

表1 各ワクチンの予防接種後副反応報告書報告基準

事象・症状	発症までの期間	Hib	PCV	DPT	IPV	BCG	MR	JE	HPV	flu
血管迷走神経反射(失神)	30分								○	
アナフィラキシー	4時間	○	○	○	○	○	○	○	○	○
痙攣	7日	○	○	○	○			○		○
痙攣	21日						○			
血小板減少性紫斑病	28日	○	○	○	○		○	○	○	○
脳炎または脳症	28日			○	○		○	○		○
急性散在性脳脊髄炎	28日						○	○	○	○
ギラン・バレー症候群	28日								○	○
化膿性リンパ節炎	4カ月					○				
全身性播種性BCG感染症	1年					○				
BCG骨炎(骨髄炎・骨膜炎)	2年					○				
皮膚結核様病変	3カ月					○				
喘息発作	24時間									○
肝機能障害	28日									○
間質性肺炎	28日									○
血管炎	28日									○
ネフローゼ症候群	28日									○
皮膚粘膜症候群	28日									○
その他の症状	なし	○	○	○	○	○	○	○	○	○

PCV:肺炎球菌結合型ワクチン, DPT:ジフテリア・百日咳・破傷風混合ワクチン, IPV:不活化ポリオワクチン, MR:麻疹・風疹混合ワクチン, JE:日本脳炎ワクチン, HPV:ヒトパピローマウイルスワクチン, flu:インフルエンザワクチン  
 その他の症状:医師が予防接種との関連性が高いと認める症状であって,入院治療を必要とするもの,死亡,身体の機能の障害に至るもの,または死亡もしくは身体の機能の障害に至る恐れのあるもの

医療関係者は、表1に示す報告基準に加え、「医師が予防接種との関連性が高いと認める症状であって、入院治療を必要とするもの、死亡、身体の機能の障害に至るもの、または死亡もしくは身体の機能の障害に至る恐れのあるもの」を満たす場合、定期接種も任意接種も厚生労働省結核感染症課に報告することが義務づけられた。この制度に基づき、ムンプスワクチン接種後の無菌性髄膜炎が報告されるようになっている。

臨床症状が同じで、発症時期が同一と思われる症例が3例以上集まると、ワクチン接種との関連性が疑われる。このような場合は、臨床症状が類似する症例を集め、同じ病態で発症していること、発症時期に時間的集積があること、国や地域ごとの発症率に差がないこと、などの確認が必要である。また、発症メカニズムについて基礎的・臨床的な検討が必要である。

表2 わが国で話題となったワクチン接種後の稀な臨床症状とその後の対応

ワクチン	臨床症状	病態と対応
全菌体百日咳	発熱・突然死	百日咳菌体由来の発熱物質の混入 発熱率が低い無細胞性百日咳 (aP) ワクチンの開発
DPT/MMR/水痘	アナフィラキシー・ 発疹	ゼラチンによるI型・IV型アレルギー反応 各ワクチンからのゼラチン除去
ムンプス	無菌性髄膜炎	ムンプスウイルスの神経親和性 ワクチン接種後の副反応の発症率が低い1歳での接種を提唱 無菌性髄膜炎の合併率が低いワクチンの開発・導入
マウス脳由来JE	ADEM	ワクチンに含まれるマウス脳由来蛋白が関係(理論上) Vero細胞培養由来JEワクチンの開発・承認
Hib, PCV	突然死	突然死の増加とは関係していない ワクチン成分や接種スケジュールを変更せずに接種
2PE入りflu	アナフィラキシー	2PEによるヘマグルチニンの構造上の変化の疑い チメロサル入りインフルエンザワクチンに変更
BCG	骨膜炎・骨髄炎	免疫不全者への接種 標準的なワクチン接種期間をPIDが診断できる5~7 カ月に遅くする
HPV	慢性疼痛	身体表現性障害が疑われている ワクチン接種時に疼痛が強いことを伝える, 確実な筋 肉注射

PID: primary immunodeficiency diseases (原発性免疫不全症)

## 4. わが国におけるワクチンの安全性評価とその後の対応

以下に近年話題となったワクチンの安全性評価と、その後の対応について解説する(表2)。

### ■ MMR ワクチンと無菌性髄膜炎

ムンプスウイルスは神経親和性が高いウイルスである。1989年から麻疹ワクチンに代わってMMR (measles mumps rubella) ワクチンの接種が開始された。それに伴いMMR ワクチン接種後に無菌性髄膜炎を発症する例が増加し、1993年、MMR ワクチンの接種見合わせが行われた。当時使用されたムンプスワクチンに製造承認されたワクチン株と異なる方法で製造されたワクチン株が混在していたために、発症率が500分の1接種に増加したと考えられている。

現在、わが国で使用されているムンプスワクチン株の無菌性髄膜炎の発症率は2万分の1接種と低率であるが<sup>3)</sup>、1990年代のMMR ワクチンによる無菌性髄膜炎の発症率の高さがトラウマとなり、ムンプスワクチンの定期接種化は停滞している。なお、ムンプスワク

チン接種後の耳下腺腫脹と無菌性髄膜炎の発症率は1歳児が最も低く、年齢が高くなるにつれ上昇する<sup>4)</sup>。ワクチン接種後の安全性を考慮するならば1歳での接種が推奨される。

## ② ゼラチンアレルギー

1990年代、MMR ワクチンや水痘ワクチン接種後、アナフィラキシーや、ワクチン接種後12時間以降に発疹が出現する症例が相次いだ。その後の検討から、安定剤であるゼラチンを含むDPT (diphtheria pertussis tetanus) ワクチンにより感作された児において、ゼラチンを含むMMR ワクチンや水痘ワクチン接種によりアナフィラキシーやIV型アレルギー反応が誘発されたことが示された<sup>5)</sup>。各種ワクチンからゼラチンを除去することにより、生ワクチン接種後のアナフィラキシー例は消失した。

## ③ 日本脳炎ワクチンとADEM

日本脳炎 (Japanese encephalitis: JE) ワクチンの3期接種後に重篤なADEMを発症した症例が報告され、2005年5月に積極的勧奨の差し控えが通知された。当時のJEワクチンはマウス脳を用いて製造されており、JEワクチンに含まれるきわめて微量のマウス脳由来蛋白がADEM発症に関与していると疑われたためである。2009年にVero細胞培養由来JEワクチンが承認され、2010年から改良JEワクチンの積極的勧奨が再開された。現在、差し控え期間に接種できなかった児への接種が行われているが、2005年以前の接種率には回復していない。

なお、Vero細胞培養由来JEワクチン接種後にもADEM発症が認められており、その発症頻度はマウス脳由来JEワクチンと同等であり<sup>6)</sup>、ほかのワクチン接種後の頻度とも同等である<sup>3)</sup>。JEワクチン接種後のADEM発症の病態は不明である。

## ④ Hib ワクチン・PCV 同時接種と突然死

2011年3月にインフルエンザ菌b型 (*Haemophilus influenzae* type b: Hib) ワクチンと肺炎球菌結合型ワクチン (pneumococcal conjugate vaccine: PCV) 同時接種後に死亡した例が4例報告されたため、同年3月4日にHibワクチン、PCVの接種一時見合わせが通知された。その後の検討により、突然死の死亡原因が乳幼児突然死症候群 (SIDS) や感染症であること、わが国のHibワクチンおよびPCV接種後の死亡率は諸外国と同等であることが示され、同年3月25日、Hibワクチン・PCVの接種再開が承認され、4月1日から実施された。再開後、保護者の同時接種に対する抵抗感は減じているが、同時接種に反対する医師や不安を抱く保護者は現存している。

## ⑤ 2PE入りインフルエンザワクチンとアナフィラキシー

インフルエンザワクチンの防腐剤として、チメロサルと2-フェノキシエタノール

(2-phenoxyethanol:2PE) が用いられている。2011年10月から12月にかけて、2PE入りインフルエンザワクチン接種後にアナフィラキシーを発症した小児3例を三重県で経験した。その後、日本各地から2PE入りインフルエンザワクチン接種後にアナフィラキシーを発症した小児例が相次いで報告された。これらの症例では、卵アレルギーはなく、インフルエンザワクチンのヘマグルチニン (hemagglutinin: HA) に対するIgE抗体が高値であり、インフルエンザワクチンの刺激により好塩基球が活性化された<sup>7)</sup>。

以上の結果から、インフルエンザワクチンに含まれるHAが2PEにより構造変化を起こし、好塩基球や肥満細胞に付着している抗HA-IgE抗体を架橋形成させ、結果として好塩基球や肥満細胞が活性化してヒスタミンなどのケミカルメディエーターを放出し、アナフィラキシーを発症したと推論されている。2012/13シーズンから防腐剤をチメロサルに変更し、アナフィラキシーの発症頻度は減少した。

## ⑥ HPVワクチンと慢性疼痛

2010年11月に「子宮頸がん等ワクチン接種緊急促進事業」が開始され、2013年4月から定期接種となったが、HPVワクチン接種後に慢性疼痛を訴える症例が増加し、同年6月に積極的勧奨の差し控えが通知された。アルミニウム塩は古くから使用されているアジュバントであり、安全性は確立されている<sup>8)</sup>。わが国で発生したHPVワクチン接種後の臨床症状をふまえ、世界保健機関 (WHO) は再調査を行ったが、アルミニウム塩はマクロファージ性筋膜炎、複合性局所性疼痛症、多発性硬化症を含めた自己免疫疾患の発症とは関連性がないとしている。わが国のHPVワクチン接種後の慢性疼痛の発症頻度は諸外国の10倍であり、ワクチン接種後の急性疼痛から慢性疼痛に移行する要因として身体表現性障害の関与が示唆されている。

## 5. ワクチンに対する流言

ワクチンに対する流言は世界各地で飛び交っている<sup>9)</sup>。今まで報じられた代表的な流言を表3に示した。流言が出るたびにワクチン接種率が低下する。WHOを含めた世界各国のワクチンに関わる機関は、膨大なエネルギーを費やして調査を行い、その流言を否定してきた。ワクチンの安全性評価は、流言を否定するためにも大切な事業である。

## 6. 予防接種後副反応報告への期待

ワクチンの安全性評価は、高いワクチン接種率を維持し、当該感染症の流行を抑制するために大切なことである。信頼性の高いワクチンの安全性評価をめざして、2013年からわが国では「予防接種後副反応報告」が義務づけられた。この制度により、新たなワクチンが

表3 ワクチンに対する流言

- ・ワクチンはSIDSを発症させる
- ・ワクチンは狂牛病を発症させる(ウシ由来成分の使用)
- ・ワクチンは免疫系のバランスを崩してIDDM, 喘息などの慢性疾患を引き起こす
- ・乳幼児は幼すぎてワクチンに対して適切な免疫応答ができない
- ・ワクチンは免疫系を弱くする(衛生仮説)
- ・ワクチンは自己免疫疾患を引き起こす
- ・ワクチンがアレルゲンとなり喘息を引き起こす
- ・OPV開発がAIDS発症に関係している
- ・OPVは不妊に関係している(ナイジェリア北部)
- ・MMRワクチンは炎症性腸疾患・自閉症を発症させる
- ・不活化ワクチンに含まれる防腐剤のチメロサルは自閉症を発症させる
- ・ワクチンを他種類接種すると自閉症を発症する
- ・ワクチンに含まれるアルミニウムは有害である
- ・ワクチンに含まれるホルマリンは有害である(シックハウス症候群を引き起こす)
- ・ワクチンには流産した胎児のDNAが含まれている(WI38細胞, MRC5細胞)

74

SIDS: sudden infant death syndrome (乳幼児突然死症候群), IDDM: insulin dependent diabetes mellitus (インスリン依存性糖尿病), OPV: oral polio vaccine (経口生ポリオワクチン), AIDS: acquired immunodeficiency syndrome (後天性免疫不全症候群)

関係する臨床症状(副反応)がとらえられると、早期の対応が可能となり、ワクチン接種を差し控えることなく欧米諸国と同様にワクチンの安全性評価を行うことができる。また、ワクチンに対する流言に惑わされないためにも、学校や市民生活におけるワクチン教育、および情報提供するマスコミに対するワクチン教育が大切である。

文献

- 1) 庵原俊昭: 予防接種. 全訂新版. 小児科臨床ピクシス4. 渡辺 博, 編. 中山書店, 2014, p36-7.
- 2) 予防接種ガイドライン等検討委員会: 予防接種ガイドライン2014年度版. 予防接種リサーチセンター, 2014.
- 3) Nakayama T, et al: Vaccine. 2007; 25(3): 570-6.
- 4) 庵原俊昭: 小児科. 2013; 54(12): 1753-60.
- 5) Kumagai T, et al: Vaccine. 2000; 18(15): 1555-61.
- 6) 白鳥(田島)茂, 他: 小児内科. 2013; 45(増刊号): 432-7.
- 7) 長尾みづほ: 第17回日本ワクチン学会学術集会抄録集. 2013, p56.
- 8) Kashiwagi Y, et al: Vaccine. 2014; 32(27): 3393-401.
- 9) Offit PA, et al: Vaccine. 6th eds. Plotkin SA, et al, ed. Saunders, 2013, p1464-80.

Original Article

## Characteristics of Group B *Streptococcus* Isolated from Infants with Invasive Infections: A Population-Based Study in Japan

Bin Chang<sup>1\*</sup>, Akihito Wada<sup>2</sup>, Mitsuaki Hosoya<sup>3</sup>, Tomohiro Oishi<sup>4</sup>, Naruhiko Ishiwada<sup>5</sup>, Megumi Oda<sup>6</sup>, Tetsuya Sato<sup>7</sup>, Yoshihiko Terauchi<sup>7</sup>, Kenji Okada<sup>8</sup>, Junichiro Nishi<sup>9</sup>, Hideki Akeda<sup>10</sup>, Hitoshi Kamiya<sup>11</sup>, Makoto Ohnishi<sup>1</sup>, Toshiaki Ihara<sup>11</sup>, and the Japanese Invasive Disease Study Group

<sup>1</sup>Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo 162-8640;

<sup>2</sup>Yonaguni-jima Clinic, Yonaguni Town, Okinawa 907-1801;

<sup>3</sup>Department of Pediatrics, Fukushima Medical University, Fukushima 960-1295;

<sup>4</sup>Department of Pediatrics, Niigata University, Niigata 950-8510;

<sup>5</sup>Division of Control and Treatment of Infectious Diseases, Chiba University Hospital, Chiba 260-8670;

<sup>6</sup>Department of Pediatric Hematology/Oncology, Okayama University Hospital, Okayama 700-8558;

<sup>7</sup>Department of Pediatrics, Kochi University, Kochi 783-8505;

<sup>8</sup>Department of Pediatrics, Fukuoka Dental College, Fukuoka 814-0193;

<sup>9</sup>Department of Microbiology, Graduate School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima University, Kagoshima 890-8544;

<sup>10</sup>Okinawa Prefectural Nanbu Medical Center & Children's Medical Center, Okinawa 901-1193; and

<sup>11</sup>National Mie Hospital, Mie 514-0125, Japan

(Received November 19, 2013. Accepted January 30, 2014)

**SUMMARY:** Group B *Streptococcus* (GBS) is one of the leading causes of neonatal bacterial infections. Population-based surveillance of GBS-related invasive diseases among newborns and infants from 10 prefectures in Japan was performed between 2007 and 2012. The characteristics of cases and isolated GBS are described in this study. The incidence rate of GBS-related invasive diseases was 0.13 per 1,000 live births. Analysis of GBS samples obtained from 60 invasive cases showed that the most frequent serotypes were III (48.3%), Ia (30.0%), and Ib (10.0%). All isolates were susceptible to penicillin G, ampicillin, cefotaxime, imipenem, and panipenem. However, 14, 2, and 7 isolates were resistant to erythromycin, clindamycin, and both erythromycin and clindamycin, respectively. Multilocus sequence typing revealed that GBS sequence type (ST) 23, ST17, and ST335 caused higher incidences of meningitis. These data show that serotypes III, Ia, and Ib together caused more than 80% of invasive infections in Japanese infants, and that GBS strains are still susceptible to  $\beta$ -lactam antibiotics.

### INTRODUCTION

*Streptococcus agalactiae* (group B *Streptococcus* [GBS]) infects mainly infants and causes pneumonia, sepsis, and meningitis (1–3). Invasive neonatal GBS infections can be classified as either early-onset disease (EOD) that occurs within the first week of life, or late-onset disease (LOD) that develops after the first week of life (4). EOD is often caused by maternal transmission of GBS to the neonate through the birth canal during labor (1–3). On the other hand, the route of infection for many LOD cases remains unknown. After the adoption of new preventative measures (i.e., universal antenatal screening and intrapartum antibiotic prophylaxis for culture-positive and high-risk pregnant women) recommended by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) in the United States (4), a reduction in the incidence of EOD, but not LOD, was observed (4,5).

Until now, 10 GBS serotypes have been classified based on specific capsular polysaccharides (6,7). In Japan, serotypes VIII and VI have been mainly isolated from the vagina of pregnant/puerperal women (8). However, a broad survey of GBS serotyping, which causes invasive neonatal infections, has never been performed in Japan; hence, important disease-associated serotypes have not been well established.

Population-based surveillance of invasive GBS diseases in children aged <5 years was conducted in 10 prefectures (i.e., Hokkaido, Niigata, Fukushima, Chiba, Mie, Okayama, Kochi, Fukuoka, Kagoshima, and Okinawa) in Japan between 2007 and 2012 (9). The clinical features of 60 invasive infection cases that occurred in 8 prefectures (i.e., Niigata, Fukushima, Chiba, Mie, Kochi, Fukuoka, Kagoshima, and Okinawa) were collected, and the results of serotyping, antimicrobial susceptibility, and multilocus sequence typing (MLST) analysis of these GBS isolates are reported here.

### MATERIALS AND METHODS

**Invasive GBS cases and bacterial isolates:** Between July 2007 and December 2012, population-based surveillance efforts included collection of data on invasive

\*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, Fax: +81-3-5285-1163, E-mail: b-chang@nih.go.jp

infections in children aged < 5 years who reside in the 10 prefectures in Japan. Invasive infections caused by GBS were confirmed by isolation of the pathogenic agent obtained from a body site that was originally sterile. Information regarding invasive infections and isolates from hospitals in the 10 prefectures was provided to the Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases. EOD and LOD were classified according to the recommendations by the CDC (i.e., EOD was classified as infections occurring within the first week of life, and LOD was classified as infections occurring in infants aged > 1 week) (4). The identity of isolated bacteria was confirmed again to be *S. agalactiae* using the API 20 Strep Kit (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Serotypes were determined using a latex agglutination test. All GBS strains were initially serotyped using the Group B Streptococci Typing Antisera "SEIKEN" (Denka Seiken, Tokyo, Japan) that contains 9 types of specific antisera for GBS. For strains that were not serotyped, the *Streptococcus* Immulex Strep-B Kit (Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark) containing serotype IX antiserum was used.

**Antimicrobial susceptibility test:** The antimicrobial susceptibility of GBS isolates to 7 antibiotics (i.e., penicillin G, ampicillin, cefotaxime, imipenem, panipenem, erythromycin, and clindamycin) was analyzed using dry plates (Eiken Chemistry, Tokyo, Japan) by the broth microdilution method described by the Clinical and Laboratory Standards Institute (10). Antimicrobial susceptibility breakpoints were defined according to the Clinical and Laboratory Standards Institute criteria (10). In addition, the presence of well-known macrolide resistance genes *ermA*, *ermB*, *mefA/E*, and *linB* was investigated by polymerase chain reaction (PCR) (11,12).

**MLST analysis:** Genomic DNA of GBS was purified using the High Pure PCR template purification kit (Roche Diagnostics, Tokyo, Japan). MLST was performed using primers that were designed as previously described (13), and both strands of amplicons were sequenced. The allelic numbers and sequence types (STs) of all isolates were determined by comparing their sequences with those in the *S. agalactiae* MLST database (<http://pubmlst.org/sagalactiae/>).

**Statistical analyses:** Statistical analyses were performed using the Fisher's exact test. Odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (CIs) were calculated to evaluate the ability of different STs of GBS to invade the neonatal central nervous system.

## RESULTS

**Clinical features and bacterial characteristics:** During the investigation period, a total of 151 sporadic GBS-related invasive diseases, including 90 meningitis cases (59.6%), occurred in the 10 prefectures. The annual incidence rates of GBS-related invasive diseases were 0.07, 0.13, 0.15, 0.12, 0.13, and 0.15 per 1,000 live births from 2007 to 2012, respectively. The average rate was 0.13 per 1,000 live births.

The characteristics of the 60 invasive infection cases and their isolated bacteria from 8 of the 10 prefectures are listed in Table 1. All 60 cases were analyzed in-

dependently in an epidemiological survey. Fifteen cases (25.0%) and 45 cases (75.0%) were EOD and LOD, respectively. The exact date of infection in 2 cases was unclear; however, symptoms presented within the first week of life. Among these 60 cases, 38 (6 EOD and 32 LOD) were diagnosed as meningitis, and 22 as bacteremia/sepsis. Two cases also presented with symptoms of pneumonia.

A total of 85 isolates were obtained from the blood and/or cerebrospinal fluid of 60 patients. All isolates were confirmed to be *S. agalactiae*. In 23 cases, more than 1 strain was isolated from different specimens. GBS isolated from the same patient showed identical serotypes and STs and similar antimicrobial susceptibility profiles (data not shown); therefore, it was considered as a single strain.

**Serotype distribution of GBS isolates:** Serotypes of 60 GBS isolates were determined using an agglutination kit. As shown in Table 1, the most frequently identified GBS isolates from 15 EOD patients included serotypes III (5 cases; 33.3%) and Ia (4 cases; 26.7%). One case (6.7%) each of the serotypes Ib, II, IV, V, VI, and VIII was also identified among EOD patients. Among 45 LOD cases, serotype III was most frequently observed (24 cases; 53.3%), other serotypes identified were Ia (14 cases; 31.1%), Ib (5 cases; 11.1%), II (1 case; 2.2%), and IV (1 case; 2.2%). When EOD and LOD isolates were analyzed together, the most frequently observed serotypes were III (29 cases; 48.3%), Ia (18 cases; 30.0%), and Ib (6 cases; 10.0%). Furthermore, 2 cases (3.3%) each of GBS serotypes II and IV and 1 case (1.7%) each of serotypes V, VI, and VIII were detected. No cases of serotypes VII or IX were found among 60 analyzed cases. Overall, we found no obvious difference in serotype distribution between the different prefectures and isolated years (data not shown). The association between serotypes and the ability to invade the neonatal central nervous system was analyzed, but high invasive activity related to meningitis was not shown by any serotype (Fig. 1).

**Antimicrobial susceptibility of GBS isolates:** All GBS isolates were susceptible to the  $\beta$ -lactam antibiotics used in this study (i.e., penicillin G, ampicillin, cefotaxime, imipenem, and panipenem) (data not shown).  $\beta$ -lactams

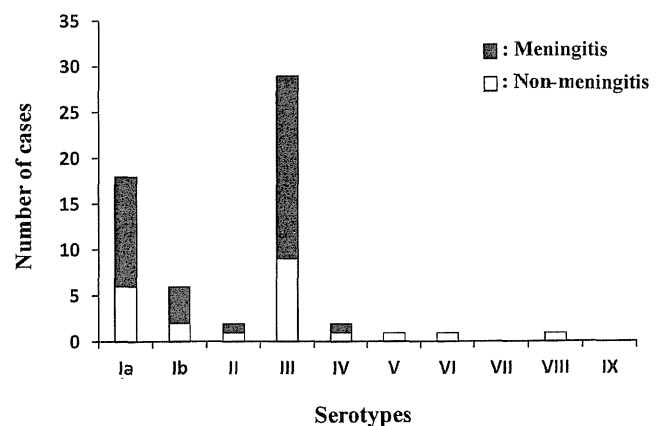


Fig. 1. Types of invasive diseases caused by each group B *Streptococcus* serotype. The closed squares indicate cases with meningitis; open squares indicate cases without meningitis.

Table 1. Characteristics of GBS isolates from invasive infections

Strain	Serotype	Age of onset	Diagnosis	Specimen	ST	CC	EM ( $\mu\text{g/ml}$ )	CLDM ( $\mu\text{g/ml}$ )	<i>ermA</i>	<i>ermB</i>	<i>mefA/E</i>	<i>linB</i>
KSP7	II	0 d	Meningitis	Blood	ST1	CC1	0.25	0.25	-	-	-	-
KSP8	Ib	EOD <sup>1)</sup>	Meningitis	Spinal fluid	ST571	CC10	0.25	0.12	-	-	-	-
KSP21	II	3 m	Bacteremia	Blood	ST28	CC19	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP39	III	27 d	Meningitis	Spinal fluid	ST17	CC17	0.12	0.25	-	-	-	-
KSP50	III	1 m	Meningitis	Spinal fluid	ST335	CC19	2	0.12	+	-	-	-
KSP66	III	2 m	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST335	CC19	1	0.25	+	-	-	-
KSP76	Ia	2 d	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST23	CC23	0.12	2	-	-	-	-
KSP77	III	19 d	Bacteremia	Blood	ST335	CC19	1	0.25	+	-	-	-
KSP104	V	1 d	Sepsis	Blood	ST22	CC22	$\geq 4$	$\geq 4$	-	+	-	-
KSP105	III	30 d	Meningitis	Spinal fluid	ST17	CC17	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP106	IV	2 m	Meningitis	Spinal fluid	ST10	CC10	0.12	0.25	-	-	-	-
KSP111	III	17 d	Meningitis	Spinal fluid	ST19	CC19	2	$\geq 4$	-	+	-	-
KSP137	Ia	1 m	Sepsis	Blood	ST144	CC23	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP195	III	2 d	Meningitis	Spinal fluid	ST335	CC19	2	0.25	+	-	-	-
KSP212	Ia	14 d	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST23	CC23	0.25	0.12	-	-	-	-
KSP220	Ib	1 m	Sepsis	Blood	ST10	CC10	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP232	Ia	1 m	Bacteremia	Blood	ST23	CC23	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP241	Ia	1 m	Bacteremia	Blood	ST24	CC23	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP285	Ia	1 d	Meningitis	Spinal fluid	ST23	CC23	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP286	Ia	18 d	Meningitis	Spinal fluid	ST23	CC23	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP288	Ia	2 m	Bacteremia	Blood	ST23	CC23	$\geq 4$	0.12	-	-	+	-
KSP319	III	1 m	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST335	CC19	1	0.12	+	-	-	-
KSP336	III	20 d	Bacteremia	Blood	ST17	CC17	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP354	III	0 d	Bacteremia	Blood	ST572	CC19	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP401	III	9 d	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST19	CC19	0.12	$\geq 4$	-	-	-	+
KSP402	Ia	1 d	Meningitis, sepsis, bacteremia, pneumonia	Spinal fluid	ST23	CC23	0.25	0.12	-	-	-	-
KSP403	IV	1 d	Shock, DIC, sepsis, pneumonia, PROM	Blood	ST10	CC10	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP410	Ia	10 d	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST23	CC23	0.25	0.12	-	-	-	-
KSP428	Ib	15 d	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST12	CC10	$\geq 4$	$\geq 4$	-	+	-	-
KSP459	Ia	3 m	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST23	CC23	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP465	Ia	0 d	Bacteremia	Blood	ST23	CC23	0.25	0.25	-	-	-	-
KSP471	Ib	1 m	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST10	CC10	0.25	0.12	-	-	-	-
KSP506	III	EOD <sup>1)</sup>	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST17	CC17	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP575	VI	0 d	Bacteremia	Blood	ST1	CC1	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP598	III	18 d	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST17	CC17	0.25	0.25	-	-	-	-
KSP614	Ia	2 m	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST23	CC23	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP652	III	9 d	Bacteremia	Blood	ST575	CC19	$\geq 4$	0.25	-	-	-	-
KSP658	III	3 m	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST574	CC17	0.25	0.25	-	-	-	-
KSP661	III	0 d	Bacteremia	Blood	ST27	CC19	0.25	0.25	-	-	-	-
KSP667	Ia	26 d	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST23	CC23	$\geq 4$	0.25	-	-	+	-
KSP681	III	14 d	Meningitis	Spinal fluid	ST335	CC19	2	0.25	-	-	+	-
KSP682	III	19 m	Meningitis	Spinal fluid	ST27	CC19	$\geq 4$	$\geq 4$	-	-	+	-
KSP724	III	2 d	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST27	CC19	$\geq 4$	$\geq 4$	-	+	-	-
KSP742	Ia	3 m	Bacteremia	Blood	ST23	CC23	0.25	0.25	-	-	-	-
KSP743	VIII	2 d	Bacteremia	Blood	ST1	CC1	0.25	0.25	-	-	-	-
KSP747	III	2 m	Bacteremia	Blood	ST17	CC17	0.25	0.25	-	-	-	-
KSP750	III	2 m	Bacteremia	Blood	ST17	CC17	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP753	III	2 m	Bacteremia	Blood	ST335	CC19	1	0.5	+	-	-	-
KSP785	III	3 m	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST335	CC19	0.06	0.12	-	-	-	-
KSP786	III	26 d	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST17	CC17	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP789	III	1 m	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST335	CC19	1	0.25	+	-	-	-
KSP792	Ia	16 d	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST23	CC23	0.25	0.25	-	-	-	-
KSP805	Ia	20 d	Meningitis	Cerebral abscess	ST23	CC23	0.25	0.12	-	-	-	-
KSP816	Ib	7 m	Bacteremia	Blood	ST10	CC10	0.12	0.12	-	-	-	-
KSP860	Ia	12 d	Meningitis, bacteremia	Blood	ST23	CC23	$\geq 4$	$\geq 4$	-	+	-	-
KSP874	III	9 d	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST27	CC19	$\geq 4$	$\geq 4$	-	+	-	-
KSP875	III	22 d	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST335	CC19	2	0.5	+	-	-	-
KSP877	III	1 m	Bacteremia	Blood	ST335	CC19	1	0.25	+	-	-	-
KSP885	III	2 m	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST335	CC19	1	0.25	+	-	-	-
KSP886	Ib	1 m	Meningitis, bacteremia	Spinal fluid	ST654	CC10	0.5	0.5	-	-	-	-

<sup>1)</sup>: Date of occurrence was unclear, but was within the first week after birth.

+, positive; -, negative; ST, sequence type; CC, clonal complex; DIC, disseminated intravascular coagulation; PROM, premature rupture of the membrane.

EM, erythromycin; CLDM, clindamycin.



Table 2. Characteristics of the GBS isolates

Serotype	ST (CC; no. of strains)
EOD Ia (4)	ST23 (CC23; 4)
(15) <sup>b</sup> Ib (1)	ST571 (CC10; 1)
II (1)	ST1 (CC1; 1)
III (5)	ST17 (CC17; 1), ST27 (CC19; 2), ST335 (CC19; 1), ST572 (CC19; 1)
IV (1)	ST10 (CC10; 1)
V (1)	ST22 (CC22; 1)
VI (1)	ST1 (CC1; 1)
VIII (1)	ST1 (CC1; 1)
LOD Ia (14)	ST23 (CC23; 12), ST24 (CC23; 1), ST144 (CC23; 1)
(45) <sup>b</sup> Ib (5)	ST10 (CC10; 3), ST12 (CC10; 1), ST654 (CC10; 1)
II (1)	ST28 (CC19; 1)
III (24)	ST17 (CC17; 7), ST19 (CC19; 2), ST27 (CC19; 2), ST335 (CC19; 11), ST574 (CC17; 1), ST575 (CC19; 1)
IV (1)	ST10 (CC10; 1)

<sup>b</sup>: Figure in parentheses show the number of GBS invasive cases.

remain the first-line agents for treatment of GBS infections. Fourteen (23.3%), 2 (3.3%), and 7 (11.7%) GBS isolates were resistant to erythromycin, clindamycin, and both erythromycin and clindamycin, respectively (Table 1). The remaining 37 (61.7%) GBS isolates were susceptible to both erythromycin and clindamycin.

Macrolide resistance in GBS is typically caused by the genes *ermA*, *ermB*, *mefA/E*, and *linB* (11,12). The presence of these genes was investigated (Table 1), and no resistance-related genes were detected in 37 macrolide-sensitive GBS isolates, as expected. Among 14 erythromycin-resistant GBS isolates, *ermA* was detected in 10 (minimum inhibitory concentration [MIC] = 1–2 µg/mL) and *mefA/E* in 4 (MIC ≥ 2 µg/mL). Neither *ermB* nor *linB* was detected in these 14 isolates. In the clindamycin-resistant GBS isolate, KSP401 (MIC ≥ 4 µg/mL), *linB* was detected. Among 7 GBS isolates with resistance to both erythromycin and clindamycin, *ermB* was detected in 6 and *mefA/E* in 1 isolate (Table 1). However, none of the 4 resistance-related genes were identified in KSP652 (MIC of erythromycin, ≥ 4 µg/mL) or KSP76 (MIC of clindamycin, 2 µg/mL).

**MLST profiles of GBS isolates from invasive infection cases:** A total of 18 STs were observed by MLST analysis of 60 GBS isolates, including the following 5 new STs: ST571, ST572, ST574, ST575, and ST654 (Tables 1 and 2). Although several STs were found, all 18 GBS serotype Ia isolates belonged to clonal complex (CC) 23, whereas 6 GBS serotype Ib isolates belonged to CC10. GBS serotype III isolates were divided into the following 2 CC groups: CC17 (9 isolates; 31.0%) and CC19 (20 isolates; 69.0%) (Table 2). Among 20 GBS serotype III isolates that caused meningitis, 6 (66.7%) and 14 (70.0%) belonged to CC17 and CC19, respectively (Table 1). The incidence of meningitis was not different between CC17 and CC19 (OR = 0.95; 95% CI = 0.28–3.29). STs of other GBS serotypes are summarized in Table 2. Among the cases caused by the 3 most common STs (i.e., ST23, ST17, and ST335), meningitis was detected in 11/16 (68.8%), 5/8 (62.5%), and 9/12 (75.0%) cases, respectively. The total incidence rate of meningitis caused by all 3 STs was 69.4%, whereas the

incidence rate of meningitis caused by other STs was 54.2% (13/24). Although no significant difference (OR = 1.92; 95% CI = 0.66–5.61) was observed, the GBS isolates ST23, ST17, and ST335 caused meningitis at higher incidence rates compared with those for other isolates.

## DISCUSSION

In the present study, we analyzed the characteristics of invasive GBS infections in 60 Japanese infants as part of a population-based study in 10 prefectures in Japan that were chosen without geographic bias. Results obtained from these 60 cases are considered to represent the current epidemiology of GBS-related invasive neonatal infections in Japan.

The serotype analysis of GBS indicated that the most common serotype was III, followed by serotypes Ia and Ib; these results are similar to those for the serotype distribution of GBS that caused invasive infections in other countries (12,14,15). However, we uncovered the 2 following unique features among GBS-related infections in our study: (i) the high incidence rate of meningitis (59.6%) and (ii) the low incidence rate (1.7%) of serotype V GBS-related infections. A previous surveillance study conducted between 2004 and 2010 in Japan evaluated 250 GBS-related invasive infections in 152 hospitals. The investigators of this study showed that the incidence rates of EOD and LOD were 0.08 and 0.10 per 1,000 live births, respectively, and only approximately one-third of all cases had meningitis (16). The reasons for the high incidence rates of GBS infection (0.13/1,000 live births) and meningitis (59.6%) in the 10 prefectures remain unknown. In addition, only 1 case of EOD caused by serotype V was found among all cases in the present study; however, serotype V was the third most commonly isolated serotype among patients with GBS invasive diseases in England, Wales, and the United States (14,15).

In several regions and countries, the CC17 GBS strain has been shown to have an increased ability to invade the neonatal central nervous systems and cause meningitis (17–22). However, we did not find a high incidence of meningitis caused by the CC17 GBS strain in the present study. Although the reason remains unknown, the GBS isolates ST23, ST17, and ST335 seem to be involved in the development of meningitis. The small sample size is a limitation of our study and may have contributed to our statistical findings. Recently, Morozumi et al. reported that GBS ST335 containing the *mefA/E* gene gradually increased the frequency of invasive GBS infections in Japanese infants between 2006 and 2011 (23). GBS ST335 was also isolated at a high rate in our investigation (20.0%; 12/60 cases). However, most of the ST335 strains (10/12) possessed the *ermA* gene, whereas only 1 strain possessed the *mefA/E* gene (Table 1). Although it remains unclear, differences in the isolation region may have contributed to the variation in the ST335 strain.

Of 60 investigated cases, the number of LOD cases was almost 2-fold greater than that of EOD cases. The source of infection and pathways of most LODs still remain unknown, and no effective means for disease prevention are available. Therefore, vaccination may be

the best preventive measure against not only LOD but also EOD GBS infections. Epidemiological studies of capsular polysaccharide-protein conjugate vaccines for prevention of GBS infections in infants have been conducted since the 1990s (24). The development of a trivalent polysaccharide-protein conjugate vaccine, which includes Ia, Ib, and III serotype polysaccharides, has advanced to a phase II clinical trial, and phase III of this study is currently being planned (25). In the present surveillance study, serotype analysis revealed that GBS serotypes Ia, Ib, and III caused 88.3% of 60 invasive cases. Therefore, the trivalent polysaccharide-protein conjugate vaccine could have theoretically prevented most cases of GBS-related invasive disease among Japanese infants. Hence, we highly recommend the early licensing of GBS vaccines. Ongoing monitoring of the incidence and distribution of serotypes for disease surveillance is important to determine the serotype components that would be most beneficial for inclusion in a GBS conjugate vaccine. Furthermore, ongoing monitoring will enable the continued evaluation of these preventive measures after the distribution of the vaccine. Further population-based surveillance studies of bacterial invasive infections in Japanese children are required.

**Acknowledgments** This work was supported by grants from the Ministry of Health, Labour and Welfare (H22-Shinkou-shitei-021 and H24-Shinkou-ippan-003) and the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan (no. 24790427).

**Conflict of interest** None to declare.

## REFERENCES

1. Badri MS, Zawaneh S, Cruz AC, et al. Rectal colonization with group *Streptococcus*: relation to vaginal colonization of pregnant women. *J Infect Dis.* 1977;135:308-12.
2. Schrag SJ, Zywicki S, Farley MM, et al. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N Engl J Med.* 2000;342:15-20.
3. Schuchat A. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: shifting paradigms. *Clin Microbiol Rev.* 1998;11:497-513.
4. Verani JR, McGee L, Schrag SJ, et al. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Revised guidelines from CDC. *MMWR Recomm Rep.* 2010;59:1-36.
5. Phares CR, Lynfield R, Farley MM, et al. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999-2005. *JAMA.* 2008;299:2056-65.
6. Rýc M, Jelínková J, Motlová J, et al. Immuno-electron-microscopic demonstration of capsules on group-B streptococci of new serotypes and type candidate. *J Med Microbiol.* 1998;25:147-9.
7. Slotved HC, Kong F, Lambertsen L, et al. Serotype IX, a proposed new *Streptococcus agalactiae* serotype. *J Clin Microbiol.* 2007;45:2929-36.
8. Lachenauer CS, Kasper DL, Shimada J, et al. Serotypes VI and VIII predominate among group B streptococci isolated from pregnant Japanese women. *J Infect Dis.* 1999;179:1030-3.
9. Kamiya H, Nakano T. Surveillance of invasive bacterial infections in children throughout Japan. *Infect Surveillance Agents Rep.* 2010;31:95-6. Japanese.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 18th informational supplement M100-S18. Wayne, PA: CLSI; 2008. p. 130-2.
11. Gygax SE, Schuyler JA, Kimmel LE, et al. Erythromycin and clindamycin resistance in group B streptococcal clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50:1875-7.
12. Imperi M, Gherardi G, Berardi A, et al. Invasive neonatal GBS infections from an area-based surveillance study in Italy. *Clin Microbiol Infect.* 2011;217:1834-9.
13. Jones N, Bohnsack JF, Takahashi S, et al. Multilocus sequence typing system for group B *Streptococcus*. *J Clin Microbiol.* 2003;41:2530-6.
14. Marai W. Lower genital tract infections among pregnant women: a review. *East Afr Med J.* 2001;78:581-5.
15. Weisner AM, Johnson AP, Lamagni TL, et al. Characterization of group B streptococci recovered from infants with invasive disease in England and Wales. *Clin Infect Dis.* 2004;38:1203-8.
16. Matsubara K, Hoshina K, Suzuki Y. Early-onset and late-onset group B streptococcal disease in Japan: a nationwide surveillance study, 2004-2010. *Int J Infect Dis.* 2013;17:e379-84.
17. Bisharat N, Jones N, Marchaim D, et al. Population structure of group B *Streptococcus* from a low-incidence region for invasive neonatal disease. *Microbiology.* 2005;151:1875-81.
18. Bohnsack JF, Whiting A, Gottschalk M, et al. Population structure of invasive and colonizing strains of *Streptococcus agalactiae* from neonates of six U.S. academic centers from 1995 to 1999. *J Clin Microbiol.* 2008;46:1285-91.
19. Jones N, Oliver KA, Barry J, et al. Enhanced invasiveness of bovine-derived neonatal sequence type 17 group B *Streptococcus* is independent of capsular serotype. *Clin Infect Dis.* 2006;42:915-24.
20. Lin FY, Whiting A, Adderson E, et al. Phylogenetic lineages of invasive and colonizing strains of serotype III group B streptococci from neonates: a multicenter prospective study. *J Clin Microbiol.* 2006;44:1257-61.
21. Luan SL, Granlund M, Sellin M, et al. Multilocus sequence typing of Swedish invasive group B *Streptococcus* isolates indicates a neonatally associated genetic lineage and capsule switching. *J Clin Microbiol.* 2005;43:3727-33.
22. Martins ER, Pessanha MA, Ramirez M, et al. Analysis of group B streptococcal isolates from infants and pregnant women in Portugal revealing two lineages with enhanced invasiveness. *J Clin Microbiol.* 2007;45:3224-9.
23. Morozumi M, Wajima T, Kuwata Y, et al. Associations between capsular serotype, multilocus sequence type, and macrolide resistance in *Streptococcus agalactiae* isolates from Japanese infants with invasive infections. *Epidemiol Infect.* 2013;18:1-8.
24. Chen VL, Avci FY, Kasper DL. A maternal vaccine against group B *Streptococcus*: past, present, and future. *Vaccine.* 2013;31 Suppl 4:D13-9.
25. Madhi SA, Dangor Z, Heath PT, et al. Considerations for a phase-III trial to evaluate a group B *Streptococcus* polysaccharide-protein conjugate vaccine in pregnant women for the prevention of early- and late-onset invasive disease in young-infants. *Vaccine.* 2013;31 Suppl 4:D52-7.

### <特集関連情報>

#### 小児における侵襲性インフルエンザ菌，肺炎球菌感染症：2013年

##### はじめに

インフルエンザ菌，肺炎球菌，B群レンサ球菌（GBS）はいずれも細菌性髄膜炎など特に年少児で重篤な疾病の原因となる頻度の高い細菌である。インフルエンザ菌b型（*Haemophilus influenzae* type b, Hib）と肺炎球菌については，2008年12月および2010年2月より，わが国でも結合型ワクチンが販売開始され，2011年に入り多くの自治体では公費助成で接種可能になった。2013年4月より定期接種に導入され生後2か月より接種が行われている。我々は，厚生労働科学研究事業研究班（神谷班，庵原・神谷班）として，小児侵襲性細菌感染症のアクティブサーベイランスを2007年より継続して実施している。今回は公費助成開始3年後の2013年までにワクチンが及ぼしたインパクトについて報告する。

##### 調査方法

調査対象地域は，北海道，福島県，新潟県，千葉県，三重県，岡山県，高知県，福岡県，鹿児島県，沖縄県の10道県である。報告対象とした患者は，生後0日～15歳未満で，インフルエンザ菌，肺炎球菌，GBSによる侵襲性感染症に罹患した全例とした。罹患率の算出には，総務省統計局発表の各年10月1日時点の県別推計人口を用いた。ワクチン導入後の罹患率の変化を評価するために，2008～2010年の罹患率をベースとして，2013年における罹患率の減少率を計算した。菌の同定・血清型判定は，国立感染症研究所で実施し，血清型分布の変化につき検討を行った。

##### 結果

2013年1～12月に各県より報告された5歳未満の患者数は，10道県合計でそれぞれHib髄膜炎2例，Hib非髄膜炎感染症1例，肺炎球菌髄膜炎13例，肺炎球菌非髄膜炎感染症96例，GBS髄膜炎11例，GBS非髄膜炎感染症23例であった。上記の報告数より，各疾患の5歳未満人口10万人当たりの罹患率を算出し，ワクチン公費助成前3年間（2008～2010年）の罹患率からの減少率を検討した（次ページ表1）。侵襲性Hib感染症（IHD）罹患率は，髄膜炎0.17，非髄膜炎0.10であり，2013年の減少率は98%であった。侵襲性肺炎球菌感染

表1. 公費助成前後での小児期侵襲性細菌感染症の罹患率変化  
(5歳未満人口10万人当たり)

	2008-2010	2011	減少率 (%)	2012	減少率 (%)	2013	減少率 (%)
Hib髄膜炎	7.71	3.34	57	0.59	92	0.17	98
Hib非髄膜炎	5.15	3.00	42	0.91	82	0.10	98
肺炎球菌髄膜炎	2.81	2.09	26	0.76	73	1.10	61
肺炎球菌非髄膜炎	22.18	18.12	18	10.62	52	9.71	56
GBS髄膜炎	1.29	1.25	3	1.52	-17	0.93	28
GBS非髄膜炎	1.15	1.10	4	1.21	-5	2.33	-102

症 (IPD) 罹患率に関しては、髄膜炎1.10、非髄膜炎9.71であり、それぞれ61%、56%の減少率であった。GBS感染症は髄膜炎で減少傾向(28%)であったが、非髄膜炎では102%の増加であった。

IPD 109症例のうち血清型が判明したのは94症例(86%)であった。19Aが最も多く42例、次いで24F(12例)、15A(9例)、15C(8例)、10A(5例)であった(表2)。血清型のワクチンカバー率を計算した。7価肺炎球菌結合型ワクチン(PCV7)に含まれる血清型(vaccine serotype: VT)は4例(4%)であり、ワクチンでカバーされない血清型(non-vaccine serotype: nVT)が90例(96%)を占めた。13価肺炎球菌結合型ワクチン(PCV13)のVTは50例(53%)であった。

Non typable インフルエンザ菌感染症は、2013年は2例が報告された。1歳4か月男児の髄膜炎と3歳2か月男児の肺炎であった。いずれもHibワクチンの接種を受けていた(3回、4回)。

5歳以上15歳未満小児IHD、IPD罹患状況についても調査を実施した。2008~2013年の6年間で、IHD 29例、IPD 63例が報告された。基礎疾患保有率は51.7%、61.9%であり、5歳未満の9.2%、15.5%と比較して有意に高率であった( $p < 0.0001$ )。ワクチン接種後罹患例は、IHDでは0例、IPDでは7例(PCV7 4例、PPV23 3例)であった。2013年の罹患率は、0.04、0.20であり、2008~2010年の平均罹患率0.24、0.52と比較し、83%、61%の減少率であった。

#### 考察

小児用結合型ワクチン導入によりIHD、IPDが有意に減少したことが明らかになった。しかしながら、IPDにおいては、nVTの増加が顕著であり、それに伴いIPD罹患率の減少は2012~2013年にかけて、ほぼプラトーに留まった。今後は、より幅広い血清型をカバーするPCV13の接種率向上に努める必要がある。ワクチン効果を正確に評価するために、疫学状況、分離菌血清型の変化などについて今後も継続して検討することが重要と考える。

また、ワクチン導入により、5歳以上15歳未満のIHD、

表2. 肺炎球菌血清型の内訳

血清型	症例数	ワクチンカバー率		
6B	1	PCV7 VT(4%)	PCV13 VT(53%)	
14	0			
23F	0			
9V	0			
19F	2			
4	1			
18C	0	nVT(96%)		nVT(47%)
19A	42			
6A	2			
3	1			
7F	1			
5	0			
1	0			
6C	1			
10A	5			
11E	1			
12F	1			
15A	9			
15B	1			
15C	8			
16F	1			
24F	12			
33F	4			
35B	1			

IPD罹患率も低下する間接効果が認められた。5歳以上の罹患患者では半数以上が何らかの基礎疾患を有しており、ハイリスク群への有効なワクチン接種戦略を確立することも今後の課題である。

国立病院機構三重病院小児科  
菅 秀 庵原俊昭 浅田和豊  
札幌市立大学 富樫武弘  
福島県立医科大学 細矢光亮 陶山和秀  
千葉大学 石和田稔彦  
新潟大学 齋藤昭彦 大石智洋  
岡山大学 小田 慈  
高知大学 脇口 宏 寺内芳彦  
福岡歯科大学 岡田賢司  
鹿児島大学 西 順一郎  
沖縄県立南部医療センター・  
こども医療センター 安慶田英樹  
国立感染症研究所 柴山恵吾 常 彬

診療

Key words  
ワクチン  
侵襲性 Hib 感染症  
侵襲性肺炎球菌感染症  
血清型

# ワクチン導入後の侵襲性Hib感染症、 侵襲性肺炎球菌感染症の変化

すが 菅 しょう 秀\* いはら としあき 庵原 俊昭\* あさだ かずとよ 浅田 和豊\*

**要旨** インフルエンザ菌 b 型 (Hib) および肺炎球菌は、小児侵襲性細菌感染症の代表的起因菌である。結合型ワクチンは 2011 年に入り多くの自治体で公費助成による接種が可能になった。10 道県におけるアクティブサーベイランスの結果、2012 年における罹患率は、公費助成前 3 年間に比べ、侵襲性 Hib 感染症は 92% (髄膜炎)、82% (非髄膜炎)、侵襲性肺炎球菌感染症は 71% (髄膜炎)、52% (非髄膜炎) の減少を示した。肺炎球菌の血清型解析では、ワクチンでカバーされない血清型の増加が明らかであった。今後もワクチン効果の正確な評価、分離菌血清型の変化などについてのアクティブサーベイランスが重要である。

## はじめに

インフルエンザ菌および肺炎球菌は、小児期における侵襲性細菌感染症の起因菌として頻度が高い。細菌性髄膜炎、敗血症、肺炎はその代表的な疾患である。インフルエンザ菌は莢膜多糖体抗原の違いから a~f までの 6 血清型および非莢膜型に分類される。侵襲性感染症の 80% 以上はインフルエンザ菌 b 型 (Hib) によるものである<sup>1)</sup>。一方、肺炎球菌は 90 種類以上の血清型に分類され、いずれの型も侵襲性感染症を起こすが、年齢によって侵襲性感染症を起こす血清型が異なっている。7 価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV7) は、本邦小児の侵襲性肺炎球菌感染症 (IPD) 起因菌の約 75% をカバーしている<sup>2)</sup>。

小児における侵襲性細菌感染症は、治療が進歩した今日においても重篤な経過となることがあるため、ワクチンによる予防が重要である。これまでにキャリア蛋白との結合型 Hib ワク

チンが定期接種となっている国々においては、小児侵襲性 Hib 感染症の著明な減少が報告されている<sup>3)4)</sup>。また PCV7 が定期接種となっている国々においては、IPD の減少が報告されている<sup>5)</sup>。本邦では、2008 年 12 月に Hib ワクチン、2010 年 2 月に PCV7 が市販され、2011 年に入り多くの自治体では公費助成で接種可能になった。

本稿では、本邦における Hib ワクチンおよび PCV7 導入が小児侵襲性感染症に与えたインパクトについて概説する。

## I 本邦における Hib ワクチン および PCV7 の導入効果

厚生労働科学研究事業研究班「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」班 (神谷班)、「新しく開発された Hib、肺炎球菌、ロタウイルス、HPV 等の各ワクチンの有効性、安全性並びにその投与方法に関する基礎的・臨床的研究」班 (庵原・神谷班) は、小児侵襲性細菌感染症のアクティブサーベイランスを 2008 年より継続して実施している。この

\* 国立病院機構三重病院小児科  
〒514-0125 三重県津市大里窪田町 357

表1 小児期侵襲性細菌感染症の報告患者数

	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	計
Hib 髄膜炎	101	86	93	40	7	327
Hib 非髄膜炎	39	53	58	30	9	189
肺炎球菌髄膜炎	40	34	28	25	9	136
肺炎球菌非髄膜炎	217	215	218	181	105	936
GBS 髄膜炎	15	16	16	15	18	80
GBS 非髄膜炎	11	14	9	11	12	57

(庵原俊昭ほか, 2013<sup>6)</sup>より引用)

表2 小児期侵襲性細菌感染症の罹患率 (5歳未満人口10万人あたり)

	2008~2010年	2011年	減少率 (%)	2012年	減少率 (%)
Hib 髄膜炎	7.7	3.3	57	0.6	92
Hib 非髄膜炎	5.1	3.0	41	0.9	82
肺炎球菌髄膜炎	2.8	2.1	25	0.8	71
肺炎球菌非髄膜炎	22.2	18.1	18	10.6	52
GBS 髄膜炎	1.3	1.3	0	1.5	-15
GBS 非髄膜炎	1.2	1.1	8	1.2	0

(菅 秀ほか, 2013<sup>7)</sup>より引用)

サーベイランスデータを用いて、ワクチン導入効果を解析した。

### 1. 研究方法

本研究において報告対象とした患者は、生後0日~15歳未満で、肺炎球菌、インフルエンザ菌、B群レンサ球菌 (GBS) による侵襲性細菌感染症 (血液、髄液、関節液など、本来は無菌環境である身体内部から採取した検体から起原菌が分離された感染症) に罹患した全例とした。罹患率の算出には、総務省統計局発表の各年10月1日時点の5歳未満人口を用いた。2011年10月時点での10道県を合わせた5歳未満人口推計値は1,199,000人であり、全国の5歳未満人口の推計値 (5,303,000人) の22.6%を占めていた。調査期間は、2008年1月~2012年12月の5年間、前方視的に全数把握調査を実施した。調査対象地域は、北海道、福島県、新潟県、千葉県、三重県、岡山県、高知県、福岡県、鹿児島県、沖縄県の10道県である。これらの地域で、人口ベースの患者発生状況調査を行った。

### 2. 結果

2008~2012年に各県より報告された5歳未満の患者数を表1に示した<sup>6)</sup>。5歳未満の報告患者数は5年間合計でそれぞれHib 髄膜炎327例、Hib 非髄膜炎189例、肺炎球菌髄膜炎136例、肺炎球菌非髄膜炎936例、GBS 髄膜炎80例、GBS 非髄膜炎57例であった。報告患者数を基に各疾患の5歳未満人口10万人あたりの罹患率を算出し、ワクチン公費助成前3年間 (2008~2010年) と、2011年および2012年の罹患率比較を行った (表2)<sup>7)</sup>。侵襲性Hib感染症罹患率は、公費助成前期間では髄膜炎7.7、非髄膜炎5.1であったが、2011年には、髄膜炎3.3 (減少率57%)、非髄膜炎3.0 (減少率41%) と早くも減少を示し、統計学的にも有意であった (p value < 0.0001, 0.008)。2012年には、さらに罹患率は減少し髄膜炎0.6 (減少率92%)、非髄膜炎0.9 (減少率82%) であった。IPD罹患率に関しては、髄膜炎2.8、非髄膜炎22.2であったが、2011年には、髄膜炎2.1 (減少率25%)、非髄膜炎18.1 (減少率18%) にな

り、2012年には、髄膜炎0.8(減少率71%)、非髄膜炎10.6(減少率52%)にまで減少した。統計学的にいずれも有意な減少であった。ワクチンが開発されていない侵襲性GBS感染症は減少傾向を認めなかった。これらの結果は、公費助成によるワクチン接種率向上が、侵襲性Hib感染症およびIPD減少に寄与していることを示すものである。

## Ⅱ ワクチン導入前後の肺炎球菌血清型の変化

### 1. 海外の状況

Hibワクチンが導入された国々からは侵襲性Hib感染症数の大幅な減少が報告されている。米国ではワクチン導入後5年で5歳未満の侵襲性Hib感染症罹患率が99%減少した<sup>8)</sup>。Hibワクチンはtype b以外のインフルエンザ菌(non-Hib)に対しては感染防御効果をもたないため、ワクチン導入後のnon-Hib感染症の増加(serotype replacement)が懸念される場所である。これまでにHibワクチンが導入されている国々では、侵襲性インフルエンザ菌感染症に占める割合はnon-HibのほうがHibより高くなっている<sup>9)</sup>が、罹患率の絶対的増加については、増加を認めないとする報告が多い<sup>9)10)</sup>。

PCV7が導入された国々からはIPD発症数の大幅な減少が報告されている。米国ではPCV7導入後わずか1年で5歳未満のIPD罹患率が59%減少した<sup>5)</sup>。その後CDC(Center for Disease Control)から5年後のデータが報告されており、5歳未満のPCV7血清型によるIPDは98%減少していた<sup>11)</sup>。PCV7導入後のワクチンでカバーされない血清型(non-vaccine serotypes:nVT)の増加現象は、欧米ではすでにserotype replacementとして報告されている<sup>5)12)</sup>。米国では、血清型19Aを中心としたnVTによるIPDの増加があり、PCV7導入3年目以降のIPD罹患率がプラトーになった要因とされている<sup>11)</sup>。

表3 肺炎球菌血清型の内訳

VT 血清型	2010年		2011年		2012年	
	症例数	%	症例数	%	症例数	%
4	8	3.8	3	2.3	1	1.1
6B	65	31.1	26	20	8	9.0
9V	3	1.4	7	5.4	5	5.6
14	49	23.4	24	18.5	6	6.7
18C	0	0	2	1.5	0	0
19F	18	8.6	6	4.6	3	3.4
23F	22	10.5	16	12.3	3	3.4
計	165	78.9	84	64.6	26	29.2
nVT 血清型	症例数	%	症例数	%	症例数	%
1	1	0.5	0	0	1	1.1
3	0	0	1	0.8	2	2.2
5	0	0	0	0	0	0
6A	4	1.9	5	3.8	2	2.2
6C	7	3.3	4	3.1	4	4.5
7F	0	0	0	0	0	0
10A	1	0.5	1	0.8	2	2.2
11E	0	0	2	1.5	0	0
12F	0	0	1	0.8	0	0
15A	1	0.5	1	0.8	11	12.4
15B	3	1.4	2	1.5	4	4.5
15C	1	0.5	2	1.5	4	4.5
19A	19	9.1	21	16.2	22	24.7
22F	1	0.5	2	1.5	7	7.9
23A	3	1.4	0	0	0	0
24F	2	1	2	1.5	0	0
33F	0	0	2	1.5	0	0
35B	0	0	0	0	2	2.2
38	1	0.5	0	0	2	2.2
計	44	21.1	46	35.4	63	70.8
総計	209	100	130	100	89	100

(庵原俊昭ほか, 2013<sup>9)</sup>より引用)

### 2. 本邦の状況

IPD症例について、分離された肺炎球菌の血清型を解析した。解析可能であった症例数は、2010年209例(全IPD症例の85%)、2011年130例(同63%)、2012年89例(同78%)であった。血清型分布を表3に示した。2010年は6Bがもっとも多く65例(31.1%)、次いで14(23.4%)、23F(10.5%)であり、PCV7に含まれる血清型(vaccine serotypes:VT)が78.9%

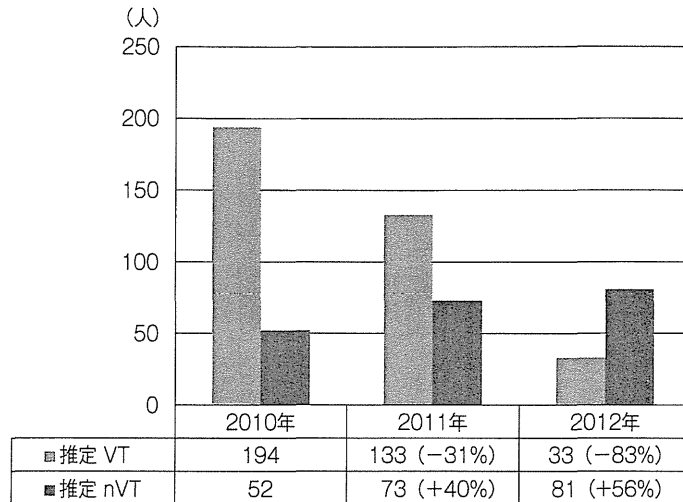


図 推定 VT および nVT 症例数の推移 (庵原俊昭ほか, 2013<sup>6)</sup>より引用)

を占めていた。しかし、VT の占める割合は 2011 年 64.6%、2012 年は 29.2% まで減少を示した。nVT では、19A がもっとも多く分離された。2010 年 19 例、2011 年 21 例、2012 年は 22 例とほぼ同数であり、その割合は 9.1%、16.2%、24.7% と相対的増加傾向を示した。19A のみならず多様な nVT の増加が明らかであり、IPD 罹患率に影響を及ぼしたと思われる。また、15A、22F も 2010 年にはそれぞれ 1 例であったが、2012 年には 11 例および 7 例に増加していた。PCV7 接種後罹患例においては、nVT の割合はさらに高くなり、VT による breakthrough infection は 1 例のみであった (後述)。米国における ABCs (Active Bacterial Core surveillance) による調査でも、ワクチン接種後罹患例は主として nVT の感染によることが報告されており<sup>13)</sup>、PCV7 による IPD 発症抑制効果の高さを裏付けるデータと考える。

血清型が判明していない症例に関しても、同様の血清型分布であると仮定して、各年における VT および nVT 症例数を推計した。2010 年における VT は 194 例と推定された。図に示すように、推定 VT 症例数は、2011 年には 133

例、2012 年は 33 例まで減少し、2010 年と比較してそれぞれ 31%、83% の減少率と計算された。一方、推定 nVT 症例数は、2010 年 52 例、2011 年 73 例、2012 年 81 例と増加傾向を示し、増加率は 2011 年 40%、2012 年は 56% であった。

### Ⅲ ワクチン接種後罹患症例

Hib あるいは肺炎球菌ワクチン接種を 1 回以上受けていたが、侵襲性インフルエンザ菌もしくは IPD に罹患した症例として、3 年間で IPD 93 例 (2010 年 7 例、2011 年 24 例、2012 年 62 例)、インフルエンザ菌感染症 18 例 (2010 年 2 例、2011 年 6 例、2012 年 10 例) が報告された。PCV7 接種後 IPD より分離された肺炎球菌の中で、血清型が判明した症例における血清型分布の変化を表 4 に示した。2010 年は VT が 6 例中 5 例 (いずれも 6B) を占めていたが、2011 年には 19 例中 3 例 (15.8%) に減少していた。2012 年には VT は 44 例中 1 例のみ (6B) であり、nVT が 97.7% を占めていた。nVT では 19A がもっとも高頻度に分離され (2012 年 15



表4 ワクチン接種後 IPD より分離された肺炎球菌血清型の内訳

VT 血清型	2010年		2011年		2012年	
	症例数	%	症例数	%	症例数	%
6B	5	83.3	1	5.3	1	2.3
9V	0	0	1	5.3	0	0
14	0	0	0	0	0	0
23F	0	0	1	5.3	0	0
計	5	83.3	3	15.8	1	2.3
nVT 血清型	症例数	%	症例数	%	症例数	%
3	0	0	1	5.3	0	0
6A	0	0	1	5.3	1	2.3
6C	1	16.7	3	15.8	4	9.1
10A	0	0	0	0	2	4.5
11E	0	0	1	5.3	0	0
15A	0	0	0	0	8	18.2
15B	0	0	2	10.5	3	6.8
15C	0	0	2	10.5	3	6.8
19A	0	0	4	21.1	15	34.1
22F	0	0	0	0	5	11.4
33F	0	0	2	10.5	0	0
35B	0	0	0	0	2	4.5
計	1	16.7	16	84.2	43	97.7
総計	6	100	19	100	44	100

(庵原俊昭ほか, 2013<sup>9</sup>)より引用)

例), 死亡1例(1歳男児, 非髄膜炎)が含まれていた。また, インフルエンザ菌感染症例からの分離菌の血清型については, 2010年はHib 1例(髄膜炎), non typable 1例(非髄膜炎), 2011年は全例Hib(髄膜炎5例, 非髄膜炎1例), 2012年では髄膜炎3例はいずれもHibによるものであったが, 非髄膜炎感染症7例では, Hib 3例, non typable 3例, 不明1例であった。

### 13価肺炎球菌結合型ワクチン(PCV13)導入に期待される効果

PCV7によるIPD予防効果は, 理論的にはnVT肺炎球菌による感染症に対しては期待することができない。またワクチン導入後のserotype replacementの進行も各国において観

察されている。そこで, PCV7に含まれる血清型に加え, 新たに6つの血清型(1, 3, 5, 6A, 7F, 19A)を追加したPCV13が開発され, 欧米では2010年より導入が開始されている。米国の小児病院8施設における前向き多施設共同研究では, PCV13導入前の3年間(2007~2010年)と導入後の2011年におけるIPD患者の解析を行った<sup>14)</sup>。その結果, 2011年のIPD患者数は導入前の平均患者数に比べ42%減少を示し, 2歳未満では53%, 2歳以上5歳未満では46%の減少率であった。また, PCV13に含まれる血清型肺炎球菌分離株数は57%の減少率であった。英国からはPCV13導入後15カ月時点において, 生後24カ月未満小児のIPD発症に対するワクチン効果を評価した報告がなされている<sup>15)</sup>。PCV13に含まれない血清型によるIPD発症数をコントロールとして, PCV13に含まれる血清型によるIPDに関するPCV13の予防効果を計算したものであり, 2回接種を受けた1歳未満群では78%, 1回接種を受けた1歳以上2歳未満群では77%の有効率が示されている。

われわれの研究では, 5歳未満IPD患者より分離された肺炎球菌におけるPCV13カバー率は, 2010年94.2%, 2011年85.4%, 2012年60%と低下傾向にあるものの, 2012年のPCV7カバー率が29.2%まで低下したことを考えると早期PCV13導入の必要性はあると思われる。このような状況下で, 日本においても2013年11月1日より定期接種として開始されている。

PCV13導入スケジュールとして, 米国ACIPはPCV7と同様のガイドラインを示しており, さらに導入時の過渡的措置として14~59カ月齢のPCV7接種完了者を対象としたsupplemental dose(補助的追加接種)1回接種を推奨している<sup>16)</sup>。日本における定期接種実施要領の変更点としては, 「沈降7価肺炎球菌結合型ワクチン」が「沈降13価肺炎球菌結合型ワクチン」に置き換わったのみであり, 接種時期等の変更

は示されていない。われわれの研究データより、追加される6種の血清型によるIPDは2012年では日本全体で年間99人(1歳半以上5歳未満小児において)、74人(2歳以上5歳未満小児において)であったと推計される。したがって、補助的追加接種については、個人予防の観点では疾病負担を軽減できる可能性があり推奨されるが、費用対効果の点で社会全体に対する利益が限定されることより、定期接種化はせず希望者に対して任意で接種することとなっている。

PCV13導入により、さらなるIPDの減少が期待される一方で、上述のように本邦では欧米とくらべて15血清型(15A, 15B, 15C), 22FなどのPCV13でカバーされない血清型へのreplacementが急速に進行していることから、今後も注意が必要である。

## おわりに

小児用結合型ワクチン導入により5歳未満小児において侵襲性Hib, 肺炎球菌感染症が有意に減少したことが明らかになった。さらに肺炎, 中耳炎に対する効果やPCV7非接種年齢層に対する間接効果も期待される。しかしながら、とくにIPDにおいては、nVTの割合増加が顕著であり、それに伴い接種後罹患症例も増加傾向を示した。より幅広い血清型に対応すべくPCV13が開発されており、先行導入された諸外国においては、その有効性が示されている。それを受けて本邦でも2013年11月からPCV7に代わりPCV13が定期予防接種として開始されている。HibワクチンならびにPCVは小児侵襲性感染症の予防において、優れたワクチンであることに異論はないであろうが、その限界も明らかとなってきた。したがって今後も、① serotype replacementの発生、進行状況、② 長期的なワクチン効果、③ ワクチン接種後罹患例の解析、④ 分離菌の抗菌薬感受性の推移、などに留意して侵襲性細菌感染症のアク

ティブサーベイランスを継続、推進する必要があると考える。



- 1) Peltola H : Worldwide *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21st century : global analysis of the disease burden 25 years after the use of polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugate. Clin Microbiol Rev 2000 ; 13 : 302-317
- 2) 常 彬ほか : 小児侵襲性感染症由来肺炎球菌の細菌学的解析から見た肺炎球菌結合型ワクチンPCV7の効果. 病原微生物検出情報 2013 ; 34 : 64-66
- 3) Peltola H, Kilpi T, Anttila M : Rapid disappearance of *Haemophilus influenzae* type b meningitis after routine childhood immunization with conjugate vaccines. Lancet 1992 ; 340 : 592-594
- 4) Adams WG et al : Decline of childhood *Haemophilus influenzae* type b (Hib) disease in the Hib vaccine era. JAMA 1993 ; 269 : 221-226
- 5) Whitney CG et al : Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugate vaccine. N Engl J Med 2003 ; 348 : 1737-1746
- 6) 庵原俊昭ほか : 「小児細菌性髄膜炎および全身性感染症調査」に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金 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「新しく開発されたHib, 肺炎球菌, ロタウイルス, HPV等の各ワクチンの有効性, 安全性並びにその投与方法に関する基礎的・臨床的研究(研究代表者 庵原俊昭)」平成22~24年度研究報告書, 2013 : 9-19
- 7) 菅 秀ほか : 7価肺炎球菌結合型ワクチン(PCV7)導入が侵襲性感染症に及ぼす効果:2012. 病原微生物検出情報 2013 ; 34 : 62-63
- 8) CDC : Progress toward elimination of *Haemophilus influenzae* type b disease among infants and children—United States, 1987—1997. MMWR 1998 ; 47 : 993-998
- 9) Ladhani S et al : Invasive *Haemophilus influenzae* disease, Europe, 1996-2006. Emerg Infect Dis 2010 ; 16 : 455-463
- 10) CDC : Progress toward elimination of *Haemophilus influenzae* type b invasive disease among infants and children—United States, 1998—2000. MMWR 2002 ; 51 : 234-237
- 11) CDC : Invasive pneumococcal disease in children 5 years after conjugate vaccine introduc-

- tion—eight states, 1998—2005. *MMWR* 2008 ; 57 : 144-148
- 12) Hicks LA et al : 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* 2007 ; 196 : 1346-1354
- 13) Park SY et al : Invasive pneumococcal infections among vaccinated children in the United States. *J Pediatr* 2010 ; 156 : 478-483
- 14) Kaplan SL et al : Early trends for invasive pneumococcal infections in children after the introduction of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 2013 ; 32 : 203-207
- 15) Miller E et al : Effectiveness of the new serotypes in the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Vaccine* 2011 ; 29 : 9127-9131
- 16) CDC : Licensure of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV13) and recommendations for use among children—Advisory committee on immunization practices (ACIP), 2010. *MMWR* 2010 ; 59 : 258-261

# Phase III Clinical Trials Comparing the Immunogenicity and Safety of the Vero Cell-Derived Japanese Encephalitis Vaccine Encevac with Those of Mouse Brain-Derived Vaccine by Using the Beijing-1 Strain

Chiaki Miyazaki,<sup>a</sup> Kenji Okada,<sup>b</sup> Takao Ozaki,<sup>c</sup> Mizuo Hirose,<sup>d</sup> Kaneshige Iribe,<sup>e</sup> Hiroyuki Yokote,<sup>f</sup> Yuji Ishikawa,<sup>f</sup> Takehiro Togashi,<sup>g</sup> Kohji Ueda<sup>h</sup>

Fukuoka-West Rehabilitation Center for Children, Fukuoka, Japan<sup>a</sup>; Department of Pediatrics, Fukuoka Dental College, Fukuoka, Japan<sup>b</sup>; Department of Pediatrics, Konan Kosei Hospital, Konan, Japan<sup>c</sup>; Hirose Pediatric Clinic, Saga, Japan<sup>d</sup>; Sakurajyuji Hospital, Kumamoto, Japan<sup>e</sup>; Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute (KAKETSUKEN), Kumamoto, Japan<sup>f</sup>; School of Nursing, Sapporo City University, Sapporo, Japan<sup>g</sup>; Seinan Jo Gakuin University, Kitakyushu, Japan<sup>h</sup>

The immunogenicity and safety of an inactivated cell culture Japanese encephalitis vaccine (CC-JEV) were compared with those of an inactivated mouse brain-derived Japanese encephalitis vaccine (MB-JEV) in phase III clinical multicenter trials conducted in children. The vaccines contain the same Japanese encephalitis virus strain, the Beijing-1 strain. Two independent clinical trials (trials 1 and 2) were conducted. Trial 1 was conducted in 468 healthy children. Each subject was injected with 17  $\mu$ g per dose of either CC-JEV or MB-JEV, and the immunogenicity and safety of the vaccines were investigated. Trial 1 showed that CC-JEV was more immunogenic and reactive than MB-JEV at the same dose. Therefore, to adjust the immunogenicity of CC-JEV to that of MB-JEV, a vaccine that has had a good track record regarding its efficacy for a long time, trial 2 was conducted in 484 healthy children. To improve the stability, CC-JEV was converted from a liquid type to a freeze-dried type of vaccine. Each subject was injected subcutaneously with either 4  $\mu$ g per dose of CC-JEV, 8  $\mu$ g per dose of CC-JEV, or 17  $\mu$ g per dose of MB-JEV twice, at an interval of 2 to 4 weeks, followed by an additional booster immunization 1 to 15 months after the primary immunization. Based on the results of trial 2, 4  $\mu$ g per dose of the freeze-dried CC-JEV (under the label Encevac) was selected as a substitute for the MB-JEV. Encevac was approved and launched in 2011 and has since been in use as a 2nd-generation Japanese encephalitis vaccine in Japan. (These studies have been registered at the JapicCTI under registration no. JapicCTI-132063 and JapicCTI-080586 for trials 1 and 2, respectively.)

Japanese encephalitis (JE) is an infectious disease caused by the JE virus (JEV), which is mediated by mosquitoes, such as *Culex tritaeniorhynchus* (1, 2). JE occurs not only in Japan but also in many other Asian countries, including Korea, Taiwan, China, Vietnam, Thailand, Malaysia, Myanmar, and India (3). The number of cases and fatalities due to JE are reported to be about 20,000 and 600 per year, respectively (1). To prevent this infectious disease, a JE vaccine derived from infected mouse brain tissue has been in use for a long time in Japan and other countries. Concurrently, a live-attenuated vaccine developed from a passaged culture of the JEV SA14 strain in primary hamster kidney cells and animals (mice and hamsters) with successive plaque purifications in primary chicken embryo cells, SA14-14-2, has been in use since 1989 in China and other countries (4). Moreover, an inactivated vaccine produced using the SA14-14-2 vaccine strain has been licensed in the United States, Europe, Canada, and Australia (5).

In Japan, mouse brain-derived JE vaccine (MB-JEV) was initially produced using mouse brains inoculated with JEV Nakayama-NIH as a vaccine virus strain. At that time, MB-JEV was produced by adding formalin to the centrifugal supernatant of a 5% emulsion of mouse brain to inactivate the JE virus (6). Later, the quality of MB-JEV was improved through purification processes. As for the virus strain used for vaccine production, the Nakayama-NIH strain was changed to the Beijing-1 strain in 1989. MB-JEV, using the Beijing-1 strain, showed neutralizing activities against a wide range of domestic and foreign JE viruses. Furthermore, this vaccine strain showed high productivity in vaccine manufacture and high antibody-positive rates and neutralizing

antibody titers in vaccinees compared with the Nakayama-NIH strain.

From January 2005 to December 2007, acute disseminated encephalomyelitis (ADEM) occurred after vaccination with MB-JEV at a very low frequency of 0.8 per 100,000 children, according to a national investigation by pediatric departments in Japan (7). The Health, Labor, and Welfare Ministry of Japan admitted in 2005 that the ADEM cases occurring after vaccination with MB-JEV were health hazards, and accordingly, they issued a recommendation to withhold active recommendation of the MB-JEV. The following points were considered to be problems with MB-JEV: (i) a possible risk of it causing ADEM, (ii) difficulties with quality control, and (iii) the use of animals in vaccine production. To address this situation, two new freeze-dried inactivated cell culture JE vaccines (CC-JEV) produced using the Beijing-1 strain were approved as substitutes for the MB-JEV in Japan: JeBIK-V (Biken, The Research Foundation for Microbial Diseases of Osaka University, Kagawa, Japan), approved in 2009, and Encevac (Kaketsuken, the Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute, Ku-

Received 29 June 2013 Returned for modification 23 July 2013

Accepted 8 December 2013

Published ahead of print 11 December 2013

Editor: M. F. Pasetti

Address correspondence to Hiroyuki Yokote, yokote@kaketsuken.or.jp.

Copyright © 2014, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

doi:10.1128/CVI.00377-13