

博士（保健学）学位論文

論文題目

尿を材料とした風疹ウイルス抗体測定とその疫学的有用性
**Anti-rubella virus IgG in urine: an epidemiological application
of new enzyme-liked-immunosorbent assay (ELISA)**

2002年

指導教員 柴田茂男 教授

氏名 大屋日登美
OHYA, Hitomi

女子栄養大学

— 目 次 —

I. 緒 言	P 1
II. 研究方法	P 2
III. 研究結果	P 5
IV. 考 察	P 9
V. 結 語	P13
文 献	P14
図 表	P17
表 1.	P17
図 1.	P18
表 2.	P19
表 3.	P20
表 4.	P21
表 5.	P22
表 6.	P23
表 7.	P24

I. 緒言

わが国の風疹予防接種は、先天性風疹症候群(以下 CRS と略)の発症防止を目的として 1977 年以来中学生女子を対象としてきた。しかし、平成 6 年(1994)に予防接種法が改正され、集団接種から個別接種へと変更された¹⁾。今後の感染症流行は、個別接種率に依存することになり、妊娠年齢期の風疹の感受性者数は幼児期の予防接種率とその後の自然感染率に左右されることになる。今後の風疹感染症の流行や CRS の発生を予測する上で、幼児期の予防接種率や抗体保有率に関する疫学情報は重要である。

一般にウイルス感染症の疫学調査は、血清を材料にして行われている。しかしながら、採血による痛みや不快感を伴うために、一般健常集団の調査、特に小児や老人を対象とした調査では血清が得にくい状況にある。尿や唾液には抗体活性を有する IgG, IgA, IgM の免疫グロブリンが含まれている。しかし、血清に比べて免疫グロブリン含有量が微量であるため、血清を材料とした従来の抗体測定法では、検出感度の点で血清と同様の結果を得にくいという難点があった。近年、高感度測定法を用いることによって、唾液^{2~8)}や尿^{8~18)}からウイルスや細菌等の特異抗体を検出する試みがなされている。また、HSV-1 特異 IgG 抗体⁵⁾、HIV-1 特異 IgG 抗体^{6,9)}については、唾液あるいは尿を材料とする疫学調査の有用性を示唆する報告もある。

尿を材料とした風疹抗体測定について、血清と対比してその有用性を検討した研究では、感度および特異度が極めて良好であることを高橋ら¹⁰⁾、寺田ら¹¹⁾は報告している。しかし、疫学調査における有用性については自然感染例、予防接種例、また、幼児を対象とした疫学調査への応用などの検討が必要と思われる。

本研究では、1)尿中風疹 IgG 抗体測定之感度と特異度を求め、2)風疹自然感染および風疹予防接種後の尿中への抗体出現を確認し、3)保健センターでの3歳児健康診査受診者を対象にした尿中風疹 IgG 抗体測定および疫学的有用性を検討した。

II. 研究方法

1.調査方法と対象

1)尿中の風疹IgG抗体測定法之感度・特異度

神奈川県内の医療系短期大学および看護専門学校ならびに小児科外来で本研究について説明し同意を得て、尿と血清をペアにして採取した234例(男44人、女190人)を検討した。年齢は2歳～46歳(平均18.4歳、男14.0歳、女18.5歳)であった。

2)風疹自然感染および風疹予防接種後の尿中への風疹IgG抗体出現について

(1)風疹自然感染例の調査

神奈川県内小児科7施設の協力を得て、風疹およびその疑いのある患児の保護者に本研究に対する同意を得て、尿と血清をペアにして採取した。なお、血液および尿は、感染急性期(1-6病日)と回復期(2-6週間後)に採取した。12例の協力が得られ、血清中の抗体出現により、初感染例6例(内1例は母親)、既感染例2例、非感染例4例の内訳であった。症例の年齢は11例が3～13歳で、1例が46歳で、性別は男8人、女4人であった。

調査期間は1997年5月から1998年6月までである。

(2)風疹予防接種例の調査

神奈川県内の看護専門学校、医療系短期大学の学生(19～23歳)

から尿と血清をペアにしてサンプルを採取した。また、同時に風疹の予防接種歴、感染症や腎疾患等の既往歴に関するアンケート調査を実施した。風疹抗体陰性者に本研究の説明を行い同意が得られた17例(男2人、女15人)に風疹予防接種(KRT、北里研究所、高橋株)を行った。血液および尿は、風疹予防接種時、3週後、6～7週後に計3回採取した。5例については1年後も採取した。

調査期間は、1997年5月から2000年5月までである。

3)3歳児健康診査受診者における尿を用いた風疹疫学調査

小田原市保健センターにおける3歳児健康診査受診者(3歳6ヶ月)のうち、保護者から本調査の同意を得た幼児を対象に実施した。方法は、①調査開始1ヶ月前に、保健センターから通常送付している採尿容器と簡易アンケート紙とともに本調査のアンケート紙(兼調査の説明と同意書)を送付した。②健康診査時の受付にて、尿、簡易アンケート紙と調査用アンケート紙を回収した。③調査用アンケート紙の提出があった場合のみ、尿検査終了後の残尿を回収し、一般検査(尿定性)、風疹IgG抗体(ELISA法)および総IgG量(EIA法)を測定した。

保護者へのアンケートの調査項目は、対象児の予防接種歴、感染症の既往歴等で、得られた回答についてSPSS 9.0を用いて集計・分析を行った。

調査期間は、1999年10月1日～12月17日(1999年度調査)と2001年1月12日～3月16日(2000年度調査)である。1999年度調査では、健康診査対象数469人、健康診査受診数411人、本調査協力数376人で、2000年度調査では健康診査対象数455人、健康診査受診数390人、本調査協力数364人であった。

2.検体の採取

1-1)、1-2)-(1)および(2)の調査では、対象者から随時尿 5ml、血液 2ml を採取した。尿は 2%アジ化ナトリウム(NaN_3)を $50\mu\text{l}$ 添加後 4°C にて保存し、血清は -40°C に測定まで凍結保存した。1-3)では、尿 (5ml)のみを採取し、上記と同様の処理を行った。

3.風疹抗体測定

血清中の風疹抗体の測定には、蛍光基質を用いた酵素免疫測定法 (Enzyme Linked Fluorescent Assay, 以下 ELFA 法) による VIDAS Rubella-IgG 及び IgM (日本ビオメリュー)、及び ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) 法による PLATELIA II Rubella-IgG (富士レビオ) を用いた。尿中の風疹抗体の測定には、専用に開発された風疹 IgG 抗体測定 ELISA (大塚製薬)¹⁰⁾ を用いて風疹 IgG クラス特異抗体を測定した。検査の手順はそれぞれ検査キットの操作法に従った。

各々の測定法のカットオフ値は、VIDAS Rubella-IgG では ELFA 法での測定値 (以下 VIDAS RV-IgG 値) 15IU/ml 、VIDAS Rubella-IgM の測定値 (以下 VIDAS Rubella-IgM 値) 1.20 、PLATELIA II Rubella-IgG では COI 値 1.0 、また尿中風疹 IgG 抗体測定 ELISA の測定値 (以下尿 RV-IgG 値) では COI 値 1.0 であった。

4.IgG 定量および尿定性試験

抗ヒト IgG 抗体 (ウサキ IgG, DAKO) をマイクロプレート (Nunc) に固相し、尿中の IgG をペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG 抗体 (ウサキ IgG, DAKO) で検出するサンドイッチ法を用いた。検量線には IgG 濃度既知血清 (WAKO) を用い、ロジット・ログ 1 次回帰式にて濃度を算出した。

また、尿の定性試験 (蛋白質、糖、潜血) には、N-マルティスティックス SG-L (三共株式会社) を用いた。

Ⅲ. 研究結果

1. 尿中の風疹IgG抗体測定法の感度・特異度

234例から採取した血清および尿について風疹IgG抗体を測定した (Table 1)。血清は、PLATELIA II Rubella-IgG により測定した結果を用いた。血清で抗体陽性であった181例のうち、尿で抗体が検出されたのは180例で、1例は偽陰性例であった。また、血清で抗体陰性の53例は全例、尿でも抗体が検出されず偽陽性例はみられなかった。血清での抗体有無の判定を基準にして、尿での風疹IgG抗体測定の感度を求めると99.4%(180/181)であり、特異度は100%(53/53)であった。なお、ここで用いた検体の尿はすべて定性試験で基準範囲であった。

血清と尿における風疹 IgG 抗体の相関性を求めたところ、決定係数は、0.2867、相関係数は、0.5354 ($p < 0.001$) で有意な相関があった (Figure 1)。しかし、血清で高い COI 値を示しても、尿で低い COI 値を示すものがみられた。尿で抗体偽陰性であった1例は、血清の COI 値が2.70であった。

2. 風疹自然感染および風疹予防接種後の尿中への風疹 IgG 抗体出現について

1) 臨床症状で風疹自然感染が疑われた例における血清および尿中の風疹 IgG 抗体

風疹自然感染例の血清中風疹 IgG 抗体は、VIDAS Rubella-IgG および VIDAS Rubella-IgM で測定した。初感染例(6例)についてみると急性期でカットオフ値以下であったものが、回復期にはその全例が風疹 IgG 抗体陽性となった。既感染例(2例)では有意な上昇は見られず、また、非感染例(4例)では全例がカットオフ値以下のままであった (Tab. 2)。なお、この12例については、風疹 IgM 抗体も同時に測定しており、初感

染の 5 例に風疹 IgM 抗体を認めた。

尿中風疹 IgG 抗体についてみると、初感染例は 6 例中 5 例が急性期に COI 値 1.0 以下で抗体陰性であったが、1 例は弱陽性を示した。回復期には、全例が有意な風疹 IgG 抗体上昇を示し、尿を材料とする検査でも血清と同様の結果が得られた。既感染例では急性期に抗体を確認し、回復期でもほぼ同程度の COI 値であった。非感染例では 4 例の内 3 例は COI 値 1.0 以下のままで、血清と同じ結果が得られたが、1 例は急性期に偽陽性を示した。この 1 例は、尿定性試験の結果で蛋白質++の高蛋白質尿であった。

IgG クラス特異抗体を検出していることから、尿中の IgG 濃度との関連を検討したところ、尿中の IgG 濃度は、自然感染例では 0.81~24.44 μ g/ml で広範囲に分布していた。また、尿中風疹 IgG 抗体の上昇に伴って IgG 濃度が増加することはなかった。

2) 風疹予防接種例における血清および尿中の風疹 IgG 抗体

風疹予防接種後の血清中風疹 IgG 抗体および IgM 抗体の測定結果を Tab.3 に示した。風疹 IgG 抗体は接種時にはカットオフ値以下であったが、3 週間後には 7 例が、6 週間後には 17 例全例が陽性となった。また、1 年後まで追跡できた 5 例はすべて陽性であった。

これらの予防接種例について尿中風疹 IgG 抗体を測定したところ、接種時には全例が COI 値 1.0 以下で抗体陰性であった。3 週間後には血清で陽性となった 7 例で尿中に抗体を認め、6 週間後には全例で有意な抗体上昇が確認できた。また、1 年後まで追跡できた 5 例は尿中にも風疹 IgG 抗体を認めた。尿においても血清と同様に有意な風疹抗体の上昇を確認することができた。

尿中の IgG 濃度は、予防接種例では 0.93~9.02 μ g/ml で、自然感

染例と同様に尿中風疹 IgG 抗体の上昇に伴って IgG 濃度が変化することとはなかった。

3. 3 歳児健康診査受診者における尿を用いた風疹疫学調査

1) 調査協力児の属性と尿中の風疹 IgG 抗体

1999 年度調査では健康診査対象児 469 人の内 87.6% (411 人) が健康診査を受診し、その 91.5% (376 人) が本調査に同意し、2000 年度調査では健康診査対象児 455 人の内 85.7% (390 人) が健康診査を受診し、その 93.3% (364 人) が調査協力に同意した (Tab.4)。男女児ほぼ同数で、兄弟姉妹を有する児の割合、集団保育を受けている児の割合、児の外国居住歴率、調査時の疾病の有無や服薬状況は調査年度で異なることはなかった。尿を検査材料とすることから腎疾患の有無を質問したが 1999 年度調査で 3 人 (0.8%) の回答があったのみである。対象児の予防接種歴について、正確性を考慮して、母子健康手帳で確認して回答することを依頼した。母子健康手帳で確認して回答した者は、1999 年度調査で 355 人 (本調査協力児の 94.4%)、2000 年度調査で 349 人 (同 95.9%) で殆どの保護者が母子健康手帳の記録を参考にして回答していた。

調査に同意した児の尿中の風疹 IgG 抗体保有率は、1999 年度が 78.7%、2000 年度調査が 83.2% で、年度に著しい差異はなく、この地域の幼児の 80.9% が風疹 IgG 抗体を有していた。

2) 3 歳児健康診査における調査協力児の風疹および他の予防接種歴と感染症既往歴について

母子健康手帳で確認し、予防接種について有効な回答があったものは、1999 年度調査では 352 人、2000 年度調査では 346 人、合計で 698 人であった。これらの回答者について風疹、麻疹、流行性耳下腺炎、水

痘に関する予防接種歴および既往歴（医師の診断を受けた）を年度別・性別にして Tab.5 に示した。年度別の予防接種率は、風疹が 80.4%、82.9%、81.7%（1999 年度、2000 年度、合計の順、以下も同様）、麻疹が 93.2%、92.8%、93.0%、流行性耳下腺炎が 26.4%、25.4%、25.9%、水痘が 27.8%、28.6%、28.2% で、年度での差異は見られなかった。流行性耳下腺炎については男児が 10% ほど高い接種率であった（ $P=0.001$ ）が、他の予防接種では性差は見られなかった。また、これらの感染症の既往歴については、風疹が 0.4%（合計）、麻疹が 0.9%、水痘が 31.8% で年度別や性別で差異はなかったが、流行性耳下腺炎は 1999 年度の 1.4% に比べて 2000 年度が 8.7% と増加していた（ $P<0.001$ ）。

風疹の予防接種の時期については、風疹の予防接種を受けた児の内の半数以上が 1-2 歳（1999 年度 53.0%、2000 年度 63.4%）で受けていた（Tab.6）。

3) 風疹の予防接種歴と尿中の風疹 IgG 抗体

風疹の予防接種を受けていた 570 人から接種時期が不明の 7 人と接種後短期間（2 週間以内）の 4 人を除く 559 人について、尿中の風疹 IgG 抗体をみると陽性であった者は 1999 年度が 98.2%、2000 年度が 98.6% であった。抗体陰性者は、1999 年度 5 人（1.8%）、2000 年度 4 人（1.4%）、計 9 人（1.6%）であった（Tab.7）。なお、この陰性者は全て予防接種後 6 ヶ月以上を経過していた。

風疹予防接種を受けていなかった児は、1999 年度 69 人、2000 年度 59 人であったが、これらの児の尿中風疹 IgG 抗体保有率は各々 10.1%、15.3% で、2 年度合計で 12.5% の抗体保有率であった。また、風疹抗体が陽性であった 16 人の内、医師に風疹と診断されて既往歴を回答した

児は1人(6.3%)であった。既往歴を有する児は2年度を通して3人の回答があつたが、抗体陽性は1人のみであつた。一方、既往歴を有さなかつた125人では15人(12.0%)が抗体陽性であつた。予防接種を受けなかつた児の風疹抗体保有率を集団保育の有無別に見ると、1999年度は16.1%:5.3%(オッズ比 3.36、 $P<0.10$)で、集団保育の児にやや高かつたが、2000年度は16.0%:14.7%(オッズ比 1.10)と差異はなく調査年度で異なつた。なお、合計では16.1%:9.7%(オッズ比 1.78、 $P<0.10$)で、集団保育の児にやや高いことが示された。兄弟姉妹の有無別では、兄弟姉妹なしの児がやや高い抗体保有率であつたが有意な差異ではなかつた。

IV. 考察

血清疫学調査は、地域や集団における感染症の流行を把握する上で重要である。しかし、幼児・学童では採血を伴う調査は協力が得にくいため、代表性の高い疫学情報を得ることが困難な状況にある。血清に代わる抗体測定の方法として、唾液²⁻⁸⁾あるいは尿を用いた報告⁸⁻¹⁸⁾がある。唾液については採取法が報告によって工夫されており、近年では専用の採取容器が市販されるようになった。しかし、唾液は採取量が少なく、検査項目数に限界を生ずる。また、尿は採取量が多いという利点があるが、抗体活性成分であるIgG等の免疫グロブリン含有量が微量であることが欠点として考えられる。ELISA法は、高感度に抗体を検出することが可能な方法であり、市川ら⁵⁾はアビチン-ビオチンを間接ELISA法に応用して唾液中のヘルペス抗体を検出し、また、吉原ら⁹⁾は高感度ELISA法を用いて尿中HIV抗体が十分に測定可能であることを示している。

尿における風疹特異抗体を測定した報告は高橋ら¹⁰⁾、寺田ら¹¹⁾のみ

である。尿中の風疹抗体測定について高橋らは89例、寺田らは853例を検討し、感度と特異度について、各々100%と100%、96.1%と99.0%と報告している。本研究では、尿中風疹IgG抗体の検出について、高橋ら、寺田らの測定法(尿中風疹IgG測定ELISA)と同様のものを用い、その感度と特異度を確認した。尿定性試験で基準範囲であった尿中の風疹抗体測定は、血清での抗体の判定を基準にすると感度は99.4%、特異度は100%で、高橋ら、寺田らの報告に類似した結果であった。血清抗体陽性181例の内1名に偽陰性が見られたが、血清抗体陰性53例では偽陽性は見られなかった。偽陰性となった尿でもIgG濃度が特に低いということではなかった。抗体価について、血清と尿の相関性を検討したところ相関係数は0.535($P < 0.001$)で、尿中の抗体価はほぼ血清の抗体価に相関しているものと思われる。

本研究では、風疹感染後の尿中への抗体出現について検討し、初感染例においては、全例で血清と同様に回復期の尿で抗体上昇を認めることができた。急性期の血清でRV-IgG抗体が10IU/mlであったのに、尿ではCOIが1.48と弱陽性を示した例(No.2)があった。血清中の抗体測定に用いたVIDASによれば、10~14IU/mlは判定保留で、特異抗体は存在するがその免疫活性を確認できるレベルまで達していない状態であると解説していた。

一方、非感染例で急性期に採取した尿において風疹IgG抗体偽陽性を示した例が1例あった。この1例は、尿定性試験で高蛋白尿であった。このことについては、吉原ら⁹⁾の尿中HIV抗体検出においても高蛋白尿で偽陽性となることが報告されている。風疹を疑われた既感染患児では、急性期尿に風疹抗体を検出しており、また、風疹非感染例では尿でも回復期の抗体上昇をみなかった。以上のことから、尿による風疹抗体測

定が尿定性試験で蛋白が基準範囲であった尿については臨床検査として利用できることを示唆している。なお、小児の風疹自然感染例について尿を材料として風疹IgG抗体測定が可能であることを示した研究は見あたらない。

予防接種後の尿中への抗体出現についてみると、予防接種17例の全例で血清同様に尿でも抗体上昇を確認することができ、5例については、追跡した1年後においても、尿中に抗体を確認した。これらのことは、予防接種の効果評価を検討する際の抗体測定に、尿は有用であることを示唆している。しかし、予防接種6週後で血清中抗体価が低い例では、尿中の抗体価も低く、判定が偽陰性となることも想定される。予防接種後の抗体陽転の確認には、7週以上の期間が必要と思われる。

Vyseら⁷⁾は、3.5-5歳児を対象にMMRワクチン接種後の風疹IgG抗体を唾液を用いて測定し、その感度について検討しているが、唾液採取法によって感度が92.3%~97.8%と異なることを報告している。尿は唾液と異なり採取法は一般の尿検査と同様の方法で行える。本研究では濃縮などの前処理を行わずに測定に供し、随時尿でも風疹IgG抗体の検出が可能であることを示した。

わが国では、風疹の予防接種は、妊婦の感染によるCRSの発症予防を目的に昭和52年(1977)以降中学生女子を対象におこなわれてきた。しかし、平成6年(1994)の予防接種法改正に伴い、乳幼児期及び学童期における流行防止も目的に加え、対象を生後12月から生後90月としたが、平成15年(2003)9月まで経過措置として、昭和54年4月2日から昭和62年10月1日までの間に生まれた者(平成7年4月1日において生後90月を越えている16歳未満の者)のうち、従来の風疹の定期予防接種を受けていない者については12歳以上16歳未満の者を

対象とした。その後経過措置対象者の接種率が55.5%にとどまっていることから、平成13年(2001)の予防接種法改正では経過措置として昭和54年4月2日から昭和62年10月1日までの間に生まれた者(平成13年10月1日現在14~22歳6月未満の者)に対して平成15年9月30日までの経過措置の期間内に予防接種を受けるよう再度接種機会を提供することになった。

一方、地域によって風疹の予防接種率に差違が見られ、経過措置の対象となっている小・中学生が妊娠年齢に達した時の風疹感染およびCRSの発生が懸念されている¹⁹⁾。予防接種率に関する調査に加えて、風疹抗体保有状況を把握する疫学調査が、風疹流行を評価する上で重要と考える。

本研究では、採血困難な3歳6ヶ月児における風疹疫学調査を尿を用いて実施した。対象集団の90%以上の保護者から協力が得られ、疫学情報を得るに十分な代表性のある調査が可能であった。感染症流行予測事業は血清中の抗体測定で感受性者の情報を得ているが、より正確な予測には代表性の高い疫学調査が必要である。風疹の流行予測は、尿を材料にすることでより代表性の高い調査が可能であると考えられる。また、風疹予防接種を受けていない児の尿中風疹IgG抗体の保有率は、2年度合計で12.5%であった。これは予防接種を受けなかった児における自然感染率と推定される。

尿を用いた風疹抗体の疫学調査で得られた結果を評価する場合は、0.6%の偽陰性率がみられたこと、高蛋白尿で偽陽性例がみられたこと等の点を考慮する必要がある。今後、測定法の改善を試みることも、あるいは尿性状との関連についてさらに詳細な検討を試みる予定である。

母子健康手帳で確認して予防接種を受けたと回答した児の中で、尿

中に風疹抗体が検出できなかった児は9人(1.6%)で、これらは、予防接種後6ヶ月以上を経過した児であった。予防接種を受けた児が抗体陰性であった理由としては、尿を材料としたことによる偽陰性と、予防接種で抗体獲得が出来なかったことが考えられる。宮崎²⁰⁾によれば、風疹の予防接種で抗体獲得を示す血清中の陽転率は、ワクチンや接種対象によって91.3~100%の範囲にあることが報告されている。

寺田ら¹¹⁾や法橋ら²¹⁾は、学童を対象とした風疹疫学調査を実施しているが、本研究では予防接種時期の幼児を対象とした疫学調査が尿を用いることで容易に行えることを示した。

V. 結語

本研究では尿を材料とした風疹IgG抗体測定を検討した。風疹IgG抗体は尿を材料としても測定できることが明らかになり、自然感染後や予防接種後の風疹IgG抗体の確認について本法が有用であることを示した。

さらに、保健センターにおける3歳児健康診査時の幼児の尿を用いて、風疹抗体保有を調査し、併せて保護者のアンケートによる予防接種歴と風疹既往歴の疫学調査を実施したところ、予防接種率と同時に、風疹抗体保有状況等を明らかにする疫学調査に本法が有用であることを示した。

本研究の一部は文部省科学研究費奨励研究 A(課題番号11770215)の補助を受け実施したものである。

稿を終えるにあたり、ご協力くださいました三沢孔明先生(三沢小児科)、甲斐純夫先生(横浜市立港湾病院小児科)、西山裕子先生(三浦市立病院小児科)、横田俊一郎先生(横田小児科)、高橋 協

先生(神奈川県立足柄上病院小児科)、徳弘悦郎先生(小田原市立病院小児科)、森 哲夫先生(横浜市南部病院小児科)、小田原市保健センターの方々、小坂 修氏、町川房市氏(大塚製薬)に深謝します。また、調査および分析等で協力いただいた中村久美子氏(神奈川県立衛生短期大学衛生技術科公衆衛生学研究室研究員)に深謝いたします。

文 献

- 1) 木村三生夫,平山宗弘,堀 春美.予防接種の手びき,第7版第4刷.東京:近代出版.1999;138-146
- 2) Perry KR, Brown DW, Parry JV, et al. Detection of measles, mumps, and rubella antibodies in saliva using antibody capture radioimmunoassay. J. Med. Virol. 1993;40(3):235-240
- 3) Ramsay M, Brugha R, Brown D. Surveillance of measles in England and Wales: implications of a national saliva testing programme. Bulletin of the WHO 1997;75(6):515-521
- 4) Thieme T, Piacentini S, Davidson S, et al. Determination of measles, mumps, and rubella immunization status using oral fluid samples. JAMA 1994;272(3):219-221
- 5) 市川誠一,塚野京子,張 志強,他.単純ヘルペスウイルス抗体疫学調査における唾液の応用.臨床とウイルス 1994;22(3):159-164
- 6) 市川誠一,塚野京子,伊藤 章,他.HIV抗体検査における唾液の有用性に関する研究.感染症学雑誌,1993;67(10):1031-1037
- 7) Vyse AJ, Cohen BJ, Ramsay ME. A comparison of oral fluid collection devices for use in the surveillance of virus diseases

- in children. Public Health 2001;115:201-207
- 8) 市川誠一,伊藤章.唾液、尿中のHIV抗体およびHIV遺伝子.日本臨床 1993;51:299-305
 - 9) 吉原なみ子,島田 馨,山崎修道,他.尿中 HIV 抗体検査の臨床的有用性に関する研究—全国 11 施設による共同研究—.臨床病理 1995;43(3):249-256
 - 10) Takahashi S, Fusaichi M, Noda A, et al. Detection of Immunoglobulin G and A Antibodies to Rubella Virus in Urine and Antibody Responses to Vaccine-Induced Infection. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 1998;5:24-27
 - 11) Terada K, Niizuma T, Kataoka N, et al. Testing for rubella-specific IgG antibody in urine. Pediatr Infect Dis J 2000;19:104-108
 - 12) Howard BU, William H M, Toby DG, et al. Urine-based diagnostic technologies. Trends Biotechnol. Technologies 1996;14:361-364
 - 13) Cao Y, Alvin EFK, Joseph VC, et al. IgG Antibodies to HIV-1 in Urine of HIV-1 Seropositive Individuals. Lancet 1988;9:831-832
 - 14) Berrios DC, Avins AL, Haynes-Sanstad K, et al. Screening for Human Immunodeficiency Virus Antibody in Urine. Arch Pathol Labo Med 1995,119:139-41
 - 15) Martinez P, Ortiz de Lejarazu R, Eiros JM, De Benito J, et al. Urine samples as a possible alternative to serum for human immunodeficiency virus antibody screening. Eur. J. Clin.

Microbiol. Infect. Dis. 1996;15:810-813

- 16) Cohen D, Orr N, Robin G, et al. Detection of antibodies to Shigella lipopolysaccharide in urine after natural Shigella infection or vaccination. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 1996;3:451-455
- 17) Almohammad MM, Foley JT, Cohen H. Detection of Immunoglobulin G Antibodies to Helicobacter pylori in Urine by an Enzyme Immunoassay Method. J. Clin. Microbiol. 1993;31(8):2174-2177
- 18) 寺田喜平,新妻隆広,大門祐介,他.風疹ワクチンの2回接種法と尿中風疹抗体スクリーニングによる接種法の費用対効果の比較.感染症学雑誌 2000;74(12):1012-1017
- 19) 厚生省予防接種研究班,予防接種の効果的実施と健康教育に関する研究.平成10年報告書IV 1999;305-386
- 20) 宮崎千明.わが国における風疹ワクチンのありかた.小児科診療 1993;56(11):2088-2091
- 21) 法橋尚宏,衛藤 隆,倉橋俊至,他.EIAによるワクチンおよび自然感染歴別の麻疹,ムンプス,風疹,水痘 IgG 抗体保有状況—小学校3年生児童を対象として—.小児感染免疫 1994;6(3):251-254

Table 1. Sensitivity and specificity of measuring anti-rubella virus antibody in the urine

Urine	Serum		Total
	Antibody-positive	Antibody-negative	
Antibody-positive	180	0	180
Antibody-negative	1	53	54
Total	181	53	234

Sensitivity = 99.4%
Specificity = 100%

False-negative rate = 0.6%
False-positive rate = 0%

1) Serum levels of anti-rubella virus IgG antibody were measured using PLATELIA II Rubella IgG, while urine levels were measured by ELISA

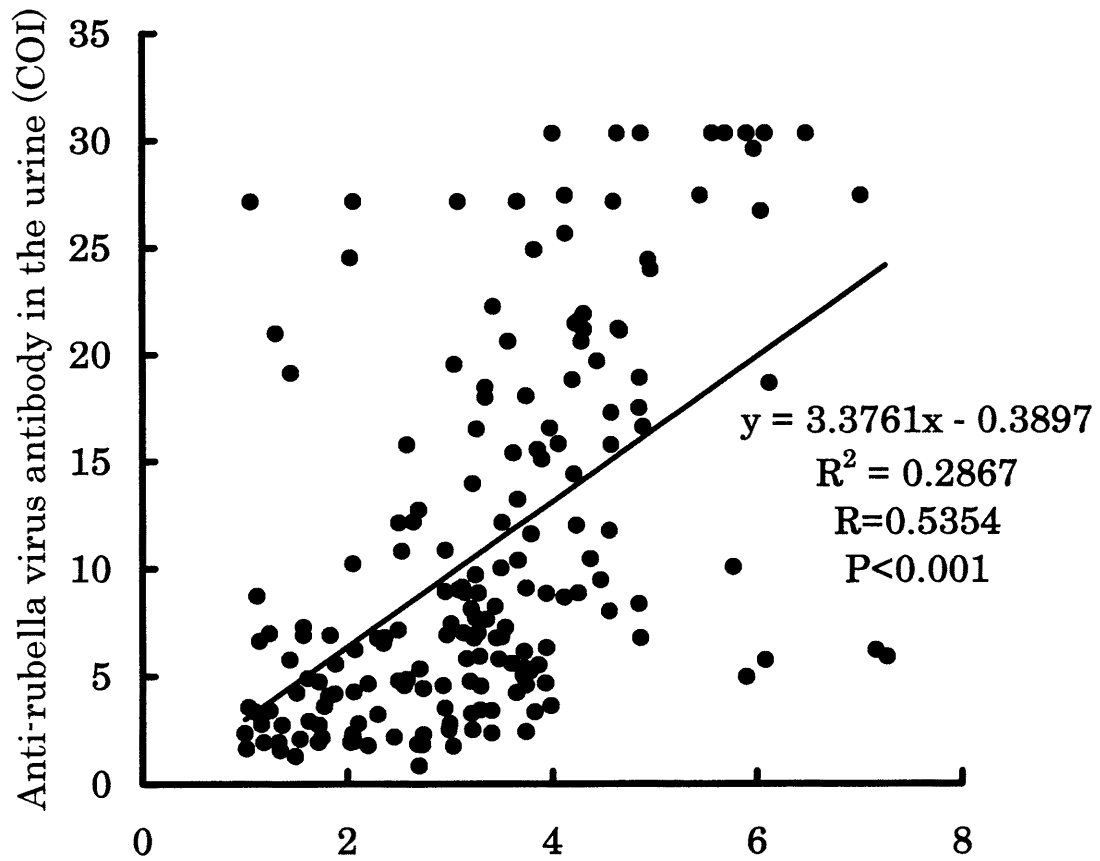


Figure 1. Correlation between levels of anti-rubella virus antibodies in serum and urine in antibody-positive patients

1) Anti-rubella virus IgG antibody levels in serum were measured using PLATELIA II Rubella IgG, while the levels in urine were measured by ELISA.

Table 2. Anti-rubella virus (RV) antibody levels in serum and urine from patients in whom rubella infection was suspected based on their clinical symptoms

Characteristics			Serum					Urine					
No.	Sex	Age	VIDAS anti-RV IgG antibody (IU/ml)		VIDAS anti-RV IgM antibody		Evaluation of RV infection	Anti-RV IgG antibody (COI)		Total IgG levels (μ g/ml)		Qualitative test of protein	
			Acute-phase	Chronic-phase	Acute-phase	Chronic-phase		Acute-phase	Chronic-phase	Acute-phase	Chronic-phase	Acute-phase	Chronic-phase
1	M	13	1	1	0.36	0.13	Negative for RV infection	0.32	0.33	18.93	10.77	-	±
2	M	5	10	651	3.21	3.94	Initial infection	1.48	25.02	6.63	2.61	-	-
3	F	9	0	0	0.08	0.08	Negative for RV infection	1.94	0.45	21.03	19.66	++	-
4	M	13	402	406	1.13	1.03	Previous infection	≥30.30	≥30.30	24.44	8.26	-	±
5	F	3	0	0	0.15	0.15	Negative for RV infection	0.27	0.22	5.73	1.95	+	±
6	M	10	2	690	0.50	4.62	Initial infection	0.87	29.57	18.31	4.91	±	±
7	M	7	3	1	0.08	0.11	Negative for RV infection	0.13	0.25	0.90	1.82	±	-
8	F	46	1	99	11.92	12.50	Initial infection	0.59	6.77	7.12	0.81	±	-
9	M	10	6	286	4.83	3.71	Initial infection	0.52	20.58	1.61	1.65	±	±
10	F	11	0	342	0.32	0.68	Initial infection	0.34	≥30.30	4.39	4.09	±	±
11	M	14	104	90	0.40	0.35	Previous infection	24.85	≥30.30	3.11	23.01	-	±
12	M	10	1	263	0.66	4.12	Initial infection	0.48	25.63	8.64	2.16	±	±

1) Cut-off values for the VIDAS anti-RV IgG, VIDAS anti-RV IgM, and urine anti-RV IgG antibodies were established at 15 IU/ml, 1.20, and COI 1.0, respectively.

2) The results of qualitative test of urine protein was evaluated according to the kit.

Table 3. Changes in anti-rubella virus (RV) antibody levels in serum and urine from volunteer subjects undergoing preventive rubella vaccination

Characteristics			Serum								Urine							
No.	Sex	Age	VIDAS anti-RV IgG antibody (IU/ml)				VIDAS anti-RV IgM antibody				Anti-RV IgG antibody (COI)				Total IgG levels (μ g/ml)			
			At the time of vaccination	3 weeks later	6 weeks later	1 year later	At the time of vaccination	3 weeks later	6 weeks later	1 year later	At the time of vaccination	3 weeks later	6 weeks later	1 year later	At the time of vaccination	3 weeks later	6 weeks later	1 year later
1	F	19	0	25	36	68	0.06	8.15	5.27	1.55	0.20	9.30	6.98	1.72	1.68	6.51	4.19	0.99
2	F	19	0	19	42	78	0.11	6.32	3.89	0.36	0.42	2.19	20.95	6.99	2.69	2.33	5.06	3.30
3	F	23	1	10	40	82	0.11	0.83	0.84	0.35	0.33	0.97	8.70	8.87	2.76	2.54	4.90	5.58
4	F	19	0	19	53		0.17	0.86	0.60		0.62	4.39	19.09		6.26	4.96	5.55	
5	F	20	0	8	21		0.09	2.42	1.18		0.32	0.69	11.65		1.53	1.23	6.95	
6	M	20	0	5	26		0.07	1.93	1.34		0.39	0.51	1.90		6.28	1.84	3.78	
7	M	19	0	3	18	30	0.11	1.87	1.69	0.48	0.26	0.33	1.19	5.08	2.40	2.97	3.27	2.55
8	F	20	1	8	22	71	0.05	1.97	1.23	0.47	0.32	0.43	1.61	2.58	2.86	1.43	3.17	0.83
9	F	19	5	15	19		0.13	0.20	0.21		0.87	2.89	2.71		3.74	5.65	4.55	
10	F	19	0	68	90		0.17	7.23	1.89		0.33	6.61	4.15		4.75	5.83	2.50	
11*	F	19	0	38	75		0.09	1.99	0.90		0.90	3.54	6.87		4.69	3.29	2.16	
12*	F	19	0	21	59		0.11	2.63	1.12		0.39	1.00	4.20		1.68	0.93	1.29	
13*	F	19	0	6	32		0.11	1.31	0.96		0.33	0.88	2.33		1.93	2.52	1.44	
14*	F	20	0	4	58		0.11	0.31	0.47		0.29	0.50	6.87		1.53	1.76	3.18	
15	F	19	0	5	15		0.13	1.20	1.26		0.27	0.59	1.08		3.68	1.70	1.64	
16	F	20	0	6	17		0.15	4.59	2.31		0.43	0.69	2.43		6.41	3.82	7.61	
17	F	20	0	0	41		0.14	0.37	5.16		0.43	0.28	2.09		2.24	9.02	4.41	

1) Cut-off values for the VIDAS anti-RV IgG, VIDAS anti-RV IgM, and urine anti-RV IgG antibodies were established at 15 IU/ml, 1.20, and COI 1.0, respectively.

2) Blank columns represent the absence of examination.

3) * represents patients examined at the time of vaccination, 3 and 7 weeks later.

Table 4. Characteristics in children examined during health examination at the age of 3 and urine anti-rubella virus IgG antibody levels

		1999		2000		Total	
		n	(%)	n	(%)	n	(%)
No. of children to be examined during the study period		469		455		924	
No. of children examined during the study period (consultation rate)		411	(87.6)	390	(85.7)	801	(86.7)
No. of children enrolled in this study (enrollment rate)		376	(91.5)	364	(93.3)	740	(92.4)
Sex	Male	205	(54.5)	182	(50.0)	387	(52.3)
	Female	171	(45.5)	182	(50.0)	353	(47.7)
Group care	Yes	114	(30.3)	90	(24.7)	204	(27.6)
	No	260	(69.1)	273	(75.0)	533	(72.0)
	No answer	2	(0.5)	1	(0.3)	3	(0.4)
No. of children	1	87	(23.1)	84	(23.1)	171	(23.1)
	2	225	(59.8)	197	(54.1)	422	(57.0)
	3 or more	64	(17.0)	83	(22.8)	147	(19.9)
History in foreign resident	Yes	1	(0.3)	5	(1.4)	6	(0.8)
	No	374	(99.5)	359	(98.6)	733	(99.1)
	No answer	1	(0.3)	0	(0.0)	1	(0.1)
Other diseases at the time of examination	Yes	45	(12.0)	47	(12.9)	92	(12.4)
	No	322	(85.6)	308	(84.6)	630	(85.1)
	Unknown	1	(0.3)	1	(0.3)	2	(0.3)
	No answer	8	(2.1)	8	(2.2)	16	(2.2)
Medication at the time of examination	Yes	51	(13.6)	47	(12.9)	98	(13.2)
	No	317	(84.3)	307	(84.3)	624	(84.3)
	No answer	8	(2.1)	10	(2.7)	18	(2.4)
History of renal diseases	Yes	3	(0.8)	0	(0.0)	3	(0.4)
	No	365	(97.1)	359	(98.6)	724	(97.8)
	No answer	8	(2.1)	5	(1.4)	13	(1.8)
Confirmation by the maternal and child health handbooks	Yes	355	(94.4)	349	(95.9)	704	(95.1)
	No	14	(3.7)	13	(3.6)	27	(3.6)
	No answer	7	(1.9)	2	(0.5)	9	(1.2)
Anti-rubella virus IgG antibody in Urine	Positive	296	(78.7)	303	(83.2)	599	(80.9)
	Negative	80	(21.3)	61	(16.8)	141	(19.1)

Table 5. Both histories of protective vaccinations and histories of infectious diseases including rubella in children examined during health examination at the age of 3

		1999			2000			1999 + 2000		
		Male	Female	Total	Male	Female	Total	Male	Female	Total
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
No. of children enrolled		190 (100)	162 (100)	352 (100)	176 (100)	170 (100)	346 (100)	366 (100)	332 (100)	698 (100)
Children who received protective vaccinations	Rubella	149 (78.4)	134 (82.7)	283 (80.4)	152 (86.4)	135 (79.4)	287 (82.9)	301 (82.2)	269 (81.0)	570 (81.7)
	Measles	174 (91.6)	154 (95.1)	328 (93.2)	165 (93.8)	156 (91.8)	321 (92.8)	339 (92.6)	310 (93.4)	649 (93.0)
	Mumps	60 (31.6)	33 (20.4)	93 (26.4)	54 (30.7)	34 (20.0)	88 (25.4)	114 (31.1)*	67 (20.2)*	181 (25.9)
	Varicella	54 (28.4)	44 (27.2)	98 (27.8)	45 (25.6)	54 (31.8)	99 (28.6)	99 (27.0)	98 (29.5)	197 (28.2)
Children with past histories of infectious diseases	Rubella	1 (0.5)	2 (1.2)	3 (0.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.3)	2 (0.6)	3 (0.4)
	Measles	1 (0.5)	1 (0.6)	2 (0.6)	4 (2.3)	0 (0.0)	4 (1.2)	5 (1.4)	1 (0.3)	6 (0.9)
	Mumps	2 (1.1)	3 (1.9)	5 (1.4) [#]	15 (8.5)	15 (8.8)	30 (8.7) [#]	17 (4.6)	18 (5.4)	35 (5.0)
	Varicella	64 (33.7)	48 (29.6)	112 (31.8)	59 (33.5)	51 (30.0)	110 (31.8)	123 (33.6)	99 (29.8)	222 (31.8)

1) The number of children in whom the presence of protective vaccinations was confirmed by the maternal and child health handbooks.

2) * represents a significant difference (p=0.001) between male and female.

3) # represents a significant difference (p<0.001) between in 1999 and in 2000.

Table 6. Age at the time of rubella-protective vaccination

	1999			2000			1999 + 2000		
	Male	Female	Total	Male	Female	Total	Male	Female	Total
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
No. of children who received protective rubella vaccination	149 (100)	134 (100)	283 (100)	152 (100)	135 (100)	287 (100)	301 (100)	269 (100)	570 (100)
Age at the time of protective rubella vaccination									
0-1 year old	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	1 (0.3)	1 (0.3)	0 (0.0)	1 (0.2)
1-2 years old	81 (54.4)	70 (52.2)	151 (53.4)	95 (62.5)	87 (64.4)	182 (63.4)	176 (58.5)	157 (58.4)	333 (58.4)
2-3 years old	59 (39.6)	51 (38.1)	110 (38.9)	47 (30.9)	33 (24.4)	80 (27.9)	106 (35.2)	84 (31.2)	190 (33.3)
3-3.6 years old	8 (5.4)	13 (9.7)	21 (7.4)	7 (4.6)	11 (8.1)	18 (6.3)	15 (5.0)	24 (8.9)	39 (6.8)
Unknown	1 (0.7)	0 (0.0)	1 (0.4)	2 (1.3)	4 (3.0)	6 (2.1)	3 (1.0)	4 (1.5)	7 (1.2)

Table 7. Urine anti-rubella virus IgG antibody levels in children in whom the presence or absence of a history of protective rubella vaccination confirmed by the maternal and child health handbooks

	1999			2000			1999 + 2000		
	Male	Female	Total	Male	Female	Total	Male	Female	Total
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Children received protective rubella vaccination									
Urine anti-rubella IgG antibody	148 (100)	131 (100)	279 (100)	150 (100)	130 (100)	280 (100)	298 (100)	261 (100)	559 (100)
Positive	144 (97.3)	130 (99.2)	274 (98.2)	147 (98.0)	129 (99.2)	276 (98.6)	291 (97.7)	259 (99.2)	550 (98.4)
Negative	4 (2.7)	1 (0.8)	5 (1.8)	3 (2.0)	1 (0.8)	4 (1.4)	7 (2.3)	2 (0.8)	9 (1.6)
Children not received protective rubella vaccination									
Urine anti-rubella IgG antibody	41 (100)	28 (100)	69 (100)	24 (100)	35 (100)	59 (100)	65 (100)	63 (100)	128 (100)
Positive	4 (9.8)	3 (10.7)	7 (10.1)	3 (12.5)	6 (17.1)	9 (15.3)	7 (10.8)	9 (14.3)	16 (12.5)
Negative	37 (90.2)	25 (89.3)	62 (89.9)	21 (87.5)	29 (82.9)	50 (84.7)	58 (89.2)	54 (85.7)	112 (87.5)
Urine anti-rubella IgG antibody levels by the history of rubella									
Children with a past history of rubella									
Positive	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (33.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (33.3)
Negative	1 (100)	1 (50.0)	2 (66.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100)	1 (50.0)	2 (66.7)
Children without a past history of rubella									
Positive	4 (10.0)	2 (7.7)	6 (9.1)	3 (12.5)	6 (17.1)	9 (15.3)	7 (10.9)	8 (13.1)	15 (12.0)
Negative	36 (90.0)	24 (92.3)	60 (90.9)	21 (87.5)	29 (82.9)	50 (84.7)	57 (89.1)	53 (86.9)	110 (88.0)
Urine anti-rubella IgG antibody levels by the group care									
Children cared for in a group									
Positive	3 (15.0)	2 (18.2)	5 (16.1)	1 (12.5)	3 (17.6)	4 (16.0)	4 (14.3)	5 (17.9)	9 (16.1)
Negative	17 (85.0)	9 (81.8)	26 (83.9)	7 (87.5)	14 (82.4)	21 (84.0)	24 (85.7)	23 (82.1)	47 (83.9)
Children not cared for in a group									
Positive	1 (4.8)	1 (5.9)	2 (5.3)	2 (12.5)	3 (16.7)	5 (14.7)	3 (8.1)	4 (11.4)	7 (9.7)
Negative	20 (95.2)	16 (94.1)	36 (94.7)	14 (87.5)	15 (83.3)	29 (85.3)	34 (91.9)	31 (88.6)	65 (90.3)
Urine anti-rubella IgG antibody levels by siblings									
Children with siblings									
Positive	3 (10.0)	1 (4.8)	4 (7.8)	2 (10.5)	5 (17.2)	7 (14.6)	5 (10.2)	6 (12.0)	11 (11.1)
Negative	27 (90.0)	20 (95.2)	47 (92.2)	17 (89.5)	24 (82.8)	41 (85.4)	44 (89.8)	44 (88.0)	88 (88.9)
Children without siblings									
Positive	1 (9.1)	2 (28.6)	3 (16.7)	1 (20.0)	1 (16.7)	2 (18.2)	2 (12.5)	3 (23.1)	5 (17.2)
Negative	10 (90.9)	5 (71.4)	15 (83.3)	4 (80.0)	5 (83.3)	9 (81.8)	14 (87.5)	10 (76.9)	24 (82.8)