

た。5%CO₂ インキュベーター (35℃) 中で 30 分間インキュベートしてその間に 4 回プレートを震とうした後、接種ウイルス液を除いた。2%FBS を添加した MEM 培地 1mL を加えて 2~3 日間培養した。CPE が出現しはじめた段階で、各血清型を接種した 4 ウェルについて上清を 300μL 残して除いた。それぞれの 4 ウェルのうち 2 ウェルずつをフロックスワブ(FS)および綿スワブ(CS)で完全に拭いた。スワブ先端を折りとって無血清 MEM 培地 1mL 入りのチューブ中でスワブを絞り、スピンドウンした上清 200μL からバイラル核酸キット (ロシュ) を用いて Ad の DNA を抽出した。抽出 DNA について、既報(6)に準じて Ad の DNA(copy/μL)を測定した。リアルタイム PCR は SYBR® Premix Ex Taq™ (TaKaRa)を用いた。リアルタイム PCR の各測定値は、3 回測定した平均値を用いた。

C. 結果

ウイルス液の吸収量は、FS で浸漬時間にかかわらず 0.15~0.18g であった。これに対して CS では 10、30 および 60 秒でそれぞれ 0.11、0.18 および 0.19g であった(Table 1)。

Ad 接種細胞を拭った各スワブからの Ad DNA 回収量は同一検体で常に FS が CS より多かった(Table 2)。Ad 抽出効率では FS と CS で FS が平均 9.46 倍、最大 23.4 倍 CS より Ad 回収量が多く、最小でも 3.59 倍回収効率が良かった。

D. 考察

これまで、Ad 抽出効率に対するスワブの検討は十分なされてこなかったが、本研究の結果により FS を Ad 検査用スワブとして用いることが有効であると考えら

れる。本研究はインビトロの結果であるが、拭う面積などの条件を統一できた点で信頼性が高いものと思われた。検体(型)によって差が見られ、この点はさらなる検討が必要である。しかし、すべての型で FS の検体採取効率が CS より高かったので、Ad 検査における FS の使用は有用性が高いと考えられた。また、FS は抽出時間が短く、短時間での検体採取が可能と考えられた。FS を感染症サーベイランスにおける検体採取の用いることで検出効率の向上を通じ、より適切な病原体サーベイランスが可能となることが示唆された。

E. 結論

Ad 診断用の検体採取において FS は培養細胞を用いて検討した。その結果、Ad を接種した細胞をぬぐった各スワブからの Ad DNA 回収量は、同一検体では常に FS がコットンスワブ(CS)より多かった。

F. 文献

- 1 Chernesky M, Castriciano S, Jang D, Smieja M: Use of flocked swabs and a universal transport medium to enhance molecular detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *J Clin Microbiol.* 2006; 44:1084-6.
- 2 Daley P, Castriciano S, Chernesky M, Smieja M: Comparison of flocked and rayon swabs for collection of respiratory epithelial cells from uninfected volunteers and symptomatic patients. *J Clin Microbiol.* 2006; 44: 2265-7.
- 3 Moore C, Corden S, Sinha J, Jones R: Dry cotton or flocked respiratory

swabs as a simple collection technique for the molecular detection of respiratory viruses using real-time NASBA. J Virol Methods. 2008; 153: 84-89.

- 4 Abu-Diab A, Azzeh M, Ghneim R, Ghneim R, Zoughbi M, Turkuman S et al.: Comparison between pernasal flocked swabs and nasopharyngeal aspirates for detection of common respiratory viruses in samples from children. J Clin Microbiol. 2008; 46: 2414-7.
- 5 大内好美, 田中千香子, 横井一, 秋山美穂, 木村博一, 野田雅博, 他: 市販ウイルス保存輸送液およびスワブ採取キットの評価. 臨床とウイルス. 2008; 36: 61~4.
- 6 Watanabe M, Kohdera U, Kino M, Haruta T, Nukuzuma S, Suga T et al.: Detection of adenovirus DNA in clinical samples by SYBR Green real-time polymerase chain reaction assay. 2005; 47: 286-91.

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) 清水英明, 石丸陽子, 藤本嗣人: 白金-金コロイドイムノクロマトグラフ法を使用したアデノウイルス検査キットの有用性. 感染症学雑誌. 2009; 83: 64~65.
- (2) 藤本嗣人: 咽頭結膜熱(プール熱)・アデノウイルス感染症. チャイルドヘルス. 2008; 11: 34~37.
- (3) 榎本美貴, 近平雅嗣, 藤本嗣人: アデノウイルスに対する L20B 細胞(ポリオウイルス特異検出細胞)の感受性-兵庫県. 病原微生物検出情報月報. 2008; 29, 101~102.

- (4) 藤本嗣人, 安井良則, 森兼啓太: アデノウイルス感染対策. 病原微生物検出情報月報. 2008; 29, 95~95.
- (5) 藤本嗣人, 浜本いつき, 谷口清州, 岡部信彦, 近平雅嗣: 咽頭結膜熱を引き起こしたアデノウイルス 3 型の分子疫学-兵庫県. 病原微生物検出情報月報. 2008; 29, 100~100.
- (6) 大金映子, 船渡川圭次, 藤本嗣人, 浜本いつき, 岡部信彦: 栃木県における流行性角結膜炎患者からの 5 種類の細胞によるウイルス分離結果. 病原微生物検出情報月報. 2008; 29, 101~101.

2. 学会発表

- (1) 藤本嗣人, 浜本いつき, 谷口清州, 近平雅嗣, 岡部信彦: 新たに開発した高速 PCR システム(Hyper-PCR)とそのアデノウイルス診断への応用. 日本ウイルス学会. 2008 年 10 月, 岡山市.
- (2) Fujimoto T, Hamamoto I, Taniguchi K, Chikahira M, Okabe N: Molecular Epidemiology of Adenovirus Type 3 Detected from 1994 to 2006 in Hyogo Prefecture, Japan. 7th Japan-China Conference of Virology. May 2008, Tokyo.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

Table 1 Comparison of absorbed weight with cotton swabs and flocked swabs

absorbed time	CS		FS	
	absorbed liquid (g)	mean (g)	absorbed liquid (g)	mean (g)
10 sec	0.11	0.11	0.15	0.17
	0.12		0.18	
	0.10		0.17	
30 sec	0.16	0.18	0.17	0.17
	0.19		0.17	
	0.20		0.18	
60 sec	0.19	0.19	0.17	0.16
	0.20		0.15	
	0.19		0.17	

Table 2

Table 2 Comparison of copy number of Ad genomes collected by flocked swabs and cotton swabs

sero type	swab	sample I.D.	copies/ μ L	mean (copies/ μ L)	FS/CS
Ad 1	FS	1	6.01E+06	5.78E+06	9.52
		2	5.54E+06		
	CS	3	5.48E+05	6.07E+05	
		4	6.66E+05		
Ad 2	FS	5	1.78E+03	1.47E+03	3.65
		6	1.15E+03		
	CS	7	5.38E+02	4.03E+02	
		8	2.68E+02		
Ad 4	FS	9	7.09E+04	5.63E+04	23.4
		10	4.17E+04		
	CS	11	1.51E+03	2.41E+03	
		12	3.30E+03		
Ad 5	FS	13	2.79E+07	2.03E+07	3.59
		14	1.26E+07		
	CS	15	9.01E+06	5.65E+06	
		16	2.28E+06		
Ad 6	FS	17	3.41E+05	4.99E+05	4.71
		18	6.57E+05		
	CS	19	1.04E+05	1.06E+05	
		20	1.08E+05		
Ad 11	FS	21	5.34E+06	9.72E+06	11.9
		22	1.41E+07		
	CS	23	1.14E+06	8.18E+05	
		24	4.95E+05		

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興研究事業）

分担研究報告書

細菌感染症サーベイランスの信頼度向上のための研究

分担研究者 堀野敦子 国立感染症研究所・細菌第二部 研究員

協力研究者 荒川宜親 国立感染症研究所・細菌第二部

蒲地一成 国立感染症研究所・細菌第二部

見理 剛 国立感染症研究所・細菌第二部

吉野 学 栄研化学・生物化学研究所

小島 禎 栄研化学・生物化学研究所

池戸正成 栄研化学・生物化学研究所

研究要旨

現行のサーベイランスシステムにおける細菌感染症サーベイランスの問題点を改善し、その信頼度を向上させる上で、重要なポイントの一つが病原体の確実な検出と分離である。病原体の分離法は菌種によっては手順が煩雑で難しいこともあるが、菌体を分離して保存しておくことは、その後の詳細な疫学調査などを行うための重要な材料となる。このため、今回、細菌の分離培養法及び分離の裏付けともなる遺伝子学的検出法の改良の検討を検体の輸送条件の検討を含めて行うこととした。今回の検討結果から肺炎マイコプラズマの原因菌である *M. pneumoniae* について、これまで使用されていた輸送培地より分離効率の良い輸送培地が示された。また、臨床検体の処理方法についても改良を行うことが望ましいと考えられた。

A. 研究目的

本研究では病原体の分離率を向上させることにより、細菌感染症のサーベイランスの信頼度向上を目的とする。また、診断基準に、より有効な項目を導入することも目指す。細菌感染症の確実な検出は、サーベ

イランスシステムのベースとなるデータ収集の観点から重要である。また、病原体を確実に分離、保存しておくことにより、疫学調査などへ応用が可能である。

これまでこの目的のために、国立感染症研究所・細菌第二部で担当している、第五

類感染症、肺炎マイコプラズマの原因菌である *Mycoplasma pneumoniae* について遺伝子学的手法の検討、輸送培地の検討を予備実験として行ってきたが、今年度は実際に臨床検体を用いて検討をおこない、実際の臨床検体に適応可能かを検証した。また、*M. pneumoniae* の病原体検出マニュアルの改正と届出基準の改正が行われる際に参考となる情報の蓄積を目指した。

B. 研究方法

1) *M. pneumoniae* 感染が疑われる患者からの臨床検体の輸送について

これまでに臨床検体の常温輸送について PPLO グリセロール 5%輸送培地と BD ユニバーサルトラスポーターで比較検討を行ってきたが、これに、通常の PPLO 培地 (10%ウマ血清, 0.25%グルコース, アンピシリン 50 μ g/ml) も検討に加えた。

実際の臨床検体中には *M. pneumoniae* 以外の菌も多数存在し、これらは常温では輸送培地中で *M. pneumoniae* よりも早く増殖する。この対策として *M. pneumoniae* は他の菌よりも小さく 0.45 μ m のシリンジフィルターを通過できる性質を利用し、検体はフィルターで濾過を行った後、培養ならびに遺伝子学的手法を行ってみることとした。

2) 遺伝子学的手法の検討について

昨年度までに LAMP 法と Nested PCR 法の比較検討を行ってきたが、前述のよ

うに臨床検体には *M. pneumoniae* 以外の菌が多く混在し、咽頭スワブを入れた培地から抽出したゲノム DNA を鋳型とする反応の際にも障害となることが考えられる。このため、0.45 μ m のシリンジフィルターで濾過した検体としていない検体とで遺伝子学的手法に与える影響を比較した。

まず、健常人の咽頭スワブと研究室の株を輸送培地で培養したもので予備実験を行ったのちに臨床検体を取り扱うこととした。

(倫理面への配慮)

この研究は国立感染症研究所倫理審査委員会の審議を受け認可されている (受付番号 110)。

C. 研究結果

今年度はまず、*M. pneumoniae* を常温で輸送するための輸送培地の検討と、検体処理法の検討を予備実験として行った。この結果をふまえて臨床検体からの分離・同定を試みた。

昨年度は 2 種類の輸送培地に実験室株の *M. pneumoniae* のみを植菌して常温に静置し観察を行ったが、今年度は健常人の咽頭スワブと共に実験室株の *M. pneumoniae* を常温で静置し輸送培地の性能を比較した。

用いた培地は PPLO グリセロール 5%輸送培地、PPLO 培地、BD ユニバーサルトラスポーターの三種類。植菌後、常温で 48

時間まで静置した場合の影響と、*M. pneumoniae* 以外の菌を除去する目的で輸送培地を0.45 μ m シリンジフィルターで濾過する有効性について検討を行った。

咽頭スワブと共に植菌した輸送培地は室温に24時間静置、48時間静置した。その後、輸送培地の一部を0.45 μ m シリンジフィルターで濾過を行い、フィルター濾過群と、非濾過群として PPLO 寒天培地、二層培地に植え継いだ。また、それぞれの群でゲノム DNA を抽出した。

この結果、フィルター濾過を行わなかった群では一様に *M. pneumoniae* 以外の菌が増殖し、寒天培地上でも *M. pneumoniae* のコロニーを確認することができなかった。一方、フィルター濾過を行った群では *M. pneumoniae* のコロニーを観察することができた。最も多くのコロニーを観察できた輸送培地は PPLO 培地、次が BD ユニバーサルトラスポーター、最もコロニー数が少なかった培地は PPLO グリセロール 5% 輸送培地であった。

また、フィルター濾過群と非濾過群について抽出したゲノム DNA を用いて LAMP 法を行い、フィルター濾過が LAMP 法に及ぼす影響についても検討を行った。いずれの輸送培地においても、フィルター非濾過群ではいくつかの検体で LAMP 法では検出ができなかった一方で、フィルター濾過群では検出が可能になった例がいくつか見られた。フィルター濾過群でのみ検出が可能であった検体はいずれも *M. pneumoniae* 以外の菌が多く増殖した培地

であった。

この予備実験の結果に基づき小児科開業医から臨床検体の提供をうけ、分離同定を試みた。*M. pneumoniae* は抗菌薬を投与すると分離が困難になる。総合病院は開業医で抗生物質を投与されたが、症状が改善しなかった患者が受診する例も多いため、今年度は開業医の協力を得ることにした。分離された咽頭スワブを常温で国立感染症・研究所細菌第二部宛に送付してもらい、到着後0.45 μ m シリンジフィルター濾過群と非濾過群で培養法と遺伝子学的手法の検討を行った結果、2件が LAMP 法のみ陽性、1件が LAMP 法、培養法ともに陽性であった。

D. 考察

今年度は昨年度の輸送培地検討の結果をふまえて、さらに実情に即した予備実験を行った。試みた三種類の輸送培地では実験室で通常用いている PPLO 培地が常温での輸送培地として最も適していた。これをふまえて行った PPLO 培地による臨床検体の輸送もこれまでのところ問題が無い。現在までのところ PPLO 培地を用いて常温輸送を行うことに問題は無いと考えている。

また、0.45 μ m のシリンジフィルターを用いて臨床検体の濾過処理を行った結果では、フィルター非濾過群において *M. pneumoniae* 以外の菌の増殖に阻害されて *M. pneumoniae* のコロニーを観察できなかった検体でも、フィルター濾過群では寒天培地上に *M. pneumoniae* のコロニーを観察することができた。LAMP 法の検討で

もフィルター非濾過群では陰性になった検体が、フィルター濾過群では陽性となった。これは *M. pneumoniae* 以外の菌のゲノム DNA が多く存在することにより LAMP 法の反応を阻害しているためと考えられる。これまでのところシリンジフィルターによる濾過は培養法、遺伝子学的手法のいずれにおいても効果的であると考えられる。今年度の臨床検体について培養法と LAMP 法の結果を比較した場合、LAMP 法のみ陽性の検体は 2 件、培養法と LAMP 法が共に陽性の検体は 1 件であった。LAMP 法のみ陽性の検体はいずれもシリンジフィルター濾過を行った検体で、同じ検体の非濾過群では陰性であった。

ただし、常温輸送についてもシリンジフィルター濾過についても今年度は臨床検体の取り扱い検体数が現時点までで 11 件と少なかったため、今後取り扱い検体数を増やしてデータの収集を行いたい。

また、昨年度までに報告してきたが、サンプリングの指標とすべき *M. pneumoniae* の届出基準について、改善したほうがよいと思われる点が見られた。現在の基準には遺伝子学的検査法が含まれていないが、nested PCR 法や LAMP 法を含む遺伝子学的検査法は適切なサンプリングと手順で行われていれば、確実に検出が可能である。これらの点を考慮して、*M. pneumoniae* の届出基準には核酸検査による診断の項目も入れるべきであると考えられる。この裏付けとすべく、分離と遺伝子学的検出法についてデータの収集を継続

したい。

このほか、*M. pneumoniae* は抗生物質による治療を開始すると検出率が著しく低下するという特徴があるため、*M. pneumoniae* による感染が疑われた場合には治療を開始する前に直ちに検体のサンプリングを行わなければならない。このような注意点も届出基準の参考情報として付け加えるなど、サンプリング現場に周知徹底される必要があると考える。

E. 結論

今年度は予備実験と実際の臨床検体を用いた検討を行った。検体数は少なかったが、予備実験で検討した輸送培地、シリンジフィルターを用いる検体の処理はこれまでのところ有効であると考えられる。今年度はサンプルの収集を依頼した地域で *M. pneumoniae* の流行が無く、検体数が少なかったが、今後も検体収集を継続し、培養法と遺伝子学的手法の比較検討を継続し、確実な培養法と迅速な遺伝子学的手法についてマニュアルを改正したい。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許所得
なし
2. 実用新案登録
なし

3.その他

特筆事項なし

やじまクリニック 矢島ふみ子

三輪小児科医院 三輪操子

宮地内科医院 宮地三千代

協力医療機関

永寿堂医院 松永貞一

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
「効果的な感染症サーベイランスの評価並びに改良に関する研究」
分担研究報告書

感染症発生動向調査に基づく流行の警報・注意報および全国年間罹患数の推計

研究分担者	永井正規	埼玉医科大学医学部公衆衛生学	教授
研究協力者	（疫学的・統計学的なサーベイランスの評価と改善グループ）		
橋本修二	藤田保健衛生大学医学部衛生学	教授	
川戸美由紀	藤田保健衛生大学医学部衛生学	助教	
谷口清州	国立感染症研究所感染症情報センター	第一室	室長
重松美加	国立感染症研究所感染症情報センター		主任研究官
多田有希	国立感染症研究所感染症情報センター	第二室	室長
安井良則	国立感染症研究所感染症情報センター		主任研究官
島田智恵	国立感染症研究所感染症情報センター		研究員
太田晶子	埼玉医科大学医学部公衆衛生学		講師

研究要旨

感染症発生動向調査（サーベイランス）について、その運用状況を確認しその改善方を提案することを目的として、警報・注意報発生システム、全国年間罹患数の推計の運用状況を確認し、改善方を検討提案すること、全数把握対象疾患、基幹定点把握対象疾患についての情報の有効利用の方法を検討開発すること、サーベイランス情報の収集・還元システムの運用状況を確認し、改善方法を検討提案することを目的とした研究グループを構成し分担研究を行った。

方法は、昨年度と同様である。今年度は特に2007年のサーベイランス情報を加えて検討した。結果は次のとおりである。

○警報・注意報について、2007年までの発生動向を観察・評価した。2008年から警報基準値を変更（咽頭結膜熱とA群溶血性レンサ球菌咽頭炎）、2008年から全数把握対象疾患へ変更（麻疹と風疹）は、いずれも適切と判断された。○都道府県警報について、2007年までの発生動向を観察・評価した。提案した発生方法（2007年度末に、厚生労働省健康局結核感染症課から都道府県等へ事務連絡）は、適切と判断された。○罹患数推計値について、2007年までの年次推移を観察・評価した。2008年からの基礎資料の変更（罹患数推計に用いる全国の医療施設数）は適切と判断された。性感染症定点の診療科等の属性別定点数、患者報告数を確認し、性感染症の罹患数推定の可能性、問題点を指摘した。○情報の有効活用の検討として、全数把握対象疾患と基幹定点対象疾患の2007年までの発生動向を観察・検討した。

この研究成果の詳細は別途「疫学的・統計学的なサーベイランスの評価と改善グループ」研究報告書、感染症発生動向調査に基づく流行の警報・注意報および全国年間罹患数の推計—その9—として印刷報告する。

A. 研究目的

本研究は感染症発生動向調査（サーベイランス）の改善と有効利用を目指すものである。

本年度は3年間の研究期間の第3年目である。研究課題は①警報・注意報の発生、②全国罹患数の推計、③情報の有効活用、④情報システムの4つである。具体的には次のとおりである。①警報・注意報の発生については、発生状況の継続観察と基準値に関する検討を経て、発生方法の評価・見

直しを検討する。都道府県の警報発生方法についてすでに提案した方法を新しいデータに適用し、発生状況について検討する。②全国罹患数の推計については、最新データに基づく推計値を提示し、推計方法の検討、推計結果の表現（公表、いわゆる還元）方法を提案する。③情報の有効活用については、定点把握対象疾患・全数把握対象疾患、基幹定点対象疾患データの現行活用方法の評価を行うとともに、同データの解析を実施し、情報の有効利用・還元と年報作

成の方法などを提案する。④情報システムについては、逐次、現行システムの問題点の検討と評価、新システムへの対応を進める。上記3課題の研究成果のシステム導入方法を順次検討・提案する。

本年度は過去のデータを整備し、これに最新データ(2007年)を追加し、上記4課題について基礎的事項を中心として検討を加えた。警報・注意報については特に2008年から警報基準値を変更した咽頭結膜熱とA群溶血性レンサ球菌咽頭炎、全数把握対象疾患へ変更された麻疹と風疹について変更の影響を2007年データについて観察した。罹患数推計については2008年から罹患数推計に用いる全国の医療施設数を変更したことについて特に検討した。

B.研究方法

感染症発生動向調査の4類・5類感染症について、1999年度以来の解析用データベースを整備し、2007年データを追加した。同データに基づいて、上記4課題に関する解析を実施した。

警報・注意報発生方法、年間患者数の推計方法は2000(平成12)年度の「定点サーベイランスの評価に関するグループ」研究報告書に詳しく示したとおりである。また年間罹患数推計方法については2005(平成17)年度の報告書に示したとおりである。全国罹患患者数の推計については、罹患数推計の基礎データの一つである全国医療施設数をこれまで用いてきた2002年医療施設調査データを2005年医療施設調査データに変えて推計した。

(倫理面への配慮)

個人の秘密など、倫理面での問題が生じるものは取り扱わない。

C.研究結果

主な結果は次のとおりである。

(1)警報・注意報の発生

2002(平成14)年度に提案した新基準値に基づいて、また咽頭結膜熱、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎については2008年に変更された基準値を用いて、警報・注意報の発生状況を2007年末まで観察した。表1に警報・注意報発生週の割合を年次別に示した。図1に示すように、基準値を変更した咽頭結膜熱、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎では、基準値変更の意図のとおり、2007

年の警報発生週数は減少した。全数対象疾患に変更された麻疹、風疹では2007年でも引き続き警報発生頻度が低く、全数報告への変更が適切であることを示唆するものであった。その他の疾患では警報・注意報発生頻度が当初目標とした範囲にあり、問題点は認められなかった。

都道府県警報については、先に提案した方法、すなわち、保健所管轄地域の警報レベルにある全ての保健所の管内人口の合計が都道府県人口全体の30%を超えた場合を「都道府県の警報レベル」と設定する方法を、都道府県警報発生状況の観察に適用した。都道府県警報の発生状況に特に問題は認められず、警報発生頻度も適切であると考えられた。図2は都道府県が、警報ありの保健所を有する週数と、都道府県に警報が出た週数との関係を疾患別に示すものであるが、前者に比較して後者が大きい疾患はより広域の流行を起こしていると解釈できる。インフルエンザ、ヘルパンギーナ、感染性胃腸炎、手足口病などがこれにあっていることが分かる。都道府県警報の有用性は小さくないが、県内に少数の保健所しかない場合、また少数の保健所に県内人口の多く(例えば1保健所に30%以上の人口)が集中している場合などもあり、広域的な流行が起こっているかどうか判断する場合は、都道府県の実情を考慮した専門的判断が必要になるだろう。

(2)全国罹患数の推計

インフルエンザ、小児科定点対象疾患、眼科定点対象疾患それぞれについて、2002年から2007年までの各年の全国年間罹患数、性別、年齢別の年間罹患数および、全国週別罹患数の推計値と95%信頼区間を得た。表2が対象疾患それぞれの年間罹患数推計値である。推計値は、その精度や定点の無作為性という前提からの乖離による過大評価の可能性について留意して利用するものである。

さらに性感染症定点対象疾患の患者数推計の可能性、妥当性を検討するために、定点の属性別定点数と属性ごとの患者報告数の検討を行った。2006年にシステムが更新されるまでは(定点の属性が把握できないため)行えなかった検討であり、性感染症サーベイランスを有効に進めるための基本的事項の確認ができるという大きな成果を

得た。

(3) 情報の有効活用

定点把握・全数把握対象疾患・基幹定点対象疾患について、データ内容を整理するとともに、昨年同様検討を行った。4・5類の全数把握対象疾患のうち、罹患率がある程度の高さである疾患を選び、罹患の時間的分布、地域的分布、感染特性分布の観察方法を提案した。これは流行がない場合に越えられないと期待される値を図示し、これと実際の罹患数との比較を容易にするための図示や表示の方法を示すなどの新しい方法である。本年は、この解析を2000～2007年の8年間のデータに適用し検討した。採用した方法は有用であると認められたが、検討した方法以外にも流行状況を観察する、流行を把握する方法は考え得る。これは今後の検討課題である。

基幹定点対象疾患については基本的なデータの整理を行った。定点数が少ないための限界はあるものの、患者数の時間的変化、また検査方法や検体採取部位についての情報の有用性について考察した。

(4) 情報システム

新システムは利便性、有用性が向上したことを確認した。これまでの保健所別警報・注意報の明示だけでなく、都道府県警報、を示し、また罹患数推計値を逐次示すなどは情報還元面の改善であるが、報告の手順、データ閲覧の手順にも大きな改善が見られた。

D. 考察

①警報・注意報の発生、②全国罹患数の推計、③情報の有効活用、④情報システムについての研究を行った。

感染症発生動向調査の旧4類(現5類)感染症について、1999～2006年度データの解析用データベースを整備するとともに、2007年データを追加した。①警報・注意報の発生では、この間の警報発生頻度を確認し、その評価を行った。咽頭結膜熱、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎については、既に提案した新しい基準値に基づいて、2007年の警報・注意報発生状況を確認し、それが適切であると考察した。②全国罹患数の推計では、2007年の推計を新たに行った。推計の基礎となる医療施設調査データを、

2002年調査のものから2005年調査のものに変更して推計し、これが適切であると考察した。両課題とともに、③情報の有効活用、④情報システムについて、基礎的事項を中心とした検討を加え具体的な提案を行った。なお、麻疹、風疹については2008年初から全数報告となっている。

E. 結論

2007年4月には感染症法対象疾患の大幅な見直しが行われた。2008年1月1日には麻疹、風疹が(定点把握対象から)全数報告に変更された。今年度は2007年までのデータの解析である。2006年からのシステムの更新により、警報・注意報発生システムの罹患数推計システムはある程度ルーチン化(日常化、機械化)することができた。基準値の適切性や、基礎データの変更の必要性の検討など、今後も引き続き検討していかなければならない課題は残されているが、このシステムは現段階において基礎を固めることができたと評価できる。

感染症の予防において、今後とも、感染症発生動向調査には中心的な役割が期待される。その基礎として、感染症発生動向調査に関する検討が不可欠である。特に、感染症の発生動向の変化に対応した新たな課題を含めて、十分に検討していくことが重要であろう。ここでは、これまでに検討してきた研究課題について、今後に残された事項をまとめることとする。

1999年の感染症法施行以来検討してきた研究課題は(i)定点の配置、(ii)警報・注意報の発生、(iii)罹患数の推計、(iv)その他の課題(基幹定点、全数把握対象疾患、情報システム)とまとめられる。これらの研究成果の多くはすでに感染症発生動向調査システムに導入され、現在、運用されている。今後も運用状況を定期的に確認・検討・評価することが必要である。以下は特に重要な事項である。

(i) 定点の配置においては、定期的な現状評価を行うことが挙げられる。現時点の定点配置は必ずしも十分なものとはいえない。(ii) 警報・注意報の発生においては、発生のための基準値の見直しと、都道府県警報のシステムへの導入が挙げられる。これらに関する検討方法と検討結果が、この3年間の研究報告書に示されている。(iii) 罹患数の推計においては、推計の基礎

資料（全国の医療施設数）を定期的（3年程度の間隔）に更新することが挙げられる。その更新は医療施設調査の目的外使用の下で行うことになるが、詳細は昨年度の研究報告書に記載されている。(iv)その他の課題においては、これまでの検討結果や提言（過去の研究報告書を参照）を感染症発生動向調査の今後のシステム更新に生かすことが挙げられる。

本年の研究成果の詳細は別途「疫学的・統計学的なサーベイランスの評価と改善グループ」研究報告書、感染症発生動向調査に基づく流行の警報・注意報および全国年間罹患数の推計—その9—、として印刷報告する。

G.研究発表

1.論文発表

なし

2.学会発表

(1)永井正規, 太田晶子, 橋本修二, 川戸美由紀, 村上義孝, 多田有希, 重松美加, 安井良則, 谷口清洲. 感染症発生動向調査に基づく検討 第1報警報・注意報の基準値の変更. 日本公衆衛生雑誌, 55(10) 特別附

録:576. 2008

(2)橋本修二, 川戸美由紀, 太田晶子, 永井正規, 村上義孝, 多田有希, 重松美加, 安井良則, 谷口清洲. 感染症発生動向調査に基づく検討 第2報都道府県の警報発生. 日本公衆衛生雑誌, 55(10) 特別附録:576. 2008 日本公衆衛生雑誌, 55(10) 特別附録:577. 2008

(3)川戸美由紀, 橋本修二, 太田晶子, 永井正規, 村上義孝, 多田有希, 重松美加, 安井良則, 谷口清洲. 感染症発生動向調査に基づく検討 第3報医療施設数更新による罹患数推計値の変化. 日本公衆衛生雑誌, 55(10) 特別附録:577. 2008

H.知的財産権の出願・登録状況

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

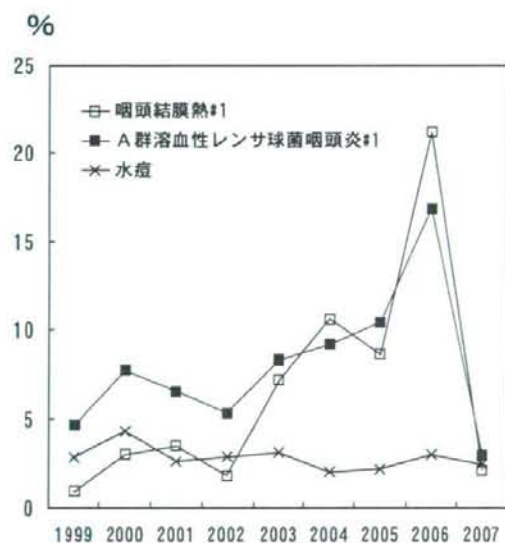
なし

表1 警報・注意報発生週の割合

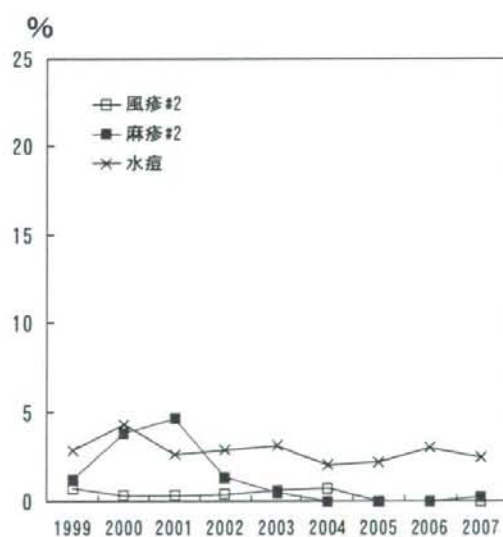
5類感染症定点把握対象疾患		年度								年次 2007
		1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	
インフルエンザ	警報	5.5	0.4	3.3	9.8	5.6	10.8	6.3	4.1	6.7
	注意報	4.6	2.7	5.8	6.2	4.4	3.6	6.5	6.5	8.8
咽頭結膜熱#1	警報	0.9	3.0	3.5	1.8	7.2	10.6	8.7	21.2	2.1
	警報	4.6	7.7	6.5	5.3	8.3	9.2	10.4	16.9	3.0
A群溶血性レンサ球菌咽頭炎#1	警報	6.5	7.0	6.1	5.5	6.2	5.5	6.0	8.9	5.5
	警報	2.8	4.3	2.6	2.9	3.1	2.0	2.1	3.0	2.4
感染性胃腸炎	警報	6.0	7.4	5.8	6.0	6.1	4.7	5.3	6.4	5.3
	注意報	1.6	10.5	5.2	2.9	8.1	3.3	2.4	3.5	3.0
手足口病	警報	1.7	3.1	6.5	4.3	2.1	3.3	2.6	6.0	8.3
	警報	*	*	*	*	*	*	*	*	*
突発性発疹	警報	0.3	0.4	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.1	0.3
	警報	0.7	0.3	0.3	0.4	0.6	0.7	0.0	0.0	0.0
百日咳	警報	7.8	6.2	6.6	4.3	7.3	4.2	6.6	4.7	5.7
	警報	1.2	3.8	4.6	1.3	0.5	0.0	0.0	0.0	0.2
風疹#2	警報	2.2	6.1	5.9	2.9	1.8	0.2	0.1	0.1	0.9
	注意報	1.5	4.3	8.9	4.2	1.1	2.6	3.9	5.0	1.0
ヘルパンギーナ	警報	2.2	5.2	8.0	4.1	1.6	3.6	6.6	5.0	1.3
	警報	2.5	2.3	1.7	1.6	1.7	1.1	1.2	1.4	1.3
麻疹#2	警報	1.7	4.2	3.3	2.5	1.6	1.0	1.9	1.7	0.8
	警報									
流行性耳下腺炎	警報									
	注意報									
急性出血性結膜炎	警報									
	警報									
流行性角結膜炎	警報									
	警報									

*：警報・注意報発生の対象外
 #1：2007年から警報の新基準値を採用
 #2：2008年から全数把握対象疾患へ変更

図1 警報発生週の割合(1999-2007)―2008年から変更した疾患―



#1：2007年から警報の新基準値を適用



#2：2008年から全数把握対象疾患へ変更

図2 県警報発生週数と都道府県が警報あり保健所を有する週数との関係

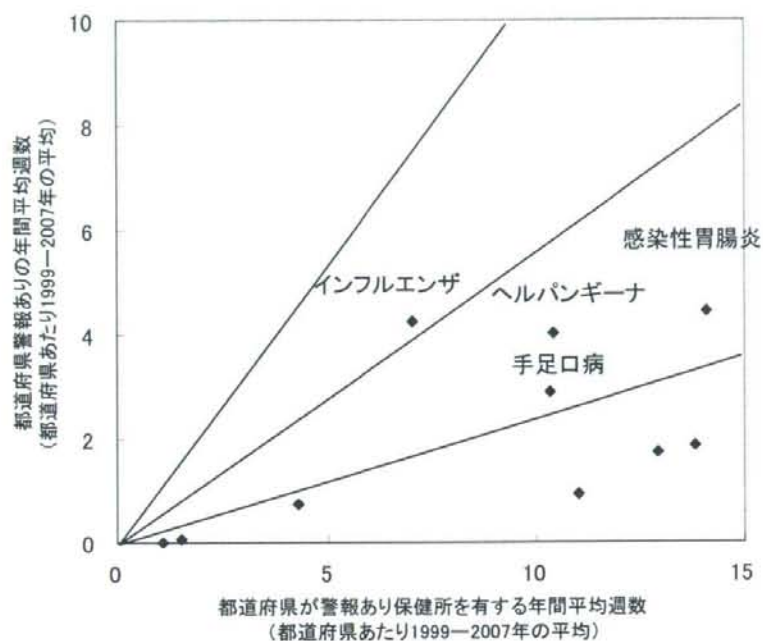


表2 全国罹患数推計値 (2002-2007)

5類感染症定点把握対象疾患	年次					
	2002	2003	2004	2005	2006	2007
インフルエンザ	736	1,156	895	1,820	977	1,274
咽頭結膜熱	10.7	26.9	39.5	40.9	59.4	35.5
A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	101.8	109.4	137.4	131.6	172.9	165.4
感染性胃腸炎	676.6	699.6	746.9	733.7	874.4	756.6
水痘	162.8	150.0	149.5	156.1	156.8	152.4
手足口病	57.7	104.4	53.4	66.5	58.4	59.9
伝染性紅斑	38.2	21.1	31.9	28.1	39.9	48.9
突発性発疹	68.7	68.2	68.5	68.9	60.3	58.6
百日咳	1.1	1.4	1.3	1.1	1.0	2.4
風疹	2.1	2.2	3.9	1.1	0.6	0.4
ヘルパンギーナ	71.0	92.4	66.8	93.9	72.4	78.1
麻疹	7.9	5.5	1.2	0.6	0.4	2.3
流行性耳下腺炎	108.9	51.5	82.1	135.6	118.6	43.1
急性出血性結膜炎	1.5	1.6	1.1	1.1	1.2	1.3
流行性角結膜炎	54.7	49.9	42.3	44.6	46.7	34.1

単位: 万人

ウイルス性急性呼吸器感染症の疫学的解析

分担研究者： 鈴木 宏（新潟大学大学院医歯学総合研究科
国際感染医学講座公衆衛生学分野）

共同研究者： 齋藤 玲子、菖蒲川 由郷、李 丹娟、鈴木 康司、関 奈緒、佐々木 諭、
杉崎 弘周、Hassan Zaraket, Branovich Tatiana, Dapat Clyde Pancho,
Isolde Dapat, 熊木彬彦

研究要旨

1. タミフル耐性 A/H1N1 インフルエンザ発生：

2007年から2008年4月まで、国内14施設から得られたA/H1N1のタミフル耐性株は675例中3株(0.4%)と低い発生であり、耐性株はNA遺伝子の274部位に変異が見られた。NA遺伝子系統樹解析により、タミフル耐性でアマンタジン感受性の2Bとタミフル感受性でアマンタジン耐性の2Cに大別され、2Bには、タミフル耐性株高頻度発生の北欧系統と、耐性株発生が少数のハワイ系統が見られ、懸念された北欧系統は少なかった。今冬のタミフル耐性では100%耐性であることが確認された。

2. 佐渡市におけるインフルエンザ伝播のGISによる空間疫学解析：

離島である佐渡市調査地とし、地域におけるインフルエンザ患者の流行伝播様式をGISにより空間的疫学解析を行い、A型インフルエンザは多焦点的に拡散し、B型インフルエンザは流行の中心が緩やかに移動しながら拡散する事が再確認された。それに加え、B型インフルエンザ患者の年齢群別の地域的展開においても、主体となった0-6歳群が先行し、7-12歳群が後続する相互の地域伝播の関係性が強く示唆された。

3. 新潟県内J市の小学校における過去4シーズンのインフルエンザ流行時の学校・学級閉鎖効果の検討：長い間インフルエンザへの対応として学校・学級閉鎖が流行阻止に効果があるかを過去4シーズンの新潟県内のJ市の小学校で検討した。学校のインフルエンザの流行形式は学級単位であり、学級の罹患率が20%に達したら直ぐの2日間の学級閉鎖は効果があると思われた。また、児童の週末の様々な過ごし方が感染の機会を増加している可能性が示唆され、今後週末の過ごし方の指導の必要性が求められた。

A. 研究目的

この2年間において我々は地理情報システム(Geographic Information System, GIS)を用いて日本のインフルエンザの流行伝播様式を研究し、日本では西日本又は関東地域が先に流行し、その後北上して東北地方が最も流行が遅いこと

を明らかにした。特にインフルエンザの抗原性が変化した際には流行規模が大きくなり、日本全国で一斉に流行する傾向があり、新型インフルエンザ発生時には日本全体に短時間に伝播することを提示した。抗原が変化し大きな流行がある年、ラニーニャやエルニーニョなどの大きな気候変

動があった年には、流行が例年に比べ早く1月に流行ピークが見られる。アマンタジンやタミフルなどの抗ウイルス薬への耐性を示す株の発生が問題になりつつあり、これまでシーズン毎の発生状況を全国各地の先生との協力により、それらの動態を検討してきた。また、呼吸器感染として重要なRSウイルスについても長年にわたって分子疫学的解析を行い、これまでにない大きな発生が、新しい遺伝子型のウイルス株発生と関連することを明らかにし、長期間の調査が必要であることを示してきた。

今年度の研究は、NA遺伝子の274番目が変異し、昨年北欧で高頻度に発生したタミフル耐性A/H1N1株の今シーズンの国内での登場が危惧され、その発生動向を検討した。GISによる空間疫学解析を行ってきたが、本年は離島で一市との特徴を有する佐渡市において、A型とB型インフルエンザの伝播の違いを検討した。更には、1950年代から日本の特筆すべき事業として行われて来たが、十分な評価がなされていないインフルエンザ流行時における学校の閉鎖の有効性を検討した。

B. 研究

1. タミフル耐性A/H1N1インフルエンザ発生

インフルエンザ感染症の予防・治療には現在市中には3種類の抗ウイルス薬が使用されている。しかし、薬剤には常に耐性株発生への配慮が必要である。最初に市中で使用されたアマンタジンについては、最近のA/H3N2においては殆どがアマンタジン耐性株であり、この株は、'clade Nと我々が初めて発表した、ウイルスはヘマグルチニン(HA)遺伝子にも二重変異(193位、225位)を持つ特異的な株であった。もう一つのノイラミニダーゼ阻害剤としてタミフルとリレンザについても耐性株発生が見られる。リレンザと比較しタミフルの耐性株発生は多いとされているが、特にA/H1N1においては昨年まで日本では多くても2-3%であったのが、北欧で高い耐性率を持つ北欧系統の株が日本にはいることが懸念さ

れ、耐性株発生を検討した。

2007年から2008年4月まで、北海道から長崎までの14施設から送られてきたインフルエンザウイルス、特にA/H1N1のタミフル耐性株出現頻度を検討した。675例中3株(0.4%)の出現と低い発生であった。この耐性株はNA遺伝子の274部位に変異が見られ、NA遺伝子系統樹解析により、大きくはタミフル耐性でアマンタジン感受性の2Bとタミフル感受性でアマンタジン耐性の2Cに大別された(図1)。2Bには、タミフル耐性株高頻度発生の北欧系統と、耐性株発生が少数のハワイ系統が見られ、懸念された北欧系統は少なかった。2008年12月に分離されたA/H1N1のタミフル耐性を検討し、100%耐性であることが確認された。

2008/2009年シーズンはA/H1N1、A/H3N2、B型が地域により異なった頻度で見られ、治療に当たって混乱、困難な状況に陥っている。早期に、耐性株発生状況を調査し、最適な治療法を選択できるようにすることが重要となった。

2. 佐渡市におけるインフルエンザ伝播のGISによる空間疫学解析

インフルエンザウイルスは主として冬季に流行する呼吸器感染症の起因ウイルスであり、毎年世界各地で大きな流行を引き起こしている。インフルエンザウイルス流行として常に把握されているのはA型とB型である。最近では新型のインフルエンザ流行からの世界的な大流行としてのパンデミックの脅威が、H5N1高病原性トリインフルエンザの大流行と関連して懸念されている。

有効なインフルエンザ流行防止対策には、流行の地域内発生状況把握とそれを早期に情報還元できるシステムが重要であるが、インフルエンザの地域内の感染伝播状況の解明も必要である。しかし、後者についての検討はまだ不十分なままである。

この点を明らかにすべく、我々は、これまで、厚生労働省感染症サーベイランス情報をGIS法

により疫学解析を行い、インフルエンザ流行形態を検討してきた。特に開業医からの迅速診断によるインフルエンザ患者情報から、市内の限局した地域におけるインフルエンザA型は一気に広範囲に、一方B型は狭い範囲で起こりながら広がる状況を把握した。しかし、大きな市にかかわらず三カ所の医院のデータのみで、しかも周辺からの感染が複雑に交差する地域性等の制限があった。このことを出来るだけ避けるために、今回は地域内外の人の出入りが少なく医療が地域内で完結する離島(佐渡市)を調査地とし、地域におけるインフルエンザ患者の流行伝播様式をGISによりA型、B型の空間的疫学解析を行った。

本研究は新潟県の離島でもある佐渡市で行った。患者情報収集には佐渡市内の病院・診療所計21医療機関のうち19医療機関(協力率90%)の調査協力が得られた。対象者は2007-2008年シーズンにおける上記医療機関を受診し、主として迅速診断キットによりインフルエンザと診断された患者のうち同意の得られた者とし、調査票の記載項目は年齢、自宅の郵便番号、今冬のワクチン接種の有無、ウイルス型診断、迅速診断キット使用の有無等である。GISによる空間的疫学解析は、GISソフトウェア(ArcGIS 9.2, Market Planner 8.2)を使用し、解析には、GISソフトウェアMarket Planner 8.2を用いた郵便番号のアドレスマッチングにより患者居住地の地図化を行い、GISソフトウェア(ArcGIS 9.2)空間解析ツールのカーネル密度分析により行った(図2)。

患者発生状況として、ウイルス型が判明した462名のうちA型149名、B型313名とB型優位のシーズンであった。型別の患者年齢群別においては、A型は19-64歳群が40.3%であり、それ以下の年齢群では0-12歳の年齢群が多かった。一方、B型では、0-6歳群に続いて7-12歳群で多くみられ、全体の7割を超した。

シーズン中の流行の推移は型別の流行と関連し、A型は流行ピークが全体の3つのピーク

の内の最初の2回と関連し、一方B型の1回の流行ピークは全体の最後のピークと関連した。

次にA型、B型それぞれのウイルス流行について、GIS法により地理的伝播の解析を行った。

GISの解析手法であるカーネル密度分析を用いて患者発生密度と時系列的な患者発生推移を検討した。我々が以前、新潟市内の3小児医院との共同研究から得られたと同様に、A型インフルエンザは多焦点的に拡散し、B型インフルエンザは流行の中心が緩やかに移動しながら拡散することが再確認された。それに加え、B型インフルエンザ患者の年齢群別の地域的展開においても、型流行の主体となった0-6歳群が先行し、7-12歳群が後続する相互の地域伝播の関係性が強く示唆された。

このような成果は、インフルエンザのGISによる空間疫学解析の有用性を強く示唆するものであり、更には、今回の成果を活かし、モデリング及び実用的な流行シミュレーションに向けた継続的なデータの蓄積が重要と思われた。

3. 新潟県内J市の小学校における過去4シーズンのインフルエンザ流行時の学校・学級閉鎖効果の検討

学校閉鎖はパンデミック発生時の重要な対策の一つとされ、注目されている。一方、毎年と冬季にインフルエンザが流行し、学級・学校閉鎖が全国各地でなされる。この活動は、世界中で日本だけであり、1950年代から学校保健法的一端として学童へのインフルエンザワクチン接種事業と併せて行われてきた。しかし、この措置の有効性は不明のままであり、この点の検証を行った。

新潟県内のJ市において、毎年インフルエンザへの対応として、市に属する小学校のインフルエンザ流行時期の期間中、それぞれの学校の毎日の学級毎のインフルエンザによる欠席数、罹患者数情報を用い、措置の有効性を検討した。なお、新潟県では、学級・学校閉鎖は、学級、学年、学校においてインフルエンザによる欠席が10%、ないしは罹患者が30%を超えたとき、

クラス担任、養護教諭、校医と相談して校長が措置を決定する。しかし、措置期間についての取り決めはない。

新潟県が定めた規定を超えても学校、学級閉鎖措置をしなかった例を検討し、患者発生は学級別であり、例え隣接した学級であっても影響を与えていない特徴が見られ、本研究の解析は学級単位が最適と判断した(図3)。すなわち、学校の措置は学級単位とすべきことを初めて明らかにした。

措置をした期間は大部分が2日間であり、これを検討することとした。県では30%としているが、この基準では直ぐに40%、50%と急激に上昇し、学級閉鎖は2日間の効果が現れにくくなっていた。一方、20%とすると、効果が見られる傾向が見られた。これから、我々は学級の罹患率が20%に達したら直ぐに学級閉鎖は2日間することがよいと結論づけた(図4)。

週毎の患者発生頻度は月曜が最大でその後漸減傾向があった。インフルエンザの潜伏期が2日間程度であることから、週末の過ごし方の重要性が示された。これは、パンデミックでは長期間の学校閉鎖が予定され、今後学校だけでなく、家庭での過ごし方としての父兄との連携による最適な方法を早期に検討する必要性も示された。今後週末の過ごし方をもっと工夫すれば、もう少し良い措置法を検討する余地があると思われた。

C 健康危険情報

特になし

D. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Zaraket H, Saito R, Sato I, Suzuki Y, Li D, Dapat C, Caperig-Dapat I, Oguma T, Sasaki A, Suzuki H. Molecular evolution of human

influenza A viruses in a local area during eight influenza epidemics from 2000 to 2007. Arch Virol. [Epub ahead of print] 2009.

- 2) Zaraket H, Saito R, Tanabe N, Taniguchi K, Suzuki H. Association of early annual peak influenza activity with El Niño southern oscillation in Japan. Influenza and Other Respiratory Viruses. 2:127-130. 2008.
- 3) Shobugawa Y, Saito R, Sato I, Li D, Suzuki Y, Sasaki A, Sato M, Suzuki H. Recurrence and Persistence of Fever in Children Who Shed Amantadine-Resistant Influenza Viruses after Treatment. Tohoku J. Exp. Med. 214: 129-138. 2008.
- 4) Sato M, Saito R, Sato I, Tanabe N, Shobugawa Y, Sasaki A, Li D, Suzuki Y, Sato M, Sakai T, Oguma T, Tsukada H, Gejyo F and Suzuki H. Effectiveness of oseltamivir treatment among children with influenza A or B virus infections during four successive winters in Niigata City, Japan. Tohoku J. Exp. Med. 214:113-120. 2008.
- 5) 鈴木宏. 新型インフルエンザ発生時の患者対応策への提案. 日本医事新報. 4422:45-48. 2009.
- 6) 杉崎弘周, 齋藤玲子, 関奈緒, 鈴木宏. 小・中学校におけるインフルエンザ流行時の措置と意思決定の実態. 日本小児科学会雑誌. 112:696-703. 2008.

2. 学会発表

- 1) 鈴木康司, 齋藤玲子, 西藤岳彦, 内田裕子, 佐藤勇, 日比成美, 生嶋聡, 藤原史博, 橋田哲夫, 白髭豊, 真崎宏則, 星野和彦, 菖蒲川由郷, 小熊妙子, Zaraket Hassan, 山口正治, Dapat Clyde, Dapat Isolde, 川上千春, 鈴木宏. 本邦6地域における2007/08シーズンのノイラミニターゼ阻害剤耐性H274Y変異A/H1N1インフルエンザウイルスの発生. 第56日本ウイルス学会. 2008年10月26-28 岡山
- 2) 関奈緒, 佐々木亜里美, 齋藤玲子, 山口正治, 田辺直仁, 鈴木宏. 連続4シーズンにおける小児

インフルエンザワクチン効果と同居高齢者への波及効果。第 67 日本公衆衛生学会。2008 年 11 月 5-7 福岡

- 3) 杉崎弘周、齋藤玲子、関奈緒、鈴木宏。新潟県の小・中学校におけるインフルエンザ流行時の措置と意志決定の実態。第 39 全国学校保健・学校医大会。2008 年 11 月 08 新潟

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし