

平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業
予防接種で予防可能疾患の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究

分担報告書「水痘予防接種に対する公費補助制度の政策評価」

大日康史 国立感染症研究所感染症情報センター
菅原民枝 国立感染症研究所感染症情報センター
島内康宏 三豊総合病院
尾崎貴視 医療法人社団逍遙会おおぎこどもクリニック
谷口泰紀 医療法人社団谷口小児科医院
三野正博 医療法人社団三野小児科医院(三豊・観音寺市医師会理事)
香川嘉宏 三豊・観音寺市医師会 代表

要約

目的: 香川県三豊市・観音寺市では、2007年4月1日より香川県三豊市・観音寺市で水痘予防接種に対する公費補助制度が導入された。その精度の効果を実証し、定着させるために、三豊観音寺医師会、ならびに三豊市・観音寺市と協力の下、公費補助制度導入前後の水痘罹患状況及び水痘ワクチン接種状況の比較、ワクチン接種による水痘罹患時の軽症化の程度と家族看護負担の比較を行う。

方法: 三豊市・観音寺市で水痘予防接種に対する公費補助制度では、市内に住民票があり、1歳から5歳(平成14年4月1日生まれまで)で水痘未罹患の者を補助対象者としている。自治体、医師会の協力を得て健診時調査、医師票、家族票、及び公費補助の請求書から調査を行う。解析は2007年5月1日から2008年1月31日までの9ヶ月間とする。

結果: 健康診断時調査では、3歳半健診時点でのワクチン有効率は74%であったものの就学前では63%まで低下する。12月に大きな流行があった。家族票は医師票の6割程度であった。罹患期間は、予防接種の有無にかかわらず最頻値は5日であった。公費補助によって、一歳児の接種率が観音寺市では2.5倍、三豊市では5倍以上に上がった。しかしながらそれでもなお5歳までの平均接種率は観音寺市では22.8%、三豊市では14.0%にとどまっており全国平均の30%に遠く及ばない。

考察: 接種率は大幅に改善したが、なお全国平均を下回っている。また、ワクチンの有効性は添付文書よりもかなり悪いことが確かめられた。公費補助によって両市平均で総費用では686.7万円、医療費のみでは45.5万節約された。

A. 研究目的

水痘の予防接種は現在任意接種であり、全額自己負担が原則であるが、自治体によっては公費補助を出して、接種率の向上を図っている。2007年7月現在全国で14自治体が、半額から無料の範囲で自己負担を公費補助

する政策を実施している。

こうした政策は、乏しい自治体財政の中から捻出されているので、それに見合う十分な効果が期待される。したがって、効果を観察する必要があるし、また効果が十分でない場合には、政策実施を中止しなければならない。

逆に十分に効果的であることが示されれば、他の自治体においても、そうした公費補助が促進されるであろうし、その積み重ねによって定期接種へとつながると期待される。

香川県三豊市・観音寺市では、2007年4月1日より香川県三豊市・観音寺市で水痘予防接種に対する公費補助制度が導入された。

そこで、本研究はその制度の効果を実証し、定着させるために、三豊観音寺医師会、ならびに三豊市・観音寺市と協力の下、公費補助制度導入前後の水痘罹患状況及び水痘ワクチン接種状況の比較、ワクチン接種による水痘罹患時の軽症化の程度と家族看護負担の比較を行う。

B. 材料と方法

三豊市・観音寺市で水痘予防接種に対する公費補助制度では、市内に住民票があり、1歳から5歳(平成14年4月1日生まれまで)で水痘未罹患の者を補助対象者としている。来年度から1歳以上3歳未満の乳幼児が対象となる。自己負担額は4500円である。

公費補助は2007年4月1日より開始されたが、準備等に研究の開始は5月1日となった。

B-1 調査

調査は、先行研究¹⁾にならい以下の3つの調査から構成される。

◆健診時調査

1歳6ヶ月健診と3歳児健診時に「健診時調査票」を用いた聞き取り調査を健診担当者の協力を得て実施する。調査項目は、健診受診者の生年月と水痘ワクチン接種歴(接種年月)である。健診担当者は「説明者用研究計画書」及び「健診担当者用説明書」の内容を理解した上でそれに基づいて健診受診者に調査内容を説明し、口頭による同意を得た上で、「健診時調査票」への記入を行う。同意が得られなかった場合には、「健診時調査票」へ

の記入は行わない。なお、調査への協力は任意であり、協力しないことによる不利益は生じない。

◆医師票

水痘を診断した医師に「医師票」の記入を依頼する。調査項目は初診日、患者居住市区町村、年齢、受診回数、最高体温、最大発疹数、転帰、予防接種の有無(有の場合には接種年月日)、アシクロビル製剤およびバラシクロビル製剤服用の有無(ゾビラックスおよびバルトレックス服用の有無)である。医師は、「説明者用研究計画書」及び「主治医用説明書」の内容を理解した上でそれに基づいて調査内容を水痘患者本人またはその家族に説明し、口頭による同意を得た上で「医師票の記入方法について」に従い、「医師票」への記入を行う。同意が得られなかった場合には、「医師票」への記入は行わない。その場合でも、「医師票」の欄外に当該月に拒否された人数を記入する。なお、調査への協力は任意であり、協力しないことによる不利益は生じない。

◆家族票

水痘患者本人またはその家族に「家族票」の記入を依頼する。調査項目は性別、年齢、居住市区町村、職業、予防接種の有無、発症日、受診回数、休養期間、最高体温、最大発疹数、看護日数、看護担当者とその看護日数、看護担当者の年齢と性別である。医師は、「説明者用研究計画書」及び「主治医用説明書」の内容を理解した上で「保護者への説明書」を用いて調査内容を水痘患者本人またはその家族に説明し、口頭による同意を得た上で「家族票」を配布する。水痘患者本人またはその家族は、水痘完治後に「家族票」に記入する。提出方法は、郵送にて回収する。同意が得られなかった場合には、「家族票」の配布は行わない。また、調査協力に同意した場合でも、「家族票」を郵送・提出しないことによっても協力を撤回できる。なお、調査へ

の協力は任意であり、協力しないことによる不利益は生じない。

B-2 解析

解析は 2007 年 5 月 1 日から 2008 年 1 月 31 日までの 9 ヶ月間とする。

軽症化の効果は、先行研究 (1,2) にならって罹患期間、訪問回数、高熱の有無、発疹の多さをアウトカムとして評価する。また、医療費と家族看護費用及びその合計について、接種群、未接種群で検討する。

◆倫理的配慮

本研究は国立感染症研究所医学研究倫理審査を受け、承認されている(受付番号 132「水痘の疫学研究」)。

C. 結果

健康診断時調査の回収状況を表 1 に示す。そこでの水痘罹患状況、予防接種状況を表 2 に示す。3 歳半健診時点でのワクチン有効率は 74%であったものの就学前では 63%まで低下する。

図 1 に医師票、家族票の回収状況を月ごとに示す。12 月に大きな流行があった。家族票は医師票の 6 割程度であり、これは先行研究と同程度である。

図 2 に 2007 年 4 月前後での、水痘罹患時の年齢分布を示す。以前は健診時調査、以後は医師票に基づく。以前(上段)は当然ながら 6 歳以上の幼児は対象とならないために、年齢分布は 5 歳までである。そのために 4 月以降も中段では 5 歳までの年齢分布を示している。

表 3 には家族看護者と家族日数を示す。最も多いのが患者の母、ついで祖父母、父、その他の親戚の順である。家族日数は父が少ない。成人例がまだ観察されていないために、配偶者や子どもによる看護は報告されていない。

図 3 に罹患期間の分布を、予防接種の有

無別に示す。いずれの群でも、最頻値は 5 日である。

表 4 に、公費補助制度導入前後の接種率を示す。4 月以前の接種率は、健診時の聞き取りによる。そのために、健診該当年齢である 1, 3, 5 歳以外の年齢では接種率が不明である。ここでは、2 歳児の接種率は 1 歳児、3 歳児の平均値と仮定した。4 月以前では 5 歳までの平均接種率は観音寺市で 13.0%、三豊市で 8.0%と推測された。他方 4 月以降は、公費補助の請求に基づき正確に把握されている。観音寺市では 1 歳児の 14.3%、2 歳児の 19.2%が接種を受け、また、三豊市では 1 歳児の 8.8%、2 歳児の 10.8%が接種を受けた。都合、調査時点で観音寺市における 1 歳児の接種率は 25.4%、2 歳児の接種率は 31.2%、また、三豊市では 1 歳児の接種率は 10.6%、2 歳児の接種率は 16.6%である。調査時点での 5 歳までの平均接種率は観音寺市では 22.8%、三豊市では 14.0%であった。

また、軽症化の影響を検討した結果、罹患期間については接種群 5.28 日、未接種群 5.19 日、確率値 0.89、受診回数については接種群 1.72 回、未接種群 2.06 回、確率値 0.03、高熱の有無については接種群 33.33%、未接種群 65.58%、確率値 0.007、発疹多発の有無については接種群 22.22%、未接種群 41.83%、確率値 0.11、家族看護費用については接種群 30324.4 円、未接種群 38566.6 円、確率値 0.031、医療費については接種群 8716.4 円、未接種群 9686.7 円、確率値 0.033、総額については接種群 38331.0 円、未接種群 48297.9 円、確率値 0.013 であった。

D. 考察

公費補助の成果を接種率で見ると、一歳児の接種率が観音寺市では 2.5 倍、三豊市では 5 倍以上に上がっているために非常に効果的であったと言えよう。また、5 歳までの平均接

種率でも1.7倍になっている。

しかしながら、それでもなお5歳までの平均接種率は観音寺市では22.8%、三豊市では14.0%にとどまっており、全国平均の30%に遠く及ばない。水痘の感染性を考慮するとこの程度の接種率では流行そのものを抑制する効果は期待できない。

他方で、軽症化効果は確認された。罹患期間は、接種の有無で有意差はないが、受診回数、高熱、発疹多発では有意に接種群で軽症化していた。また家族看護負担では、8242円、医療費では970円、合計では9966円いずれも有意に減少した。

ここから公費補助制度を検証する。有効率を就学前健診の63%とすると、2市の平均で総費用が791.0万円、医療費が149.8万円削減されたと推定される。他方、一人あたり4500円の公費補助とすると104.3万円の支出となる。したがって、公費補助額に対して総費用で7.58、医療費のみに限定しても1.44倍の削減を実現した。金額にすると、総費用では686.7万円、医療費のみでは45.5万円の削減を実現した。

E. 結論

本研究では、水痘予防接種の公費補助制度導入の効果を検討した。接種率は大幅に改善し、年齢階層によっては全国平均の30%に達した場合もあるが、全体的にはまだまだ全国平均を下回っている。これはまだまだ周知が十分でないためであると考えられ、今後一層の広報と同時に、小児科医の強い勧めが重要であると思われた。

また、5歳児ではワクチンの有効性はかなり悪い。保育園での有効性が低いことは知られているが²⁻⁵⁾、市単位でも添付文書ほどには高くないことが示された。

謝辞

調査に御協力いただいた三豊市・観音寺市の皆様、三豊市、観音寺市の皆様に深謝致します。解析およびその評価を補助していただいた東京大学大学院薬学研究院生佐藤氏に感謝致します。

F. 健康危険情報

特になし

G. 論文発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

特になし

参考文献

- [1] 菅原民枝、大日康史他「水痘ワクチン定期接種化の費用対効果分析」感染症学雑誌第80巻第3号,pp.212-219,2006
- [2] 松岡伊津夫・松岡明子他「水痘ワクチンによる水痘の軽症化の有効性と医療経済学的検討」平成18年度厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「予防接種で予防可能疾患の今後の感染症対策に必要な予防接種に関する研究」報告書
- [3] 神谷 齊、庵原 俊昭、中野 貴司 他、水痘ワクチン前方視的調査全国集計(第7報)、平成10年7月、厚生省予防接種研究班、予防接種リサーチセンター
- [4] Karin Galil M.D., et al, Outbreak of Varicella at A Day-care Center Despite Vaccination, N Engl J Med, Vol. 347, No.24, pp.1909-1915
- [5] 神谷齊、庵原俊昭、中野貴司他、厚生労働科学研究「安全なワクチン確保とその接種方法に関する総合研究報告書」水痘ワクチン前方視的調査全国集計(第

11-2 報)、平成 15 年度修正版

表 1: 健診調査の調査票回収数

	1 歳半健診	3 歳半健診	就学前健診	合計
観音寺市	263	308	564	1135
三豊市	368	413	602	1383
合計	631	721	1166	2518

表 2: 健診調査による 2007 年 4 月以前の水痘ワクチン接種率と水痘罹患率

1 歳半健診 (2008 年 1 月 10 日時点)

	接種	未接種	不明	合計
罹患	0	136	1	137
未罹患	18	461	0	479
不明	0	0	15	15
合計	18	597	16	631

有効率 1.00[NA]

3 歳半健診 (2008 年 1 月 10 日時点)

	接種	未接種	不明	合計
罹患	13	380	2	395
未罹患	69	242	0	311
不明	0	1	13	14
合計	82	623	15	720

有効率 0.74[0.57-0.84]

就学前健診 (2008 年 1 月 10 日時点)

	接種	未接種	不明	合計
罹患	46	825	1	872
未罹患	107	178	0	285
不明	1	2	2	5
合計	154	1005	3	1162

有効率 0.63[0.53-0.71]

図1: 医師票・家族票の回収数

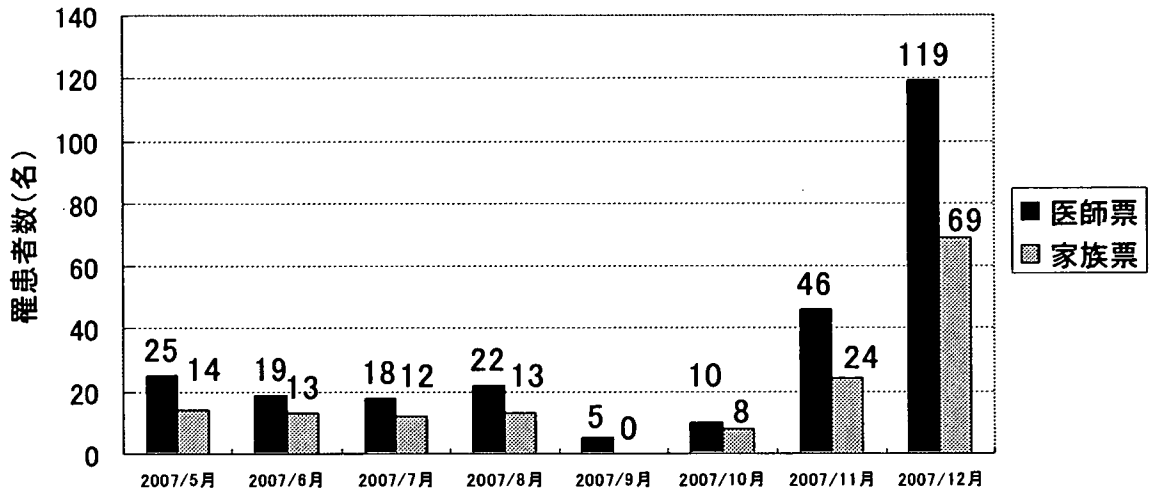
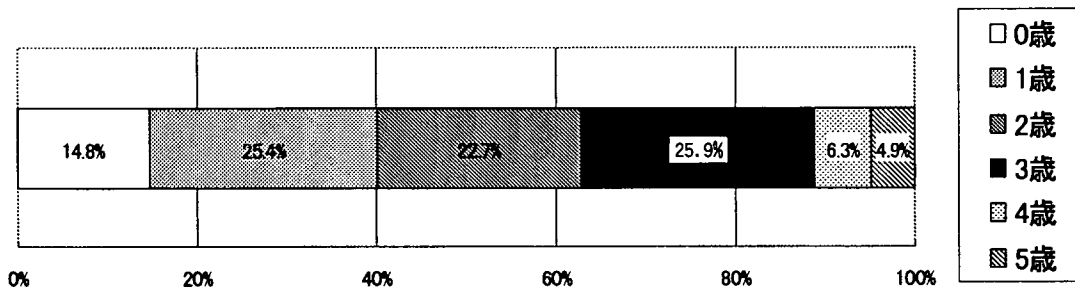
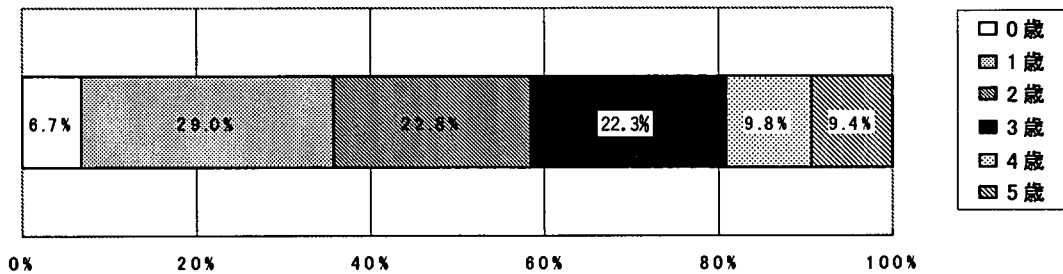


図2: 2007年4月前後の水痘罹患者の年齢分布の比較

2007年4月以前



2007年5月以降5歳児以下



2007年5月以降全数

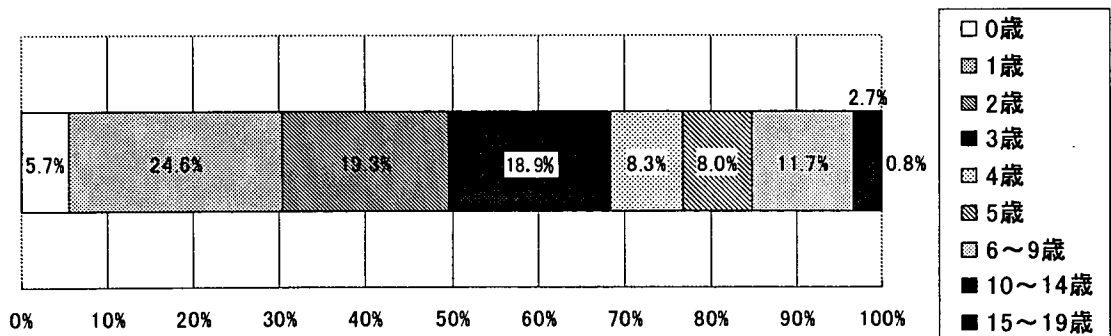
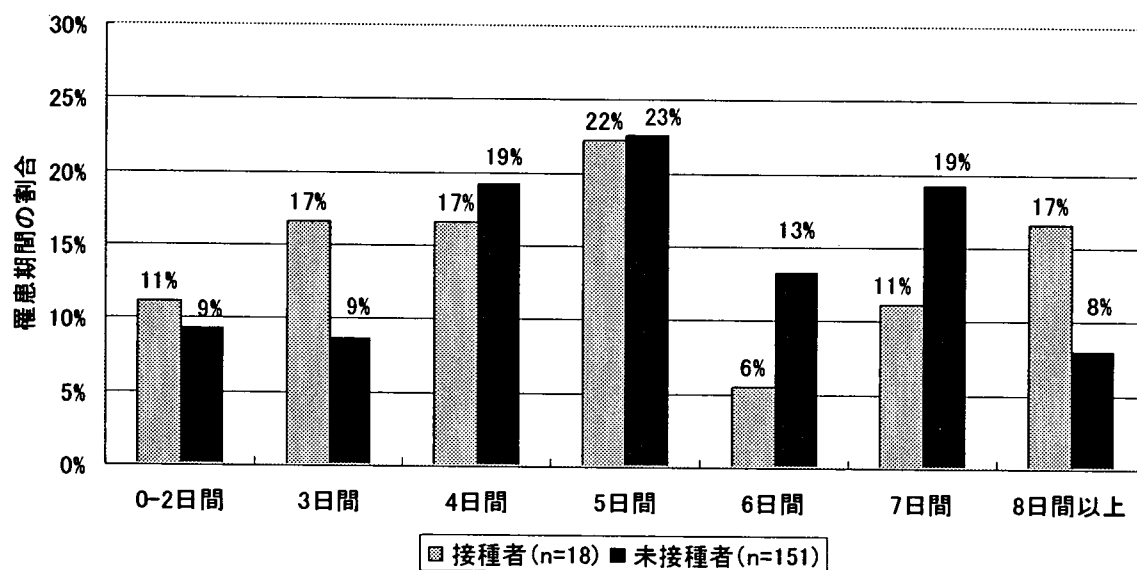


表 3: 家族の看護者と看護日数

看護者	例数	平均看護日数(日間)
患者の母	157	4.61
患者の父	40	1.80
患者の祖母	65	2.36
患者の祖父	23	1.39
その他の親戚	10	2.62
配偶者	0	0
子供	0	0
親戚以外の知り合い	0	0
ベビーシッター	1	1.00
病児保育	0	0.0
不明	1	-

図 3: 罹患期間



両群に有意差無し

表 4:公費補助制度導入前後の接種率の比較

観音寺市			
年齢	2007年3月31日までの 推定種率	2007年4月1日以降の 接種率	現在の推定 接種率
1歳児	11.0%	14.3%	25.4%
2歳児	12.0%	19.2%	31.2%
3歳児	13.0%	9.2%	22.2%
4歳児	13.9%	6.3%	20.3%
5歳児	14.9%	1.4%	16.3%
合計	13.0%	9.7%	22.8%

三豊市			
年齢	2007年3月31日までの 推定種率	2007年4月1日以降の 接種率	現在の推定接種率
1歳児	1.9%	8.8%	10.7%
2歳児	5.8%	10.8%	16.6%
3歳児	9.7%	7.1%	16.7%
4歳児	10.7%	3.1%	13.8%
5歳児	11.7%	0.7%	12.4%
合計	8.0%	6.0%	14.0%

注)制度導入前の2歳児の接種率は、1歳児と3歳児の平均、4歳児の接種率は、3歳児と5歳児の平均と仮定

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
岡部信彦・多屋馨子	予防接種に関するQ&A	日本細菌製剤協会編集委員	予防接種に関するQ&A集2007	日本細菌製剤協会	東京	2007	p1-104
宮崎千明	ウイルス関連脳炎および脳症.		開業医の外來小児科学第5版	南山堂	東京	2007	p369-374

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
岡部信彦	麻疹・風疹(MR)混合ワクチン	日本医師会雑誌	135(10)	2173-2177	2007
岡部信彦	予防接種の現状と対策 -予防接種健康被害救済制度 -	治療学	41(10)	1033-1036	2007
岡部信彦	最近の国内外における麻疹の疫学状況と麻疹排除の動き	臨床と微生物	35(1)	003-009	2008
岡部信彦	定期予防接種の改正(平成20年4月より)	小児科臨床	61(4)	889-894	2008
高山直秀、崎山弘、岡部信彦	改正結核予防法2005年施行後の全国BCGワクチン累積接種率調査	日本小児科学会雑誌	111(8)	1042-1044	2007
松井珠乃、中島一敏、大日康史、菅原民枝、多屋馨子、川口辰哉、菅守隆、岡部信彦	熊本県内の病院における職員の麻疹予防対策の現状	感染症学雑誌	82(1)	58-59	2007
知念正雄、浜端宏英、糸数公、譜久山民子、平良勝也	麻疹排除に向けた取り組み沖縄県はしか‘0’プロジェクト-全数把握事業と移入麻疹の発生について-	臨床と微生物	35(1)	63-68	2008
神谷 齋、加藤達夫、富樫武弘、他	小児急性化膿性中耳炎における肺炎球菌血清型に関する疫学調査	感染症学雑誌	81(1)	59-66	2007
富樫武弘	北海道はしかゼロ作戦の成果	病原微生物情報	28(9)	252-253	2007

富樫武弘	米国ACIP(予防接種実施に関する諮問委員会)報告	小児科	48(13)	2005-2010	2007
Enomoto Y, Yoshikawa T, Ihira M, Akimoto S, Miyake F, Usui C, Suga S, Suzuki K, Kawana T, Nishiyama Y, Asano Y.	Rapid diagnosis of herpes simplex virus infection by loop-mediated isothermal amplification method.	J Clin Microbiol	43	951-955	2005
Sugiyama H, Yoshikawa T, Ihira M, Enomoto Y, Kawana T, Asano Y.	Comparison of loop-mediated isothermal amplification, real-time PCR and virus isolation for detection of herpes simplex virus in genital lesions.	J Med Virol	75	583-587	2005
Yoshikawa T, Ihira M, Taguchi H, Yoshida S, Asano Y.	Analysis of shedding of 3 β herpesviruses in saliva from patients with connective tissue diseases.	J Infect Dis	192	1530-6	2005
Kimura H, Ihira M, Enomoto Y, Kawada J, Ito Y, Morishima T, Yoshikawa T, Asano Y.	Rapid detection of herpes simplex virus DNA in cerebrospinal fluid: comparison between loop-mediated isothermal amplification and real-time PCR.	Med Microbiol Immunol	194	181-185	2005
Mihara T, Mutoh T, Yoshikawa T, Yano S, Asano Y, Yamamoto H.	Postinfectious myelodysplasia with cranial nerve involvement associated with human herpesvirus 7 infection.	Arch Neurol.	62	1755-7	2005
Suzuki R, Yoshikawa T, Ihira M, Enomoto Y, Inagaki S, Matsumoto K, Kato K, Matsuyama K, Kudo K, Kojima S, Asano Y.	Development of loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of cytomegalovirus DNA.	J Virol Methods	132	216-21	2006
Yoshikawa T, Fujita A, Yagami A, Suzuki K, Matsunaga K, Ihira M, Asano Y.	Human herpesvirus 6 reactivation and inflammatory cytokines in patients with drug induced hypersensitivity syndrome.	J Clin Virol	37	S92-96	2006
Ihira M, Akimoto S, Miyake F, Usui C, Fujita A, Suga S, Ohashi M, Nishimura N, Ozaki T, Asano Y, Yoshikawa T.	Direct detection of human herpesvirus 6 DNA in serum by the loop-mediated isothermal amplification method.	J Clin Virol	39	22-6	2007
Wada K, Kubota N, Ito Y, Yagasaki H, Kato K, Yoshikawa T, Ono Y, Ando H, Fujimoto Y, Kiuchi T, Kojima S, Nishiyama Y, Kimura H.	Simultaneous quantification of Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and human herpesvirus 6 DNA in samples from transplant recipients by multiplex real-time PCR assay.	J Clin Microbiol.	45	1426-32.	2007

Sugata K, Enomoto Y, Sugiyama H, Fujita A, Miyake F, Asano Y, <u>Yoshikawa T.</u>	Single episode of Behcet's disease-like symptoms caused by herpes simplex virus reactivation.	Pediatr Intern		In press	
<u>吉川哲史</u>	ヘルペスウイルスDNAの迅速検出が可能なLAMP法	Herpes Management	9	6	2005
<u>藤田彩乃, 吉川哲史, 浅野喜造</u>	ヒトヘルペスウイルス6型, 7型感染症と中枢神経合併症	小児内科	37	84-87	2005
<u>吉川哲史</u>	小児ウイルス性脳炎	感染症,	208	14-18	2006
<u>庵原俊昭</u>	流行性耳下腺炎(ムンプス)	日本臨床	65(S3)	380-383	2007
<u>庵原俊昭</u>	ムンプス感染対策: 診断・登校登園停止期間・ムンプスワクチン	小児科臨床	60	2215-2221	2007
<u>落合 仁, 庵原俊昭, 他</u>	小学校流行時におけるムンプスワクチン有効性の検討	小児科臨床	60	489-494	2007
<u>落合 仁, 庵原俊昭, 中野貴司</u>	ワクチン歴によるムンプス発症時のIgM抗体・IgG抗体の比較検討	小児科臨床	60	501-506	2007
<u>渡辺正博, 伊藤正寛, 庵原俊昭</u>	ムンプスの臨床診断に有用な因子についての検討	三重県小児科医会会報	75	6-9	2007
Kitabatake M, Inoue S, Yasui F, Yokochi S, Arai M, Morita K, Shida H, Kidokoro M, Murai F, Le MQ, Mizuno K, Matsushima K, Kohara M.,	SARS-CoV spike protein-expressing recombinant vaccinia virus efficiently induces neutralizing antibodies in rabbits pre-immunized with vaccinia virus.	Vaccine	25	630-637	2007
Kato A, Kiyotani K, Kubota T, Yoshida T, Tashiro M, Nagai Y.	Importance of the anti-interferon capacity of Sendai virus C protein for pathogenicity in mice.	J Virol	81	3264-3271.	2007
Chen M, Hisatomi Y, Furumoto A, Kawakami K, Masaki H, Nagatake T, Sueyoshi Y, Iwanaga T, Aizawa M, <u>Oishi K.</u>	Comparative immune response of patients with chronic pulmonary diseases during the 2-year period after pneumococcal vaccination.	Clin. Vac. Immunol	14	139-145	2007

Koyama J, Ahmed K, Zhao J, Saito M, Onizuka S, Oma K, Watanabe K, Watanabe H, <u>Oishi K.</u>	Strain-specific pulmonary defense achieved after repeated airway immunizations with non-typeable <i>Haemophilus influenzae</i> in a mouse model.	Tohoku J Exp Med.	211	63-79	2007
Anh DD, Huong PLT, Watanabe K, Nguyet NT, Anh NTH, Thi NT, Dung NT, Phuong DM, Tanimura S, Ohkusa Y, Nagatake T, Watanabe H, <u>Oishi K.</u>	Increased rates of intense nasopharyngeal bacterial colonization of Vietnamese Children with radiological pneumonia. Tohoku	J Exp Med	213	167-172	2007
Watanabe K, Anh DD, Huong PH, Nguyet NT, Anh NTH, Thi NT, Dung NT, Phong DM, Rusizoka OS, Nagatake T, Watanabe H, <u>Oishi K.</u>	Drug-resistant pneumococci in children with acute lower respiratory infections in Vietnam.	Pediatrics International			(in press)
Watanabe H, Batuwanthudawe R, Thevanesam V, Kaji C, Qin L, Nishikiori N, Saito W, Saito M, Watanabe K, <u>Oishi K.</u> , Abeyasinghe N, Kunii O.	Possible prevalence and transmission of acute respiratory tract infections caused by <i>Streptococcus pneumoniae</i> and <i>Haemophilus influenzae</i> among the internally displaced persons in tsunami disaster evacuation camps of Sri Lanka.	Intern Med.	46	1395-1402	2007.

Dimaano E, Saito M, Honda S, Miranda EA, Alonzo MT, Valerio MD, Mapua CD, Inoue S, Kumatori A, Matias R, Natividad FF, <u>Oishi K.</u>	Lack of efficacy of high dose intravenous immunoglobulin treatment of severe thrombocytopenia in patients with secondary dengue virus infection.	Am J Trop Med Hyg	77	1135-1138	2007
Yoshii H, Kamiyama H, Amanuma H, <u>Oishi K.</u> , Yamamoto N.	Mechanisms underlying glycosilation-mediated loss of ecotropic receptor function in murine MDTF cells, and its implication for receptor evolution.	J Gen Virol	89	297-305	2008
Inoue Y, Trapnell BC, Tazawa R, Arai T, Takada T, Hizawa N, Kasahara Y, Tatsumi K, Hojo M, Ichiwata T, Tanaka N, Yamaguchi E, Eda R, <u>Oishi K.</u> , Tsuchihashi Y, Kaneko C, Nukiwa T, Sakatani M, Krischer JP, Nakata K.	Characteristics of a large cohort of autoimmune pulmonary alveolar proteinosis patients in Japan.	Am J Respir Crit Care Med			(in press)
川上健司、大石和徳.	肺炎球菌ワクチンの最新事情と渡航者の接種.	日本医事新報	4366	71-74	2007
川上健司、大石和徳.	予防接種の現状と対策2 細菌に対するワクチン	治療学	41	18-20	2007
大石和徳.	肺炎球菌ワクチン再接種の是非.	日本医事新報	4354	98-99	2007
大石和徳.	日本内科学会雑誌. 肺炎球菌ワクチン-5年後の再接種の是非-.	日本内科学会雑誌			(印刷中)

Nagai T, Okafuji T, Miyazaki C, Ito Y, Kamada M, Kumagai T, Yuri K, T, Sakiyama H, Miyata A, Ihara T, Ochiai H, Shimomura K, Suzuki E, Torigoe S, Igarashi M, Kase T, Okuno Y, and Nakayama T	A comparative study of the incidence of aseptic meningitis in symptomatic natural mumps patients and monovalent mumps vaccine recipients in Japan	Vaccine	25	2742-2747	2007
Abe M, Okada K, Hayashida K, Matuo F, Shiosaki K, Miyazaki C, Ueda K, and Kino Y.	Duration of neutralizing antibody titer after Japanese encephalitis vaccination.	Microbiology and Immunology	51(6)	609-616	2007
宮崎千明	日本脳炎ワクチン	日本医師会雑誌	135(10)	2179-2183	2007
宮崎千明	日本脳炎ワクチン.	日本小児科医会報	33	15-21	2007
宮崎千明	日本脳炎ワクチンの今後	小児科臨床	60	1780-1786	2007
宮崎千明	日本脳炎予防接種の動向.	母子保健	10月号	6-7	2007
Yoshii H, Sombonothum P, Takahashi M, Yamaniishi K, Mori Y.	Cloning of full length genome of varicella-zoster virus vaccine strain into a bacterial artificial chromosome and reconstitution of infectious virus.	Vaccine.	25(27)	5006-5012	2007
Han HJ, Kamachi K, Okada K, Toyozumi-Ajisaka H, Sasaki Y, Arakawa Y.	Antigenic variation in <i>Bordetella pertussis</i> isolates recovered from adults and children in Japan	Vaccine	26(12)	1530-4	2008

山本久美、多屋馨子、岡部信彦	2006年度第2期麻疹・風疹ワクチン接種に関する全国調査－最終評価－	病原微生物検出情報 (IASR: Infectious Agents Surveillance Report)	28	259-260	2007
平原史樹	妊娠とくすり.	女性外来診療マニュアル . 症状・症候から診断・治療へ－ II . 産科編－ . 産婦人科治療	94(Suppl.)	397-401	2007
平原史樹	先天異常モニタリング: わが国と世界の取り組み	日本産科婦人科学会雑誌	59(9)	N-246-N250	2007
住吉好雄	日本における妊婦、胎児の内分泌攪乱化学物質(ビスフェノールA)曝露状況.	Endocrine Disrupter NEWS LETTER	10(2)	3	2007
奥田美加, 高橋恒男, 平原史樹	母子感染とその対策 妊婦における風疹抗体価	産婦人科治療	95(7)	55-60	2007

麻疹排除に向けた取り組み

沖縄県はしか'0'プロジェクト

—全数把握事業と移入麻疹の発生について—

CHINEN MASAO/HAMABATA HIROTSUNE/ITOKAZU TORU/FUKUYAMA TAMIKO/TAIRA KATSUYA

知念正雄*1/浜端宏英*2/糸数 公*3/譜久山民子*3/平良勝也*4

*1◎医療法人いちご会知念小児科医院 *2◎アワセ第一医院

*3◎沖縄県福祉保健部健康増進課 *4◎沖縄県衛生環境研究所

要 旨 2001年4月に発足した沖縄県はしか'0'プロジェクト活動の概略と、2006～07年に発生した他県からの移入麻疹の発生について報告した。県内で2003年から実施している全数把握事業は、報告例のウイルス学的検査（実施率90～95%）を実施し、確定診断例の接触者追跡調査を含めた感染拡大防止につなげる有効なサーベイランスシステムが定着しつつある。2006～07年に分離された麻疹ウイルスの遺伝子型はすべてD5で、関東一円の流行株とほぼ同一であった。

はじめに

1998年から2001年にかけての麻疹流行を契機に、沖縄県はしか'0'プロジェクト委員会が2001年4月に発足し、県内における麻疹制圧のために1歳児のワクチン接種率95%達成を目標に全般的活動が展開されてきた(図1)。その成果については、すでに若干の報告をしてきたが¹⁻⁶⁾、今回は本県における麻疹の全数把握事業とその実績を示し、あわせて2006～07年の関東一円における麻疹流行によりもたらされた移入麻疹の発生について報告する。

■2006年度までの活動の概略と接種率の推移

1. 行動計画と主な活動

プロジェクトの発足時に行動計画を策定し、それぞれについて具体的な活動を実施してきた(表1)。各種乳幼児健診における接種勧奨強化として⁷⁾、市町村における乳児、1歳6カ月、3歳児の各健診および保育園入所時や就学時健診等に

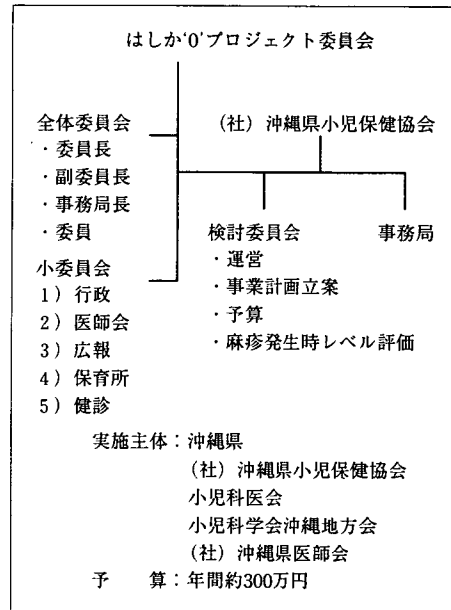


図1 沖縄県はしか'0'プロジェクト委員会の組織図

いて、母子健康手帳によるワクチン接種の確認を行い、未接種者を健診会場から直ちに医療機関につなげる方法で接種勧奨を行った(すぐ受けよう

Development of the loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of cytomegalovirus DNA

Ryota Suzuki^a, Tetsushi Yoshikawa^{b,*}, Masaru Ihira^c, Yoshihiko Enomoto^b, Shoji Inagaki^a, Koichi Matsumoto^d, Koji Kato^d, Kazuko Kudo^e, Seiji Kojima^e, Yoshizo Asano^b

^a Division of Pharmacy, Fujita Health University Hospital, Toyoake, Aichi, Japan

^b Department of Pediatrics, Fujita Health University School of Medicine, Toyoake 4701192, Japan

^c Department of Medical Information Technology, Fujita Health University College, Toyoake, Aichi, Japan

^d Division of Hematology–Oncology, Children's Medical Center, Japanese Red Cross Nagoya First Hospital, Nagoya, Aichi, Japan

^e Department of Pediatrics/Developmental Pediatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Aichi, Japan

Received 21 February 2005; received in revised form 12 September 2005; accepted 30 September 2005

Available online 11 November 2005

Abstract

Cytomegalovirus (CMV) loop-mediated isothermal amplification (LAMP) was performed on DNA extracted from CMV (AD-169)-, herpes simplex virus (HSV) 1 (KOS)-, HSV-2 (186)-, varicella-zoster virus (Oka-vaccine)-, human herpesvirus (HHV)-6 A (U1102)-, HHV-6 B (Z29)-, and HHV-7 (RK)-infected cells. Although amplified CMV demonstrated typical ladder patterns, no LAMP product was detected in reactions performed with other viral DNAs. The sensitivity of the CMV LAMP was 500 copies/tube, as determined by either agarose gel electrophoresis or turbidity assay. To determine whether CMV LAMP could be used for quantitative analysis of viral DNA, threshold times, defined as the time (in seconds) to reach the threshold level (0.1), were measured by amplification of serial dilutions of the plasmid DNA. The standard curve exhibited a correlation coefficient of 0.944, a slope of -208.1 , and a y -intercept of 3261.4. Following these initial validation experiments, we analyzed 180 samples collected serially from 20 pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients. Detection of CMV DNA in whole blood (WB) was tested by CMV LAMP and real-time polymerase chain reaction (PCR). When >500 copies/tube (>5000 copies/200 μ l of WB) was defined as positive for CMV infection, the sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive values of the CMV LAMP were 80.0, 98.9, 66.7, and 99.4%, respectively.

© 2005 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: CMV; LAMP; Real-time PCR; Immunocompromised patient

1. Introduction

Primary cytomegalovirus (CMV) infection occurs in subclinical fashion in early childhood with subsequent lifelong latent infection. Up to 80% of healthy adults in western countries are seropositive, indicating established latency with a capability for viral reactivation. The mechanism of reactivation is not fully understood, but appears strongly related to impaired immunity to the virus. For this reason, CMV is one of the most common opportunistic pathogens in hematopoietic stem cell and solid-organ transplant recipients and in AIDS patients. Clinical manifestations of the virus (CMV diseases) vary in patients from

benign to severe, life-threatening clinical courses. The administration of antiviral therapy for CMV, based on evidence of CMV infection, has become a common strategy in treating the disease (Ljungman, 2002; Meijer et al., 2003). Thus, reliable and rapid diagnostic procedures are critical for effective patient management. To date, however, rapid virological diagnosis has proven difficult, as isolation of the virus and serological testing require substantial time to obtain definitive results. The pp65 antigenemia assay has largely replaced viral isolation and shell vial assays for CMV surveillance due to its improved sensitivity, predictive value, and rapidity. However, the limitations of the antigenemia assay for detecting reactivation are the costs of technician time, the need for technical expertise, the inability to test stored blood, and the requirement for neutrophil counts $>0.5 \times 10^9$ cells/l. Meanwhile, quantitative polymerase chain reaction (PCR) is a valuable tool for monitoring active viral

* Corresponding author. Tel.: +81 562 939251; fax: +81 562 95 2216.

E-mail address: tetsushi@fujita-hu.ac.jp (T. Yoshikawa).

Analysis of Shedding of 3 β -Herpesviruses in Saliva from Patients with Connective Tissue Diseases

Tetsushi Yoshikawa,¹ Masaru Ihira,³ Hiroaki Taguchi,² Shunji Yoshida,² and Yoshizo Asano¹

Departments of ¹Pediatrics and ²Internal Medicine, Fujita Health University School of Medicine, and ³Department of Medical Information Technology, Fujita Health University College, Toyoake, Aichi, Japan

Background. Whether an association exists between infection with β -herpesviruses and connective tissue diseases remains unclear, as are the mechanisms for the regulation of these infections in the salivary glands.

Methods. Human herpesvirus (HHV)-7 was isolated and viral DNA was quantified by real-time polymerase chain reaction (PCR) in serially collected saliva samples, to determine whether viral load correlated with infectivity. Then, to examine the role played by β -herpesviruses in connective tissue diseases, cytomegalovirus, HHV-6, and HHV-7 DNA loads were examined by real-time PCR in serially collected saliva samples from 21 patients with connective tissue diseases.

Results. Although subjects with frequent HHV-7 shedding were more likely to have a high viral load than were other subjects, high viral loads were detected in saliva samples from a portion of the subjects with low viral shedding rates. No significant difference between the quantity of HHV-7 DNA in saliva samples from which active virus was isolated and that amplified from samples without detectable virus was observed. Patients with adult-onset Still disease consistently had high HHV-7 DNA loads, in contrast to patients with other connective tissue diseases ($P = .0003$) and healthy adults ($P = .0224$). The mean HHV-6 ($P = .012$) and HHV-7 ($P < .0001$) DNA loads in patients with connective tissue diseases were lower than those in healthy adults.

Conclusion. These data suggest that a number of host factors in patients with adult-onset Still disease may function to accelerate HHV-7 replication in the salivary glands.

Human herpesvirus (HHV)-7 was originally isolated from peripheral-blood mononuclear cells (PBMCs) from healthy adults in 1990 [1]. This virus, a member of the β -herpesvirinae subfamily, is closely related to HHV-6. Primary infection with either of these 2 viruses causes exanthem subitum [2, 3], a common febrile disease of childhood [2, 3]. Because most infants and young children acquire infections with both of these viruses [4, 5], both are ubiquitous among adult populations. The epidemiologic profile of each virus is similar to that of

cytomegalovirus (CMV), the original member of the β -herpesvirinae subfamily. After primary infection, herpesviruses persistently infect the host throughout its lifetime. The salivary glands have been proposed as reservoir sites for persistent infection with β -herpesviruses; HHV-7 can frequently be isolated from saliva [6, 7]. Using longitudinal viral-isolation analysis, we recently demonstrated that HHV-7 shedding in saliva varies among individuals [8]. This finding suggests that host factors may play an important role in the regulation of viral replication in the salivary glands. It will be significant to determine whether the kinetics of shedding of the other β -herpesviruses in saliva are similar to that of HHV-7, because it will help to illuminate the mechanisms that control viral replication in the salivary glands.

The role played by such viral infections in the pathogenesis of autoimmune diseases remains unclear. Herpesviruses, including Epstein-Barr virus [9] and CMV [10], interact with the immune system in a variety of ways and establish latency in either lymphocytes or monocytes/macrophages while retaining the potential for reactivation. In addition to these viruses, HHV-6

Received 18 April 2005; accepted 3 June 2005; electronically published 28 September 2005.

Presented in part: 29th International Herpesvirus Workshop, Reno, Nevada, 25–30 July 2004 (abstract 9.16).

Potential conflicts of interest: none reported.

Financial support: Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology of Japan (grant-in-aid to the 21st Century Center of Excellence Program of Medicine and the Open Research Center, Fujita Health University).

Reprints or correspondence: Dr. Tetsushi Yoshikawa, Dept. of Pediatrics, Fujita Health University School of Medicine, Toyoake, Aichi 4701192 Japan (tetsushi@fujita-hu.ac.jp).

The Journal of Infectious Diseases 2005;192:1530–6

© 2005 by the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved.
0022-1899/2005/19209-0005\$15.00

Comparison of Loop-Mediated Isothermal Amplification, Real-Time PCR, and Virus Isolation for the Detection of Herpes Simplex Virus in Genital Lesions

Hiroko Sugiyama,¹ Tetsushi Yoshikawa,^{1*} Masaru Ihira,² Yoshihiko Enomoto,¹ Takashi Kawana,³ and Yoshizo Asano¹

¹Department of Pediatrics, Fujita Health University School of Medicine, Toyoake, Aichi, Japan

²Department of Medical Information Technology, Fujita Health University College, Toyoake, Aichi, Japan

³Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital Mizonokuchi, Teikyo University School of Medicine, Kawasaki, Kanagawa, Japan

This study compares herpes simplex virus (HSV) type-specific loop-mediated isothermal amplification (LAMP) with virus isolation and real-time PCR. Genital tract specimens were obtained from 25 patients with genital lesions; two swab samples were collected from the vulva and cervix of each patient, for a total of 50 specimens. After culturing, 10 of 50 (20%) samples were positive for HSV-1 and 12 of 50 (24%) samples were positive for HSV-2. None of the patients excreted both HSV-1 and HSV-2 virus. An original HSV type-specific LAMP assay (30 min reaction) was compared with virus isolation and HSV type-specific real-time PCR. Viral DNA was detected by LAMP in 9 of 10 HSV-1 isolated samples and 11 of 12 HSV-2 isolated samples. No viral DNA was detected in samples without virus isolation. Thus, if virus isolation was used as the standard method, the LAMP protocol was highly sensitive and specific. In comparing LAMP to real-time PCR, viral DNA was detected by the LAMP method in 9 of 12 HSV-1 DNA positive samples and 11 of 18 HSV-2 DNA positive samples. If real-time PCR was used as the standard method, then, sensitivity of the LAMP method (in particular, for HSV-2) was low. Taking this into consideration, the LAMP reaction was extended to 60 min. This led to an increase in sensitivity, resulting in an additional one and three samples testing positive for HSV-1 LAMP and HSV-2 LAMP, respectively, compared to the original LAMP protocol. Therefore, the sensitivity of the LAMP method increased to about 80%. **J. Med. Virol.** 75:583–587, 2005. © 2005 Wiley-Liss, Inc.

KEY WORDS: HSV; LAMP; real-time PCR

INTRODUCTION

Herpes simplex virus (HSV) causes a wide variety of clinical manifestations in humans, specifically in the skin, lips, oral cavity, eyes, genital tract, and central nervous system. Genital HSV infection, however, is the most important manifestation from a public health perspective. Evaluating viral burden in genital secretions is important in understanding the mechanisms of heterosexual as well as mother-to-child transmission of HSV and for predicting the effect of antiviral treatment. Standard methods of HSV diagnosis include viral isolation and serological assays. Both viral isolation and serological testing, however, require substantial time to obtain accurate results. More rapid detection can be achieved by the modification of cell culture techniques, by centrifugation of inocula on cell monolayers, and the use of immunofluorescence microscopy [Espy et al., 1991]. Recent studies have suggested that the detection of HSV DNA by polymerase chain reaction (PCR) increases the sensitivity of detection relative to antigenic detection or cell culture methods [Cone et al., 1991, 1994; Lakeman and Whitley, 1995; Kimberlin et al., 1996; Mitchell et al., 1997]. While quantitative analysis of viral DNA by real-time PCR may become a valuable

Grant sponsor: Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology of Japan (Grant-in-Aid for the 21st Century COE Program of Medicine of Fujita Health University and the Open Research Center of Fujita Health University); Grant sponsor: Kurozumi Medical Foundation.

*Correspondence to: Tetsushi Yoshikawa, MD, Department of Pediatrics, Fujita Health University School of Medicine, Toyoake, Japan 4701192. E-mail: tetsushi@fujita-hu.ac.jp

Accepted 2 December 2004

DOI 10.1002/jmv.20309

Published online in Wiley InterScience
(www.interscience.wiley.com)

Rapid Diagnosis of Herpes Simplex Virus Infection by a Loop-Mediated Isothermal Amplification Method

Yoshihiko Enomoto,¹ Tetsushi Yoshikawa,^{1*} Masaru Ihira,² Shiho Akimoto,¹
Fumi Miyake,¹ Chie Usui,¹ Sadao Suga,¹ Kayoko Suzuki,³
Takashi Kawana,⁴ Yukihiro Nishiyama,⁵
and Yoshizo Asano¹

Department of Pediatrics, Fujita Health University School of Medicine,¹ and Department of Medical Information Technology, Fujita Health University College,² Toyoake, and Department of Dermatology, Central Hospital of Tokai Medical Institute, Tokai,³ and Department of Virology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya,⁵ Aichi, and Department of Obstetrics and Gynecology, University Hospital, Mizonokuchi, Teikyo University School of Medicine, Kawasaki, Kanagawa,⁴ Japan

Received 1 March 2004/Returned for modification 3 May 2004/Accepted 12 October 2004

Primers for herpes simplex virus type 1 (HSV 1)-specific loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method amplified HSV-1 DNA, while HSV-2-specific primers amplified only HSV-2 DNA; no LAMP products were produced by reactions performed with other viral DNAs. The sensitivities of the HSV-1- and HSV-2-specific LAMP methods, determined by agarose gel electrophoresis, reached 500 and 1,000 copies/tube, respectively. The turbidity assay, however, determined the sensitivity of the HSV-1- and HSV-2-specific LAMP methods to be 1,000 and 10,000 copies/tube, respectively. After initial validation studies, 18 swab samples (in sterilized water) collected from patients with either gingivostomatitis or vesicular skin eruptions were examined. HSV-1 LAMP products were detected by agarose gel electrophoresis in the 10 samples that also demonstrated viral DNA detection by real-time PCR. Nine of these 10 samples exhibited HSV-1 LAMP products by turbidity assay. Furthermore, both the agarose gel electrophoresis and the turbidity assay directly detected HSV-1 LAMP products in 9 of the 10 swab samples collected in sterilized water. Next, we examined the reliability of HSV type-specific LAMP for the detection of viral DNA in clinical specimens (culture medium) collected from genital lesions. HSV-2 was isolated from all of the samples and visualized by either agarose gel electrophoresis or turbidity assay.

Viral isolation and serological assays are standard methods of herpes simplex virus (HSV) diagnosis. Both viral isolation and serological testing, however, require substantial time to obtain accurate final results. More rapid detection has been achieved by modification of cell culture techniques by centrifugation of inocula on cell monolayers and the use of immunofluorescence techniques (6). Recent studies have suggested that detection of HSV DNA by PCR increases the sensitivity of viral infection detection compared to antigenic detection or cell culture methods (3, 4, 11, 13, 14). While quantitative analysis of viral DNA by real-time PCR may become a valuable tool for bedside monitoring of HSV infection and progression (1, 2, 7, 10, 17, 21, 22), it has not yet become a common procedure in hospital laboratories due to the requirement of specific expensive equipment (a thermal cycler).

Recently, Notomi et al. (18) reported a novel nucleic acid amplification method, termed loop-mediated isothermal amplification (LAMP), which is used to amplify DNA under isothermal conditions with high specificity, efficiency, and speed. The most significant advantage of LAMP is the ability to amplify specific sequences of DNA between 63 and 65°C without

thermocycling. Thus, the technique requires only simple and cost-effective equipment amenable to use in hospital laboratories. The LAMP method also exhibits both high specificity and high amplification efficiency. As the LAMP method uses four primers which recognize six distinct target DNA sequences, the specificity is extremely high. This method also exhibits extremely high amplification efficiency, due in part to its isothermal nature; as there is no time lost due to changes in temperature and the reaction can be conducted at the optimal temperature for enzyme function, the inhibition reactions that often occur at later stages of typical PCR amplifications are less likely to occur. Thus, this method could potentially be a valuable tool for the rapid diagnosis of infectious diseases (5, 8, 9, 12, 19, 23) in both commercial and hospital laboratories. In this study, we sought to establish a LAMP-based HSV type-specific DNA amplification method and examine its reliability for the detection of HSV DNA from clinical specimens.

HSV-1 (KOS) DNA and HSV-2 (186) DNA were used as positive controls to determine the appropriate conditions for HSV type-specific LAMP and to establish the baseline sensitivity and specificity levels. HSV-1 (KOS), HSV-2 (186), varicella-zoster virus (VZV) (Oka), human cytomegalovirus (HCMV) (AD-169), human herpesvirus type 6B (HHV-6B) (Z29), and HHV-7 (RK) DNA were used to determine the specificity of HSV type-specific LAMP. Plasmids containing

* Corresponding author. Mailing address: Department of Pediatrics, Fujita Health University School of Medicine, Toyoake, Japan 4701192. Phone: 8 1-562-939251. Fax: 8 1-562-95-2216. E-mail: tetsushi@fujita-hu.ac.jp.