

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

小児侵襲性インフルエンザ菌感染症分離株の解析並びに小児細菌性髄膜炎の培養陰性症例におけるPCRによる起原菌推定の検討

研究分担者 宮村達男 国立感染症研究所 所長

**研究要旨** 本分担研究は小児侵襲性インフルエンザ菌感染症からの分離菌を収集し、血清型、薬剤感受性等を解析し、Hib コンジュゲートワクチン普及に伴う変化を捉えること、また、菌分離ができなかった細菌性髄膜炎疑い症例について PCR による起原菌推定の検討を目的とする。2007年6月～2009年1月に8県で分離された89症例103株の同定確認、生物型別、血清型別、薬剤感受性試験を行った。1症例1株とし、分離時期または菌種が対象外であった5株を除いた *Haemophilus influenzae* 87株について集計・記述した。血清型は2株を除いてすべてb型であり、生物型は1型が優勢であった。87株中13株（14.9%）がβ-ラクタマーゼを産生した。現在標準的に使用されているセフトキシム（CTX）とメロペネム（MEPM）に対して感受性カテゴリー内にはとどまるものの、MICが高い菌株が少なかった。培養陰性であった11症例からの髄液検体を用いたPCRにより、2症例について起原菌として *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* をそれぞれ推定したが、さらに感度の改善を図る必要がある。

研究協力者

荒川宜親、加藤はる、新谷三春、佐々木裕子、久保田（松岡）真由美、木村幸司  
（国立感染症研究所 細菌第二部）

A. 研究目的

*Haemophilus influenzae* type b (Hib, b型インフルエンザ菌) 侵襲性感染症は、小児に好発する髄膜炎や喉頭蓋炎などの重篤な感染症であるが、近年 Hib コンジュゲートワクチンの普及により先進諸国では過去の感染症となった。我が国でも平成19年1月に同ワクチンが認可され、同20年12月に市販が開始された。研究班全体の目的にはこのワクチンの有効性を疫学的に実証し、ワクチンの普及、更に定期接種化に資するため9道県において小児の当該感染症を全数把握しワクチン導入前後における罹患率等の変化を追

跡することが含まれるが、本分担研究はそのうち8県の症例からの分離菌を収集し、血清型、薬剤感受性等を解析し、ワクチン普及に伴う変化を捉えることを目的とする。今年度は昨年度に引き続き分離菌の同定確認、生物型別、血清型別、薬剤感受性試験を行う。また、起原菌の分離ができなかった細菌性髄膜炎疑い症例における起原菌の推定を目的として、髄液検体中の細菌遺伝子解析方法を検討する。

B. 研究方法

**供試菌株**：菌株は2007年6月～2009年1月に、8県の共同研究者／主治医から送付された。これらの菌株は侵襲性感染症（髄膜炎、菌（敗）血症、喉頭蓋炎、肺炎等）患児の髄液または血液等から分離され *H. influenzae* 或いは *H. parainfluenzae*

と同定されたものである。

**同定確認**：菌をチョコレートⅡ寒天培地（ベクトン・ディッキンソン）上で再分離し、グラム染色を行い、ID テスト・HN-20 ラピッド「ニッスイ」（日本製薬）を用いて再同定した。

**生物型別**：ID テスト・HN-20 ラピッド「ニッスイ」（日本製薬）を用いた。

**β-ラクタマーゼ活性検出**：ID テスト・HN-20 ラピッド「ニッスイ」（日本製薬）を用いた。

**血清型別**：インフルエンザ菌莢膜型別用免疫血清「生研」（デンカ生研）を用いた。

**薬剤感受性試験**：Etest（AB BIODISK）を用い、試験用培地には Haemophilus Test Medium（HTM、ベクトン・ディッキンソン）を用いた。薬剤としてアンピシリン（ABPC）、スルバクタム／アンピシリン（ABPC/SBT）、ピペラシリン（PIPC）、メロペネム（MEPM）、セフトキシム（CTX）、セフトリアキソン（CTRX）、タゾバクタム／ピペラシリン（PIPC/TAZ、β-ラクタマーゼ産生株に対して）を用いた。

**髄液検体**：髄液 11 検体が 5 県の共同研究者／主治医から送付された（国立感染症研究所検体番号 Zuk001-011 とした）。これらは臨床症状、髄液所見等から細菌性髄膜炎が疑われたが、髄液培養が陰性であった症例で、PCR による起病因菌推定のため送付された。

**髄液からの DNA 抽出**：QIAamp DNA Mini kit（QIAGEN）を使用した。

**PCR 反応条件**：プライマーセットを表 1 に示した。PuReTaq Ready-To-Go PCR beads（GE Healthcare）に 10 μM primer 各 1.5 μl（最終濃度各 0.6 μM）、template DNA 2 μl、滅菌蒸留水を加え、全量 25 μl とし反応させた。反応条件は 94°C 2 min、(94°C 1min、55°C 1min、72°C 1 min) × 30 サイクル、72°C 5 min とした。2%アガロースゲル上で PCR 産物 3 μl を泳動後、エチジウムブロマイドで染色した。

（倫理面への配慮）PCR による髄膜炎

起病因菌推定に関して、「国立感染症研究所 ヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会」の承認を得た。本研究のために新たに髄液採取することはなく、インフォームドコンセントを得た上で、診断目的で採取・使用終了後、保存されていた髄液検体の一部を用いた。情報は連結可能匿名化され厳重に管理された。

### C. 研究結果

2007 年 6 月より 2009 年 1 月までに総計 89 症例 103 株（2007 年度 37 症例 41 株、2008 年度途中まで 52 症例 62 株）の送付を受けた。すべての株について受領の都度解析を行い、結果を各共同研究者と主治医に報告した。

同定確認の結果は *H. influenzae* 99 株、*H. parainfluenzae* 3 株、その他 1 株であった。複数部位から菌が分離された症例については無菌的部位からの 1 株に限り、また、分離時期が 2006 年である 1 株と *H. influenzae* ではなかった 4 株を除いた *H. influenzae* 87 株について以下に集計・記述した。

生物型については 1 型が最も多く（53 株、60.9%）、次いで 2 型（23 株、26.4%）、4 型（9 株、10.3%）の順であった（表 2）。莢膜血清型は b 型が 85 株、b 型以外が 2 株で、うち 1 株は血清型別用 PCR（J Clin Microbiol, 32, 2382, 1994）により非莢膜（Nontypeable）型であることが確認された。

β-ラクタマーゼ産生株は 87 株中 13 株（14.9%）であった。87 株の薬剤感受性を表 3、表 4、図 1 に示した。アンピシリン、ピペラシリン、セフトキシム、セフトリアキソンで MIC 分布の 2 峰化がみられた（表 4、図 1）。アンピシリンでは中間株も多かった。β-ラクタマーゼ非産生で、かつアンピシリンに対し中間耐性を示す株が 18 株あったのに対し、β-ラクタマーゼ非産生株すべてがピペラシリンには良好な感受性を示し、MIC は最高でも 0.25 μg/ml（2 株）であった。β-ラクタマーゼ産生株の一部（8 株）についてタゾバクタム／ピペラシリン



ンの Etest を実施したところ、ピペラシリンの MIC が  $2 \rightarrow 256 \mu\text{g/ml}$  であったのに対し、タゾバクタム/ピペラシリンの MIC は  $0.047 \sim 0.19 \mu\text{g/ml}$  であった。

髄液 11 検体から抽出した DNA を template として行った PCR の結果を図 2 に示した。Zuk001 は *Streptococcus pneumoniae* *lytA* PCR 陽性、Zuk011 は *Neisseria meningitidis* *crpA* PCR 陽性であった。Zuk002-Zuk010 においては 3 菌種に対し PCR 陰性であった。

全ての髄液抽出 DNA に対して、細菌検出のための PCR (16S rRNA の position 800-1400) を試みた。その結果、*S. pneumoniae* *lytA* PCR 陽性検体 Zuk001 及び *N. meningitidis* *crpA* PCR 陽性検体 Zuk011 において約 600 bp の PCR 産物が検出されたものの、他の Zuk002-Zuk010 検体においては PCR 産物は検出されなかった。以上の結果より、髄液 11 検体中 2 検体 (18%) において起因菌 (*S. pneumoniae*, *N. meningitidis*) が推定されたものの、残り 9 検体においては細菌遺伝子の存在が確認されなかった。髄液から DNA を抽出せず、髄液を直接 template とした PCR においても、抽出 DNA を template とした PCR と同様の結果が得られた。

陽性対照 (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis* から抽出した DNA) を用いて各種プライマーや nested PCR 法の感度を比較検討したところ、髄液を用いた PCR で検討した系よりも 100 倍程度感度の高い系を見出した (Data not shown)。

#### D. 考察

Hib コンジュゲートワクチン普及以前の欧米諸国と同様に侵襲性感染症由来株の血清型は 2 株を除いてすべて b 型であった。この 2 株はいずれも菌 (敗) 血症由来であり、抗 b 血清あるいは感作ラテックスと反応せず、うち 1 株は荚膜型別用 PCR により、いずれの荚膜も持たない Nontypeable 株であることが確認された。Nontypeable 株によっても低頻度ながら侵襲性感染症が引き起こされること

は内外に報告がある。欧米では Hib コンジュゲートワクチン普及後に a 型、f 型などによる侵襲性感染症の増加が報じられている。我が国でも今後、Hib コンジュゲートワクチンでは予防できない b 型以外の血清型菌による侵襲性感染症が増加する可能性があるため、侵襲性感染症由来 *H. influenzae* 株の血清型の監視が常に必要である。

$\beta$ -ラクタマーゼ産生株は 13 株 (14.9%) で、約 30% という米国、カナダでの報告より頻度は低かった。国内では 10 数% の頻度の報告が多く、本研究においても同様であった。

現在小児侵襲性 *H. influenzae* 感染症に対する標準的選択薬とされるセフトキシムとメロペネムの MIC が高い菌株が少なくなかった。セフトキシムについては 11 株 (12.6%) が、メロペネムについては 14 株 (16.1%) が感受性カテゴリーの上限 (それぞれ  $2 \mu\text{g/ml}$ ,  $0.5 \mu\text{g/ml}$ , CLSI 基準に拠る) に達していた。耐性化の問題からもワクチンの早期の普及と定期接種化が望まれる。

MIC 測定のために Etest を用いているが、Etest の製造者は CLSI 基準に準拠して測定用培地として HTM を指定している。しかしこの培地は *H. influenzae* には至適ではなく、6 株が生育不良で、MIC 測定不能、或いは MIC 測定困難で再現性が悪かったため、チョコレート II 寒天培地を用いて MIC を再測定した。これは *H. influenzae* の MIC 測定法として残された課題である。

今回行った PCR では、template に髄液を直接用いた場合と抽出 DNA を用いた場合ともに同じ結果が得られたが、DNA 抽出に供する髄液の量によっては、少量で溶出した DNA で PCR を行う方が検出感度が上昇すると思われる。しかし髄膜炎症例では特に脳圧亢進がある場合髄液採取は危険を伴うため、禁忌あるいは最小限量にとどめなければならないので他の方法により感度上昇を図らねばならない。プライマー (標的領域) の設定や、nested PCR の適用について検討している。

*S. pneumoniae* 検出 PCR では自己溶菌酵素遺伝子 *lytA* を標的としてプライマーセット Spn *lyt*-F, Spn *lyt*-R を用いた。*lytA* は、ニューモリシン（肺炎球菌溶血毒素）遺伝子 *ply* と同様に、*S. pneumoniae* に特徴的な遺伝子として標的領域に選ばれることが多い。*H. influenzae* の検出のために、16S rRNA 遺伝子の配列をもとにしたプライマーを用いたが、莢膜型株に共通の遺伝子 *bexA* (GenBank Accession Number: M19995) を標的領域とする PCR (プライマーセット: HI-F: 5'-CGT TTG TAT GAT GTT GAT CCA GAC T-3', HI-R: 5'-TGT CCA TGT CTT CAA AAT GAT G-3', 産物のサイズ: 343 bp) を用いれば莢膜型 *H. influenzae* の検出が可能であり、その目的に利用されている。但し、*bexA* PCR の結果が陰性の場合、起原菌が *H. influenzae* でない場合と、nontypeable *H. influenzae* または b<sup>-</sup> *H. influenzae* である場合の両方の可能性があるが、両者を区別できない。更に血清型別用に開発された型特異的プライマーを用いる PCR (J Clin Microbiol, 32, 2382, 1994) を適用することにより、起原菌推定の確度を高めるだけでなく、髄液検体から直接血清型別ができる可能性がある。但しこの系は、分離コロニーに対して開発されたので、髄液検体への適用には更なる検討が必要である。*N. meningitidis* 検出 PCR では *crgA* (contact-regulated gene A, LysR-type transcriptional regulator gene) を標的遺伝子として 230 bp の PCR 産物を検出した。

このように数種の菌検出 PCR を個別に行うと、操作の煩雑が増し、クロスコンタミネーションのリスクも高まるので、Multiplex PCR の適用についても検討の余地がある。この場合、*N. meningitidis* 検出のために *crgA* (産物のサイズ: 230 bp) の代わりに *ctrA* (capsular transport protein gene, GenBank Accession Number: AF520902) を標的遺伝子とすれば (プライマーセット: ctrA110-F: 5'-GCT GCG GAT GGT GGT

TCA-3', ctrA110-R: 5'-TTG TCG CGG ATT TGC AAC AT-3')、産物のサイズは 110 bp となり、*S. pneumoniae lytA* PCR の産物との区別が可能となる。

#### E. 結論

2007年6月～2009年1月に8県の小児侵襲性感染症由来 *H. influenzae* の性状を調べたところ、血清型は殆どすべて b 型であり、生物型は 1 型が優勢であった。現在標準的に使用されているセフォタキシムとメロベネムに対して感受性カテゴリー内にはとどまるものの、MIC が高い菌株が少なくなかった。

起原菌不明の 11 症例について髄液を用いて PCR 法により起原菌の推定を検討したところ、2 症例において *S. pneumoniae* と *N. meningitidis* をそれぞれ推定できた。更に感度の改善を図る必要がある。

#### F. 健康危険情報

髄膜炎等重篤な小児侵襲性 *H. influenzae* 感染症から、ペニシリン系、第三世代セフェム系、カルバペネム系薬剤に耐性あるいは非感受性に近い MIC を示す菌株が高頻度で分離された。既に認可・販売されている Hib コンジュゲートワクチンの早期の普及が望まれる。

表 1. PCR に用いたプライマー

検出菌	プライマー		遺伝子	産物の サイズ (bp)	GenBank Ac. No.
	名称	塩基配列			
<i>S. pneumoniae</i>	Spn lytA-F	5'-CGGACTACCGCCTTTATATCG-3'	lytA	229	M13812
	Spn lytA-R	5'-GTTTCAATCGTCAAGCCGTT-3'			
<i>H. influenzae</i>	Hin 16S-F	5'-TCCTAAGAAGAGCTCAGAGAT-3'	16S rRNA	538	NC_000907
	Hin 16S-R	5'-TGATCCAACCGCAGGTTC-3'			
<i>N. meningitidis</i>	Nme crgA-F	5'-GCTGGCGCCGCTGGCAACAAAATTC-3'	crgA	230	AF190471
	Nme crgA-R	5'-CTTCTGCAGATTGCGGCGTGCCGT-3'			

表 2. 生物型別分離頻度 (87 株)

生物型	分離株数 (割合、%)
1	53 (61)
2	23 (26)
3	2 (2)
4	9 (10)
計	87 (100)

表 3. 薬剤感受性分布 (87 株)

薬剤	MIC 範囲	株数		
		感受性	中間	耐性
ABPC	0.125 ~ >256	56	15	16
ABPC/SBT	0.064 ~ 32	77	1	10
PIPC	<0.016 ~ >256	74	1	13
MEPM	0.008 ~ 0.5	87	1	1
CTX	0.008 ~ 2	87	1	1
CTRX	0.002 ~ 0.5	87	1	1

表 4. MIC 分布 (87 株)

薬剤	MIC (µg/ml)																	計		
	0.002	0.004	0.008	<0.016	0.016	0.032	0.064	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64		128	>256
ABPC								2	15	16	23	15	2	2	1	1	0	1	9	87
ABPC/SBT							1	0	17	12	25	22	6	2	0	2				87
PIPC				5	2	13	29	19	6	0	0	2	1	1	1	0	1	0	7	87
MEPM			1		9	15	18	15	15	14										87
CTX			1		1	11	8	12	4	8	31	11								87
CTRX	1	9	5		14	6	1	8	33	10										87



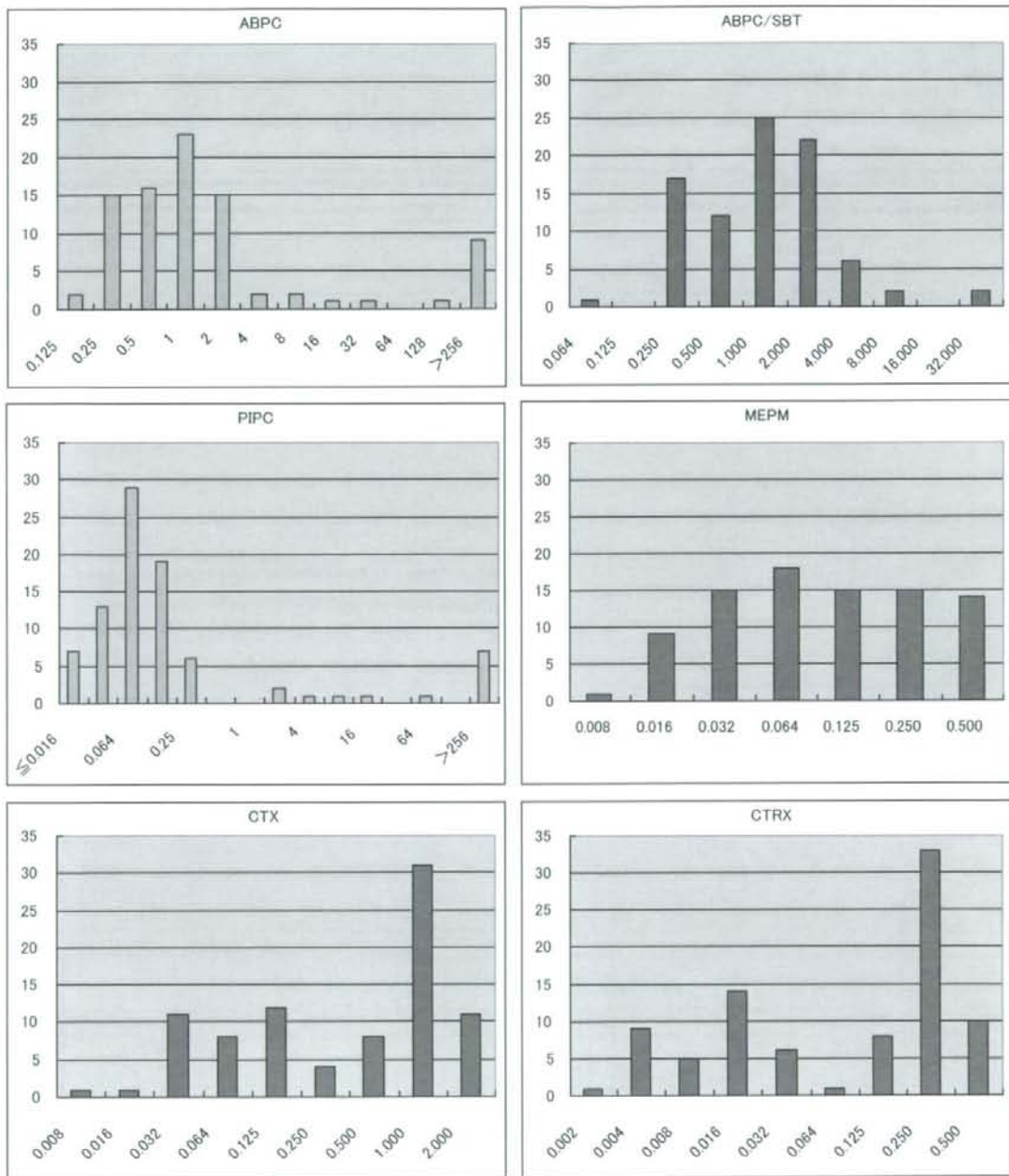


図1. 分離菌株に対する抗菌薬のMIC分布 (87株)

横軸：MIC (μg/ml)  
縦軸：株数

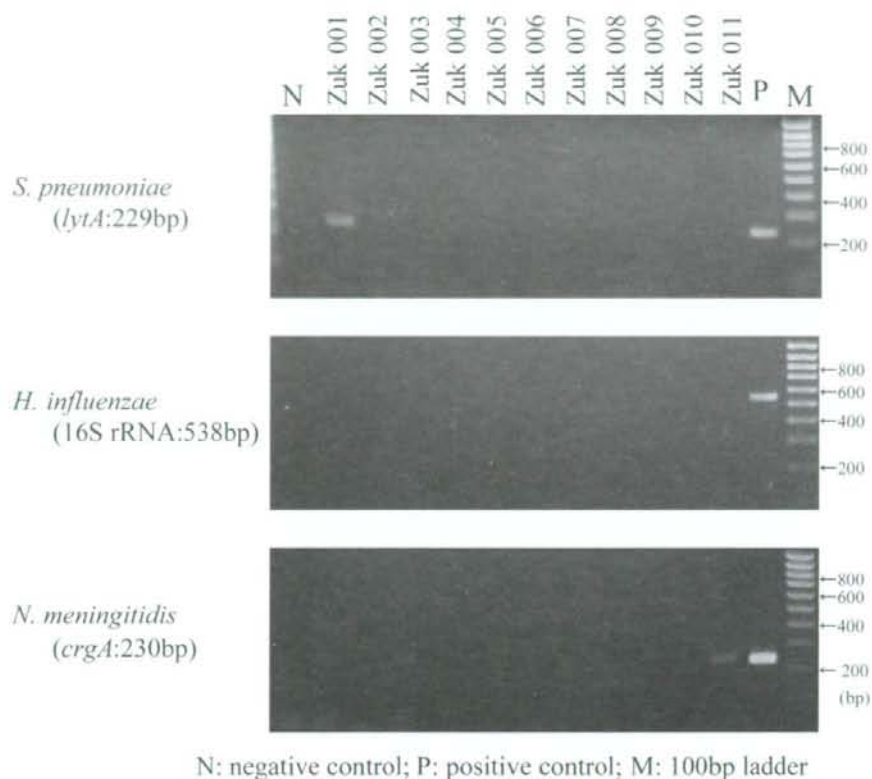


図2. PCR産物のアガロースゲル電気泳動  
(髄液から抽出したDNAをtemplateとし、菌種特異的プライマーを用いて反応させた。)

各レーンは左から

N: 陰性対照

Zuk001-011: 各髄液検体より抽出したDNA

P: 陽性対照

M: 分子量マーカー

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等シミュレーターサイエンス総合研究事業）

ワクチンの有用性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究

小児侵襲性インフルエンザ菌感染症分離株の解析  
並びに小児細菌性髄膜炎の培養陰性症例における  
PCRによる起病菌推定の検討

研究分担者 宮村達男

研究協力者 荒川寛純

加藤はる、新谷三孝、佐々木裕子、久保田（松岡）真由美、木村幸司

（国立感染症研究所）

目的

1. Hibワクチンの有効性を疫学的に実証するために、髄膜炎インフルエンザ菌感染症由来菌株について、昨年度に引き続き血清型、薬剤感受性等を解析し、ワクチン普及に伴う変化を捉える。
2. また、起病菌の分離ができなかった細菌性髄膜炎症例における起病菌の推定を目的として、髄液検体中の細菌遺伝子解析方法を確立する。

方法1：分離菌の解析

供試菌株：2007年6月～2009年1月に分離されたb型インフルエンザ菌87株（1症例1菌株とした）を用いた。

鑑定試験：菌をチョコレート寒天培地上で再分離し、グラム染色を行い、IDテスト・HN-20ラピッド「ニッスイ」（日本製薬）を用いて再鑑定した。

生物型別及びβ-ラクタマーゼ活性検出：IDテスト・HN-20ラピッド「ニッスイ」（日本製薬）を用いた。

血清型別：インフルエンザ菌荚膜型別用免疫血清「生研」（デンカ生研）を用いた。

薬剤感受性試験：Bint（AB BHODISK）を用い、試験用培地にはHaemophilus Test Medium（ベクトン・ディキンソン）を用いた。

使用薬剤：アンピシリン（ABPC）

アンピシリン/スルバクタム（ABPC/SBT）

ピペラシリン（PIPC）

メロペネム（MEPM）

セフォキシム（CTX）

セフトリアキソン（CTRX）

方法2：髄液検体を用いたPCR

髄液からのDNA抽出 QIA amp DNA Min (QIAGEN)

Template 髄液または髄液から抽出したDNA

Primer

名称	配列	讀出子	産物のサイズ 塩基領域
SphiA-F	CGGACTACCGCCTTTATATCG	<i>S. pneumoniae</i>	220 bp
SphiA-R	GTTTCAATCGTCAAGCCGTT	b14	882～1110
H165-F	TCCTAAGAAGAAGCTCAGAGAT	<i>H. influenzae</i>	538 bp
H165-R	TGATCCAAACCCAGGATTC	16S rRNA gene	996～1533
NmrgA-F	GCTGGCCGCCGCTGGCAACAATAATT	<i>N. meningitidis</i>	230 bp
NmrgA-R	CTTCTGCAGATGCGCGCTGCCGT	argA	499～728

PCR反応 Ready-To-Go PCR Beads または Ready-To-Go PCR Beads, Hot Start (GE)

UK) に template と primer を加入 23 μl とした。

94°C 2min  
94°C 1min } 30 cycles  
55°C 1min  
72°C 1min  
72°C 5min

血清型別株数

英漢血清型	株数
b	85
NT以外	2
総計	87

生物型別株数

生物型	分離株数 (割合, %)
1	53 (61)
2	23 (26)
3	2 (2)
4	9 (10)
計	87 (100)

β-lactamase産生株の分離頻度

β-lactamase産生株	株数
陽性	13 (14.9%)
陰性	74 (85.1%)
計	87 (100.0%)

薬剤感受性分析 (87株)

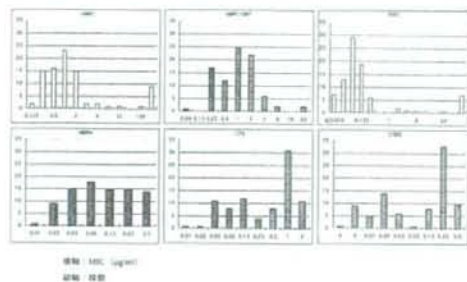
薬剤	MIC 範囲	敗数	
		感受性	中間耐性
ABPC	0.125 ～ >256	56	13
ABPC/SBT	0.064 ～ 32	37	10
PIPC	<0.016 ～ >256	74	13
MEPM	0.008 ～ 0.5	87	—
CTX	0.008 ～ 2	87	—
CTRX	0.002 ～ 0.5	87	—

MIC分析 (87株)

薬剤	MIC (μg/ml)																計
	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	>2048	不明	未検出	未検出	未検出		
ABPC	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	87
ABPC/SBT	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	87
PIPC	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	87
MEPM	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	87
CTX	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	87
CTRX	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	87



分離菌株に対する抗菌薬のMIC分布 (87株)

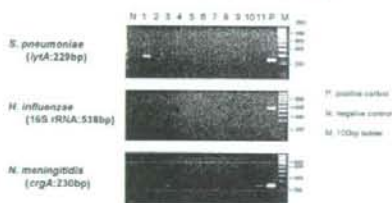


経道を再いたPCRの結果

菌株	経路	検出結果					
		1	2	3	4	5	6
肺炎球菌	肺炎球菌	+	+	+	+	+	+
	肺炎球菌	-	-	-	-	-	-
	肺炎球菌	-	-	-	-	-	-
	肺炎球菌	-	-	-	-	-	-
肺炎球菌	肺炎球菌	+	+	+	+	+	+
	肺炎球菌	-	-	-	-	-	-
	肺炎球菌	-	-	-	-	-	-
	肺炎球菌	-	-	-	-	-	-

1) *S. pneumoniae* penA101 125A  
 2) *S. pneumoniae* inf100000 105 rRNA gene  
 3) *N. meningitidis* 324F  
 4) *N. meningitidis* 324F  
 5) *N. meningitidis* 324F  
 6) *N. meningitidis* 324F

髄液から抽出したDNAによるPCR  
(QA amp DNA Mini (GIGAGEN))



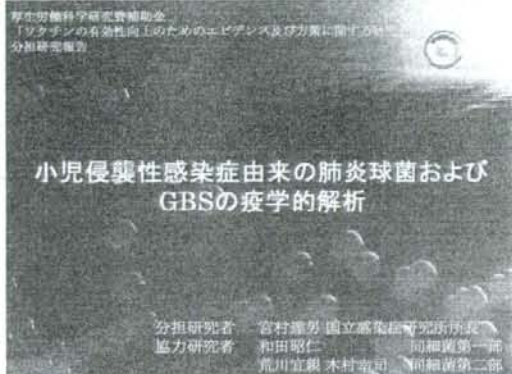
まとめ

2007年6月～2009年1月に8例で分離されたインフルエンザ属87株のうち87株の血液型が9型で、2株が9型以外であった。

87株の生物型分布は1型31株 (36%)、2型23株 (26%)、4型9株 (10%)で、1)型で9例目を占めた。β-ラクターマゼン産生株は14例であった。CTXとMEFMのMICが高い菌株が多く、感受性カテゴリーの上限 (それぞれ2 µg/ml、0.5 µg/ml、CLSIの基準を超える) に達している株もあった。

今後、HAワクチンの普及に伴い、8型以外の血液型インフルエンザ属による罹患性感染の増加などの変化が予想されるため、8型以外の血液型に対応した検査・監視が必要である。

培養陰性髄膜炎症例からの髄液検体について、PCRによる起原菌特定を検討したところ、1)検体のうち2検体で特異的なDNA増幅が見られ、*Streptococcus pneumoniae*、*Neisseria meningitidis* と特定した。今後、方法の確立に向けて感度の向上等更に改良が必要である。



2007/7-2009/2

侵襲性肺炎球菌感染症 117症例 (131株)

血液 101株 鼻腔咽頭 5株  
髄液 21株 胸水 1株  
不明 3株

GBS感染症 13症例 (23株)

血液 9株  
髄液 8株 その他 6株

*S. gallolyticus* spp *pasteurianus* 1症例 (1株)

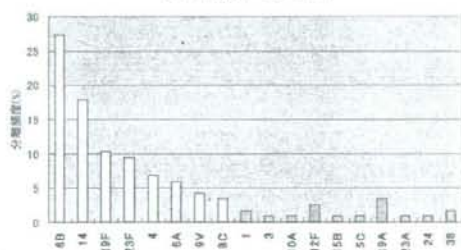
(*S. bovis* II/2)

髄液 1株

分離菌の血清型 (2007/7-2009/2, n=117症例)

PCV7カバー率 79.5% (incl. 6A, 85.5%)

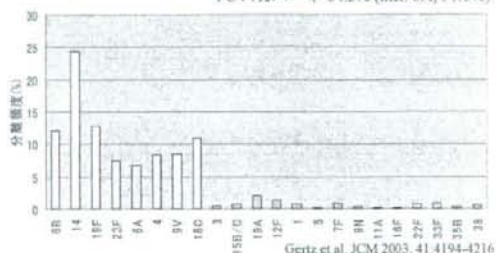
PCV13カバー率 91.5%



米国におけるコンジュゲートワクチン導入前の

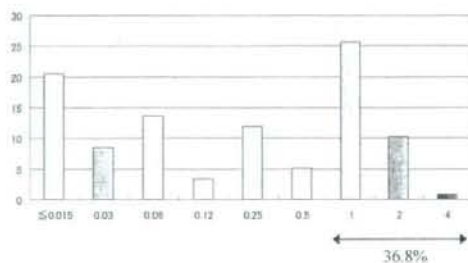
5歳未満小児侵襲性感染症由来肺炎球菌の血清型 (1999, n=855)

PCV7カバー率 84.3% (incl. 6A, 91.0%)

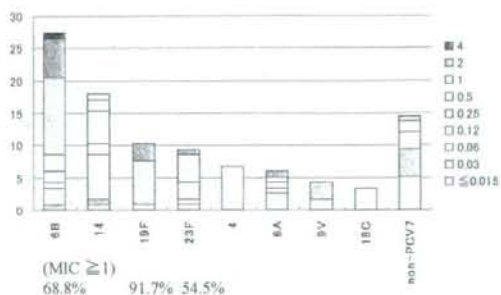


Gertz et al. JCM 2003, 41:4194-4216

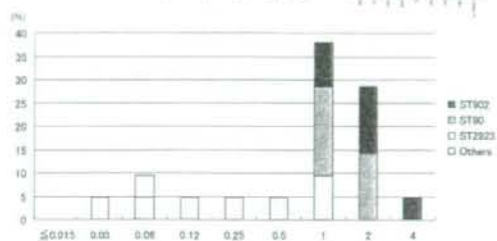
PCG MICの分布 (症例別集計)



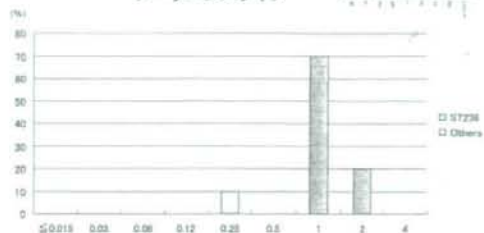
血清型別のPCG MICの分布



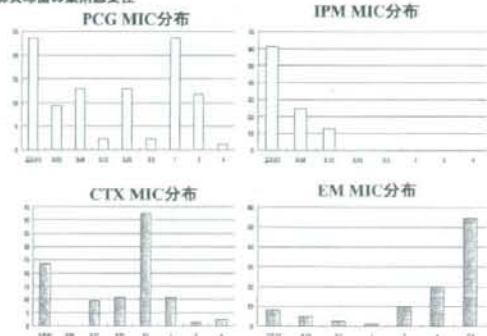
血清型6BのPCG MICと  
シーケンスタイプ



血清型19FのPCG MICと  
シーケンスタイプ



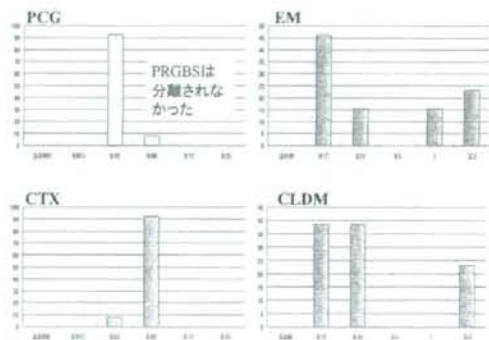
肺炎球菌の薬剤感受性



分離GBSの血清型 (13症例)

Ia	1
Ib	1
II	2
III	6
IV	1
V	1
VIII	1

GBSの薬剤感受性



まとめ

・2007年7月から2009年2月の期間に、慢性肺炎球菌感染症 (117症例)由来131株、GBS感染症(13症例)由来23株の解析を行った。

肺炎球菌 (症例別解析)

・PCV7のカバー率は79.5%, 6Aを含めると85.5%であった。

・PCGのMICが $\geq 1 \mu\text{g/mL}$ の菌は全体で36.8%であり、6B, 19F, 23Fからは高頻度に分離されたが(68.8%, 91.7%, 54.5%)、4, 9V, 18Cからの分離は見られなかった。

GBS

・血清型はIa (1症例), Ib, (1症例) II (2症例), III (6症例), IV (1症例), V (1症例), VIII (1症例)であった。

・PRGBSは見られなかった。



厚生労働科学研究 医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業  
ワクチンの有用性向上のためのエビデンス及び方策に関する研究

ポータルサイト“楽天 Infoseek”を利用した麻疹風疹予防接種に関する教育啓発に関して

研究分担者 岡部 信彦 (国立感染症研究所 感染症情報センター)  
研究協力者 多屋 馨子 (国立感染症研究所 感染症情報センター)  
山本 久美 (国立感染症研究所 感染症情報センター)

**研究要旨** 麻疹 Elimination に向けた活動において、地域の機運を盛り上げる「地域運動」のうち、全国的に共通して使用でき、現代の生活に欠かすことのできないツールの一つにインターネットによる情報提供が挙げられる。今回、我々は、楽天 infoseek のニュースサイト“Infoseek ニュース”において、麻疹対策の重要性と予防接種の推進に資する目的で、特集ページを2008年10月16日(木)から同年12月31日(水)まで展開し、教育啓発ツールの一つとして使用した。最終的に、特集ページにおいては合計76,924PVの閲覧数と、ページ内のアンケート調査において332の回答を得た。結果的に得られた閲覧数の日別の推移や、アイコンのクリック率等から、新しく展開したページの内容に関しては、ユーザーの興味が持続するのは、最初の3週間程度であること、ユーザーが興味を持つような誘導をFirst Viewのページの中におくこと、さらには、クリックしたくなるようなアイコンのデザインと動画等を活用した内容による情報提供がインターネットを介して情報を提供する際のポイントと考えられた。さらに、アンケート調査に関しては、接種対象者の保護者にあたる世代、特に女性からの回答が多かったことが非常に興味深い。全体的に見ても、画面をスクロールしていくことが必要なページの最下部にあるアンケート調査に回答するという行為から、麻疹対策や予防接種に対する意識が非常に高い層からの回答であった可能性があるものの、90%以上の方が身近に麻疹に罹患した人がいないと回答しており、一般の市民においては、麻疹は「知らない」病気であり、麻疹に対する正しい情報を伝えていく必要性はますます高まるものと考えられた。インターネットを介した情報提供は、現代社会において欠かせないものであり、その中で、ポータルサイトを使用した情報提供・誘導は、専門的な分野にしなければ到達が難しいと考えられるホームページに対しても、一般市民からのアクセスを容易にする、また、それら市民の誘導を図る、という観点から大きな可能性を秘めていると考えられた。

#### A. 研究目的

2012年麻疹 Elimination を目標とした「麻疹に関する特定感染症予防指針」においては、予防接種率の向上と維持、全数報告を基準とするサーベイランス体制の確保、迅速な集団発生対応の3つの柱からなる「地域活動計画」と、地域における機運の盛り上げに関わる「地域運動」の二つが非常に重要な核となってい

る。後者の地域運動においては、地域の実情に合わせて、地域住民が最も盛り上がることのできる方法を模索し、実施することが望まれるが、全国的に共通して使用でき、現代の生活に欠かすことのできないツールの一つにインターネットによる情報提供が挙げられる。

今回、我々は、楽天 infoseek の協力を得て、そのニュースサイト“Infoseek ニュース”に

において、麻疹対策と予防接種の重要性に関わる情報提供を行い、全国的な麻疹対策の推進に資する目的で、特集ページを展開し、教育啓発ツールの一つとして使用した。

楽天は、1997年2月設立、インターネットを通じて各種事業を展開する株式会社であり、2008年9月現在、楽天グループの会員と言われる一般利用者は4600万人を超える。そのうち、楽天 Infoseek は、インターネット上でのニュース配信等を中心としたポータルサイトで、2008年8月現在、閲覧数(何回そのページが表示されたか、Page View: PV)350万/日、ユーザー数(何人のひとがサイトを訪れたか、Unique User: UU)31万/日を記録し、ニュースサイトとしては、Yahoo!グループの運営するポータルサイト Yahoo! Japan に続き、国内で第2位の使用状況を記録している。また、Infoseek ニュースのユーザーは、女性51.7%、男性48.3%で、ニュースサイトとしては女性の割合が多く、その中でも、特に30代40代が多いのが特徴とされている。

今回は、我々が楽天 Infoseek の協力の下、展開することができた麻疹と麻疹風疹予防接種に関わる特集ページの閲覧状況と、特集ページ内で展開したアンケート調査内容に関して報告する。

## B. 研究方法

楽天 Infoseek(<http://www.infoseek.co.jp/>) の Infoseek ニュース (<http://news.www.infoseek.co.jp/>) のサイトにおいて、2008年10月16日(木)から同年12月31日(水)までに特集ページを展開した。特集ページの内容は以下の通りであった。

- 図1で示す Infoseek ニュースの①の部分から、「公共機関からのお知らせ」として誘導を図った。
- ①をクリックすると図2に示す特集ページが展開するものとした。

- 特集ページには、「中学1年生、高校3年生、保護者の皆様へ」として、麻疹風疹予防接種に関する情報と、患者発生状況、予防接種の重要性等を記載した内容とともに、ユーザーに対するアンケート調査を実施し、②から⑥で示されるアイコンから各ページ及びサイトへの誘導を図った。

- 展開初日10月16日(木)は、時間を限定して、楽天 Infoseek トップページ、及び、ニューストピックスの最上部に誘導を図るための見出しを掲載した。

アンケート調査の内容は、図4に示すものとし、回答は完全なボランティア制とした。

(倫理面への配慮について)

今回の試みは、個人情報扱わないため、倫理委員会等による承認を必要とするものではない。

## C. 研究結果

10月16日(木)から12月31日(水)までの11週間、特集ページにおいては、合計76,924PVの閲覧数と、332のアンケート回答数を得た。

(閲覧状況について)

特集ページの日別の閲覧数では、初日の10月16日(木)が38,502PVと最も多く、翌日が3,774PVと続き、平均では999PV/日であった。その推移を図5に示す。閲覧数は、展開初日から11月に入るころまでは、週の始まりである月曜と火曜が多い状態で徐々に減少していき、11月に入り、下旬までは400PV前後で推移したが、それ以降、土日に少なく平日に多いという傾向を取りながら徐々に減少し、最も少なかったのは最終日の12月31日(水)の56PVであった。特集ページの中には、各種の誘導を図るアイコンを5つ設定したが、その中で最もクリック数が多かったのが、②の Kiroro による啓発CM動画への誘導であり、合計1890のクリック数で、PVに対してクリ



ックされた割合(ページを閲覧するごとにどのぐらいの割合でクリックされたか:クリック率)で示すと3.73%であった。そのほか、当情報センターの麻疹特集ページへの誘導アイコンのクリック数(クリック率)は、③教育啓発用DVDへの誘導234(0.35%)、④最上部にある当情報センター麻疹ページへの誘導398(0.79%)、⑤本文中の当情報センター麻疹ページへの誘導694(1.14%)、⑥最下部にある当情報センター麻疹ページへの誘導261(0.58%)であった。

〈アンケート調査回答について〉

332名のアンケート調査回答では、年齢中央値39歳(0-79歳)、男性105名(既婚64名、未婚41名)、女性227名(既婚162名、未婚65名)で、既婚女性が全体の48.8%を占めた。男女別の年齢内訳を図6に示した。30代40代の女性が全体の53.9%を占めていた。麻疹に罹患したことのある家族あるいは知人の有無に関しては、307人(92.7%)が「いない」と回答し、「知人がかかった」9名、「家族がかかった」5名、「自分がかかった」4名、「わからない」7名であった。麻疹の予防接種について、理解できたかどうかに関しては、「とても良く理解できた」172名、「まあ理解できた」137名、「どちらとも言えない」14名、「あまり理解できなかった」4名、「全く理解できなかった」5名で、理解できたと回答したものが全体の90.0%を占めた。家族の中に対象者がいるか、あるいは回答者自身は対象者がどうかについては、「はい(家族に対象者がいる/回答者が対象者である)」128名、「いいえ(家族に対象者がいない/回答者は対象者ではない)」204名であった。麻疹の予防接種を受けよう/受けさせようと思ったかどうかについては、「すでに受けた/受けさせた」145名、「これから受けよう/受けさせようと思った」128名、「どちらとも言えない」33名、「思わない」26名という結果であった。図7に、対象者が

家族にいるかどうか、あるいは、回答者自身が対象者であるかどうか別に、これまで、及びこれからの接種行動に関する状況をまとめた。家族に対象者がいる、あるいは、回答者自身が対象者である場合、93.8%が「すでに接種を受けた/受けさせた」あるいは「これから受けよう/受けさせようと思った」に該当した。家族に対象者がいない、あるいは、回答者自身も対象者ではない場合、接種に関して「どちらとも言えない」「(これから接種を受けよう/受けさせよう)と思わない」と回答したものが25.0%存在した。

#### D. 考察

ポータルサイトは、一般市民が情報を得る際に、今の日常生活の中では欠かすことができないものとなっている。今回の取り組みで、初日の閲覧数が非常に多かった背景には、楽天Infoseekのトップページと、ニューストビックスに見出しを掲載し、誘導を図ったことが大きな要因と考える。展開初日から2・3週目盛りまでは、純粹に特集ページに興味を持つユーザーが、種々の誘導から閲覧し、その後、11月に入り4週目以降は、特集ページの内容に関わる必要のある、定着したユーザーが閲覧していたことで、一定の閲覧数が確保されていたものとする。楽天Infoseekにおいては、平日の特に昼の時間帯にInfoseekニュースを閲覧するユーザーが多いことが、同社ユーザーの特徴の一つとしてわかっており、その後の閲覧数は、楽天Infoseekのユーザーそのものが持つ曜日の変動を持ちながらも徐々に減少している。このことから、高い閲覧数を確保するためには、3週目、少なくとも4週目までには内容を更新し、新鮮味を保たせる必要があると考える。さらに、最初に開く画面で見られる範囲(First View)に、ユーザーにとって興味を引くような誘導を図るための見出しを置くことも非常に重要であるとする。



特集ページの中で、最もクリック率が良かったのが、Kiroroによる啓発用のCMであるが、googleの広告基準によると、クリック率の平均値は0.5%とされており、それと比較しても、非常に高いクリック率であったと言える。これに関しては、やはりFirst Viewで見られる範囲に、ユーザーがクリックしたくなるようなアイコンをデザインし、しかも簡単に楽しめる動画での提供であったことが大きなポイントだったと考える。このFirst Viewの効果に関しては、特集ページの中で、当情報センターホームページへの誘導を図るアイコンの中でも、First Viewで見られると考えられる範囲にあるアイコンのクリック率の方がより高いことから明確である。

インターネット上で新しく展開したページに関しては、ユーザーが興味を持つような誘導をFirst Viewのページの中におくこと、ユーザーの興味が持続するのは、最初の3週間程度であること、さらには、クリックしたくなるようなアイコンのデザインと動画等を活用した簡単に楽しめる内容による情報提供が、インターネットを介して情報を提供する際のポイントと言えるかもしれない。

アンケート調査に関しては、楽天Infoseekユーザーの年齢層からの影響も考えられるものの、接種対象者の保護者にあたる世代、特に女性からの回答が多かったことが非常に興味深いと考えられる。全体的に見ても、画面をスクロールしていくことが必要なページの最下部にあるアンケート調査に回答するという行為から、回答者は、麻疹対策や予防接種に対する考え方において、非常に意識の高い層であった可能性がある。アンケート調査に回答した人のうち、90%以上の人で、身近に麻疹に罹患した人がいないと回答したということから、一般の市民においては、麻疹は「知らない」「見たことがない」病気であり、今後、接種率の上昇とともに発生数が減少すれば、

さらに“知らない病気”としての認識が高くなることが予想される。一般市民にアクセスが容易な方法で、麻疹に対する正しい情報を伝えていく必要性が、今後、ますます高まるものとする。

本来であれば、「これから接種を受けよう/受けさせようと思った」と答えた人たちが、そのあと本当に接種を受けたのかどうかや、「すでに受けた/受けさせた」と答えた人たちにおいて、1回の接種であるのか、2回の接種が済んでいるのか等の評価を実施することが望ましいと考えるが、一方向の情報提供であるポータルサイトの特集ページに展開したアンケート調査では限界があることが予想される。さらに、インターネットを介したアンケート調査においては、通常の質問票式の調査よりも、回答の質やデータの代表性に関する評価は困難であると考えられ、啓発活動としての効果に関しては、その他のStudy Designで評価することが望ましいと考える。

インターネットを介した情報提供は、現代社会において欠かせないものであり、その中で、ポータルサイトを使用した情報提供・誘導は、専門的な分野にいなければ到達が難しいと考えられるホームページに対しても、一般市民からのアクセスを容易にする、また、それら市民の誘導を図る、という観点から大きな可能性を秘めていると考えられる。これらを有効に活用できる可能性がある時には、積極的に検討すべき情報提供ツールの一つかもしれない。楽天InfoseekにおけるInfoseekニュースでは、今後も公共機関との連携は前向きに検討していく旨の見解をいただいている。公共機関において、有効活用できると考えられる際には、検討可能な方法の一つとしてとらえておくことができると考える。

最後に、特集ページ掲載にご尽力いただいた楽天Infoseek、Infoseekニュースのスタッフの方々に厚く御礼を申し上げます。

## E. 結論

楽天 infoseek のニュースサイト“Infoseek ニュース”において、麻疹対策の重要性を伝え、麻疹風疹予防接種の推進に資する目的で、特集ページを2008年10月16日(木)から同年12月31日(水)まで展開し、教育啓発ツールの一つとして使用した。インターネットを介した情報提供は、現代社会において欠かせないものであり、その中で、ポータルサイトを使用した情報提供・誘導は、専門的な分野にいたなければ到達が難しいと考えられるホームページに対しても、一般市民からのアクセスを容易にする、また、それら市民の誘導を図る、という観点から大きな可能性を秘めていると考える。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表（著書を含む）

なし

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

図1: Infoseek ニュースのページからの誘導

①: 特集ページへの誘導アイコン

\*: 展開初日 10月16日(木)11:30-翌17日(金)10:00に掲載されたトピックスからの誘導

The screenshot shows the Infoseek News website interface. At the top, there is a header with the site name and navigation links. Below the header is a main banner for 'K-BO-BO-プロジェクト' (K-BO-BO Project) with the subtitle 'メンバーの顔面に覚化がー' (Members' faces are shocked). The main content area is divided into several sections: '最新トピックス' (Latest Topics), 'バックグラウンド' (Background), '写真特集' (Photo Special), '特別企画' (Special Project), 'インタビュー' (Interview), 'コラム' (Column), 'ニュース' (News), 'イベント' (Event), 'プロフィール' (Profile), and 'お問い合わせ' (Contact Us). A red circle labeled '①' highlights a navigation icon in the '特別企画' section. On the right side, there are several promotional banners for 'TASTY DISCAS', 'スプレッド 10000', and 'チャリティオークション' (Charity Auction). The bottom of the page contains footer information, including the site's address and contact details.



図2：特集ページ、②：Kiroroによる麻疹風疹予防接種啓発CMへの誘導アイコン、③：感染症情報センター提供の教育啓発ビデオ“はしかから身を守るために”への誘導アイコン、④～⑥：国立感染症研究所感染症情報センター麻疹ページへの誘導アイコン

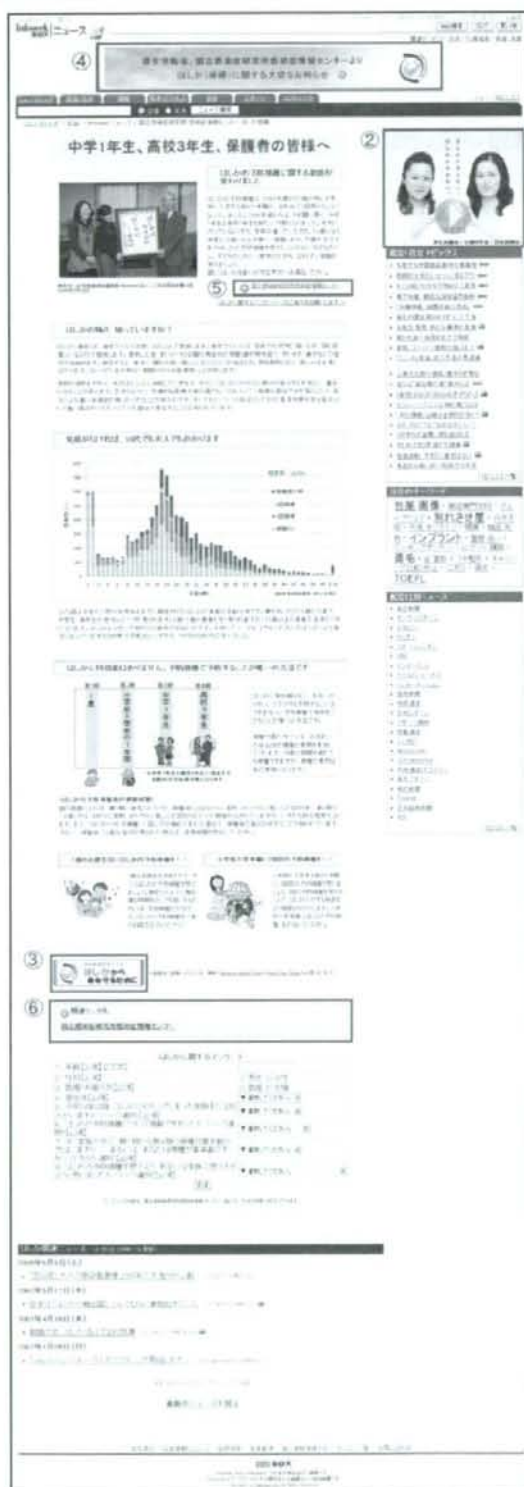


図3：楽天 Infoseek トップページへの掲載

展開初日 10月16日(木)12:40-14:30に掲載されたトップページからの誘導



図4：ユーザー向けのアンケート調査項目

1. 年齢【必須】【2文字】	<input type="text"/>
2. 性別【必須】	<input type="radio"/> 男性 <input type="radio"/> 女性
3. 既婚・未婚の別【必須】	<input type="radio"/> 既婚 <input type="radio"/> 未婚
4. 居住地【必須】	▼選択してください。
5. はしかにかかってしまった家族または知人がいますか?(一つ選択)【必須】	▼選択してください。
6. はしかの予防接種について理解できましたか?(一つ選択)【必須】	▼選択してください。
7. 家族の中に、第1期から第4期の接種対象年齢の方はいますか? あるいは、あなたは接種対象年齢ですか?(どちらか選択)【必須】	▼選択してください。
8. はしかの予防接種を受けよう、あるいは家族に受けさせようと思いませんか?(一つ選択)【必須】	▼選択してください。
<input type="button" value="送信"/>	

図5：特集ページ閲覧数の日別推移(合計 76,924PV)

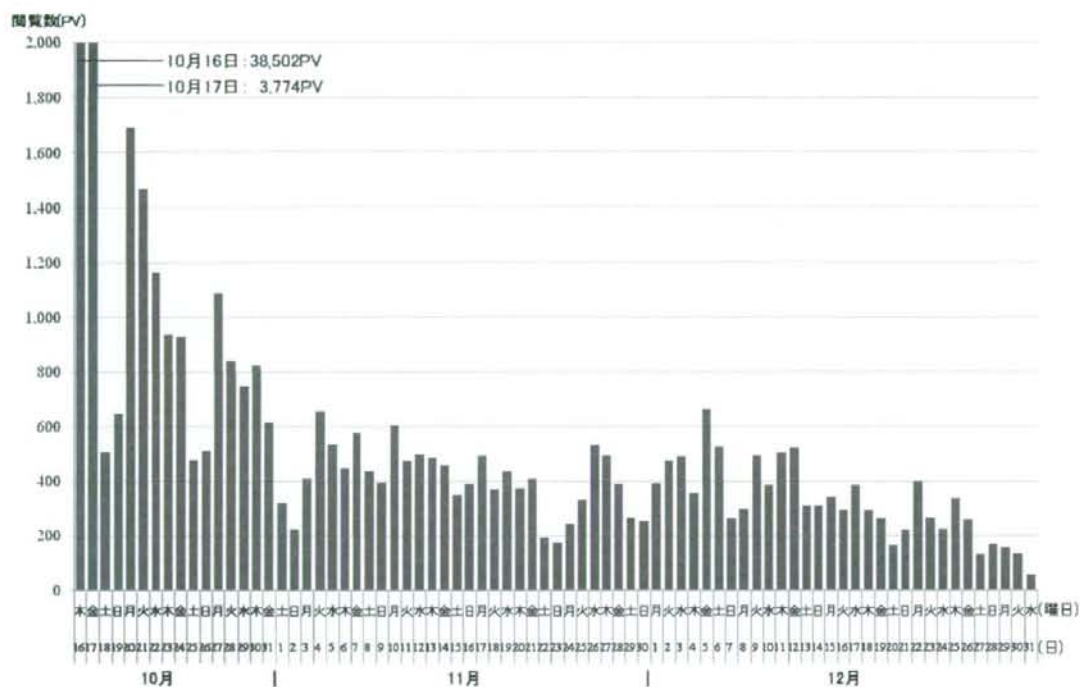


図6：アンケート調査回答者 男女別年齢群 (n=330、無効回答2を除く)

