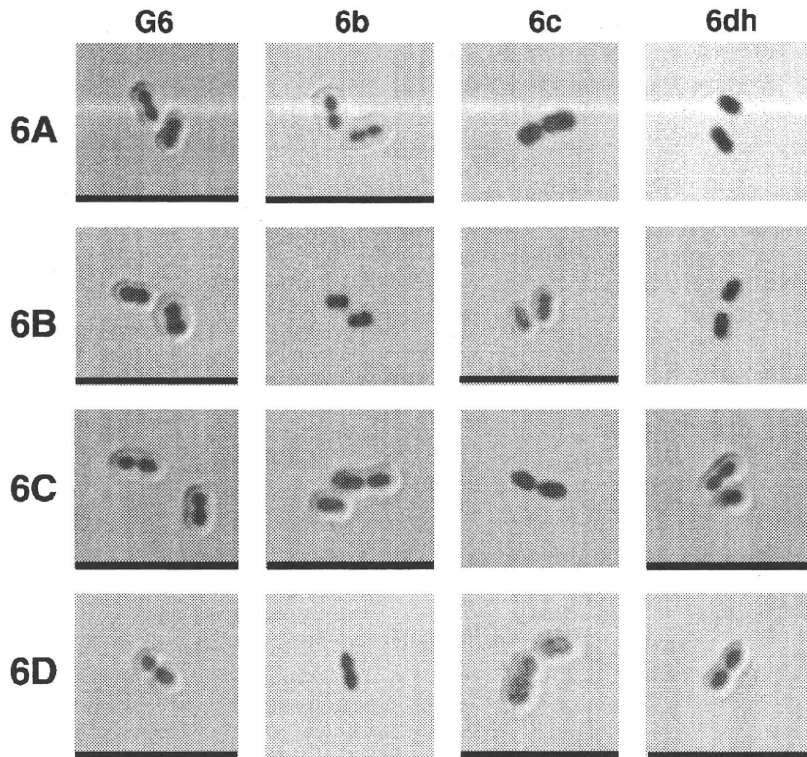


Fig. 1. Quellung reaction of *Streptococcus pneumoniae* serotypes 6A, 6B, 6C, and 6D. *S. pneumoniae* serotypes 6A (SP128) and 6B (KSP120) were isolated from cerebrospinal fluid. *S. pneumoniae* 6C (SP569) and 6D (SP687) were isolated from nasopharyngeal mucosa in this study. The antisera used are indicated on top of each column. G6, antiserum for serogroup 6; 6b, factor antiserum 6b; 6c, factor antiserum 6c; 6dh, home-made factor antiserum 6dh. Serotypes of *S. pneumoniae* are indicated on the left of the photographs. The underlined photographs illustrate positive results.

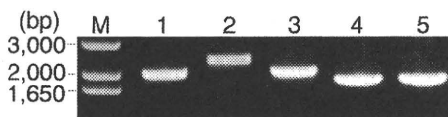


Fig. 2. PCR products of the *wciN* region of *Streptococcus pneumoniae* serogroup 6 isolates. M, 1 kb plus DNA ladder; lane 1, serotype 6A (SP128); lane 2, serotype 6B (KSP123); lane 3, serotype 6B (KSP120); lane 4, serotype 6C (SP569); lane 5, serotype 6D (SP687). The 2.0-kb or 2.2-kb fragments were obtained from serotype 6A (2.0-kb only) and 6B (2.0-kb or 2.2-kb) isolates, whereas the 1.8-kb fragments were obtained from serotype 6C and 6D isolates.

whereas that for the 6B isolate is asparagine (AAT) (17). The former amino acid is responsible for the rhamnose-(1→3)-ribitol linkage in the PS of serotype 6A, whereas the latter is responsible for the rhamnose-(1→4)-ribitol linkage in the PS of serotype 6B. The corresponding amino acids of the putative 6C and 6D isolates were serine and asparagine, respectively. The serological and genetic analyses yielded identical results in that both were consistent with the PS structure [→2)-glucose-(1→3)-glucose-(1→3)-rhamnose-(1→3)-ribitol-(5→phosphate)] for 6C and [→2)-glucose-(1→3)-glucose-(1→3)-rhamnose-(1→4)-ribitol-(5→phosphate)] for 6D, thus confirming the colonization of *S. pneumoniae* serotype 6C and 6D isolates in the nasopharynx of healthy Japanese children.

The 32 6C *S. pneumoniae* isolates were obtained from a total of 30 children (3 from 4-mo children, 5 from

7-mo children, 13 from 10-mo children, and 11 from 18-mo children); 2 of the isolates were obtained from the same child at 7- and 10-mo, and a further 2 isolates, which showed different colony morphologies and different antibiograms, were simultaneously obtained from a child at 18 mo. The *S. pneumoniae* serotype 6D was isolated from an 18-mo child. None of the children who carried the *S. pneumoniae* serotypes 6C or 6D had received PCV7. As for the children's residential area and day nursery attendance, there was no obvious association between the 30 children from whom the *S. pneumoniae* serotype 6C was isolated. The minimum inhibitory concentration (MIC) of penicillin G for the serotype 6C isolates ranged between  $\leq 0.015$  and  $0.25 \mu\text{g/ml}$ , and that for 26 (81.3%) of the isolates being  $\leq 0.06 \mu\text{g/ml}$ . All of the 6C isolates were susceptible to both cefotaxime (MIC  $\leq 1 \mu\text{g/ml}$ ) and meropenem (MIC  $\leq 0.25 \mu\text{g/ml}$ ), whereas 30 (93.8%) of them were resistant to erythromycin (MIC  $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ ). The 6D isolate was susceptible to penicillin G ( $0.03 \mu\text{g/ml}$ ), cefotaxime ( $0.25 \mu\text{g/ml}$ ), and meropenem ( $\leq 0.008 \mu\text{g/ml}$ ) but resistant to erythromycin ( $\geq 8 \mu\text{g/ml}$ ). MLST analysis revealed that the frequent sequence types (STs) of the serotype 6C isolates were ST2923 (40.6%) and ST2924 (31.3%), whereas the ST of the 6D isolate was ST2924. The MLST analysis showed that the serotype 6C isolates from children on Sado Island comprised multiple clones.

The routine immunization of infants and toddlers in the United States with PCV7 has successfully reduced

the incidence of invasive pneumococcal disease (IPD) in children caused by the vaccine serotypes (18–20). Vaccination of children with PCV7 has also lowered the incidence of IPD among the elderly, a phenomenon known as the herd-immunity effect (18–20). The observed reduction in the incidence of IPD among the nonimmunized population is likely to be due to a change in the nasopharyngeal colonization of *S. pneumoniae* in immunized individuals. There has, however, been a rise in the incidence of IPD caused by non-PCV7 serotypes (known as replacement serotypes), including serotypes 19A, 6C, and others, in the United States (7,9,19, 21–24). As far as 6D is concerned, this serotype was isolated at a high rate (41%) from the nasopharyngeal mucosa of Fijian children, 86% of whom had received at least 1 dose of PCV7, thereby suggesting that serotype 6D may have a selective advantage after immunization with the vaccine (11). In addition, 5 IPD cases due to *S. pneumoniae* serotype 6D were reported in Poland (12). Because serotypes 6C and 6D were recognized after the introduction of PCV7, the surveillance data for infection with these serotypes in the United States and other countries are retrospective (12,18,19). PCV7 was released in Japan in February 2010 and widespread PCV7 vaccination is expected to lead to a similarly large reduction in pneumococcal infections, including IPD, pneumonia, and otitis media, in both the immunized and nonimmunized populations to that observed in other countries. We have initiated a population-based study to monitor the changes in IPD incidence and the serotype distribution among Japanese children, and we are also monitoring the colonized *S. pneumoniae* in the nasopharynx of healthy children. Initial results showed that *S. pneumoniae* serotype 6C was isolated from less than 2% of IPD cases without PCV7 vaccination (unpublished data) but could be isolated from the nasopharyngeal mucosa of 9.5% of the healthy children. PCV7, which includes only serotype-6B conjugate, would not affect the colonization or infection by *S. pneumoniae* serotypes 6C and/or 6D. A prospective surveillance on both colonization and infection by *S. pneumoniae* serotypes 6C, 6D, and others is therefore warranted to obtain an accurate evaluation of the effects of the 7- and 13-valent conjugate vaccines.

**Acknowledgments** This work was supported by grants from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan (H21-Shinkou-ippan-002 and H21-Shinkou-ippan-008), the Japanese Society for Pediatric Infectious Diseases, St. Luke's Life Science Institute, and the Mother and Child Health Foundation.

**Conflict of interest** None to declare.

## REFERENCES

1. Austrian, R. and Gold, J. (1964): Pneumococcal bacteremia with special reference to bacteremic pneumococcal pneumonia. *Ann. Intern. Med.*, 60, 759–776.
2. Ishiwada, N., Kurosaki, T., Terashima, I., et al. (2008): The incidence of pediatric invasive pneumococcal disease in Chiba prefecture, Japan (2003–2005). *J. Infect.*, 57, 455–458.
3. Pallarés, R., Liñares, J., Vadillo, M., et al. (1995): Resistance to penicillin and cephalosporin and mortality from severe pneumococcal pneumonia in Barcelona, Spain. *N. Engl. J. Med.*, 333, 474–480.
4. Bratcher, P.E., Kim, K.H., Kang, J.H., et al. (2010): Identification of natural pneumococcal isolates expressing serotype 6D by genetic, biochemical and serological characterization. *Microbiology*, 156, 555–560.
5. Park, I.H., Park, S., Hollingshead, S.K., et al. (2007): Genetic basis for the new pneumococcal serotype, 6C. *Infect. Immun.*, 75, 4482–4489.
6. Park, I.H., Pritchard, D.C., Cartee, R., et al. (2007): Discovery of a new capsular serotype (6C) within serogroup 6 of *Streptococcus pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.*, 45, 1225–1233.
7. Carvalho, M. da G., Pimenta, F.C., Gertz, R.E., Jr., et al. (2009): PCR-based quantitation and clonal diversity of the current prevalent invasive serogroup 6 pneumococcal serotype, 6C, in the United States in 1999 and 2006 to 2007. *J. Clin. Microbiol.*, 47, 554–559.
8. Jacobs, M.R., Dagan, R., Bajaksouzian, S., et al. (2010): Validation of factor antiserum 6d for serotyping *Streptococcus pneumoniae* serotype 6C. *J. Clin. Microbiol.*, 48, 1456–1457.
9. Jacobs, M.R., Good, C.E., Bajaksouzian, S., et al. (2008): Emergence of *Streptococcus pneumoniae* serotypes 19A, 6C, and 22F and serogroup 15 in Cleveland, Ohio, in relation to introduction of the protein-conjugated pneumococcal vaccine. *Clin. Infect. Dis.*, 47, 1388–1395.
10. Tocheva, A.S., Jefferies, J.M., Christodoulides, M., et al. (2010): Increase in serotype 6C pneumococcal carriage, United Kingdom. *Emerg. Infect. Dis.*, 16, 154–155.
11. Jin, P., Kong, F., Xiao, M., et al. (2009): First report of putative *Streptococcus pneumoniae* serotype 6D among nasopharyngeal isolates from Fijian children. *J. Infect. Dis.*, 200, 1375–1380.
12. Kuch, A., Sadowy, E., Skoczynska, A., et al. (2010): First report of *Streptococcus pneumoniae* serotype 6D isolates from invasive infections. *Vaccine*, 28, 6406–6407.
13. Otsuka, T., Ono, T. and Okazaki, M. (2009): Resistance of nasopharyngeal pathogens and antimicrobial prescription rates for children in an area under controlled antimicrobial use. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 28, 128–130.
14. Bratcher, P.E. and Nahm, M.H. (2010): Cross-reactivity of current serogroup 6 factor sera from Statens Serum Institut with the recently described pneumococcal serotype 6D. *J. Clin. Microbiol.*, 48, 3044–3045.
15. Oftadeh, S., Satzke, C. and Gilbert, G.L. (2010): Identification of newly described *Streptococcus pneumoniae* serotype 6D by use of the Quellung reaction and PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 48, 3378–3379.
16. Enright, M.C. and Spratt, B.G. (1998): A multilocus sequence typing scheme for *Streptococcus pneumoniae*: identification of clones associated with serious invasive disease. *Microbiology*, 144, 3049–3060.
17. Mavroidi, A., Godoy, D., Aanensen, D.M., et al. (2004): Evolutionary genetics of the capsular locus of serogroup 6 pneumococci. *J. Bacteriol.*, 186, 8181–8192.
18. Lexau, C.A., Lynfield, R., Danila, R., et al. (2005): Changing epidemiology of invasive pneumococcal disease among older adults in the era of pediatric pneumococcal conjugate vaccine. *JAMA*, 294, 2043–2051.
19. Pilišvili, T., Lexau, C., Farley, M.M., et al. (2010): Sustained reductions in invasive pneumococcal disease in the era of conjugate vaccine. *J. Infect. Dis.*, 201, 32–41.
20. Whitney, C.G., Farley, M.M., Hadler, J., et al. (2003): Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugate vaccine. *N. Engl. J. Med.*, 348, 1737–1746.
21. Byington, C.L., Samore, M.H., Stoddard, G.J., et al. (2005): Temporal trends of invasive disease due to *Streptococcus pneumoniae* among children in the intermountain west: emergence of nonvaccine serogroups. *Clin. Infect. Dis.*, 41, 21–29.
22. Hicks, L.A., Harrison, L.H., Flannery, B., et al. (2007): Incidence of pneumococcal disease due to non-pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) serotypes in the United States during the era of widespread PCV7 vaccination, 1998–2004. *J. Infect. Dis.*, 196, 1346–1354.
23. Pelton, S.I., Huot, H., Finkelstein, J.A., et al. (2007): Emergence of 19A as virulent and multidrug resistant pneumococcus in Massachusetts following universal immunization of infants with pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 26, 468–472.
24. Singleton, R.J., Hennessy, T.W., Bulkow, L.R., et al. (2007): Invasive pneumococcal disease caused by nonvaccine serotypes among Alaska native children with high levels of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine coverage. *JAMA*, 297, 1784–1792.

## Case Report

Neonatal bacterial meningitis caused by *Streptococcus gallolyticus* subsp. *pasteurianus*Sagano Onoyama,<sup>1,2</sup> Reina Ogata,<sup>1,2</sup> Akihito Wada,<sup>3</sup> Mitsumasa Saito,<sup>2</sup> Kenji Okada<sup>4</sup> and Tatsuo Harada<sup>1</sup>

## Correspondence

Sagano Onoyama  
ped@fukuoka-med.jrc.or.jp<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Fukuoka Red Cross Hospital, Fukuoka, Japan<sup>2</sup>Department of Pediatrics, Kyushu University Hospital, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan<sup>3</sup>Department of Bacteriology, National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan<sup>4</sup>Department of Pediatrics, Fukuoka National Hospital, 4-39-1 Yakatabaru, Minami-ku, Fukuoka 811-1394, Japan

This report describes a case of neonatal bacteraemia and meningitis due to *Streptococcus gallolyticus* subsp. *pasteurianus*. Based on the identification kit results, this species may have been reported as *Streptococcus bovis* or *S. bovis* biotype II. The accurate identification of this organism is mandatory for evaluating the aetiology of neonatal meningitis.

Received 29 September 2008

Accepted 26 May 2009

## Case report

A 5-day-old female was admitted to Fukuoka Red Cross Hospital. She was born at term, weighing 3192 g, and the culture of a maternal prenatal vaginal swab was negative for group B streptococcus. The labour was uneventful, without premature rupture of the membrane. The patient had a fever of 38.4°C on the fourth day after birth. The results of blood examination revealed that there were 3600 leukocytes ml<sup>-1</sup> and that the C-reactive protein level was less than 1 mg l<sup>-1</sup>. The fever persisted the next day, and the patient was then admitted to the hospital. The patient's anterior fontanel bulged slightly, and her overall activity was poor. A sepsis work-up and lumbar puncture were performed. The results of the blood examination were as follows: 13 900 leukocytes ml<sup>-1</sup>; 12.8 g haemoglobin dl<sup>-1</sup>; 279 000 platelets ml<sup>-1</sup>; and 65 mg C-reactive protein l<sup>-1</sup>. The cerebrospinal fluid was cloudy with 12 971 leukocytes ml<sup>-1</sup> (12 800 polymorphonuclear cells ml<sup>-1</sup> and 171 mononuclear cells ml<sup>-1</sup>). The cerebrospinal glucose level was 21 mg dl<sup>-1</sup> and the protein level was 3.32 g dl<sup>-1</sup>. No antigens for *Haemophilus influenzae* type b, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* group A, B, or C, or *E. coli* K1 were detected (Slidex-Méningite-Kit5; bioMérieux) in the cerebrospinal fluid. Treatment with cefotaxime (200 mg·kg<sup>-1</sup> per day), panipenem–betamipron (120 mg·kg<sup>-1</sup> per day) and intravenous  $\gamma$ -globulin (300 mg·kg<sup>-1</sup> per day for 2 days) was started.

Cultures of both the cerebrospinal fluid and blood showed Gram-positive cocci, which were initially reported as *Streptococcus* species (non-enterococcus). The cerebrospinal fluid isolate was susceptible to penicillin G (MIC 0.06  $\mu$ g ml<sup>-1</sup>), cefotaxime (MIC 0.06  $\mu$ g ml<sup>-1</sup>) and imipenem (MIC  $\leq$ 0.008  $\mu$ g ml<sup>-1</sup>). Panipenem–betamipron treatment was

discontinued, and treatment with cefotaxime alone continued for 14 days. Culture of the cerebrospinal fluid was negative on day 3 of hospitalization. Non-contrast head computed tomography scans, which were obtained on day 11 of hospitalization, revealed no intracranial haemorrhage or subdural abscess. The patient was discharged without sequelae.

The isolate possessed Lancefield's D antigen (Streptex; Remel). According to an API 20 Strep test (bioMérieux), the isolate was identified as *S. bovis* biotype II/2. Because the *S. bovis* complex has been recently reclassified (Schlegel *et al.*, 2003; and see below), we tested for gallate hydrolysis (tannase) activity of the isolate according to the reference by Osawa *et al.* (1995). Various biochemical activities of the isolate are described in Table 1 with comparison to those of *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus* and *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus*. The biochemical characteristics of the isolate coincided well with those of *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus*. A positive result was obtained with the recently developed PCR test for detecting *sodA* of *S. gallolyticus* (data not shown) (Sasaki *et al.*, 2004). The 5' side of the isolate's 16S rRNA gene sequence revealed 99.4% (354/356 bp) and 100% (356/356 bp) homology with those of *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus* (ATCC 43143) and *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus* (ATCC 43144), respectively. From the results of these biochemical and molecular tests, the isolate was identified as *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus*.

## Discussion

*S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus* belongs to the group D streptococci, and was previously recognized as *S. bovis*



**Table 1.** Biochemical characteristics of the isolate from this case and the three subspecies of *S. gallolyticus*

The characteristics of three subspecies of *S. gallolyticus* refer to a reference by Schlegel *et al.* (2003).

Characteristic	Our isolate	<i>S. gallolyticus</i> subsp. <i>gallolyticus</i>	<i>S. gallolyticus</i> subsp. <i>pasteurianus</i>	<i>S. gallolyticus</i> subsp. <i>macedonicus</i>
<b>Hydrolysis of:</b>				
Aesculin	+	+	+	-
Gallate (tannase activity)	-	+	-	-
<b>Production of:</b>				
$\beta$ -Glucosidase	+	+	+	-
$\beta$ -Glucuronidase	-	-	+	-
$\alpha$ -Galactosidase	+	+	v	v
$\beta$ -Galactosidase	+	-	+	+
<b>Acidification of:</b>				
Starch	-	+	-	+
Glycogen	-	+	-	-
Inulin	-	+	-	-
Lactose	+	+	+	+
Mannitol	-	+	-	-
Raffinose	+	+	v	-
Trehalose	+	+	+	-

+,  $\geq 80$  % activity compared to positive control reaction; -,  $\leq 20$  % activity compared to positive control reaction; v, 21–79 % activity compared to positive control reaction.

biotype II/2. *S. bovis* is delineated into two biotypes according to their ability (biotype I) or inability (biotype II) to ferment mannitol (Facklam, 1972; Parker & Ball, 1976). *S. bovis* (biotype II) is further divided into biotypes II/1 and II/2 on the basis of phenotypic testing with the Rapid Strep system (bioMérieux) (Coykendall & Gustafson, 1985). It has been well documented that *S. bovis* (biotype I) is associated with colonic neoplasia and bacterial endocarditis in adults (Ruoff *et al.*, 1989; Herrero *et al.*, 2002). In contrast, *S. bovis* (biotype II) is associated with invasive infection in neonates and infants (Grant *et al.*, 2000; Cheung *et al.*, 2000; Gavin *et al.*, 2003; Nagai *et al.*, 2008), as well as adult bacteraemia both in Western and Eastern countries (Clarridge *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2003). Among the reported cases of neonatal invasive infection due to *S. bovis* (Gerber *et al.*, 2006; Nagai *et al.*, 2008), *S. bovis* biotype II/2 was described in two cases (Gavin *et al.*, 2003; Nagai *et al.*, 2008). No reports have described the aetiological organism of invasive infections as *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus*.

The taxonomic status of the *S. bovis* group has been evolving in the last few decades. Farrow *et al.* (1984) demonstrated that the *S. bovis*/*Streptococcus equinus* complex comprised six DNA groups. It was shown that *S. bovis* biotype II/2 belonged to the DNA group 2 of Farrow's classification (Schlegel *et al.*, 2003; Poyart *et al.*, 2002). According to the biochemical characteristics, the members in this DNA group have been reclassified and renamed *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus*, *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus* or *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus* (Schlegel *et al.*, 2003). These subspecies have similar 16S rRNA gene sequences and cannot be discriminated from

each other solely by 16S rRNA gene sequence (Clarridge *et al.*, 2001; Schlegel *et al.*, 2003). Instead, the aesculin- and gallate-hydrolysis activity measurement works for identifying these subspecies, though the latter is not included in the identification kit (Table 1) (Osawa & Sasaki, 2004). According to the new classification, *S. bovis* biotype I and *S. bovis* biotype II/2 correspond to *S. gallolyticus* subsp. *gallolyticus* and *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus*, respectively (Schlegel *et al.*, 2003).

The isolate from our case was susceptible to penicillin G, cefotaxime and panipenem, and resistant to erythromycin and minocycline. *Enterococcus* spp. have phenotypic characteristics similar to those of *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus*, i.e. they are non-haemolytic, positive for Lancefield's D antigen and positive for aesculin hydrolysis. Penicillin G is considered to be an efficient treatment for neonatal infections caused by *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus*, while vancomycin and/or aminoglycosides may be considered for the treatment of neonatal infections caused by *Enterococcus*. Thus, the accurate identification of the isolate is crucial for selecting appropriate antibiotic therapy.

This report describes a case of neonatal bacterial meningitis due to *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus*. The importance of this organism as a causative agent of invasive infection in neonates should be emphasized.

### Acknowledgements

We thank Sharon Y. A. M. Villanueva for her significant advice regarding the manuscript. We also thank T. Miyamura, Director

General, National Institute of Infectious Diseases, for support of this work. This work was supported by grants (Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices from the Ministry of Health, Labour and Welfare Japan) to K. Okada and T. Miyamura.

## References

- Cheung, M., Pelot, M., Nadarajah, R. & Kohl, S. (2000).** Neonate with late onset *Streptococcus bovis* meningitis: case report and review of the literature. *Pediatr Infect Dis J* **19**, 891–893.
- Clarridge, J. E., III, Attorri, S. M., Zhang, Q. & Bartell, J. (2001).** 16S ribosomal DNA sequence analysis distinguishes biotypes of *Streptococcus bovis*: *Streptococcus bovis* biotype II/2 is a separate genospecies and the predominant clinical isolate in adult males. *J Clin Microbiol* **39**, 1549–1552.
- Coykendall, A. L. & Gustafson, K. B. (1985).** Deoxyribonucleic acid hybridizations among strains of *Streptococcus salivarius* and *Streptococcus bovis*. *Int J Syst Bacteriol* **35**, 274–280.
- Facklam, R. R. (1972).** Recognition of group D streptococcal species of human origin by biochemical and physiological tests. *Appl Microbiol* **23**, 1131–1139.
- Farrow, J. A., Kruze, J., Phillips, B. A., Bramley, A. J. & Collins, M. E. (1984).** Taxonomic studies on *Streptococcus bovis* and *Streptococcus equinus*: description of *Streptococcus alactolyticus* sp. nov. and *Streptococcus saccharolyticus* sp. nov. *Syst Appl Microbiol* **5**, 467–482.
- Gavin, P. J., Thomson, R. B., Jr, Horng, S.-J. & Yogev, R. (2003).** Neonatal sepsis caused by *Streptococcus bovis* variant (biotype II/2): report of a case and review. *J Clin Microbiol* **41**, 3433–3435.
- Gerber, J. S., Glas, M., Frank, G. & Shah, S. M. (2006).** *Streptococcus bovis* infection in young infants. *Pediatr Infect Dis J* **25**, 1069–1073.
- Grant, R. J., Whitehead, T. R. & Orr, J. E. (2000).** *Streptococcus bovis* meningitis in an infant. *J Clin Microbiol* **38**, 462–463.
- Herrero, I. A., Rouse, M. S., Piper, K. E., Alyaseen, S. A., Steckelberg, J. M. & Patel, R. (2002).** Reevaluation of *Streptococcus bovis* endocarditis cases from 1975 to 1985 by 16S ribosomal DNA sequence analysis. *J Clin Microbiol* **40**, 3848–3850.
- Lee, R. A., Woo, P. C., To, A. P. C., Lau, S. K. P., Wong, S. S. Y. & Yuen, K.-Y. (2003).** Geographical difference of disease association in *Streptococcus bovis* bacteraemia. *J Med Microbiol* **52**, 903–908.
- Nagai, K., Gotoh, K., Hirotaki, S., Hidaka, H., Koga, H., Ikenaga, M., Masunaga, K., Tsumura, N. & Hashimoto, K. (2008).** A case of bacterial meningitis due to *Streptococcus bovis* in an infant with normal cerebrospinal fluid findings at the first CSF examination. *Kansenshogaku Zasshi* **82**, 26–29 (in Japanese).
- Osawa, R. & Sasaki, E. (2004).** Novel observations of genotypic and metabolic characteristics of three subspecies of *Streptococcus gallolyticus*. *J Clin Microbiol* **42**, 4912–4913.
- Osawa, R., Fujisawa, T. & Sly, L. I. (1995).** *Streptococcus gallolyticus* sp. nov.; gallate degrading organisms formerly assigned to *Streptococcus bovis*. *Syst Appl Microbiol* **18**, 74–78.
- Parker, M. T. & Ball, L. C. (1976).** Streptococci and aerococci associated with systemic infection in man. *J Med Microbiol* **9**, 275–302.
- Poyart, C., Quesne, G. & Trieu-Cuot, P. (2002).** Taxonomic dissection of the *Streptococcus bovis* group by analysis of manganese-dependent superoxide dismutase gene (*sodA*) sequences: reclassification of '*Streptococcus infantarius* subsp. coli' as *Streptococcus lutetiensis* sp. nov. and *Streptococcus bovis* biotype II.2 as *Streptococcus pasteurianus* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* **52**, 1247–1255.
- Ruoff, K. L., Miller, S. I., Garner, C. V., Ferraro, M. J. & Calderwood, S. B. (1989).** Bacteremia with *Streptococcus bovis* and *Streptococcus salivarius*: clinical correlates of more accurate identification of isolates. *J Clin Microbiol* **27**, 305–308.
- Sasaki, E., Osawa, R., Nishitani, Y. & Whiley, R. A. (2004).** Development of a diagnostic PCR assay targeting the Mn-dependent superoxide dismutase gene (*sodA*) for identification of *Streptococcus gallolyticus*. *J Clin Microbiol* **42**, 1360–1362.
- Schlegel, L., Grimont, F., Ageron, E., Grimont, P. A. D. & Bouvet, A. (2003).** Reappraisal of the taxonomy of the *Streptococcus bovis*/*Streptococcus equinus* complex and related species: description of *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* subsp. nov., *S. gallolyticus* subsp. *macedonicus* subsp. nov. and *S. gallolyticus* subsp. *pasteurianus* subsp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* **53**, 631–645.

detected in 22 of 33 strains, and SCCmec IV genes were identified in 11 of 33 strains. Among the non-dialysis group, SCCmec II or SCCmec III genes were identified in 28 of 58 strains, and the SCCmec IV gene was detected in 30 of 58 strains. This analysis revealed no statistically significant difference between the haemodialysis and non-dialysis groups ( $P=0.125$ ). Irrespective of the molecular characteristics of MRSA strains, timely administration of effective antibiotics could be a more important factor in determining clinical outcome in patients with NHA-MRSA bacteraemia. Similar findings have been reported by Schram et al. [6], who showed that patients with MRSA infections initially receiving inappropriate antibiotic treatments had twice the risk of mortality.

In conclusion, our study suggests that undergoing maintenance haemodialysis is the most potent predictor for 30-day mortality in patients with NHA-MRSA bacteraemia, and administration of appropriate antibiotics within 72 h of hospital arrival may improve patient outcome.

### Acknowledgment

The authors would like to thank Ms Soa-Yu Chan for assistance in the statistical computation.

**Funding:** This work was supported by grants from the Ta-Tung Kidney Foundation and the Mrs Hsiu-Chin Lee Kidney Research Fund (Taipei, Taiwan).

**Competing interests:** None declared.

**Ethical approval:** This study was approved by the National Taiwan University Hospital Research Ethics Committee (No. 200701058R).

### References

- [1] Ala'Aldeen D. A non-multiresistant community MRSA exposes its genome. *Lancet* 2002;359:1791–2.
- [2] Faria NA, Oliveira DC, Westh H, Monnet DL, Larsen AR, Skov R, et al. Epidemiology of emerging methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Denmark: a nationwide study in a country with low prevalence of MRSA infection. *J Clin Microbiol* 2005;43:1836–42.
- [3] Greiner W, Rasch A, Köhler D, Salzberger B, Fätkenheuer G, Leidig M. Clinical outcome and costs of nosocomial and community-acquired *Staphylococcus aureus* bloodstream infection in haemodialysis patients. *Clin Microbiol Infect* 2007;13:264–8.
- [4] Engemann JJ, Friedman JY, Reed SD, Griffiths RI, Szczech LA, Kaye KS, et al. Clinical outcomes and costs due to *Staphylococcus aureus* bacteremia among patients receiving long-term hemodialysis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005;26:534–9.
- [5] Kollef MH, Shorr A, Tabak YP, Gupta V, Liu LZ, Johannes RS. Epidemiology and outcomes of health-care-associated pneumonia: results from a large US database of culture-positive pneumonia. *Chest* 2005;128:3854–62.
- [6] Schramm GE, Johnson JA, Doherty JA, Micek ST, Kollef MH. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* sterile-site infection: the importance of appropriate initial antimicrobial treatment. *Crit Care Med* 2006;34:2069–74.

Chi-Ting Su<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Renal Division, Department of Internal Medicine, National Taiwan University Hospital, National Taiwan University College of Medicine, 7 Chung-San South Road, Zhongzheng District, Taipei 100, Taiwan

<sup>b</sup> Renal Division, Department of Internal Medicine, National Taiwan University Hospital Yun-Lin Branch, Dou-Liou City, Yun-Lin, Taiwan

Po-Ren Hsueh

Departments of Laboratory Medicine and Internal Medicine, National Taiwan University Hospital, National Taiwan University College of Medicine, Taipei, Taiwan

Vin-Cent Wu

Renal Division, Department of Internal Medicine, National Taiwan University Hospital, National Taiwan University College of Medicine, 7 Chung-San South Road, Zhongzheng District, Taipei 100, Taiwan

Cheng-Yi Wang

Department of Internal Medicine, Cardinal Tien Hospital, Fu-Jen Catholic University, Taipei, Taiwan

Fu-Chang Hu

National Centre of Excellence for General Clinical Trial and Research, National Taiwan University Hospital, National Taiwan University College of Medicine, Taipei, Taiwan

Yung-Ming Chen\*

Tun-Jun Tsai

Kwan-Dun Wu

Renal Division, Department of Internal Medicine, National Taiwan University Hospital, National Taiwan University College of Medicine, 7 Chung-San South Road, Zhongzheng District, Taipei 100, Taiwan

\* Corresponding author. Tel.: +886 2 2312 3456x65993;

fax: +886 2 2322 2955.

E-mail address: chenym@ntuh.gov.tw (Y.-M. Chen)

doi:10.1016/j.ijantimicag.2009.12.016

### Free concentration and protein-binding ratio of ceftriaxone in cerebrospinal fluid in paediatric patients with purulent meningitis caused by *Haemophilus influenzae* type b

Sir,

Ceftriaxone (CRO), which penetrates well into the cerebrospinal fluid (CSF), is recommended as the antibiotic of choice for empirical and specific therapy of bacterial meningitis in children [1]. However, there is concern that treatment failure may occur with antibiotics having a high protein-binding ratio, such as CRO, since bactericidal activity is achieved by unbound drug at the site of infection [2]. There have been numerous reports of good total concentrations in CSF [3] but few reports on free concentrations. Therefore, in the present study, free CRO concentrations and protein-binding ratios in CSF were examined to enhance our understanding of the clinical efficacy of CRO against bacterial meningitis.

Between April 2005 and June 2008, 12 paediatric patients aged 2 months to 5 years, suspected of having bacterial meningitis based on pleocytosis, CSF gram stain and latex agglutination antigen detection test results, were admitted to Chiba Children's Hospital and Chiba University Hospital (Chiba City, Japan). In all cases, *Haemophilus influenzae* serotype b (Hib) was recovered from the CSF. In Japan, Hib remains a major cause of childhood bacterial meningitis [4] as introduction of the Hib-conjugated vaccine was delayed. Fourteen CSF samples were collected after written informed consent had been obtained. All patients had normal renal and hepatic functions. In each case, CRO 50 mg/kg body weight was given intravenously for 30 min every 12 h. Because of the difficulty of sampling from infants, CSF samples could not be collected using the same time schedule. All samples were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until assays were performed.

CRO concentrations were determined by an agar well diffusion bioassay as described previously [5]. The test strain, *Escherichia coli* N[H] JC-2, was cultured in trypticase soy broth at  $35^{\circ}\text{C}$  for 18–20 h and was inoculated into Antibiotic medium No. 1 or No. 2 (Difco, Franklin Lakes, NJ) at 1.0%. A standard solution of CRO was diluted with 1/15 M phosphate buffer solution (pH 7.0) to give a 2000 mg/L CRO solution. Next, 1.0 mL of this 2000 mg/L CRO solution was serially diluted two-fold with 1.0 mL of 1/15 M phosphate buffer solution to give CRO solutions of 200 mg/L to 0.10 mg/L to determine standard curves.

Free drug was separated from bound drug by membrane ultrafiltration using a Centrifree YM-30 membrane (Cat No. 4104; Millipore Corp., Bedford, MA) as CRO does not bind to this mem-

**Table 1**  
Concentrations and protein-binding ratios of ceftriaxone (CRO) in cerebrospinal fluid, minimal inhibitory concentrations (MICs), and ratios of free concentration to MIC in 12 cases.

Patient	Concentration (mg/L)		Protein-binding ratio (%)	MIC of CRO (mg/L)	Free concentration/MIC ratio	Therapeutic day	Post-dose interval (h)
	Total	Free					
1	2.17	1.76	18.9	<0.03	>58.7	3	0.5
2	3.32	2.50	24.7	<0.03	>83.3	6	1
3	2.85	2.64	7.4	<0.03	>88	10	3.5
4	4.19	3.83	8.6	0.12	31.9	9	0.75
5	2.17	1.68	22.6	<0.03	>56	2	1.5
6	1.07	0.90	15.6	<0.03	>30	2	1.5
7	17.40	13.90	20.1	<0.03	>463.3	2	0.25
8	1.25	1.05	16.0	<0.03	35	2	1.25
9	3.44	2.30	33.1	<0.03	>76.7	2	0
10	2.21	1.41	36.2	<0.03	>47	2	1.5
11	2.90	2.39	17.6	<0.03	79.7 <sup>a</sup>	3	0.75
	4.64	4.14	10.8			7	1.5
12	6.66	5.34	19.8	<0.03	>178 <sup>a</sup>	2	0.5
	23.3	20.40	12.4			3	0.75
Mean ± S.D.	5.54 ± 4.39	4.59 ± 3.70	18.8 ± 6.21				

S.D., standard deviation.

<sup>a</sup> Initial data of free concentration were used in Cases 11 and 12.

brane device [6]. Centrifuge units, in which 0.3 mL of samples were placed, were centrifuged at 2000 × g for 30 min at 5 °C. Following centrifugation, samples that remained in the units were used for determination of free concentration. Samples that were not centrifuged were used for determination of total concentration.

Before incubation, preliminary diffusion was performed at 5 °C (±4 °C) for 1 h. Agar plates were incubated at 35 °C (±3 °C) for 18–20 h. Diameters (mm) of the inhibition zone observed after incubation were determined to two decimal places using a Digimatic caliper micrometer (Billerica, MA). The diameters of three inhibition zones per sample solution were averaged. Protein-binding ratios (%) were determined as follows: (total – free concentration)/total concentration × 100. The minimal inhibitory concentration (MIC) of CRO was determined by broth microdilution in accordance with the Clinical and Laboratory Standards Institute [7].

Table 1 shows CRO concentrations and protein-binding ratios in CSF. Total and free concentrations in CSF [mean ± standard deviation (S.D.)] were 5.54 ± 4.39 mg/L and 4.59 ± 3.70 mg/L, respectively. The mean ± S.D. protein-binding ratio in CSF was 18.8 ± 6.21%. Eight serum samples obtained from 7 of the 12 patients were also measured. Total and free CRO concentrations in serum were 136.1 ± 85.2 mg/L and 33.5 ± 33.3 mg/L, respectively and the protein-binding ratio in serum was 81.8 ± 8.35% (data not shown). Thus, low protein-binding ratios were observed in CSF compared with those in serum.

Although killing of bacteria by β-lactams depends on the time the drug concentration remains above the MIC, CSF concentrations that exceed the minimal bactericidal concentration by ≥10–30-fold are also necessary for attainment of consistent and rapid bactericidal activity [8]. Moreover, variation in CRO concentrations in CSF is assumed to be not very wide when CRO is given repeatedly [3]. Therefore, the ratio of CSF free concentration to MIC was determined (Table 1). In all cases, free concentrations were high enough to exceed MICs by >30-fold. However, MICs were <0.03 mg/L in all but one case (Case 4), in which a slightly elevated MIC was seen (0.12 mg/L). Further examination of the administration of high-dose CRO is thus necessary in areas with a high prevalence of β-lactamase-non-producing ampicillin-resistant strains, such as Japan [4].

In conclusion, we confirmed that CRO exists primarily in the free form at a high concentration in the CSF. Consequently, when investigating the pharmacokinetics of CRO for meningitis, it is apparently

less important to consider the CSF protein-binding ratio. Based on these results, CRO has suitable pharmacokinetic characteristics for clinical usage against bacterial meningitis.

**Funding:** No funding sources.

**Competing interests:** None declared.

**Ethical approval:** Not required.

## References

- [1] Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL, Kaufman BA, Roos KL, Scheld WM, et al. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 2004;39:1267–84.
- [2] Craig WA, Ebert SC. Protein binding and its significance in antibacterial therapy. *Infect Dis Clin North Am* 1989;3:407–14.
- [3] Goldwater PN. Cefotaxime and ceftriaxone cerebrospinal fluid levels during treatment of bacterial meningitis in children. *Int J Antimicrob Agents* 2005;26:408–11.
- [4] Hasegawa K, Kobayashi R, Takada E, Ono A, Chiba N, Morozumi M, et al. High prevalence of type b β-lactamase-non-producing ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae* in meningitis: the situation in Japan where Hib vaccine has not been introduced. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:1077–82.
- [5] Simon HJ, Yin EJ. Microbioassay of antimicrobial agents. *Appl Microbiol* 1970;19:573–9.
- [6] Matzke GR, Frye RF, Joy MS, Palevsky PM. Determinants of ceftriaxone clearance by continuous venovenous hemofiltration and hemodialysis. *Pharmacotherapy* 2000;20:635–43.
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard. 7th ed. Document M7-A7. Wayne, PA: CLSI; 2006.
- [8] Schmidt T, Täuber MG. Pharmacodynamics of antibiotics in the therapy of meningitis: infection model observations. *J Antimicrob Chemother* 1993;31(Suppl. D):61–70.

Tadashi Hoshino\*

Division of Infectious Diseases, Chiba Children's Hospital,  
579-1 Heta cho, Midori-ku, Chiba City 266-0007, Japan

Naruhiko Ishiwada

Yoichi Kohno

Department of Pediatrics, Chiba University, Graduate School of  
Medicine, 1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba 260-8670, Japan

\* Corresponding author. Tel.: +81 43 292 2111;

fax: +81 43 292 3815.

E-mail address: t.hshn12@mc.pref.chiba.lg.jp (T. Hoshino)

doi:10.1016/j.ijantimicag.2010.01.001

## 2007年から2009年のインフルエンザ菌・肺炎球菌全身感染症罹患状況

千葉大学医学部附属病院小児科<sup>1)</sup>, 千葉県こども病院感染症科<sup>2)</sup>, くろさきこどもクリニック<sup>3)</sup>

石和田稔彦<sup>1)</sup> 萩田 純子<sup>1)</sup> 菱木はるか<sup>1)</sup>  
星野 直<sup>2)</sup> 黒崎 知道<sup>3)</sup> 河野 陽一<sup>1)</sup>

### 要 旨

インフルエンザ菌 b 型 (Hib) ワクチンと 7 価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV7) 導入前後の状況を把握する目的で, 千葉県内及び周辺の小児入院施設を対象に, 2007 年~2009 年の 3 年間に血液, 髄液などの無菌部位からインフルエンザ菌及び肺炎球菌が分離された全身感染症症例に関する調査を実施した. インフルエンザ菌全身感染症症例数 (5 歳未満人口 10 万人あたりの罹患率) は 2007 年 19 例 (6.4), 2008 年 38 例 (13.5), 2009 年 32 例 (11.2) であった. 血清型別は 76 例 (76/89; 85.4%) で実施されており, 1 例を除き Hib (75/76; 98.7%) であった. Hib ワクチンの供給不足により, 接種率が低値にとどまっていたため, Hib ワクチン導入後の発症数の大幅な減少は認められなかった. 肺炎球菌全身感染症症例数 (5 歳未満人口 10 万人あたりの罹患率) は 2007 年 39 例 (13.5), 2008 年 61 例 (21.3), 2009 年 76 例 (26.1) であり, 3 年間で罹患数が約 2 倍に急増していた. 血清型は 60 例 (34.1%) の株で実施されており, PCV7 に含まれている血清型は 65.0% (39 例/60 例) であった. PCV7 導入後高い接種率が確保出来れば, 肺炎球菌全身感染症の減少効果が期待できる. 両ワクチンの安定供給と一日も早い定期接種化が強く望まれる.

キーワード: インフルエンザ菌, 肺炎球菌, 罹患率, 全身感染症, ワクチン

### はじめに

2008 年 12 月にインフルエンザ菌 b 型 (*Haemophilus influenzae* type b : Hib) ワクチンが, 日本においても接種可能となった. また, 2010 年 2 月, 7 価肺炎球菌結合型ワクチン (7-valent pneumococcal conjugate vaccine : PCV7) も接種可能となった. 両ワクチン導入前後のインフルエンザ菌, 肺炎球菌による髄膜炎及び全身感染症の疾病動態と分離細菌の血清型を検討し評価することは, 両ワクチン効果の正確な判定, 定期接種化を含めた今後のワクチン行政にとって重要であると考えられる. 2007 年から, 厚生労働省の班研究 (代表神谷齊) として, 北海道, 福島県, 千葉県, 新潟県, 三重県, 岡山県, 高知県, 福岡県, 鹿児島県の 9 道県 (2009 年から沖縄県を含む 10 道県) において, インフルエンザ菌, 肺炎球菌全身感染症の罹患率調査が実施されている. 本稿では, 千葉県における調査結果について報告する.

### 対象と方法

千葉県内及び千葉県周辺で小児の入院施設を有する

施設 (東京都 4 施設, 埼玉県 4 施設, 茨城県 3 施設) を対象に, 2007 年 1 月 1 日~2009 年 12 月 31 日の 3 年間に血液, 髄液などの無菌部位からインフルエンザ菌及び肺炎球菌が分離された全身感染症症例 (髄膜炎, 菌血症以外の症例に関しても血液培養から細菌が分離された症例のみを対象とした) の症例数, 性別, 居住地, 診断名, 入院月, 発症時年齢, Hib ワクチン・PCV7 接種の有無, 基礎疾患の有無と種類, 起炎菌とその検出部位, 血清型実施の有無と結果, 初期投与抗菌薬, 合併症, 予後等について, 前方視的な報告書と半年毎に実施した後方視的なアンケート調査をもとに集計した. 分離されたインフルエンザ菌および肺炎球菌の血清型については, 各施設の細菌検査室での検討結果, ならびに国立感染症研究所へ菌株を送付し, 解析した結果をもとに集計した. 国立感染症研究所では, インフルエンザ菌の血清型別はインフルエンザ菌莢膜型別用免疫血清「生研」(デンカ生研) の抗血清を用い凝集反応法により, 肺炎球菌の血清型別は Statens Serum Institute (Copenhagen, Denmark) 製型別, 群別, 因子血清および自家製因子血清を用い, 膨潤法により実施した. 各年毎の罹患患者数については,  $\chi^2$  検定を用い有意水準 5% で統計学的検定を行った.

(平成 22 年 4 月 16 日受付) (平成 22 年 9 月 13 日受理)

別刷請求先: (〒260-8677) 千葉市中央区亥鼻1-8-1

千葉大学医学部附属病院小児科 石和田稔彦

E-mail: ishiwada@faculty.chiba-u.jp

表1 千葉県インフルエンザ菌全身感染症  
診断名・年次推移

	2007年	2008年	2009年
髄膜炎	11	23	18
喉頭蓋炎	3	0	1
蜂窩織炎	1	2	1
菌血症	2	5	3
肺炎	2	4	6
その他	0	4	3
合計	19	38	32
罹患率*	6.4	13.5	11.2

\*:/5歳未満人口10万人

表2 千葉県内肺炎球菌全身感染症  
診断名・年次推移

	2007年	2008年	2009年
菌血症	20	30	46
肺炎	11	24	20
髄膜炎	7	6	8
蜂窩織炎	1	1	2
合計	39	61	76
罹患率*	13.5	21.3	26.1

\*:/5歳未満人口10万人

## 結 果

### 1. 調査回収率

調査回収率(報告書ないしはアンケート調査により、症例の有無の報告が得られた施設/千葉県内小児・新生児入院可能施設)は、2007年86.4%(51施設/59施設)、2008年81.4%(48施設/59施設)、2009年82.0%(50/61施設)であった。

### 2. 症例数と診断名

表1に千葉県内在住者で千葉県内及び千葉県周辺の施設に入院したインフルエンザ菌全身感染症の年次別罹患数、罹患率を示す。症例数は2007年19例、2008年38例、2009年32例、合計89例であった。なお、2009年の症例のうち1例は、里帰り中に髄膜炎を発症し高知県の病院に入院した症例を含んでいる。この結果、千葉県5歳未満人口10万人あたりの罹患率は、6.4、13.5、11.2と推移していた。2007年と2008年と比較するとHib全身感染症罹患患者は有意に増加していたが、Hibワクチン導入後の2009年において、2008年1年間と比較し、発症数の大幅な減少はなく、統計学的にも有意差は認められなかった。なお、千葉県の5歳未満小児人口は2007年267,298人、2008年267,191人、2009年268,011人と推移しているが、大きな変動は認められていない。疾患別では髄膜炎が52例と最も多く、年次別にみると、症例数(5歳未満10万人あたりの罹患率)は、11例(4.1)、23例(8.2)、18例(6.3)となっていた。髄膜炎に関しては、各年毎の罹患患者数の推移に関して、有意差は認められなかった。2009年の髄膜炎例のうち、1例が罹患前にHibワクチンを1回接種していた。この症例は、免疫不全症などの基礎疾患のない10か月児で、Hibワクチン1回目接種約1か月後に髄膜炎を発症していた。分離されたインフルエンザ菌の血清型はb型であったが、入院時の抗PRP(polyribosyl ribitol phosphate)抗体(Hibに対する防御抗体)を測定したところ、0.1μg/ml未満であった。

表2に千葉県内に入院した肺炎球菌全身感染症の年次別罹患数、罹患率を示す。症例数は2007年39例、2008年61例、2009年76例、合計176例であった。千葉県5歳未満10万人あたりの罹患率は、13.5、21.3、26.1と推移しており、3年間で罹患数が約2倍に急増していた。特に、2007年から2008年にかけては、統計学的にも有意に増加が認められていた。疾患別では菌血症が96例と最も多く、ついで肺炎55例、髄膜炎21例の順となっていた。肺炎球菌全身感染症罹患例のうち、1例が23価肺炎球菌ワクチンを1回接種していた。

### 3. 月別症例数

図1に入院月の明らかなインフルエンザ菌全身感染症86例と肺炎球菌全身感染症170例の月別症例数を示す。インフルエンザ菌は6月に最も症例が多く、ついで3月、11月、12月に多かった。肺炎球菌は、5月に症例が最も多く、ついで4月となっていた。

### 4. 年齢と基礎疾患の有無

図2に、発症時年齢の明らかなインフルエンザ菌全身感染症86例と肺炎球菌全身感染症171例の年齢別症例数を示す。インフルエンザ菌全身感染症は、0歳児31例(うち6か月以下13例)、1歳児32例で、2歳未満の症例が全体の73.3%(63/86)を占めていた。また、肺炎球菌全身感染症は、0歳児32例(うち6か月以下9例)、1歳児74例で、2歳未満の症例が全体の62.0%(106/171)を占めていた。肺炎球菌全身感染症のうち、5歳以上の症例は13例あり、そのうち、10歳未満の症例は7例であった。既往歴・基礎疾患のある症例は、インフルエンザ菌全身感染症86例中、11例(12.8%)であり、その内訳は、早産・低出生体重5例、染色体異常2例、IgG2サブクラス欠損症1例、軽度運動発達遅延1例、言語発達遅滞1例、再生不良性貧血1例であった。また、肺炎球菌全身感染症では、171例中24例(14.0%)であり、その内訳は、急性白血病4例、染色体異常3例、再生不良性貧血2例、成長障害、SLE、精神運動発達遅滞、口唇裂、水頭症、低IgM血症、腸回転異常症、外傷後、肺動脈狭窄、胆道閉鎖症、膀胱尿管逆流症、言語発達遅滞、無脾症、慢性肺障害、思春

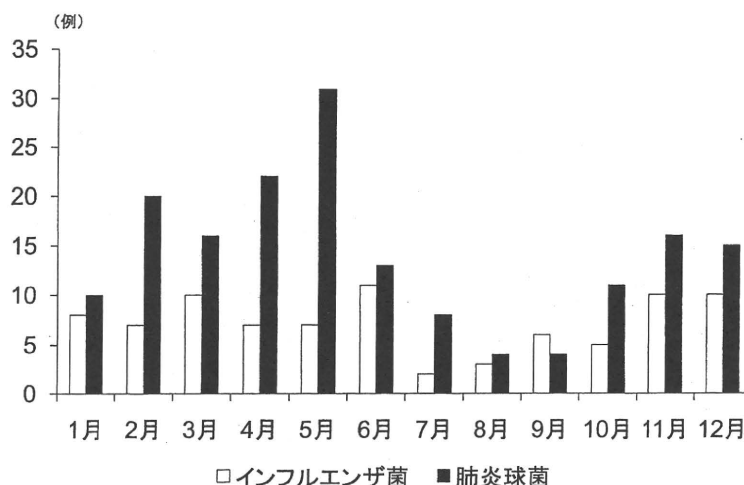


図1 インフルエンザ菌・肺炎球菌全身感染症の入院月別分布

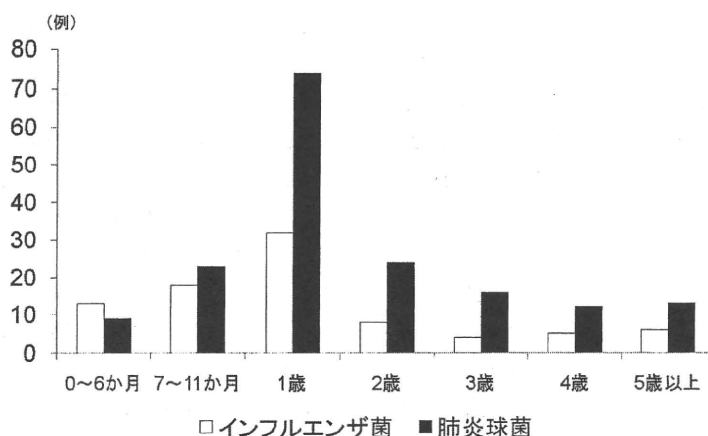


図2 インフルエンザ菌・肺炎球菌全身感染症の発症年齢分布

期早発症, 各1例であった。

#### 5. 予後

インフルエンザ菌全身感染症に関しては, 予後の明らかな75例のうち, 5例が後遺症を残していた。その内訳は, 難聴2例, 左上肢麻痺1例, 脳室拡大1例, 喉頭肉芽1例であった。死亡例の報告はなかった。肺炎球菌全身感染症に関しては, 予後の明らかな152例のうち, 6例で後遺症を残した。その内訳は, 呼吸障害1例, 神経学的後遺症2例, 難聴3例であった。死亡例は1例あり, 劇症型の髄膜炎例であった。

#### 6. 血清型

血清型はインフルエンザ菌全身感染症89例のうち, 76症例(76/89; 85.4%)の無菌部位から分離された株で実施されており, 菌血症症例から分離された1株を除きHib(75/76; 98.7%)であった。肺炎球菌の血清型は176例中60例(34.1%)で実施されており, PCV7に含まれている血清型は65.0%(39例/60例), 6Bと交差免疫性があるとされる6Aを含めると, 76.7%(46例/60例)であった(図3)。髄膜炎症例に限ると, PCV

7カバー率は, 72.7%(8例/11例), 6Aを含めると81.8%(9例/11例)であった。

#### 考 察

インフルエンザ菌全身感染症に関しては, 2003年~2005年の千葉県における調査<sup>1)</sup>では, 急激な増加傾向を認め, 2005年の5歳未満人口10万人あたりの罹患率は, 16.5に達していたが, 今回の調査では年により症例数の増減が認められた。この点に関しては, 調査回収率が, 前回の調査では100%であったのに対して, 今回の調査は100%でなかった点, 2007年の調査が, 班研究開始時期の関係から8月に開始されたことなどの影響(調査対象期間は2007年1月~12月)が考えられた。ただし, 調査協力の得られなかった施設に関しては, 前回調査時<sup>1)</sup>に症例がなかった施設が主体であり, また症例を経験した年には調査報告書を提出していただけた施設もあることから, アンケート回収率が, 罹患率に及ぼす影響は低いものと思われる。Hibワクチン導入直前の2008年と2009年を比較した場合, 罹

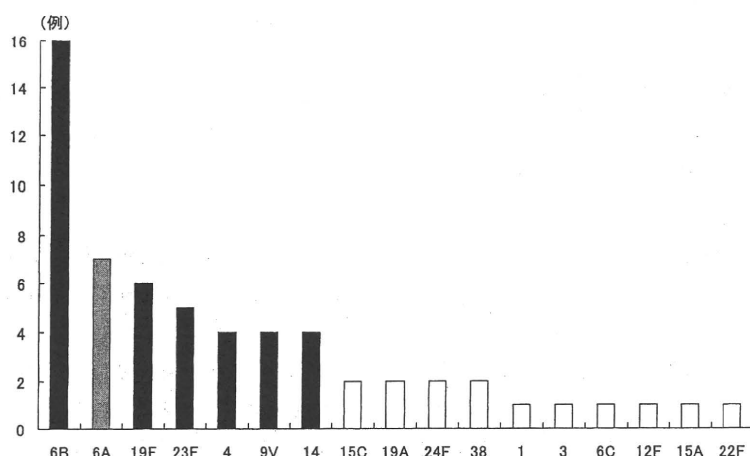


図3 全身感染症から分離された肺炎球菌の血清型

- 7価肺炎球菌結合型ワクチンに含まれる血清型
- 7価肺炎球菌結合型ワクチンと交差反応性を示す血清型
- 7価肺炎球菌結合型ワクチンに含まれない血清型

患率は2008年13.5から2009年11.2であり、その減少率は17.0%にとどまっていた。髄膜炎に関しても、同様な状況であった。血清型は、検査した菌株のうち98.7%がHibであり、Hibワクチンにより、予防可能なものと考えられた。なお、2009年度にHibワクチン1回接種後に髄膜炎を発症した例が1例認められたが、この症例に関しては、1回の接種のみでは十分な防御抗体が得られておらず、髄膜炎を発症したものと考えられた。現在のところ、同様な症例は報告されておらず、稀なケースであると考えられるが、Hibワクチン接種後に全身感染症を発症した症例に関しては、その原因が何であったのかを解明しておくことが必要である。今回、Hibワクチン導入後にもかかわらず、海外で認められたワクチン導入後のHib全身感染症の激減という効果<sup>20)</sup>は得られなかった。原因としては、Hibワクチンの供給不足により、接種率が低値にとどまっていたことが主因と考えられる。Hibワクチンの接種率に関しては、千葉市において千葉市医師会、千葉市小児科医会の協力のもと検討したところ、千葉市在住者の接種対象者全体で10.3%であり、0歳児で規定の初回接種3回を終了していた小児は、43%にとどまっていた(調査期間2008年12月19日～2009年10月20日)(黒崎知道 他 第41回日本小児感染症学会総会口演 2009年11月14日 福井)。また、千葉県内医療機関へ配布された年齢別Hibワクチン配布数をもとに推計した千葉県の2009年1年間のHibワクチン接種率は、10.8%であった。日本全国でワクチンが不足している状況を考えると、他の地域で接種率が大きく異なるとは考えにくく、2009年度のHibワクチン接種率は10%程度であったことが推測された。なお、北欧5か国のHibワクチン導入後の罹患率を比較した報告

において、フィンランドのみが導入後Hib全身感染症の減少傾向がゆるやかになっており、その理由として、初年度のHibワクチン接種率が50%程度にとどまっていたためと考察されている<sup>4)</sup>。現在、安定供給がなされていない段階で積極的な接種勧奨が出来ない状況が続いているが、安定供給が実現した段階では再び接種勧奨を行い、接種率をあげない限り疾患を減らすことは出来ない。また、低い接種率で推移し疾患が減らない場合には、Hibワクチンの有効性が証明されず、定期接種化に結びつかなくなるのが懸念される。インフルエンザ菌全身感染症に関するワクチン導入前の人口をベースにした疫学調査は、北海道、福島県、三重県などからも報告<sup>5)~8)</sup>があり、これらの地域における、Hibワクチン導入後の罹患状況と接種率に関する調査結果が待たれる。

肺炎球菌に関しては2003年～2005年の千葉県内での調査結果<sup>9)</sup>では、5歳未満人口10万人あたりの罹患率が、2003年12.6、2004年13.8、2005年13.5であったが、今回の調査では経年的に増加傾向が認められ、2009年には、26.1となった。これは、北海道北地域の菌血症の罹患率30.9に近い値であった<sup>10)</sup>。一方、西村らは、外来で発熱している小児に対して、血液培養を積極的に行い検討した結果、肺炎球菌の菌血症の罹患率は、5歳未満人口10万人あたり328と報告している<sup>11)</sup>。この結果から、入院例の10倍近い患者数が、肺炎球菌による菌血症を呈していることになり、潜在的なリスクは高いものと思われる。肺炎球菌全身感染症が増加している理由については明らかではないが、千葉県内では本疫学調査が定着しつつあり、発熱している児や肺炎罹患児に対して、各施設で血液培養を積極的に採取していただけるようになったのではないかとすることが



推測される。血液培養の施行実施件数の調査などは行っていないので明確なことは言えないが、今後検討していきたい。血清型に関しては、PCV7に含まれる血清型カバー率は65.0%，6Aを含めると76.7%であった。全国から全身感染症由来株を集め、解析したChibaらの最近の報告によるとPCV7カバー率は75.4%，6Aを含めると81.3%であった<sup>12)</sup>。坂田らの報告でもPCV7カバー率は70%以上であり<sup>13)</sup>、PCV7導入後高い接種率が確保出来れば、米国などで認められたワクチン関連血清型による全身感染症の激減、肺炎球菌全身感染症の減少効果が期待できる<sup>14)</sup>。なお、今回薬剤感受性に関しては調査項目に含めなかったため、その検出状況についての全容は明らかではないが、感受性結果の得られたインフルエンザ菌34株のうち、アンピシリンの最小発育阻止濃度が4 $\mu$ g/ml以上の株は6株(17.6%)で、うち5株が $\beta$ ラクタマーゼ産生株であった。また、感受性結果の得られた肺炎球菌54株のうち、ペニシリンGの最小発育阻止濃度が2 $\mu$ g/ml以上の株は10株(18.5%)であった。

全身感染症例の発症年齢に関しては、インフルエンザ菌は0歳児、1歳時に73.3%が集中しており、基礎疾患を有する者は12.8%にすぎなかった。また肺炎球菌も同様であり、2歳未満の症例が62%を占め、基礎疾患を有する者は14%であった。0歳児においても6か月未満に全身感染症を発症する例も多く、このことから、Hibワクチン、PCV7は、なるべく早期に(生後2か月から)、基礎疾患の有無にかかわらず接種を開始することが望ましい。また、今回、症例の月別発症数についても検討したが、インフルエンザ菌、肺炎球菌ともに冬季から春先にかけて症例が多く認められたが症例は通年性に認められていることもあり、時期を選ばず接種を開始するべきである。なお、肺炎球菌全身感染症は5月、インフルエンザ菌全身感染症は6月が最も多かった。各症例の保育園通園の有無、通園時期に関する調査は実施しなかったが、保育園通園開始後、早期からインフルエンザ菌、肺炎球菌の保菌率が急激に上昇するとの報告もあり<sup>15)</sup>、保育園通園前にワクチン接種を完了しておくことが発症予防につながるのではないかと考えられた。予後に関しては、全体的には改善してきてはいるものの、髄膜炎例を中心に難聴や神経学的後遺症を残す例を認めた。また死亡例も1例認めた。薬剤耐性菌と予後との関連性に関しては、今回感受性結果が不明な例が多く検討することは出来なかったが、今後の課題としたい。インフルエンザ菌、肺炎球菌全身感染症に罹患した場合、適切な治療を行っても後遺症例や死亡例をなくすことは出来ない。ワクチン接種による予防のみが唯一の解決手段であり、ワクチンの安定供給と一日も早い定期接種化が強

く望まれる。

謝辞 菌株の解析を行っていただいた国立感染症研究所の常彬、和田昭仁、木村幸司、佐々木裕子、新谷三春、久保田真由美、加藤はる、荒川宜親各先生に深謝いたします。

調査協力機関(順不同)

名戸ヶ谷病院、千葉愛友会記念病院、東京ベイ浦安市川医療センター、新八柱台病院、亀田総合病院、流山総合病院、千葉県循環器病センター、順天堂大学医学部附属順天堂浦安病院、みつわ台総合病院、銚子市立総合病院、聖隷佐倉市民病院、新松戸中央総合病院、国立病院機構千葉東病院、千葉健生病院、国保多古中央病院、千葉労災病院、千葉社会保険病院、船橋中央病院、柏厚生総合病院、日本医科大学付属千葉北総病院、千葉県済生会習志野病院、千葉県リハビリテーションセンター、国保成東病院、国保旭中央病院、東京歯科大学市川総合病院、成田赤十字病院、JFE健康保険組合川鉄千葉病院、千葉市立青葉病院、帝京大学ちば総合医療センター、東邦大学医療センター佐倉病院、東京慈恵会医科大学附属柏病院、東京女子医大八千代医療センター、岡田病院、国保君津中央病院、国立病院機構千葉医療センター、千葉市立海浜病院、千葉県立東金病院、船橋市立医療センター、国立病院機構下志津病院、千葉徳洲会病院、船橋二和病院、国保松戸市立病院、公立長生病院、東葛病院、キッコーマン総合病院、谷津保健病院、津田沼中央総合病院、共立習志野台病院、埼玉県立小児医療センター、越谷市立病院、独協医大越谷病院、総合守谷第一病院、東京臨海病院、草加市立病院

本研究の一部は厚生労働省科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)「ワクチンの有用性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究」による。

本論文の要旨は、第179回日本小児科学会千葉地方会(2008.2.10 千葉)、第182回日本小児科学会千葉地方会(2009.2.8 千葉)、第185回日本小児科学会千葉地方会(2010.2.7 千葉)において発表した。

日本小児科学会の定める利益相反に関する開示事項はありません。

## 文 献

- 1) 石和田稔彦, 黒崎知道, 寺嶋 周, 他. インフルエンザ菌による小児全身感染症罹患状況. 日児誌 2007; 111: 1568-1572.
- 2) Adams WG, Deaver KA, Cochi SL, et al. Decline of childhood *Haemophilus influenzae* type b (Hib) disease in the Hib vaccine era. JAMA 1993; 13: 221-226.
- 3) Peltola H. Worldwide *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21<sup>st</sup> century: global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine

- and a decade after the advent of conjugates. Clin Microbiol Rev 2000 ; 13 : 302—317.
- 4) Peltola H, Aavistland P, Hansen KG, et al. Perspective : A five-country analysis of the impact of four different *Haemophilus influenzae* type b conjugates and vaccination strategies in Scandinavia. JID 1999 ; 179 : 223—229.
  - 5) Sakata H. Invasive *Haemophilus influenzae* infections in children in Kamikawa subprefecture, Hokkaido, Japan, 1996-2005, before the introduction of *H. influenzae* type b vaccination. J Infect Chemother 2007 ; 13 : 30—34.
  - 6) 川崎幸彦, 細矢光亮, 永井真紀, 他. 福島県下における小児細菌性髄膜炎 103 例の疫学的臨床的検討. 日誌誌 2000 ; 104 : 938—945.
  - 7) 坂田佳子, 中野貴司, 一見良司, 他. インフルエンザ菌 b 型感染症の過去 10 年間における入院例の検討. 日誌誌 2009 ; 113 : 58—63.
  - 8) 富樫武弘, 坂田 宏, 堤 裕幸, 他. 北海道における小児期細菌性髄膜炎の疫学調査成績. 日誌誌 2010 ; 114 : 473—478.
  - 9) Ishiwada N, Kurosaki T, Terashima I, et al. The incidence of pediatric invasive pneumococcal disease in Chiba prefecture, Japan (2003-2005). Journal of Infection 2008 ; 57 : 455—458.
  - 10) 坂田 宏. 小児における *Streptococcus pneumoniae* 菌血症の臨床疫学的検討. 感染症誌 2005 ; 79 : 1—6.
  - 11) 西村龍夫, 深澤 満, 吉田 均, 他. 小児科外来で経験した肺炎球菌 occult bacteremia 症例の臨床疫学的検討. 日誌誌 2008 ; 112 : 973—980.
  - 12) Chiba N, Morozumi M, Sunaoshi K, et al. Serotype and antibiotic resistance of isolates from patients with invasive pneumococcal disease in Japan. Epidemiol Infect 2010 ; 138 : 61—68.
  - 13) 坂田 宏, 生方公子, 千葉菜穂子. 侵襲性肺炎球菌感染症の小児から分離された *Streptococcus pneumoniae* の血清型と耐性遺伝子の検討. 感染症誌 2006 ; 80 : 91—96.
  - 14) Centers for disease control and prevention. Invasive pneumococcal disease in children 5 years after conjugate vaccine introduction-eight states, 1998-2005. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2008 ; 57 : 144—148.
  - 15) 武内 一, 山下佳代子, 嶋田 聡. 保育園入園 1 年間での上咽頭培養の変化 Hib 抗体測定結果にも言及して. 小児感染免疫 2007 ; 19 : 399—403.

The Incidence of Pediatric Invasive *Haemophilus influenzae* Diseases and Invasive Pneumococcal Diseases (2007—2009)

Naruhiko Ishiwada<sup>1)</sup>, Junko Ogita<sup>1)</sup>, Haruka Hishiki<sup>1)</sup>,  
Tadashi Hoshino<sup>2)</sup>, Tomomichi Kurosaki<sup>3)</sup> and Yoichi Kohno<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Pediatrics, Chiba University Graduate School of Medicine

<sup>2)</sup>Division of Infectious Diseases, Chiba Children's Hospital

<sup>3)</sup>Kurosaki Child Clinic

It is necessary to clarify the disease burden of invasive *Haemophilus influenzae* diseases and invasive pneumococcal diseases in Japan for evaluating *H. influenzae* type b (Hib) vaccine and 7-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV7). To determine the precise incidence of invasive *H. influenzae* diseases and invasive pneumococcal diseases in Chiba prefecture, we implemented the survey during 2007 to 2009.

During the 3 study years, 89 patients with invasive *H. influenzae* disease were diagnosed. The annual incidence of invasive *H. influenzae* diseases in 2007, 2008, 2009 were 6.4, 13.5, 11.2 per 100,000 children less than 5 years of age, respectively. Serotyping was performed 85.4% of the isolated strains, 98.7% of were Hib. The incidence of pediatric invasive *H. influenzae* diseases has not been dramatically decreasing after introduction of Hib vaccine, because of insufficient vaccine supply. During the 3 study years, 176 patients with invasive pneumococcal disease were diagnosed. The annual incidence of invasive pneumococcal diseases in 2007, 2008, 2009 was 13.5, 21.3, 26.1 per 100,000 children less than 5 years of age, respectively. Serotyping was performed 34.1% of the isolated strains, 65.0% of were covered by PCV7. The incidence of invasive pneumococcal diseases has been increasing. Routine immunization of Hib vaccine and PCV7 is the emerging issues in Japan.

## 勧奨接種のワクチン—現行ワクチンの問題点と将来に向けて

### 2) 日本脳炎

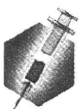
前田明彦<sup>1)</sup>/脇口 宏<sup>2)</sup>

#### SUMMARY

日本脳炎は1960年代には本邦で猛威をふるっていたが、ワクチンが広く実施されるようになって、年間10例以下まで減少した。しかしウイルス増幅動物であるブタの調査によれば、日本脳炎ウイルスは依然蔓延している状況に変わりはなく、接種の継続は必要である。重篤な急性散在性脳脊髄炎例の発生を契機に、旧(マウス脳由来)ワクチンの積極的勧奨を差し控えるよう2005年に通達が出た。接種率が低下し、感染感受性者が増加しているため、小児日本脳炎患者の増加がないか監視が必要である。2010年4月に新(組織培養)ワクチンの積極勧奨が再開された。接種時期を逸した小児に対する接種開始も急がれる。  
〔臨床検査 54:1306-1312, 2010〕

#### KEYWORDS

日本脳炎, 日本脳炎ウイルス, 定期接種, 日本脳炎ワクチン



#### はじめに

日本脳炎は、かつて本邦で日常的に遭遇する急性脳炎であったが、ワクチンの定期接種により、1992年以降の発症数は年間10人以下に抑制されている。ブタの抗体調査(図1)が示すように日本脳炎ウイルスの蔓延が続いている現況で、疫学的に顕著な効果をもたらした(図2)。このワクチンは、マウス脳で増殖させたウイルスを不活化して得たもの(マウス脳由来)であり、世界保健機関(WHO)が国際的に使用可能と認めた唯一のもの

である。一方で、微量の脳組織成分を含有することから、施行当初から二次性脳炎を惹起するかもしれないという理論的リスクが懸念されていた。

3期の定期接種後に発症した急性散在性脳脊髄炎(acute disseminated encephalomyelitis; ADEM)重症例を契機に、2005年5月30日に厚生労働省健康局結核感染症課が、「日本脳炎ワクチンの積極勧奨差し控え」を通達し、同時に3期の接種を中止した。1期と2期の日本脳炎ワクチン接種は定期で継続され、同意書を得れば実施可能であったが、接種率はそれまでの1/10以下に激減した。しかし、ADEMは不活化ワクチンのみならず自然感染など種々の免疫反応によって起こる二次性脳炎であり、原因がワクチンと証明するのは不可能に近い。便宜的に、既知の疾患を丁寧除外して、予防接種から発症までのタイミングが適合していれば、状況証拠的にADEMと診断される。およそ100万接種に1例の頻度とされ、1991年度以降、因果関係が否定できないもの13例(うち重症例4例)が副反応として認定され救済されている。半世紀ものあいだ引きずってきた二次性脳炎の理論的リスクへの危惧が背景にあって、重症ADEM例発生で2005年の通達に至ったが、多くの小児科医師やワクチンの専門家にとって寝耳に水で、困惑の事態を招いた。

物議を醸した「日本脳炎ワクチンの積極勧奨差し控え」通達であったが、新たに開発された細胞培養不活化ワクチンが2009年6月から接種可能となった。そして供給体勢が整った2010年4月1日から、1期初回接種に限定して勧奨接種が再

1) 高知大学医学部附属病院小児科・講師  
2) 同・教授

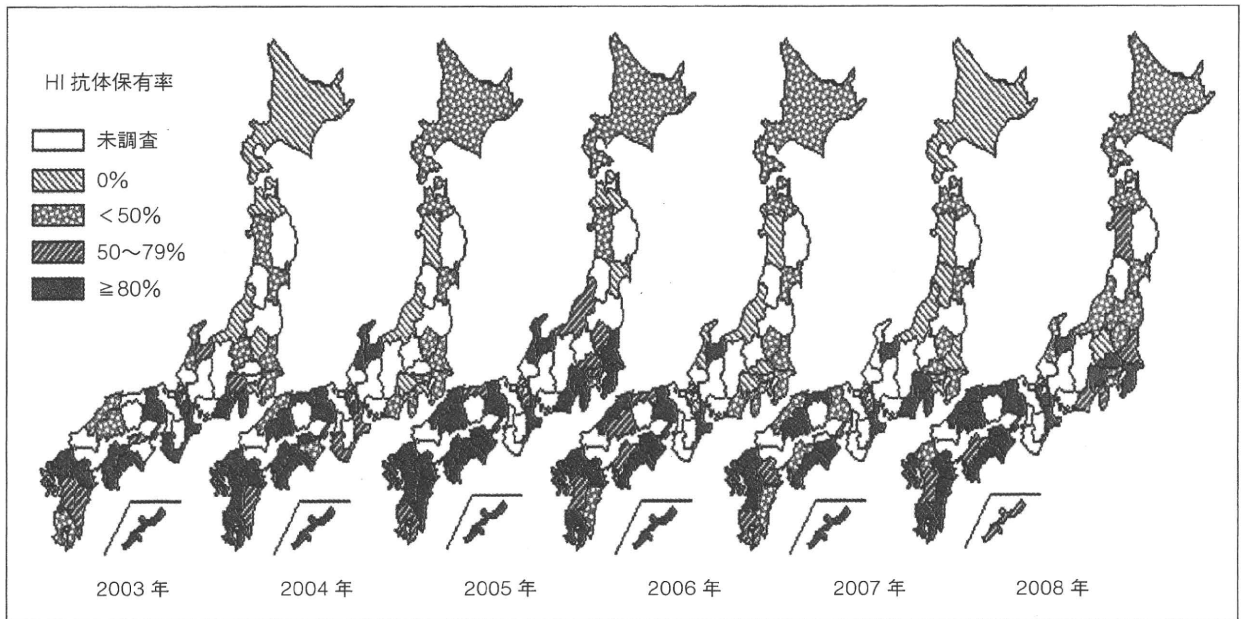


図1 ブタの日本脳炎ウイルス感染調査(感染症流行予測調査より)  
 今年生まれたブタを採血して抗体を調べると、日本脳炎ウイルスに高率に感染していることがわかる。毎年、南に行くほど、ウイルスは蔓延していることを示している。北海道もゼロではない。  
 (国立感染症研究所 感染症情報センター HP から転載)

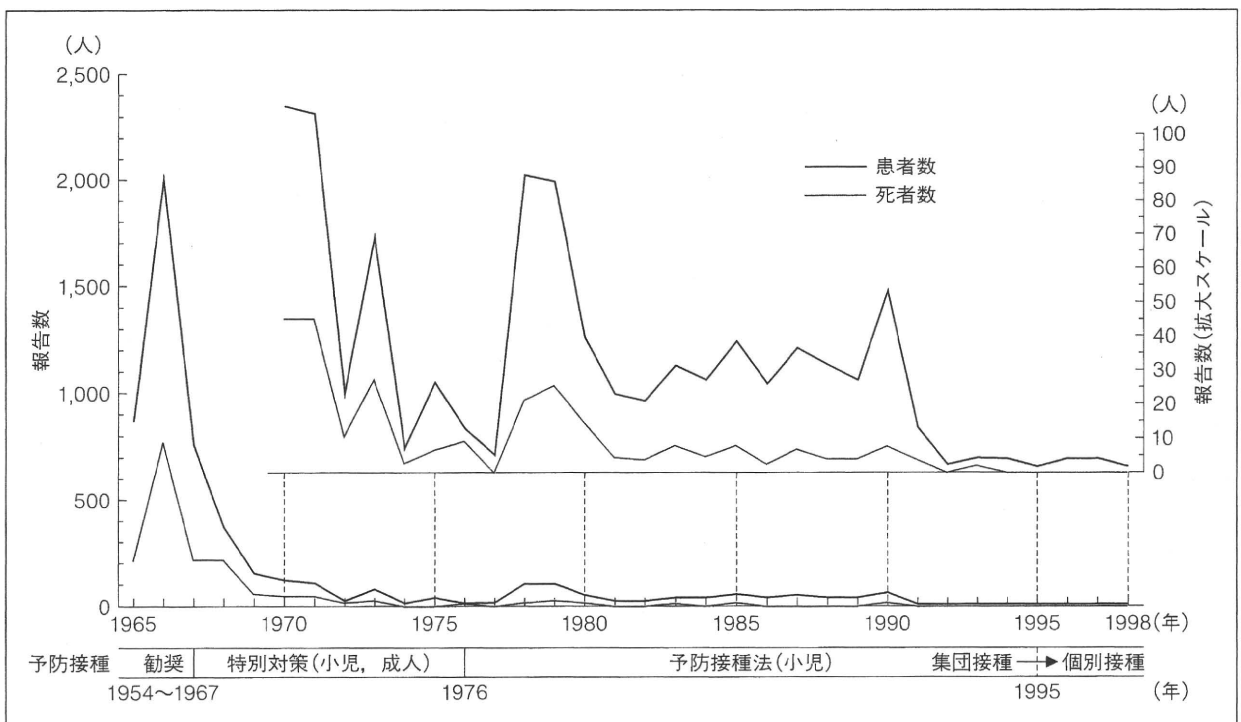


図2 日本脳炎ワクチンの疫学的効果  
 日本脳炎患者および死者数の推移, 1965~1998年(日本脳炎個人票による確定数: 厚生省伝染病流行予測調査)  
 日脳ワクチンの効果であるが, 1960年代は年間数千人が発症し, うち2割が死亡していたが, 1967年に精製度の高いワクチンが導入され, 著明に減少し, 2000年以降は10人未満で推移している。