

## B. 研究方法

### 1) クリミア・コンゴ出血熱の流行の解析.

ProMed より配信されるメッセージに「Crimean」と「Congo」というキーワードが含まれる記事を詳細に検討し、世界で発生しているクリミア・コンゴ出血熱の流行の特徴をまとめた。

### 2) クリミア・コンゴ出血熱(疑い例を含む)の診断と治療マニュアルの作成.

クリミア・コンゴ出血熱の感染リスク、流行地の分布、学術誌から得られたクリミア・コンゴ出血熱の治療に関する成績、等を踏まえて、臨床医にとりわかりやすいクリミア・コンゴ出血熱の診断と治療マニュアルを作成した。

(倫理面からの配慮について)

特記事項なし。

## C. 研究結果

### 1) ProMed 情報から解析するクリミア・コンゴ出血熱の流行.

ProMed より配信されるメッセージに「Crimean」と「Congo」というキーワードが含まれる記事を検索したところ、約 250 の記事が得られた。これらの記事の内容を確認して、それぞれの記事から世界各国で発生しているクリミア・コンゴ出血熱の流行状況をまとめると、以下のような特徴が明らかとなった。

- 流行地. アフガニスタン, ジョージア, イラン, イラク, カザフスタン,

パキスタン, ロシア (南部), タジキスタン, ギリシャ, トルコ, アラブ首長国連邦, セルビア/ユーゴスラビア, モーリタニア, ナミビア, 南アフリカ

- クリミア・コンゴ出血熱の流行期. それぞれの地域での流行期は特異的ではあるが, ロシア南部, 中央アジア, 中近東では総じて 3 月~6 月に流行する. パキスタンで, 9 月~11 月に流行した事例が 1 事例報告されているのみであった。

- ヒトへの感染経路. ダニを介して感染する患者が多い有効では比較的大規模で, それに対して家畜の屠殺や皮革加工の作業を介して感染する場合の流行は比較的小規模である。

- 院内感染報告. 院内感染報告はそれほど多いものではないが, トルコ国内で発生したクリミア・コンゴ出血熱の院内感染事例がはじめて報告された。

- トルコでのクリミア・コンゴ出血熱の流行. 2001 年にトルコにおけるクリミア・コンゴ出血熱患者発生が初めて確認されて以来, 2009 年 12 月現在千名以上の患者が報告されている。

- 輸入感染事例. 検索期間において, 3 事例のクリミア・コンゴ出血熱輸入例が報告された (表 1)。

### 2) クリミア・コンゴ出血熱の診断と治療マニュアル.

海外からの帰国者で, 発熱や出血熱症状を呈している患者が発生した場合に, 臨床現場の医師にとり, クリミア・コンゴ出血熱の鑑別診断が必要であるか否か, 必要な場合にはどのように対

応したらよいのか、といった基本的な対応法が分りやすく解説されているマニュアルを作成した（図 1）。本マニュアルにおいては、ウイルス性出血熱の診断を要するか否かを判定する方法、診断が必要な場合にはどこにどのような検体を送付すべきなのか、診断法の基礎、治療法等がわかりやすく記載されている。

#### D. 考察

国際交流の高まっている今日、我が国においても輸入感染症としてのウイルス性出血熱が含まれる 1 類感染症患者が発生する可能性があり、ウイルス性出血熱の鑑別診断を要する場合も想定される。実際、国立感染症研究所ウイルス第 1 部では、年間平均すると 3～4 件のウイルス性出血熱の診断依頼を受け付けている（未発表成績）。

一方、臨床現場では海外からの帰国者が発熱や出血熱を疑わせる症状を呈した場合に、どのような対応をしたらよいのかが理解されていないことが多く、混乱をきたす。海外からの帰国者の、1 類感染症を含む感染症の病原診断に対して、どのような対応が臨床医にとって求められるかを適切に紹介することは、現場での混乱を最小限にすることに貢献する。

ProMed 情報をもとに、世界各国におけるクリミア・コンゴ出血熱の流行状況について解析した。ProMed 情報によるクリミア・コンゴ出血熱の流行の解析した成績は、教科書等に記載されているものよりも、より実際の流行を表しているものと考えられる。ただ、

中国西部の新疆ウイグル自治区でクリミア・コンゴ出血熱の流行が確認されているにもかかわらず、それらの情報が ProMed 情報に含まれていないのは、今回の手法による調査は不完全なものであることを示唆している。しかし、ProMed 情報に基づくクリミア・コンゴ出血熱の各地におけるクリミア・コンゴ出血熱の流行の特徴は、クリミア・コンゴ出血熱の流行の特徴を表しているものと考えられる。

本研究では、臨床医にとって理解しやすいように工夫して、クリミア・コンゴ出血熱の診断と治療のためのマニュアルを作成した。クリミア・コンゴ出血熱の鑑別診断を必要とする事例、検査を実施する場合の詳細、治療法、等について記載されている。今後、本マニュアルが広く配付されたり、国立国際医療センターや国立感染症研究所のホームページ等で公開されたりすることが必要である。ウイルス性出血熱疑い患者が発生した場合に、臨床現場で適切な対応がとられることが期待される。

#### E. 結論

ProMed ウェブサイトから配信されるクリミア・コンゴ出血熱の情報に基づき、世界各国で流行しているクリミア・コンゴ出血熱の特徴を解析した。クリミア・コンゴ出血熱の診断と治療のマニュアルを作成した。

#### F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Iizuka, I., Saijo, M., Shiota, T., Ami, Y., Suzaki, Y., Nagata, N., Hasegawa, H., Sakai, K., Fukushi, S., Mizutani, T., Ogawa, M., Nakauchi, M., Kurane, I., Mizuguchi, M., Morikawa, S.:  
Loop-mediated isothermal amplification-based diagnostic assay for monkeypox virus infections.  
Journal of Medical Virology  
80:1102-1108, 2009
- 2) Saijo, M., Ami, Y., Suzaki, Y., Nagata, N., Iwata, N., Hasegawa, H., Iizuka, I., Shiota, T., Sakai, K., Ogata, M., Fukushi, S., Mizutani, T., Sata, T., Kurata, T., Kurane, I., Morikawa, S.:  
Virulence and pathophysiology of the Congo Basin and West African strains of monkeypox virus in nonhuman primates.  
Journal of General Virology  
90:2266-2271, 2009
- 3) Nakauchi, M., Fukushi, S., Saijo, M., Mizutani, T., Ure, A.E., Romonowski, V., Kurane, I., Morikawa S.:  
Characterization of monoclonal antibodies to Junin virus nucleocapsid protein and application to the diagnosis of hemorrhagic fever caused by South American arenaviruses.  
Clinical and Vaccine Immunology  
16:1132-1138, 2009
- 4) Saijo, M.: Emerging and re-emerging infection threats to society. Journal of Disaster Research 4:291-297, 2009
- 5) Saijo, M., Morikawa, S., Kurane, I.: Diagnostic systems for viral hemorrhagic fevers and emerging viral infections prepared in the National Institute of Infectious Diseases.  
Journal of Disaster Research 4:315-321, 2009
- 6) Morimoto, K., Saijo, M.: Imported rabies cases and preparedness for rabies in Japan. Journal of Disaster Research 4:346-357, 2009
- 7) Yagi, T., Hattori, H., Ohira, M., Nakamichi, K., Takayama-Ito, M., Saijo, M., Shimizu, T., Ito, D., Takahashi, K., Suzuki, N.: Progressive multifocal leukoencephalopathy developed in incomplete Heerfordt syndrome, a rare manifestation of sarcoidosis, without steroid therapy responding to cidofovir. Clinical Neurology and Neurosurgery (in press)

### 2. 学会発表

- 1) 塩田智之、森川茂、飯塚愛恵、倉根一郎、西條政幸: 293T細胞を用いたHSV-1組換えチミジンリン酸化酵素の発現と薬剤感受性試験への応用. 第19回日本抗ウイルス療法研究会, 東京 (2009. 6)
- 2) Bukbuk DN, Saijo M, Georges-Courbot MC, Marianneau P, George A, Shuetsu F,

- Mizutani T, Kurata T, Kurane I, Morkawa S. Recombinant nucleocapsid protein-based diagnosis of and seroepidemiological study on Lassa fever. The 109th ASM General Meeting, Philadelphia, PA (2009.05)
- 3) Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata N, Hasegawa H, Ogata M, Iizuka I, Shiota T, Fukushi S, Mizutani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S. Pathology of monkeypox in nonhuman primates leading to the difference in virulence between Gongo Basin and West African strains. 43rd Annual Meeting of the US-Japan Cooperative Medical Science Program and Special Minisymposium on enterovirus 71, Philadelphia, PA (2009.07)
- 4) 西條政幸, 網至康, 須崎百合子, 永田典代, 長谷川秀樹, 新村靖彦. 横手公幸, 飯塚愛恵, 塩田智之, 佐多徹太郎, 倉田毅, 倉根一郎, 森川茂. 痘そうワクチン LC16m8およびLister株免疫時におけるIMVおよびEEV蛋白に対する抗体応答とサル痘予防効果. 第13回日本ワクチン学会学術総会, 札幌 (2009.09)
- 5) 中道一生, 伊藤陸代, 奴久妻聡一, 森本金次郎, 倉根一郎, 西條政幸. 脳脊髄液中のJCポリオーマウイルスを検出するためのリアルタイムPCR検査系の確立と進行性多巣性白質脳症 (PML) の診断支援. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009.10)
- 6) 酒井宏治, 永田典代, 岩田奈織子, 長谷川秀樹, 松井珠乃, 網康至, 平井理香, 須崎百合子, 水谷哲也, 福士秀悦, 緒方もも子. 西條政幸, 藤本嗣人, 山田靖子, 岡部信彦, 佐多徹太郎, 倉根一郎, 森川茂. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009.10)
- 7) 永田典代, 岩田奈織子, 長谷川秀樹, 西條政幸, 森川茂, 佐藤由子, 佐多徹太郎. SARS-CoV感染動物における宿主Th1/Th2バランスと重症化の関連. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009.10)
- 8) 塩田智之, 飯塚愛恵, 森川茂, 倉根一郎, 水口雅, 西條政幸. 293T細胞を用いた単純ヘルペスウイルスならびに水痘帯状疱疹ウイルス組換えチミジンリン酸化酵素の発現と薬剤感受性試験への応用. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009.10)
- 9) 森川茂, 福士秀悦, 酒井宏治, 永田典代, 長谷川秀樹, 松井珠乃, 水谷哲也, 平井理香, 網康至, 緒方もも子, 西條政幸, 山田靖子, 岡部信彦, 佐多徹太郎, 倉根一郎. カニクイザルの致死的イヌジステンパーウイルス感染事例の解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009.10)
- 10) 飯塚愛恵, 塩田智之, 西條政幸, 福士秀悦, 水谷哲也, 緒方もも子, 倉根一郎, 水口雅, 森川茂. 痘そうワクチンLC16m8株の温度感受性に関する解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009.10)

- 11) 水谷哲也, 前田健, 渡辺俊平, 久和茂, 吉川泰弘, 明石博臣, 中内美名, 酒井宏治, 福士秀悦, 緒方もも子, 西條政幸, 倉根一郎, 森川茂. ウイルスの網羅的検出法 (RDV法ver 3.1) を用いたコウモリ由来新規 $\beta$ ヘルペスウイルスの同定第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)
- 12) 中内美名, 福士秀悦, 水谷哲也, 緒方もも子, 西條政幸, 倉根一郎, Austin Ure, Victor Romanowski, 森川茂. 南米出血熱の実験室診断法の開発. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)
- 13) 中道一生, 伊藤陸代, 奴久妻聡一, 森本金次郎, 倉根一郎, 西條政幸. 定位微量投与系を用いたマウスポリオーマウイルスの脳における持続感染様式の解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)
- 14) 岩田奈織子, 永田典代, 辻隆裕, 長谷川秀樹, 佐藤由子, 横田恭子, 水谷哲也, 西條政幸, 森川茂, 佐多徹太郎. SARS-CoV感染動物モデルを用いたUV不活化SARS-CoVの免疫効果と副作用について. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)
- 15) 佐山勇輔, 福士秀悦, 斎藤麻理子, 飯塚愛恵, 水谷哲也, 緒方もも子, 西條政幸, 鈴木陽, 神垣太郎, 玉記雷太, 倉根一郎, 押谷仁, 森川茂. フィリピンのレストンエボラウイルス感染症のウイルス遺伝子解析と感染状況の実態調査. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)
- 16) 西條政幸, 網康至, 須崎百合子, 塩田智之, 飯塚愛恵, 永田典代, 岩田奈織子, 長谷川秀樹, 緒方もも子, 福士秀悦, 水谷哲也, 倉根一郎, 佐多徹太郎, 倉田毅, 森川茂. コンゴ盆地型および西アフリカ型サル痘ウイルスの臓器親和性と病原性. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 東京 (2009. 10)

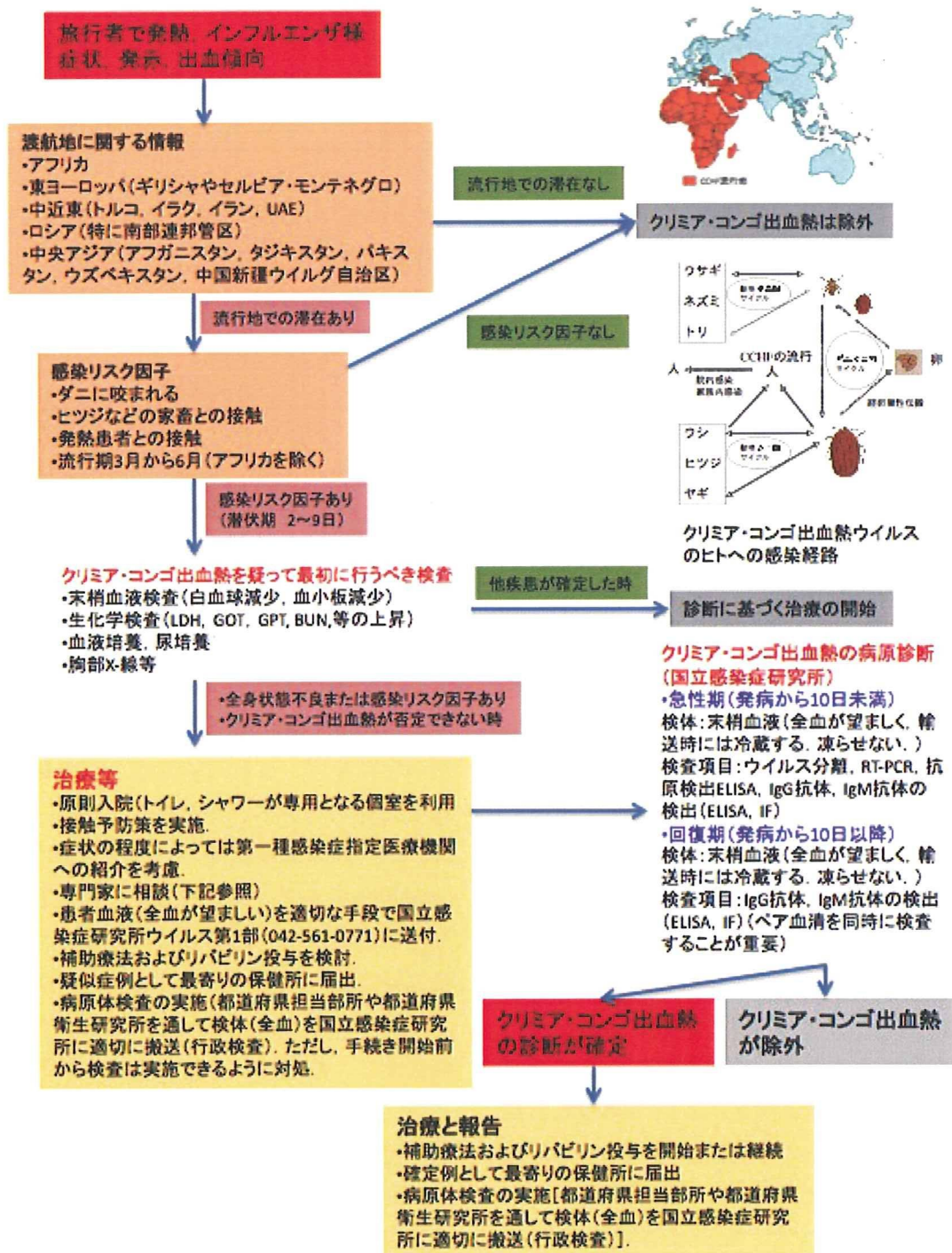
#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

表 1. ProMed 情報で確認されたクリミア・コンゴ出血熱の輸入感染例 (1995 年～2009 年)

ProMed- 番号	配信日	タイトル	感染国	輸入国	年	特記事項
19980221 .0328	1998 年 2 月 21 日	Crimean-Congo hemorrhagic fever, imported	ジンバ ブエ	イギリ ス	1997	
20041124 .3145	2004 年 11 月 24 日	Crimean-Congo hemorrhagic fever - France ex Senegal	セネガ ル	フラン ス	2004	
20091109 .3883	2009 年 11 月 9 日	Crimean-Congo hem. fever, fatal - Germany ex Afghanistan (02)	アフガ ニスタ ン	ドイツ	2009	アフガニス タンに派遣 された米国 軍人

## クリミア・コンゴ出血熱(CCHF)診断・治療アルゴリズム



### 専門家への相談

- ・最寄りの第一種感染症指定医療機関
- ・国立国際医療センター 戸山病院国際疾病センター TEL 03-3202-7181(代表)
- ・国立感染症研究所ウイルス第1部第1室 TEL 042-561-0771(代表)

平成21年度厚生労働省科学研奨補助金「我が国における一層感染症の発生防止等の取組の対応に関する研究」  
 (研究分担者:国立感染症研究所ウイルス第1部 西條敬幸)

図1. クリミア・コンゴ出血熱の診断と治療マニュアル

第一種感染症指定医療機関の情報共有システムの開発

分担研究者 泉 信有 国立国際医療センター 医長

研究協力者 玉置 俊治 りんくう総合医療センター市立泉佐野病院 副病院長兼感染症センター長

研究協力者 野口 博史 成田赤十字病院 感染症科 部長

研究要旨

第一種感染症指定医療機関の施設間に相互交換型の共同診療を可能とするネットワーク（e-medicine）を構築し、迅速な情報交換・共有化を実現する。さらに、一類感染症の侵入門戸となる国際空港の検疫所もネットワークに組み入れ、施設間のより有効な連携体制の推進を図る。また、本邦国内のみならず e-medicine を他のアジア地域へも拡大し、必要な情報の収集・発信を迅速かつ効果的に実現できる感染症ネットワークを構築する。

A. 研究目的

第一種感染症指定医療機関の情報共有システムの構築：本研究は、第一種感染症指定医療機関（以下、一種機関）間でインターネットを介したテレビ会議システム（e-medicine）によるネットワークを構築し、患者発生時の臨床的対応、症例検討、診療情報の共有を図ることを目的とする。さらに国際空港の検疫所もネットワーク内に組み入れることで、各機関がより迅速かつ有効に機能可能な医療体制の実現を目指す。

B. 研究方法

我々が開発した新たなTV会議システム（e-medicine/e-メディスン）は、インターネット回線を利用しており、設置した場所同士をネットワーク化することで、外国を含めた多地点の医療スタッフが、リアルタイムかつ同時に患者の状態を診る、あるいは病理標本やレントゲンフィルムなどの画像情報、PC上プレゼンテーションなどを共有でき、相互交換型の共同診療・研究が実現可能となる（図1）。

本 e-medicine ネットワークは、既に国立国際医療センター及びベトナム国内の研究協力先との間で、医学カンファレンス、コンサルテーション、ケーススタディー、専門家会議などに有効利用され、迅速な情報の交換・共有化が図ら

れている（厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 高病原性鳥インフルエンザの疫学臨床研究に関する研究 平成19年度研究報告書）。

本邦では、一類感染症に分類されている感染症に対して実際に診療経験を持つ医師・医療スタッフはほとんどいない。また一種機関では、エイズ拠点病院にみられるような施設間連携体制が存在せず、これらの疾患の国内発生時に情報を共有するシステムも存在しない。本研究では、国内外の医療機関の連携に有効に機能した e-medicine システムを採用し、特定感染症指定医療機関であるりんくう総合医療センター市立泉佐野病院（西日本）、成田赤十字病院（東日本）に既に同システムを設置した。さらに、国際空港は一類感染症の最大の侵入門戸となり得るが、そのうち成田国際空港と今後の国際開港が予定されている東京（羽田）空港にも同システムを設置し、ネットワーク内に組み入れた。国立国際医療センターを加えたこれらの施設間でネットワーク会議を実施することで、情報の迅速な共有化と施設間の連携体制の確立を目指したモデルを構築する。

（倫理面への配慮）

インターネットによる情報の流出、個人情報の流出に細心の注意を払いシステム設計をする。



また症例検討を行う患者については、当研究の意義について十分説明して同意を得た上で、患者が特定されないよう匿名化を行う。

### C. 研究結果

- (1) 国際空港は、国内への最大の一類感染症侵入門戸となる。そのうち成田国際空港と今後の国際開港が予定されている東京（羽田）空港にも同システムを設置し、ネットワーク内に組み入れた。
- (2) 平成 21 年 4 月、りんくう総合医療センター救命救急センターに入院した一類感染症（クリミア・コンゴ熱）疑似症例につき、本 e-medicine ネットワークを用いて、関係施設間で情報を共有。診療経験のない本感染症を対象として、連日、双方向性に診療会議を行い、診療方針の決定に役立てるとともに、同感染症の疑似診療を共有した。
- (3) 新型インフルエンザの世界的大流行を踏まえ、オーストラリアのシドニー大学、ベトナムのバクマイ病院、国立国際医療センターとりんくう総合医療センターがネットワークを通じ臨床・疫学情報を交換した（平成 21 年 8 月 25 日）。
- (4) 特定感染症指定医療機関 3 施設（国立国際医療センター、りんくう総合医療センター市立泉佐野病院、成田赤十字病院）と国際空港検疫所 2 施設（成田空港検疫所、東京空港検疫支所）の 5 地点を同時にネットワークで結び、多地点臨床症例検討を実施した（平成 22 年 3 月 10 日）（図 2）。題材として、平成 22 年 1 月に、成田空港検疫所で診断され、成田赤十字病院に搬送のうえ治療が行われた重症マラリアの症例を採用した。

この他、一類感染症罹患疑似患者を含めた症例の検討や診療、コンサルテーションはもちろんのこと、日常的に研究の打ち合わせ会議、専門家会議などにも、本システムを使用している。

### D. 考察

現在、一類感染症の疑い患者を含む渡航者感染症の診療において、施設間の診療会議に実運用されており、本研究の目的、すなわち第一種感染症指定医療機関の間に e-medicine を活用した情報共有システムを構築し、迅速な情報の共有化と国内の医療機関の連携体制を確立するとした研究目的の初期段階を実現できたと考える。具体的には、本情報共有システムを用いることで、各診療機関担当者が診療の場から離れずに、情報を共有し合い、診療困難な症例について専門家同士の協議を元に診療が行えるため、非常に有用であった。また、一類感染症の診療上の問題点が明らかにされ、今後の改善につながる成果があったと考える。また、このシステムを利用することで、ベトナムに加えオーストラリアのシドニー大学を含む多地点間の会議を実現し、アジア感染症ネットワークの輪を拡げることができた。

さらに特筆されるべき成果として、このネットワークシステムに検疫所 2 施設が加わった。検疫所において、一類感染症の（疑似）症例が発生した際に、いかに疑って診断し、どのようにして指定病院に搬送するかは重要な課題である。これを検疫所同士の横の繋がり、あるいは病院側（複数）と情報を共有することで、業務をより迅速かつ適切に実施できる、ひいては病院診療の開始前から各機関がより有効に機能できる医療体制を実現でき、本邦の公衆衛生対策の向上に繋がるものと考えられる。

一類感染症はほとんど国内で経験のない感染症であり、このようなテレビ会議システムを全国の第一種感染症指定医療機関に拡げることにより、同医療機関の医師、医療スタッフが情報を共有し国内発生時に備えることができる。また、一類感染症のみならず、新型インフルエンザやバイオテロなど、感染症指定医療機関が対応すべき危機的状況において迅速に情報を共有し、対策について討議できるシステムを構築す

ることは、これらの状況下でスタッフが一堂に会することは不可能と考えられるだけに、非常に有用かつ必須と考えられる。

### E. 結論

国内第一種感染症指定医療機関および検疫所、さらに海外の病院との e-medicine を用いたネットワークシステムは、それぞれの医療機関が情報を共有し、我が国における一類感染症発生時の臨床的対応を改善させる上できわめて有用なシステムと考えられる。

### F. 健康危険情報

該当なし

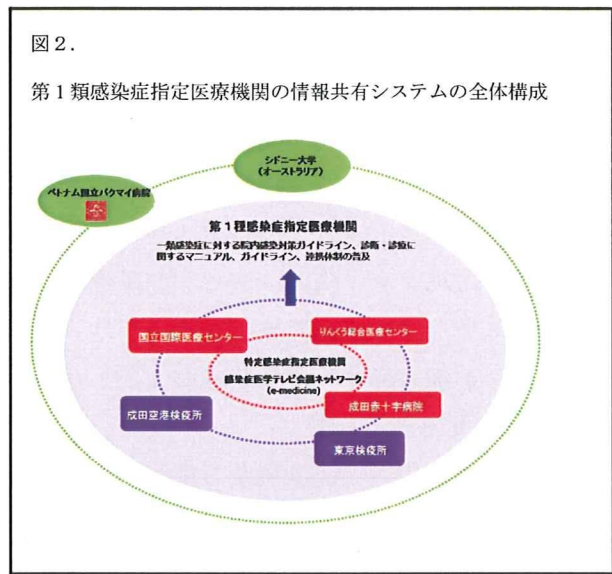
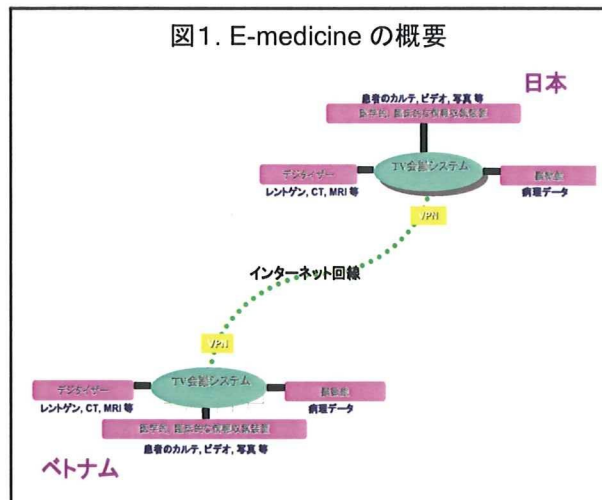
### G. 研究発表

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

(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



一類感染症等の広域連携モデルの構築

分担研究者 高崎 仁 国立国際医療センター 国際疾病センター

研究要旨

一類感染症（疑似症を含む）の患者が国内で発生した際、関係部署間の連携に関する具体的な行動計画が作成されていないため、大きな混乱を生じることが懸念される。2009年4月末の新型インフルエンザ発生以降、保健所、消防、医師会、薬剤師会、病院などが一体となって当該地域で完結できる連携体制の整備を整えた。一類感染症の場合、インフルエンザとは患者数、死亡率ともに大きく異なり、インフルエンザ対策とは異なる枠組みが必要である。一類感染症の患者発生時の連携モデルの構築を目指す。

A. 研究目的

2002-3 年の重症急性呼吸器症候群 (SARS) のように、感染性、死亡率ともに高い新興再興感染症の輸入例は突如として日本のあらゆる地域で脅威となりうる。同様に、ウイルス性出血熱をはじめとした一類感染症の致死率は非常に高いが、原則的に輸入例であり、実際には昭和 62 年のラッサ熱一例のみである。これらの疑似症として、同レベルの初期対応を要する熱帯病の報告も稀である。したがって、このような稀な一類感染症に特化した対策というのは合理的でない。また、一類感染症に含まれるウイルス性出血熱の診断には、同時に熱帯熱マラリアを含む他の重要な熱帯感染症の鑑別診断を必要とするため、疑似症の段階で経過を問わず各種輸入感染症を想定した総合感染症対策を基盤とすべきである。本研究の目的は以下のごとく要約される。

- (1) 一類感染症の国内患者発生時に備えた体制を確立する。
- (2) 具体的には、自治体、保健所ならびに消防・警察・病院・医師会等の関係機関における地域連携モデルをベースに、疑似症の段階での患者搬送システムの整備を含めた広域連携モデルを構築することである (図 1)。
- (3) 結果として、患者発生時の混乱を防ぎ、接触者からの発病に対しても迅速に対応できることが期待される。
- (4) 研究成果を広く公表し、他の地域における一類感染症患者発生時の対応が安全かつ混乱なく実践され、アウトブレイクを最小限に食い止めることに貢献できると期待する。

B. 研究方法

2009 年 4 月末以降の新型インフルエンザパンデミックに対する地方自治体レベルでの取り組みは、一類感染症発生時の地域レベルでの連携モデルの雛形として応用できる (図 1)。ただし、一類感染症の場合、第一種感染症指定医療機関までの搬送を含めたより広域連携モデルの構築が必要となる (図 1)。そこで、今年度は主に、以下の点について重点的に考察した。

- 1) 患者発生から疑似症もしくは確定に至るまでの患者動線に関する考察
- 2) 第一種指定医療機関の在り方
- 3) 第一種感染症指定医療機関までの患者搬送システムに関する考察

(倫理面への配慮)

患者情報等を直接取り扱う研究ではないため、特記すべきことなし。

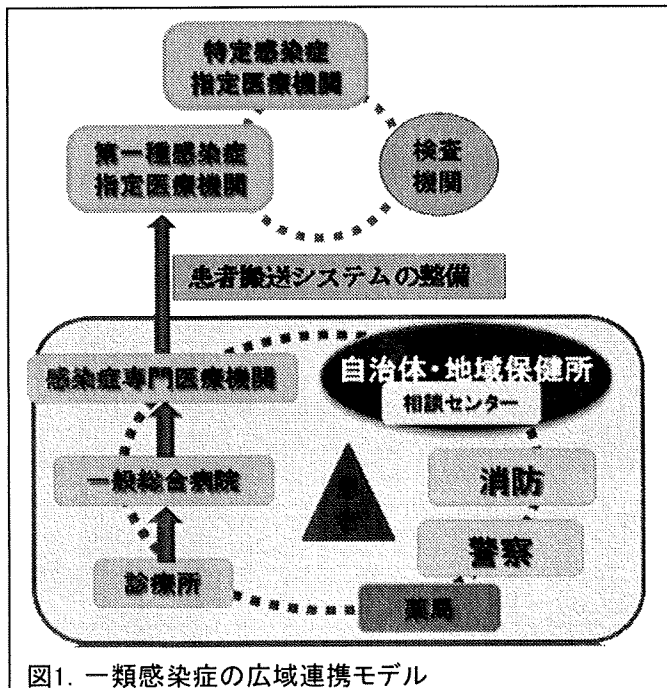


図1. 一類感染症の広域連携モデル

## C. 研究結果

### 1) 患者発生から疑似症もしくは確定に至るまでの患者動線

多くの患者は検疫所で捕捉されると思われるが、過去の欧州の事例のように、検疫を特に症状なく通過し、後に発症するケースも想定される。それでも多くの場合、発熱を有する海外からの帰国者の診療にあたるのは、地域レベルでも比較的限られた医療機関であり、有症状者がしっかりと渡航歴を伝えれば、ある程度専門知識を有する医療機関へ紹介されると想定される。しかし、熱帯熱マラリアの診断が一日の単位で遅れたために脳マラリア、多臓器不全にまで進展した症例などを考えると、すべての医療従事者が一類感染症の疑似患者を速やかに専門医療機関に搬送できるとは限らない。

### 2) 第一種指定医療機関の在り方

現時点で、特定感染症指定医療機関が3施設、第一種指定医療機関が32施設存在し、すべての都道府県にあるわけではないが、各施設ともかなりタイトに施設基準をクリアしている。このうち、我々は、北海道の市立札幌病院、京都の京都府立医科大学付属病院、兵庫県の神戸市立医療センター中央市民病院の3施設を視察した。

いずれの病院も共通して、先の新型インフルエンザ (pandemic 2009 A/H1N1) パンデミックに際しては、隔離入院受け入れ時にその医療圏で中心的役割を果たした。北海道、兵庫県では、一般救急におけるインフルエンザ診療の最前線を担ったが、京都府では、京都市民病院が中心的役割を果たした。一類感染症診療においては、いずれの病院も疑似症を含め全く診療経験がなく、マラリア・デング熱等の熱帯感染症の診療実績に関しては、やはり京都以外では医療圏内で中心的役割をはたしている。いずれの施設も感染管理看護師が専属で配置されているが、京都府以外では、いずれも感染症科医師は他科との併任であり、専任医師はいない。

共通した問題点としては、人工呼吸器や透析を要するようなICUレベルの全身管理を要する重症患者が入院した際、スタッフのマンパワー、技術・経験から感染症病棟で診療を行うことは困難であるとのことである。

### 3) 第一種感染症指定医療機関までの患者搬送システム

新型インフルエンザ診療の初期でも、帰国者の発熱で発熱相談センターより連絡を受けた疑似症患者が指定医療機関を受診する際、その搬送手段は自家用車かタクシーであった。一類感染症の患者(疑似症を含む)の搬送手段は、各自治体に委ねられているが、搬送車内での感染防護と緊急性、重症患者の全身管理のいずれの面からも充足する搬送手段を確保するのは困難である。そこで、我々は、Japan Disaster Medical Assistance Team (DMAT) に一類感染症確定もしくは疑似症患者の搬送に協力いただける可能性を検討し、次年度から

研究に参加していただく。また、疑似患者発生から患者を適切な医療施設に搬送し、診断・治療を受けるにあたって、公的機関である保健所の役割も重要である。次年度は、新型インフルエンザや結核などにおいて、既に我々が強固に連携を構築している新宿保健所との連携を基盤に、保健所と医療機関の連携の在り方についても検討を行う。

## D. 考察

2001年の米国炭疽菌バイオテロリズム、2002/03年のSARS等の経験から、一類感染症に限らず、一瞬にして人々の生命および社会経済を脅かす重要な新興再興感染症に対する関心が高まっている。新型インフルエンザ対策に関しては、折しも2009年4月末より日本を含む世界中で流行し、各自治体が主導で保健所、三師会、医療機関、警察、消防の代表等の関係部署が一同に会し、急速に地域レベルでの医療体制が整備された。しかしながら、一類感染症やバイオテロ等に関しては、当該地域で壊滅的なダメージを与えるリスクを孕む一方、地域限定的で発生率が極端に低いと予想されるためか、実際の患者発生時の対応は不十分といえる。個々の病原体・病態により具体的な対策法は異なるが、緊急事態における各部署間の連携が円滑に進むことは非常に重要であり、新型インフルエンザ対策における地域連携システムは、広く新興再興感染症対策に応用できると考えられる。しかしながら、一類感染症(疑似症を含む)対策においては、指定医療機関が必ずしも各自治体に存在するわけではなく、より広域の連携モデルの構築を要する。その際、重症患者の搬送方法に関する検討も必要である。

また、指定医療機関においては、ICUレベルの集中治療を実際に感染症病棟で行うことができるかについて、感染防護を念頭に置いた感染症病棟のハード面をクリアする一方で、スタッフのマンパワー、技術、経験について不安を抱えているのも事実である。

一類感染症を含む、新興・再興感染症の発生時の地域での、対応、連携の必要性が認識されつつあるが、具体的行動については不十分である。また、各機関の役割分担等についてもコンセンサスが必要である。今後、診断マニュアル、プライマリケアでの感染予防策の普及、情報の共有、患者の搬送訓練などを含め、今後検討され、実施されなければならないと思われる。

## E. 結論

一類感染症をはじめとする新興再興感染症に対する包括的な広域連携システムの構築を目指す。

## F. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

G. 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

# 平成21年度新宿区救急業務連絡協議会総会

開催日時：平成21年10月23日（金）

開催時間：17時30分から21時00分

開催場所：国立国際医療センター戸山病院

「国立医療協力研修センター5階 大会議室」

## —— プログラム ——

1 司会 国立国際医療センター緊急部長 木村昭夫 先生

	演 題 等	担 当	時 間	講師名等
1	開 会	慶應義塾大学病院	10分	堀 進吾 先生
2	「新型インフルエンザの 病態について（概論と対策）」  (質疑応答)	国立国際医療センター 呼吸器科医師	1時間 30分	高崎 仁 先生
3	休 憩		10分	
4	「インフルエンザ・パンデミックと 診療体制（地域医療連携の重要性）」  (質疑応答)	国立国際医療センター 国際疾病センター長	1時間 30分	工藤宏一郎先生
5	閉 会	新宿区救急業務 連絡協議会長	10分	長谷川雄二先生

研究成果の刊行に関する一覧表

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
川上千春、宇宿秀三、七種美和子、百木智子、熊崎真琴、高津和弘、池淵守、蔵田英志、岩田真美、豊澤隆弘、吉村幸浩、倉井華子、立川夏夫.	<速報> ウイルス分離により確認された新型インフルエンザの国内初症例について—横浜市	IASR (Infectious Agents Surveillance Report)	30	239-241	2009
Chen LH, Wilson ME, Davis X, Loutan L, Schwartz E, Keystone J, Hale D, Lim PL, McCarthy A, Gkrania-Klotsas E, Schlagenhaut P; GeoSentinel Surveillance Network (Tachikawa N) .	Illness in long-term travelers visiting GeoSentinel clinics.	Emerg Infect Dis.	Nov; 15(11):	1773-1182	2009
Iizuka I, Saijo M, Shiota T, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Hasegawa H, Sakai K, Fukushi S, Mizutani T, Ogawa M, Nakauchi M, Kurane I, Mizuguchi M, Morikawa S.	Loop-mediated isothermal amplification-based diagnostic assay for monkeypox virus infections.	Journal of Medical Virology	80	1102-1108	2009
Saijo M, Ami Y, Suzaki Y, Nagata N, Iwata, N, Hasegawa H, Iizuka I, Shiota T, Sakai K, Ogata M, Fukushi S, Mizitani T, Sata T, Kurata T, Kurane I, Morikawa S.	Virulence and pathophysiology of the Congo Basin and West African strains of monkeypox virus in nonhuman primates.	Journal of General Virology	90	2266-2271	2009
Nakauchi M, Fukushi S, Saijo M, Mizutani T, Ure AE, Romonowski V, Kurane I, Morikawa S.	Characterization of monoclonal antibodies to Junin virus nucleocapsid protein and application to the diagnosis of hemorrhagic fever caused by South American arenaviruses.	Clinical and Vaccine Immunology	16	1132-1138	2009
Saijo M.	Emerging and re-emerging infection threats to society.	Journal of Disaster Research	4	291-297	2009
Saijo M, Morikawa S, Kurane I.	Diagnostic systems for viral hemorrhagic fevers and emerging viral infections prepared in the National Institute of Infectious Diseases.	Journal of Disaster Research	4	315-321	2009
西條政幸.	エボラ出血熱とマールブルグ出血熱に関する最近の研究.	小児科臨床	62	1931-1935	2009

## 研究成果の刊行物



Short  
Communication

## Virulence and pathophysiology of the Congo Basin and West African strains of monkeypox virus in non-human primates

Masayuki Saijo<sup>1</sup>, Yasushi Amano<sup>2</sup>, Yuriko Suzuki<sup>2</sup>, Noriyo Nagata<sup>3</sup>, Naoko Iwata<sup>3</sup>, Hirotaka Hasegawa<sup>3</sup>, Itoe Izuka<sup>1</sup>, Tomoyuki Shiba<sup>1</sup>, Kouji Sakai<sup>2</sup>, Momoko Ogata<sup>1</sup>, Shuetsu Fukushima<sup>1</sup>, Tetsuya Mizutani<sup>1</sup>, Tetsutaro Sata<sup>3</sup>, Takeshi Kurata<sup>3</sup>, Ichio Kurane<sup>1</sup> and Shigeru Morikawa<sup>1</sup>

Correspondence  
Masayuki Saijo  
msaijo@nihgo.jp

<sup>1</sup>Special Pathogens Laboratory, Department of Virology 1, National Institute of Infectious Diseases (NIID), 4-7-1 Gakuen, Musashimurayama, Tokyo 208-0011, Japan

<sup>2</sup>Laboratory of Animal Experimentation, 4-7-1 Gakuen, Musashimurayama, Tokyo 208-0011, Japan

<sup>3</sup>Laboratory of Infectious Disease Pathology, Department of Pathology, NIID, 4-7-1 Gakuen, Musashimurayama, Tokyo 208-0011, Japan

Monkeypox virus is divided into Congo Basin and West African strains. The virulence and pathophysiology of two strains, Zr-599 (a Congo Basin monkeypox virus) and Liberia (a West African monkeypox virus), were evaluated in non-human primates. Four monkeys were infected by the subcutaneous (SC) and two by the intranasal (IN) inoculation routes for Zr-599 and Liberia at a dose of  $10^6$  p.f.u. One monkey in the Liberia/SC group was demonstrated to be co-infected with Gram-positive cocci and was excluded from analyses. Infections in three of the four Zr-599/SC monkeys and in one of the three Liberia/SC monkeys were fatal. Virus genome levels in blood in the Zr-599/SC monkeys were approximately 10 times higher than those in the Liberia/SC monkeys. Zr-599 affected respiratory, genito-urinary and gastrointestinal tract organs more severely than Liberia. Zr-599 was more virulent than Liberia and one of the factors might be the difference in organ tropism.

Received 8 January 2009

Accepted 26 May 2009

The species Monkeypox virus belongs to the genus Orthopoxvirus, family Poxviridae. Monkeypox viruses cause human monkeypox in humans inhabiting the rainforests of central and western Africa (Arita et al., 1985; Damon, 2007; Heymann et al., 1998). Wild rodents (*Funisciurus anerythrus* and *Heliosciurus rufobrachium*) were implicated as the most probable reservoir (Khodakevich et al., 1987). Human monkeypox is endemic to central and western Africa (Khodakevich et al., 1988). An outbreak of human monkeypox was reported in the Democratic Republic of Congo (DRC) (Khodakevich et al., 1988; Leaned et al., 2005; Mukinda et al., 1997). Human monkeypox outbreaks outside Africa were first reported in the USA in 2003 (Di Giulio & Eckburg, 2004; Guamer et al., 2004; Reed et al., 2004). In that outbreak, patients acquired the virus from prairie dogs (*Cynomys* spp.) that became ill after contact with various exotic rodents shipped from Ghana, Africa (Reed et al., 2004).

Two clades of monkeypox virus exist: West African and Congo Basin monkeypox virus (Likos et al., 2005). Human

and monkey disease virulence differs between Congo Basin and West African strains, the former being more virulent in non-human primates (Chen et al., 2005). The clinical manifestations of human monkeypox are reported to be similar to those of smallpox (Arita et al., 1985; Branan et al., 1977, 1980; Foster et al., 1972; Janssens et al., 1984; Jezek & Khodakevich, 1987; Stagles et al., 1985). This study describes the clinical manifestations and laboratory and pathological findings in cynomolgus monkeys infected with Congo Basin or West African monkeypox virus. The virulence of Congo Basin and West African monkeypox virus was compared. Furthermore, the pathophysiological mechanisms behind the difference in virulence between these two monkeypox viruses were elucidated.

Monkeypox virus strains Zr-599 (a representative Congo Basin strain) and Liberia (a representative West African strain) were used. Zr-599, isolated from a patient in the DRC, and Liberia, isolated from a patient with human monkeypox in Liberia, were assigned to the Congo Basin and the West African clades, respectively, according to A-type inclusion body gene sequence (Likos et al., 2005). Virus solution for challenge experiments was prepared by disruption of Vero E6 cells infected with each monkeypox

Supplementary figures and tables are available with the online version of this paper.

virus strain in a sonicator (TITEC Ultra S Homogenizer UP-5) for 30 s at full power, followed by high-speed centrifugation (3500 r.p.m. for 5 min at 4 °C). The infectious dose of the virus was determined by plaque assay.

Twelve cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) were used (see Supplementary Table S1, available in JGV Online). They were classified into four groups: Zr-599/SC, Liberia/SC, Zr-599/IN and Liberia/IN. Monkeys #4651 and #4653 (Zr-599/SC) and #4595 and #4596 (Liberia/IN) were used in a previous study in which the efficacy of a smallpox vaccine, LC16m8, was evaluated (Saijo *et al.*, 2006). Other monkeys were also used as control subjects in the study for the evaluation of LC16m8 efficacy. A monkey in the Liberia/SC group (#4567) died on day 10 post-inoculation. This subject was demonstrated to be co-infected with Gram-positive cocci and was excluded from further analyses.

Complete blood-cell counts in peripheral blood collected in sodium heparinized tubes were measured. C-reactive protein (CRP) was measured as an indicator of inflammation level.

Vaccinia virus-specific antibody levels were measured by ELISA using the entire suite of vaccinia virus proteins as antigens, as reported previously (Morikawa *et al.*, 2005; Saijo *et al.*, 2006). Although the IgG response in monkeys #4651 and #4653 from the Zr-599/SC group and #4595 and #4596 from the Liberia/IN group had already been determined as reported previously (Saijo *et al.*, 2006), the IgG response in all of the monkeys, including the four previously tested monkeys, was determined simultaneously. Virus genome levels were determined by a quantitative real-time PCR (qPCR) method as reported previously (Saijo *et al.*, 2006, 2008). Although the virus genome level in monkeys #4651 and #4653 from the Zr-599/SC group and #4595 and #4596 from the Liberia/IN group had already been determined in a previous study (Saijo *et al.*, 2006), the virus genome level in the peripheral total blood of all of the monkeys, including the four previously tested monkeys, was determined simultaneously. All challenge experiments were conducted in a highly contained laboratory in which a glovebox class III safety cabinet was installed. The monkeys were anaesthetized and inoculated intranasally (IN) with 0.5 ml virus solution containing  $1 \times 10^6$  p.f.u. Zr-599 or Liberia by using an atomizer (Keytron Co.) to atomize the virus solution, or inoculated subcutaneously (SC) with 0.5 ml virus solution containing  $1 \times 10^6$  p.f.u. Zr-599 or Liberia. After the challenge, blood was drawn every 2–4 days. Clinical manifestations, such as volume of food and water consumed, appearance of faeces, etc., were observed every day. The skin surface was observed carefully, and body (anal) temperature and mass were measured.

After sacrifice under anaesthesia, skin, lymphoreticular system structures (lymph nodes, spleen, thymus, pharynx and tonsils), gastrointestinal tract organs (including the liver and pancreas), genito-urinary tract organs (kidneys,

bladder, testes, ovaries and uterus), endocrine organs (adrenal glands and thyroid), respiratory tract organs (trachea and lungs), the heart as the cardiovascular organ, and central nervous system (CNS) organs (brain and spinal cord) were excised, fixed in 10% formalin in PBS and embedded in paraffin. They were then examined for micropathology and the presence of monkeypox virus antigens by immunohistochemical analyses as reported previously (Nagata *et al.*, 2001, 2002; Saijo *et al.*, 2006).

Infections in three of the four Zr-599/SC monkeys and one of the three Liberia/SC monkeys were fatal, whereas all Zr-599/IN and Liberia/IN monkeys survived (see Supplementary Table S1, available in JGV Online). In Zr-599/SC monkeys, body mass decreased sharply by 10–20% after challenge without any sign of recovery except for one subject that survived, whereas body mass in Liberia/SC monkeys decreased less sharply. There was a tendency for body temperature to rise for the first week after virus inoculation in all groups (see Supplementary Fig. S1, available in JGV Online).

Papulovesicular rashes appeared on days 7–9 after monkeypox virus inoculation. The general condition of the monkeypox virus-infected monkeys deteriorated and their activity decreased from day 6 to day 11 post-inoculation. The mean number of papulovesicular lesions in the Zr-599-infected monkeys ( $n=369$ ) was higher than that in the Liberia-infected monkeys ( $n=226$ ) (Supplementary Table S1). Skin and gross lesions in the internal organs in a Zr-599-infected subject (#4653) and a Liberia-infected subject (#4625) on day 18 post-inoculation are shown in Fig. 1. Both subjects were sacrificed because of severe symptoms on day 18 post-inoculation. The papulovesicular lesions demonstrated in both monkeys were morphologically similar. Lymph nodes and thymus in both subjects were affected. The most significant differences were that gross lesions with a granulomatous appearance were demonstrated in the gastrointestinal tract organs, such as stomach, small intestine and colon, in the Zr-599-infected monkey, but not in the Liberia-infected monkey (Fig. 1). The peritoneal membrane of the Zr-599-infected subject (#4653) became thickened and had granulomatous lesions, whereas that of the Liberia-infected subject (#4625) was intact. In Zr-599/IN monkeys, one (#4654) showed severe monkeypox-associated symptoms and the other (#4655) showed very mild symptoms. In the Liberia/IN monkeys, the symptoms were relatively mild and of short duration, with only a small number of papulovesicular lesions. The Zr-599-induced ulcerative lesions were still exudative on day 18, whereas the Liberia-induced lesions were dried and covered with scar tissues (Fig. 1). The Zr-599-induced ulcerative lesions seemed to be more severe than the Liberia-induced lesions.

There was a statistically significant difference in virus genome levels as determined by qPCR between Zr-599-infected and Liberia-infected monkeys (see Supplementary Table S2, available in JGV Online), the highest level assessed in combinations of SC and IN group monkeys

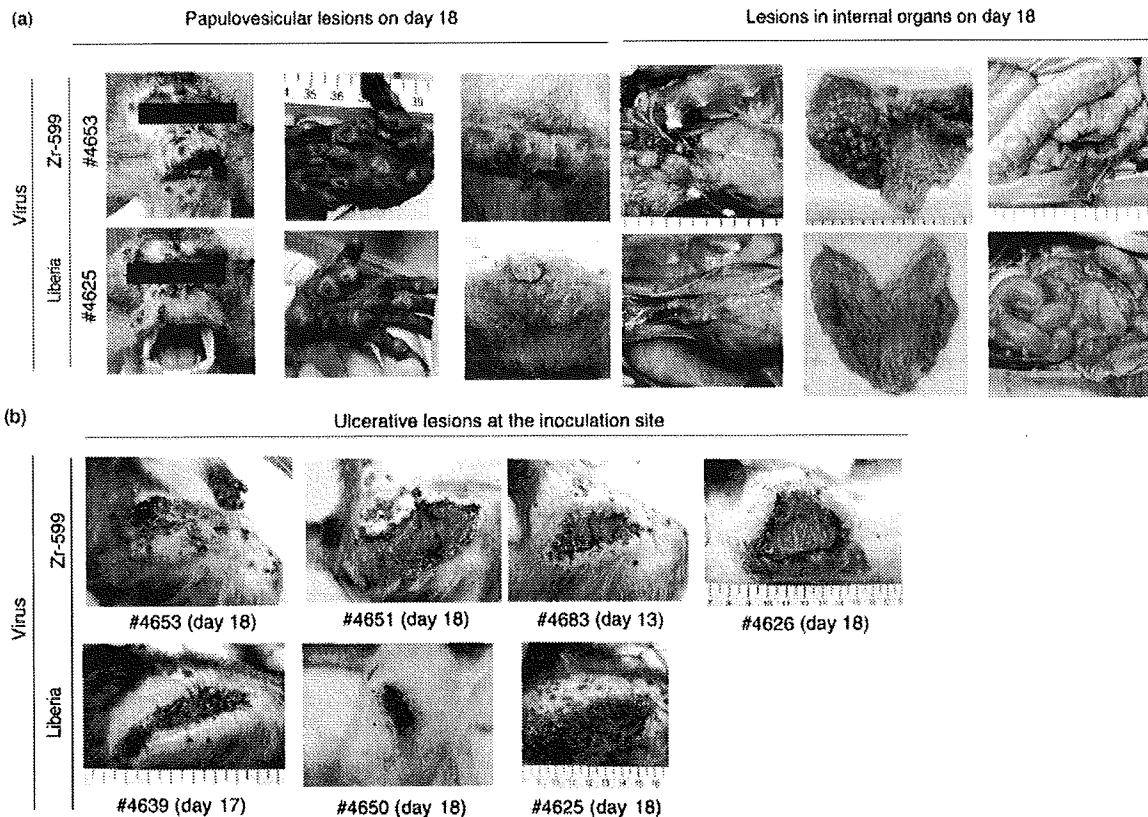


Fig. 1. (a) Monkeypox-associated lesions in skin and internal organs of fatal cases of Zr-599 (#4653) and Liberia (#4625) infection. (b) Ulcerative lesions at the monkeypox virus inoculation site in each subject.

(Student's *t*-test, *P* 0.03) and the mean virus genome level per day in the first 14 days in IN group monkeys (Student's *t*-test, *P* 0.02). All indices in Zr-599-infected monkeys were approximately 10 times higher than those in Liberia-infected monkeys.

There was a significant difference in the IgG response between the Zr-599-infected and Liberia-infected monkeys (Supplementary Fig. S1). In five of the six Zr-599-infected monkeys, an obvious IgG response was demonstrated even on day 10 post-inoculation, whereas the IgG ELISA was negative in all Liberia-infected monkeys except one on day 10. The IgG response was detected 2–3 days earlier in the Zr-599-infected monkeys than in the Liberia-infected monkeys.

The data on monkeypox virus antigen distribution indicated that Zr-599 infected the organs of the respiratory tract, gastrointestinal tract, lymphoid and reticuloendothelial systems, genito-urinary tract and skin, but not the CNS, and that Liberia mainly infected the lymphoid and reticuloendothelial systems and skin (Table 1). Micrographs of immunoperoxidase-stained tissue sections of Zr-599/SC monkeys are available in Supplementary Fig. S2 (in JGV Online).

To compare the severity of monkeypox-associated symptoms, a scoring system was developed and used in this study. The score is composed of two categories: items associated with clinical symptoms and those associated with laboratory findings. The following variables were recorded: decrease in body mass, duration of decreased activity with ill appearance, duration of decreased food consumption (75%), body temperature (fever and lower temperature), diarrhoea with/without blood contamination, number of papulovesicular lesions except for the lesions associated with the challenge virus inoculation, outcome, virus genome level (maximum value during the course of observation and the final value when the observation finished), total peripheral blood-cell counts (increased and/or decreased numbers of white blood cells, decreased number of platelets, haemoglobin level) and CRP level. The points for each item are shown in Table 2. It is indicated that the higher the score, the more severe the monkeypox. The mean severity point of monkeypox caused by Zr-599, 25.2, was higher than that caused by Liberia, 17.0. When the same analysis was conducted based on points of the subjects that were infected with virus through the SC route, the mean point of the Zr-599/SC group, 30.0, was higher than that of the Liberia/SC group,

**Table 1.** Number of subjects with gross monkeypox-associated lesions confirmed by positive monkeypox virus antigen in each organ, as determined by immunohistochemical analyses

Organ	No. subjects with monkeypox virus antigen in each organ			
	Zr-599/SC	Zr-599/IN	Liberia/SC	Liberia/IN
Total <i>n</i>	4	2	3	2
<b>Respiratory</b>				
Trachea	3	0	0	1
Lung	3	0	0	2
<b>Cardiovascular</b>				
Heart	0	0	0	0
<b>Gastrointestinal tract</b>				
Liver	4	1	1	0
Pancreas	3	1	0	1
Oesophagus	0	0	0	0
Stomach	3	0	0	0
Ileum	2	1	0	0
Colon	1	0	0	0
Rectum	4	1	0	0
<b>Endocrine system</b>				
Thyroid	2	0	0	0
Adrenal gland	1	0	0	0
<b>Lymphoreticular system</b>				
Radial lymph node	4	1	1	1
Submandibular lymph node	4	2	1	2
Inguinal lymph node	4	1	2	1
Axillar lymph node	4	1	2	2
Tonsil	4	1	2	2
Thymus	4	1	2	2
Spleen	3	1	0	2
Pharyngeal	4	1	1	1
<b>Genito-urinary tract</b>				
Kidney	0	0	0	0
Bladder	1	0	0	0
Prostate/uterus	2	0	1	1
Testis/ovary	3	1	0	0
<b>Skin</b>				
Skin lesions	4	2	3	2
<b>CNS</b>				
Basal ganglia, lateral lobe, frontal lobe, thalamus or spine	0	0	0	0

20.7 (Table 2). The mean point of the Zr-599/IN group, 15.5, was also higher than that of the Liberia/IN group, 11.5.

The pathology of experimental monkeypox virus infections in non-human primates infected with isolate V79-I-005, which was originally obtained from a fatally infected human from Zaire in 1979, through the respiratory route was reported previously (Zaucha *et al.*, 2001). However, the pathology in monkeys infected with monkeypox virus West African strain has not been studied. Monkeypox-associated gross lesions were demonstrated in the following organs: respiratory system, skin, oral cavity, gastrointestinal tract and lymphoid systems. The pathological findings observed in monkeys infected with the Zr-599 strain were similar to those observed in the previous study (Zaucha *et al.*, 2001). The value of the present study is that the pathology of both

Congo Basin and West African monkeypox viruses has been investigated. Differences were observed in fatality rate, severity of monkeypox-associated symptoms, virus genome level and the organs affected. Zr-599 replicated in skin, lymphoid and reticuloendothelial systems, genito-urinary tract organs, respiratory tract organs and gastrointestinal tract organs, whereas Liberia replicated only in the skin, lymphoid and reticuloendothelial systems of the monkeys (Table 1). Whilst the lung of a Zr-599/SC-infected monkey was entirely and diffusely affected by the infection (Supplementary Fig. S2), the lung of a Liberia/SC-infected monkey was histopathologically intact (data not shown). Haemorrhagic diarrhoea was observed only in the Zr-599-infected monkeys. These results suggest that the respiratory and gastrointestinal functions were more severely impaired