

事例報告

鳥取県における高病原性鳥インフルエンザ (H5N1亜型) 発生時の住民健康監視および大雪による住民健康監視

石田 茂¹ 菅原 民枝² 大日 康史²
谷口 清州² 岡部 信彦²

要約 【目的】平成22 (2010) 年11月30日および12月4日に、鳥取県と島根県の県境域の島根県安来市の養鶏場 (約21,000羽飼養)、米子市の野鳥 (コハクチョウ) で高病原性鳥インフルエンザ (H5N1亜型) が発生した。また、平成22 (2010) 年12月31日から1月1日にかけて、米子市で89cmの降雪があり、気象台開設以来の積雪量であった。このような鳥インフルエンザや大雪による被害は、不測の事態であるが、鳥取県の当該地区においては、通常時から住民の健康状況を監視するシステムが複数稼動している。これらのシステムにより異常の有無を監視強化した。その結果を報告する。【方法】濃厚接触者の健康調査および住民健康状況の監視強化サーベイランスを実施した。サーベイランスの内容は、①感染症発生動向調査、②学校欠席者情報収集システム、③救急車搬送サーベイランス、④薬局サーベイランス、⑤鳥取県独自のインフルエンザウイルス把握システムとした。県医師会の協力を得て、医療機関でインフルエンザ迅速検査A型陽性の結果が出た場合に、管轄保健所が鳥取県衛生環境研究所に検体を搬入し、PCR検査により亜型を決定した。【結果】高病原性鳥インフルエンザ発生時の住民健康調査では、防疫担当者等に発症者はなかった。感染症発生動向調査、学校欠席者、薬局でインフルエンザ様患者の増加は観察されなかった。大雪による住民健康監視では、救急車搬送で年明け2日から急増した。その増加要因は幹線道路、鉄道での交通障害による体調不良者の搬送、停電による呼吸器装着者の搬送、除雪作業による事故搬送、自己搬送できない者への対応であった。【考察】高病原性鳥インフルエンザや大雪のように不足事態の発生時に住民の健康被害について徴候を迅速に把握するためには、日頃から把握するシステムを構築し、何か異常のあった場合には積極的に疫学調査を実施していく必要がある。また、気象台開設以来の降雪量であった大雪災害時において、モニタリングできたことは有用であった。これらは早期の対策立案に役立つことが示唆された。

I. 背景

平成22 (2010) 年11月30日に、鳥取県と島根県の県境域の島根県安来市の養鶏場 (約21,000羽飼養) で高病原性鳥インフルエンザ (H5N1亜型) が発生した。この養鶏場の飼養鶏は12月4日までにすべて焼却処分され、12月6日には鶏糞処理、消毒等の措置が完了した。この間、養鶏場から半径10km以内の養鶏場の鶏等は移動禁止措置がなされ、同時に野鳥感染の監視区域となった。

10km圏内の養鶏場は4養鶏場が存在し、そのうち3養鶏場は隣接する鳥取県境港市および米子市にあった。最終処分3週間後の12月27日に移動禁止措置は解除された。また、平成22 (2010) 年12月4日に、島根県の発生農場から約6km離れた米子市の住宅のベランダから保護され、その後死亡したコハクチョウの幼鳥から12月18日に高病原性鳥インフルエンザ (H5N1亜型) の感染が確認された。米子市のコハクチョウが保護された地域は渡り鳥の飛来地でもあり、発見場所から半径10kmの区域は野鳥監視強化区域として監視強化された。

Monitoring for Residents' Health While Outbreak of High Pathogenic Avian Flu (H5N1 subtype) and during Blizzard

¹鳥取県福祉保健部 健康政策課感染症・新型インフルエンザ対策室

²国立感染症研究所 感染症情報センター

著者連絡先: 〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1

キーワード: 症候群サーベイランス, 鳥インフルエンザ, 健康監視, 異常気象, 早期探知

受理日2011年4月14日/採用日: 2012年5月1日

高病原性鳥インフルエンザ (H5N1亜型) については1993年以来世界で538人の鳥-ヒト感染が確認され、317人が死亡している¹⁾。また、同時期はインフルエンザの流行が始まる時期であり、この高病原性鳥インフルエンザ (H5N1亜型) ウイルスとヒトインフルエンザウイルスの遺伝子再集合等による新たなヒトインフルエンザウイルスの出現も危惧されるところである。

一方で、平成22 (2010) 年12月31日から平成

23 (2011) 年1月1日にかけて、米子市で89cmの降雪があり、気象台開設以来の積雪量となった。米子市を中心とする鳥取県西部は通常積雪の少ない地域であるが、短時間の大量降雪が特徴であった。この大雪の被害は、幹線道路で約1,000台の車が移動不能となり、避難所が設置され(12月31日夕方～1月3日解消)、列車が立ち往生し、救出のラッセル車も脱線した。そのため列車内で過ごす人が多数となった。雪ズリの下敷きになった女性(死亡)の救急搬送に通常30分程度のところ約5時間を要した。停電(1月4日に全面復旧)となり、暖をとるため練炭使用者が一酸化炭素中毒で救急搬送された。

II. サーベイランスシステムの紹介

健康危機事案は、起これば被害は大きいと想定されるので、できるだけ早期に探知することが重要で、早期に対策が行われ、被害を最小にすることが課題である。しかし、「いつ」「どこで」起こるか事前に探知することはできないので、普段からモニタリングしておかなければならない。現在の法律による感染症のサーベイランスは、医療機関を受診する患者によって観察されているため、診断されるまでに時間がかかり、さらに報告までに時間がかかるなど、リアルタイムではない。

そこで医師の診断に基づく感染症サーベイランスに比べて、症状で情報を収集して流行の兆しを探知することができる「症候群サーベイランス」がある^{2)~4)}。2000年アメリカでの同時多発テロ以来、諸外国ではこうした健康危機事案の早期探知サーベイランスが行われている。例えば、2010年4月にアイスランド南部での火山噴火は、予測できない自然災害であったが、イギリスは症候群サーベイランスで常時モニタリングしており、すぐに住民の健康被害が増大していないかどうか監視していた⁵⁾。現在日本での症候群サーベイランスには、学校欠席者情報収集システム⁶⁾や救急車搬送サーベイランス⁷⁾、薬局サーベイランス⁸⁾、電子カルテを用いた外来受診時サーベイランス^{9)~13)}が開発されている。毎日全自動で実施できている地域はあるものの、全国単位実施ではなく地域に限られている。

III. 本研究の目的

鳥取県は、こうした新しく開発されたサーベイランスを通常時から開始しており、複数の情報を感染症対策担当が一元管理してきたが、本研究

では、鳥インフルエンザや大雪の不測の事態発生時においても住民の健康状況を把握することができたかどうかを評価する。

IV. 方法

本研究は法律に基づいて実施している感染症発生動向調査、濃厚接触者の健康調査のほかに、学校欠席者情報収集システム、救急車搬送サーベイランス、薬局サーベイランス、インフルエンザウイルス把握システムで住民の健康被害の情報をいち早くとらえる体制についてインフルエンザ患者の警戒と、自然災害における住民の健康状態の監視で検討した。

「学校欠席者情報収集システム」は、学校が症状別(発熱、頭痛、呼吸器症状、下痢、嘔吐)と学校保健安全法で出席停止とされている疾患別(インフルエンザ、百日咳、麻疹、流行性耳下腺炎、風しん、水痘、咽頭結膜熱、結核等)の欠席者数をWEBサイトに日々登録し、即座に関係者と情報共有・解析するシステムで、鳥取県は平成21(2009)年9月より開始している。インフルエンザ患者の警戒では、移動禁止区域、野鳥監視区域のある鳥取県米子市の15施設、境港市17施設のインフルエンザ出席停止者数、発熱による出席停止者数を日次情報として当日中に把握した。

「救急車搬送サーベイランス」は、救急車搬送後の出動記録に記載された症状別(発熱、呼吸器症状、下痢、嘔吐、けいれん)の搬送数を出動記録から自動抽出し、関係者と情報共有・解析するシステムで、鳥取県は平成20(2008)年8月より開始している。移動禁止区域、野鳥監視区域のある鳥取県西部消防局の発熱、呼吸苦による救急搬送人数について、毎時把握した。

「薬局サーベイランス」は、薬局の処方せん情報から、特定の薬効分類(総合感冒薬、解熱鎮痛剤、抗生物質、抗インフルエンザウイルス薬、アシクロビル製剤)の処方せん枚数を自動抽出し、関係者と情報共有・解析するシステムで、鳥取県は平成21(2009)年4月より開始している。感染症発生動向調査のインフルエンザ報告数との相関は高く^{8),9)}鳥取県内8薬局において、抗インフルエンザウイルス薬の処方数を日次情報として翌日朝に把握した。

「鳥取県独自のインフルエンザウイルス把握システム」は、県医師会の協力を得て、医療機関でインフルエンザ迅速検査A型陽性の結果が出た場合に、管轄保健所が鳥取県衛生環境研究所に検体を搬入し、PCR検査により亜型を決定した。

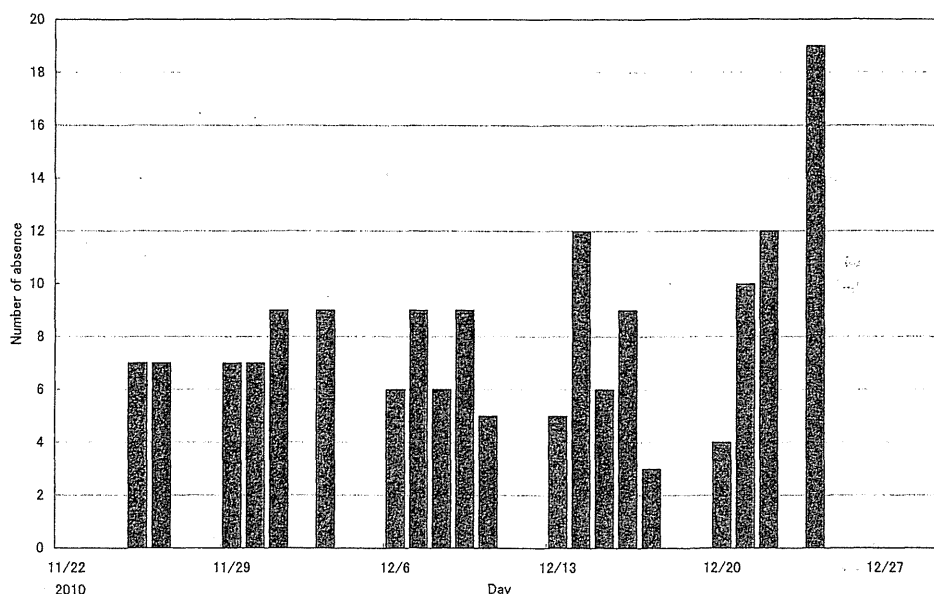


Fig. 1 Number of absentee by fever in an elementary school in Sakaiminato in Tottori

感染症発生動向調査は、鳥取県西部地区の11医療機関から報告されるインフルエンザ様患者報告数を週次情報として翌週に把握した。高病原性鳥インフルエンザ（H5N1亜型）の発生においては、法律に基づいて濃厚接触者の健康調査を行った。

V. 結果

住民の健康被害の情報をとらえる体制は日常から行われているが、平成22（2010）年11月30日からはインフルエンザの把握を強化することが開始された。情報は鳥取県福祉保健部健康政策課感染症・新型インフルエンザ対策室において一元管理し、国立感染症研究所感染症情報センターと情報共有した。当該時期のインフルエンザ流行を毎日リアルタイムで実施し評価した。

「学校欠席者情報収集システム」の結果は、11月29日から12月24日（25日以降は冬期休暇）の間において、インフルエンザによる出席停止者の報告は11月29日に米子市県立Y高校で2名（型不明）、12月24日に境港市N小学校で2名（A型）あった。Fig. 1に境港市N小学校の発熱患者数の推移を示した。同期間の発熱による異常な増加・集積はみられなかった。この期間に発熱による出席停止者は地区全体では延べ571名で、このうち境港市N小学校においてはクラスで2名以上の発熱による出席停止者アラートが7回出たが、通常の変動内で推移していた。

「救急車搬送サーベイランス」の結果は、発熱

による救急搬送患者の増加はみられなかった。また、呼吸苦による搬送患者数が12月13日にやや増加したが、地域、年齢別の集積は認められなかった。

「薬局サーベイランス」の結果は、Fig. 2の発生動向調査の結果と同じグラフ内での左軸で示した。この期間内に、抗インフルエンザウイルス薬処方数およびインフルエンザの増加は認められなかった。15歳以下および65歳以上での発生はなかった。

「インフルエンザウイルス把握システム」の結果は、11月30日から12月末日までに、迅速検査A型に陽性を示した45検体について、PCR検査で亜型を検査し、新型（H1pdm）ウイルスが43件、H3亜型が2件であった。PCR検査において、A型陽性で亜型不明（H1pdm、H1およびH3亜型が陰性）のウイルスは検出されなかった。

高病原性鳥インフルエンザ（H5N1亜型）発生時の濃厚接触者の健康調査は、鳥根県養鶏場の関係者（養鶏場の経営者・家族・従業員9名および防疫従事者）の関係者に鳥インフルエンザ感染者はみられなかった（12月6日、鳥根県薬事衛生課公表資料）。コハクチョウの保護、収容、検査等の対応者では、鳥取県米子保健所が面接聞き取り調査を実施し確認し、コハクチョウ保護、住民1名収容および迅速検査を実施した担当者3名について、発症者はなかった。

自然災害（大雪）における住民の健康状態の監視では、救急車搬送サーベイランスに注目した。Fig. 3に1時間ごとの発熱による搬送数の推移を

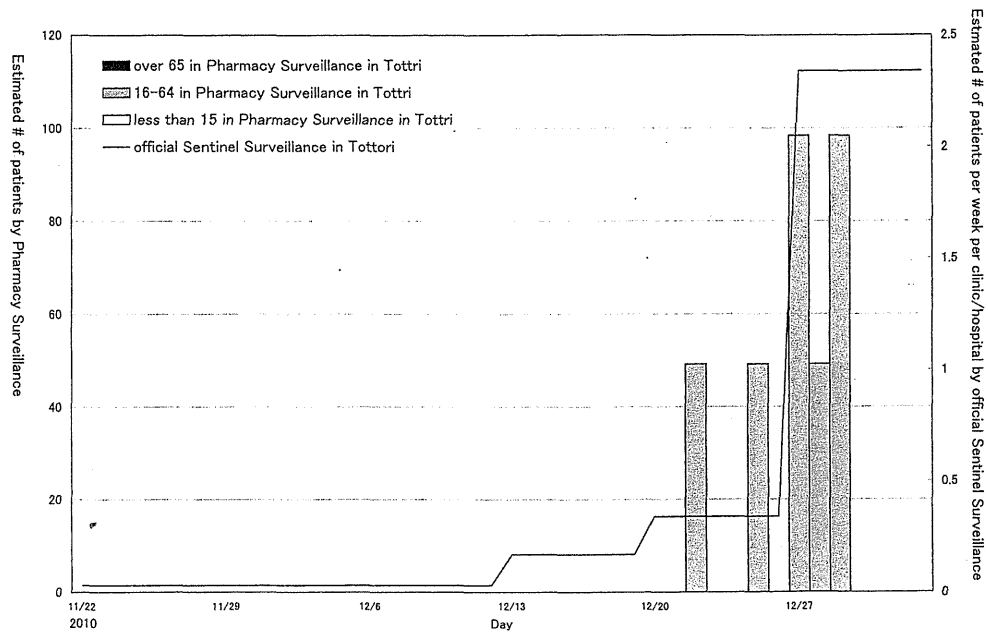


Fig. 2 Official Sentinel Surveillance and Pharmacy Surveillance

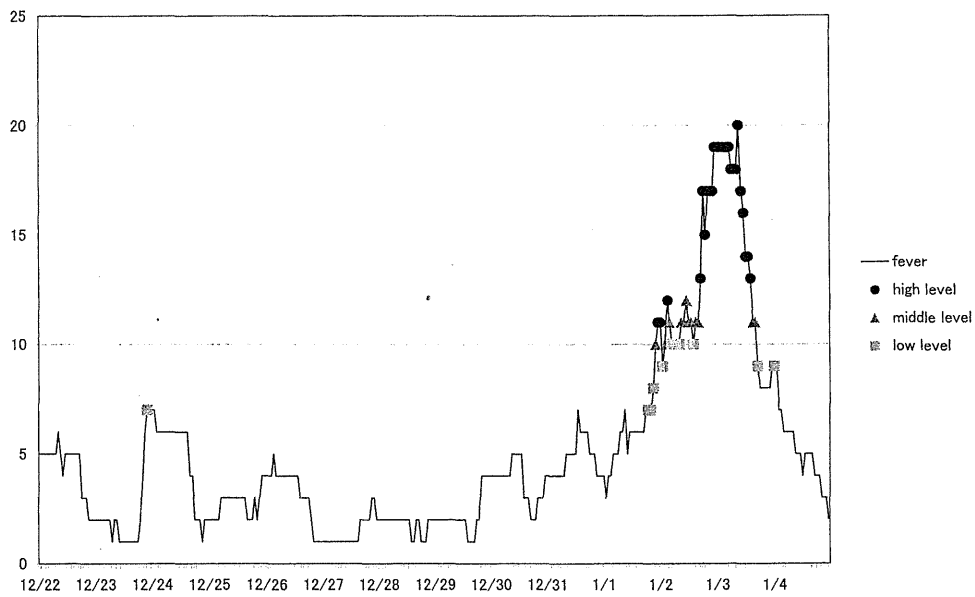


Fig. 3 Ambulance Transfer due to Fever during Blizzard

示した。この時期は、学校は冬期休暇に入っており、また医療機関も多くは休診であった。積雪量が増加した年明け2日から搬送数が急増した。除雪により幹線道路が開通し、自家用車で搬送できるようになった3日以降は、救急車による搬送が落ち着いていた。なお、自家用車は積雪のため、動かそうと思っても幹線までの除雪ができていないため搬送できない状況にあった。救急搬送内容は、交通まひ（幹線道路、鉄道）による体調不良者の搬送、停電による呼吸器装着者の搬送、除雪作業による事故搬送、自己搬送できない者への対応で

あった。最も搬送者数の多い1月3日（月）の発熱の搬送患者20名について鳥取県西部消防局に確認した結果は、6歳以下6名（上気道炎：3、発熱：1、熱性けいれん：1、急性胃腸炎：1）、18～64歳が8名（がんのターミナル：1、薬疹：1、子宮出血：1、急性胃腸炎：1、頭部打撲：1、発熱：2、下血：1）、65歳以上6名（腎不全：1、肺炎：1、胸部痛：1、脱力：1、大腿骨頸部骨折：2）であり、地域、年齢および搬送内容に感染症あるいは健康危機による集団発生の可能性はみられないことが確認できた。

VI. 考 察

鳥取県と島根県の県境で、鶏の飼育場および野鳥から高病原性鳥インフルエンザ H5N1 亜型が検出され、感染拡大防止措置（防疫対策）が行われた。同地域においては野鳥による感染拡大も考えられ、高病原性鳥インフルエンザ (H5N1 亜型) ウイルスによる養鶏場等の大規模被害と H5N1 ウイルスの直接のヒト感染、そしてヒトインフルエンザウイルスの季節性インフルエンザとの遺伝子再集合によるヒト-ヒト感染を起こす新たなインフルエンザウイルスの出現の可能性も否定できない。また、濃厚接触者の健康観察はしっかり行われるものの、どのような経路で感染が拡大していくのかは想定ができず、市中感染として出現する可能性もなくはない。本研究により、発生がないことが早い段階から確認できた。今回のように複数のサーベイランスを実施すること、リアルタイムに把握できることが、次なる新型のインフルエンザが登場した時のパンデミック対策としても有用であると再確認された。

また、自然災害（大雪）における住民の健康状態の監視では、年始で多くの医療機関や学校が休業中であったが、救急車搬送のシステムが稼働し 1 時間ごとにモニタリングできたことが有用であった。

このように、新しく開発されたサーベイランスによる情報によって、鳥取県福祉保健部健康政策課感染症・新型インフルエンザ対策室が、インフルエンザ流行の把握を毎日リアルタイムで実施し一元管理できたことは、有用な健康危機管理ができたことと評価され、新しい取り組みである。また救急医療に関する急激な需要増加を警戒することができ、地域における公衆衛生学的な監視活動についても評価された。

従来は、何か異常のあった場合には積極的に疫学調査を実施していく必要があるとして、積極的疫学調査の体制は整備されているが、この異常「徴候」を迅速に把握することが困難であった。発生動向調査では迅速性に欠けて早期把握が困難であるからである。今回の高病原性鳥インフルエンザの発生に際して、日頃から把握するシステムを構築していたものを通常どおり運用し、サーベイランスで動向を把握し、早期に鳥-ヒト感染および新たな新型インフルエンザウイルスの発生がないことが確認できたことは有用であった。

それぞれの個別のサーベイランスでは、限界もある。例えば、学校欠席者情報収集システムでは休日の把握ができず大人の情報は含まれない。薬

局サーベイランスは抽出調査であって全数調査ではない。しかし、学校欠席者や救急車搬送は全数把握が当日中にでき、薬局は全年齢の情報を翌日には把握できる長所がある。そして、こうした一長一短を組み合わせることで総合的に精度を高めることができ有用であった。このようなサーベイランスは、感度が高く特異度が低いが、インフルエンザウイルス把握システムで検査診断を行う体制をもっていたことから、特異度を高くする体制をもつことができた。

不測の事態において、通常時から住民の健康状況を監視するシステムが複数稼働していることは、住民の健康被害を探知し、早期の対策立案に役立つことが示唆された。今回の大雪の事例は、必ずしも大雪を警戒してのシステム構築、運用でないが、常時稼働していることから、特段の労力を伴わずに、高病原性鳥インフルエンザや自然災害においても特段の準備をすることなく、住民の健康状態の監視ができることから、症候群サーベイランスの新たな可能性を開く具体例として確認された。

本研究は、平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策研究事業「健康危機事象の早期探知システムの実用化に関する研究」(研究代表者：国立感染症研究所感染症情報センター・大日康史) の研究成果の一環である。

文 献

- 1) World Health Organization : Confirmed Human Cases of Avian Influenza A (H5N1). 2011/3/29
- 2) Henning KJ : what is Syndromic Surveillance? MMWR 2004 ; 53 (Suppl) : 7-11.
- 3) Buehler JW, Berkelman RL, Hartley DM, et al : Syndromic surveillance and bioterrorism-related epidemics. Emerg Infect Dis 2003 ; 9 : 1197-204.
- 4) 大日康史, 杉浦弘明, 菅原民枝, 他 : 症状における症候群サーベイランスのための基礎的研究. 感染症誌 2006 ; 80 : 366-76.
- 5) Elliot AJ, Singh N, Loveridge P, et al : Syndromic surveillance to assess the potential public health impact of the Icelandic volcanic ash plume across the United Kingdom, April 2010. Eurosurveillance 2010 ; 15 : 1-4.
- 6) 杉浦弘明, 秦正, 児玉和夫, 他 : 学校欠席者情報システムを用いた新型インフルエンザに対する学級閉鎖の有効性. 学校保健研究 2010 ; 52 : 214-8.
- 7) 大日康史, 川口行彦, 菅原民枝, 他 : 救急車搬送数による症候群サーベイランスのための基礎的研究. 日本救急医学会雑誌 2006 ; 17 : 712-20.

- 8) 菅原民枝, 大日康史, 川野原弘和, 他: 2009/2010 インフルエンザパンデミックにおけるリアルタイム薬局サーベイランスとインフルエンザ推定患者数. 感染症学雑誌 2011; 85: 8-15.
- 9) Yoshida M, Matsui T, Ohkusa Y, et al.: Seasonal influenza surveillance using prescription data for anti-influenza medications. Jpn J Infect Dis 2009; 62: 233-5.
- 10) 菅原民枝, 杉浦弘明, 大日康史, 他: 感染症流行の早期探知のための電子カルテを用いた自動的な症候群サーベイランスの構築. 医療情報学雑誌 2008; 28: 13-20.
- 11) 杉浦弘明, 菅原民枝, 菊池清, 他: 電子カルテを用いた自動運用の外来受診時症候群サーベイランスの稼動状況 出雲でのノロウイルスとインフルエンザ流行の情報共有の実証実験. 島根医学 2007; 27: 113-9.
- 12) 児玉和夫, 菅原民枝, 大日康史: 高齢者中心の診療所における外来受診時症候群サーベイランスの検討. 島根医学 2006; 26: 13-9.
- 13) 中山裕雄, 大日康史, 菅原民枝, 他: 外来受診時における症候群サーベイランスのための基礎的研究—1年間の運用成績. 医療と社会 2007; 16: 387-401.

Abstract

Monitoring for Residents' Health While Outbreak of High Pathogenetic Avian Flu (H5N1 subtype) and during Blizard

Shigeru Ishida¹, Tamie Sugawara², Yasushi Ohkusa²,
Kiyosu Taniguchi², Nobuhiko Okabe²

¹ Tottori Prefecture

² Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases

Object : Outbreaks of High Pathogenic Avian Influenza (H5N1) emerged on November 30th 2010 at a poultry farm in Yasugi City, Shimane Prefecture, that raised approximately 21 thousand chickens. Then dead swans were found on December 4th at Yonago City, Tottori Prefecture. There was also heavy snowfall between December 31th, 2010 to January 3rd, 2011, in Yonago City and recorded 89 centimeter high of snow coverage, the highest in the recorded weather history. These phenomena were not predictable ex-ante, but multiple-automatic surveillance systems constantly running to monitor the affected area helped acquisition of real-time information on residents' health status. The local government used the system to closely monitor the unusual health hazard. This paper summarizes the surveillance activities associated with the two events and reports preliminary findings.

Method : To monitor health status of direct contacts with the infected chicken and swans, and of residents in the affected area by heavy snow, the following surveillance systems were utilized : (1) the official surveillance system ; (2) school absenteeism surveillance system ; (3) surveillance for ambulance transfers ; (4) pharmacy surveillance system ; (5) laboratory surveillance for influenza virus, a unique system in Tottori prefecture. In addition, whenever influenza A-positive was identified by the rapid test, the public laboratory operated the PCR test with the collaboration of the Tottori Prefectural Medical Association for subtyping.

Result : The surveillance identified no symptomatic cases of avian influenza among direct contacts with infected chickens or swans. The official surveillance, school absenteeism and pharmacy surveillance reported no aberration. The surveillance of the residents' health status during the heavy snow period identified the substantial number of ambulance transfers on January 2nd. The reason of greater number of transfers were : health deterioration due to traffic jam on road and on the railway, foreseen complications among respirator users when electric power failed, accidents during snow removal, and the patients that were not able to drive on their own due to heavy snow.

Discussion : When unpredictable potential health hazard occurs, such as avian flu outbreak in a poultry farm or extreme weather condition, automatic syndromic surveillance systems were an effective tool to monitor residents' health and to prepare for further active investigation whenever the syndromic surveillances detect any aberration. These two examples would show widespread potentials in early detection of and response to health hazard in case unpredictable health hazard emergencies.

Key words : Syndromic Surveillance, Avian Flu, Health monitoring, Natural Disaster, Early Detection

原著論文

2010名古屋COP10における 症候群サーベイランスの運用と評価

稲葉 静代¹ 大日 康史² 菅原 民枝² 近藤 晃³
宮治 有幸³ 谷口 清州² 岡部 信彦²

要旨 【目的】2010年10月に名古屋市において生物多様性条約第10回締約国会議（The tenth meeting of Conference of the Parties；COP10）が開催された。国際的な会議におけるバイオテロ等健康危機事案が発生した場合の早期対応のために、症候群サーベイランスの強化監視を実施し、実施主体が市町村となった場合の運用について検討することを目的とした。【方法】導入したのは、①感染症法に基づく疑似症定点サーベイランス、②救急搬送サーベイランス、③薬局サーベイランスとした。実施期間は、9月27日から11月12日までとした。疑似症定点サーベイランスは、疑似症（第1号）90カ所、疑似症（第2号）102カ所であった。救急搬送サーベイランスは、名古屋市内の救急隊36カ所で行った。薬局サーベイランスは名古屋市内の79薬局で実施された。強化監視の評価は、国立感染症研究所感染症情報センターと名古屋市で行った。期間終了後に救急隊員にアンケート調査を行った。【結果】強化監視期間中、関係機関に照会または調査を9回行った。疑似症定点の報告は1件あり、ウイルス培養の結果、検体からはウイルスは検出されなかった。救急搬送サーベイランスの対応は、照会をかけたのは計6回で地域集積性および年齢集積性は認められず、対応が必要であると判断される事例はなかった。薬局サーベイランスの対応は、疑似症の症例定義に合致する症例の有無について確認をしたのは2回であった。強化サーベイランス実施期間中は、幸いにも健康危機事案の発生は見られなかった。【考察】疑似症定点は法的根拠があること、医師による診断、異常を感知した後の対応がとりやすいことが長所であるが、周知が不十分であること、ゼロ報告をしないためベースラインがないという大きな課題がある。今回の届出例は、当該医師が十分理解していたことが、対応成功の基本にあったとも考えられる。救急搬送サーベイランスは、迅速な情報収集、全住民をカバーしていること、発生地域がわかることが長所であるが、入力作業の負担を伴った。薬局サーベイランスは、迅速で自動処理でき関係者の負担感はなく、データをもとにした保健所への照会等の対応に注力できたが、抗ウイルス薬以外は疾患を特定するまでには至らないことが課題であった。その他の成果として、市役所内（特に健康福祉局と消防局）の連携を強めることができたこと、健康福祉局内の健康危機管理マニュアルを再確認できたこと、イベント会場を管轄する地区だけの危機管理対応ではなく、全市域的な取り組みが現場職員への安心感につながったことの3点である。

I. 序 文

2010年10月に名古屋市において生物多様性条約第10回締約国会議（The tenth meeting of Conference of the Parties；COP10）が開催された。COP10は、各国政府関係者・国連関係者・NGOなどを含む大規模な国際会議で、約8,000名の参加が見

込まれて準備がなされた。この時期は、2009年から世界的発生が起り、第2波の到来が懸念されていたパンデミックインフルエンザ発生時期でもあった。このため、この国際的イベントへの健康危機管理対応（バイオテロ対策、新型インフルエンザ第2波および救急隊の安全対策）は、開催地として重要な課題であった。

これまでにこうした国際的な会議においての対応は、2000年アメリカでの同時多発テロ以来、諸外国では健康危機事案症候群サーベイランスが行われており、日本においても2000年沖縄サミット¹⁾、2002年日韓共同開催のワールドカップ²⁾、2008北海道洞爺湖サミット³⁾で行われてきた。

症候群サーベイランスは、「感染症及びバイオテロ対策として診断前の状況をもとに、感染症流行の早期探知を目的とするサーベイランス」のことで、診断に伴うサーベイランスよりも早い段階で症状を訴える人の件数の急増を探知することが

Operation and Evaluation of Enhanced Surveillance for COP10 at Nagoya in 2010

¹名古屋市健康福祉局 健康部

²国立感染症研究所 感染症情報センター

³名古屋市消防局 救急部救急課

著者連絡先：〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1

キーワード：症候群サーベイランス、COP10、健康監視、早期探知

受理日：2011年7月1日／採用日：2011年12月6日

可能であり、その結果早い段階での公衆衛生対応ができるものである^{4)~7)}。症状を訴えた段階なので、これまで医療機関での情報収集が行われてきたが、日本では学校⁸⁾、薬局⁹⁾、救急車搬送等¹⁰⁾での情報収集が行われている。

強化監視とは「政治的国際的なイベント時に期間を決めて強化監視すること」である。本稿では、名古屋COP10で実施した強化監視の実施状況について、実施主体が市町村となった場合の運用について検討することを目的とした。

II. 方法

導入した強化監視のサーベイランスは、①感染症法に基づく疑似症定点、②救急搬送サーベイランス、③薬局サーベイランスとした。感染症法に基づいて実施されている「感染症発生動向調査」は週単位および月単位で継続する体制は確保されていた。

強化監視の実施期間は、COP10開催2週間前の9月27日から閉会后2週間後の11月12日までとした。開催前2週間は、名古屋市のベースラインを測定するための期間として、開催中は健康危機管理事象を早期探知するための期間として、開催後の2週間は、各種感染症の潜伏期を考慮したモニタリングの期間として実施したものである。準備は6月より開始した。

1. 感染症法に基づく疑似症定点

これは報告のある時に随時医療機関から届けられるもので、2007年4月1日改正感染症法第14条に基づくもので、2~5類感染症の疑似症として届出を求める。2008年4月1日から本格実施された¹¹⁾。2010年は日本各地でAPECの会議が開催されることから、厚生労働省から通知¹²⁾が衛生主幹部に出された。報告基準は以下の2つで、①疑似症(第1号): 摂氏38度以上の発熱および呼吸器症状(明らかな外傷または器質的疾患に起因するものを除く)、②疑似症(第2号): 発熱および発しんまたは水疱となっている。この報告をする名古屋市内の医療機関は、2010年度は疑似症(第1号)90カ所、疑似症(第2号)102カ所であった。

疑似症定点の準備として、報告に遅滞のないように、名古屋市医師会を通じて定点医療機関に周知を図ることとし、定点医療機関から問い合わせがあった場合には管轄の保健所が対応するように調整を行った。

2. 救急搬送サーベイランス

これは、救急車搬送時の出動記録に記載された症状を集計する症候群サーベイランスの1つで、名古屋市消防局管内の全救急隊36カ所で行った。救急隊が発熱、呼吸器、下痢、嘔吐・嘔気、痙攣の症状を有する偽病者の搬送数を、救急隊ごとに手入力方式で、専用WEBサイトに期間中毎日入力した。解析は、ベースラインと比べて搬送件数が異常に多いかどうかを判定した。異常は、「搬送件数が大幅にベースラインを上回って、その確率が0.1%以下でしか起こらないような事案を高いレベル」と定義した。

3. 薬局サーベイランス

これは、処方せんに記載された薬剤を薬効別に集計した症候群サーベイランスの1つで、名古屋市内の79薬局(2010年9月27日時点)で実施した。2009年4月から国立感染症研究所感染症情報センターで全国運用を開始しており、今回のための特別な準備を要しなかった。院外薬局の処方状況から個人情報除外した処方件数が自動的に収集され、翌日午前7時にホームページに表示された⁹⁾。対象の薬効分類は、アシクロビル製剤、解熱鎮痛剤、総合感冒薬、抗生物質、抗インフルエンザウイルス薬とした。アシクロビル製剤と抗インフルエンザウイルス薬は0~14歳、15~64歳、65歳以上の年齢区分とした。アシクロビル製剤は、水痘および帯状疱疹の治療に用いられるが、天然痘ウイルスによるバイオテロが行われた場合には、処方数が増加すると予測される。解析は、ベースラインと比べて処方せん件数が異常に多いかどうかを判定した。異常は、「処方せん数が大幅にベースラインを上回って、その確率が0.1%以下でしか起こらないような事案を高いレベル」と定義した。

4. 強化監視の評価

評価は、国立感染症研究所感染症情報センターと名古屋市で行った。

5. 救急搬送サーベイランスの検討

期間終了後に救急隊員に対して、実施してよかった点と今後の改善点について自由記載調査を行い、そのまとめを行った。

III. 結果

1. 感染症法に基づく疑似症定点

報告は1件(疑似症〔第2号〕)あった。10月

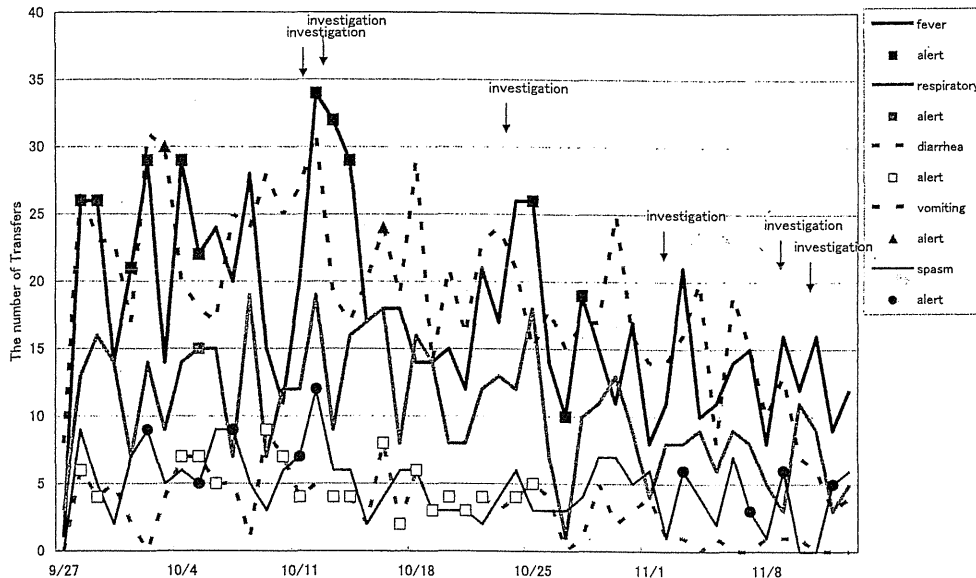


Fig. 1 The number of Transfers and Aberration Detection in Surveillance for Ambulance Transfer in Nagoya

30日で、守山保健所管内の医療機関より報告があった。患者は、54歳男性、ウイルス性発疹症（異型手足口病疑い）で、両手掌および足底に水疱と激しい疼痛、水疱膿疱が大きく重症の症状であった。発症日は、10月27日で、初診日および診断日は10月30日であった。推定される感染原因は、患者の娘が手足口病を発症しており、抗生物質投与されていた。対応は市役所から報告医療機関へ検体採取について依頼し、11月2日に咽頭ぬぐい液、水疱内容物 痂皮の検体を医師が採取し、管轄保健所が検体を名古屋市衛生研究所へ搬入した。細胞培養によるウイルス検査を衛生研究所が行った。12月20日3検体ともウイルスは検出されなかった。

2. 救急搬送サーベイランス

Fig. 1に期間中の搬送数と異常探知を示した。名古屋市全体で、9時の段階で高いレベルの異常探知は発熱で12回、呼吸苦1回、下痢19回、嘔気・嘔吐2回、痙攣9回であった。救急搬送記録について照会をかけたのは計6回ですべてにおいて、地域集積性および年齢集積性は認められなかった。対応が必要であると判断される事例はなかった。また、一部に誤入力があったが、回答時には修正されていた。

3. 薬局サーベイランス

Fig. 2に期間中を含めて4カ月分の名古屋市の抗インフルエンザウイルス薬処方数による推定患者数を示した。期間中は、抗インフルエンザウイ

ルス薬による処方の異常探知はみられなかった。その後、1月になってから2010/2011インフルエンザシーズンの流行が開始されたことがわかり、開催中はインフルエンザの流行はなかった。Fig. 3に期間中を含めて4カ月分のアシクロビル製剤処方数による推定患者数を示した。期間中は、アシクロビル製剤による処方の高レベルの異常探知はみられなかった。その後も同程度の処方数であり、ベースラインから大きな離れはなかったことがわかる。他の薬剤では解熱鎮痛剤単独と、解熱鎮痛剤・総合感冒薬・抗生物質での増加がみられた時に、当該区の感染症発生動向調査の結果を確認し、保健所を通じて管内の医療機関に対して、疑似症の症例定義に合致する症例の有無について確認をしたのは2回あった。2010年10月26日から27日天白区と、2010年11月10日から11日千種区に、区内の医療機関に問い合わせをし、異常がないことを確認した。健康危機対応事案につながるような現象は見受けられなかった。

4. 強化監視の評価

期間中毎日、感染症法に基づく疑似症定点、救急搬送サーベイランスおよび薬局サーベイランスのデータを取りまとめた。閉庁日も含めて毎日午前10時を目途に取りまとめたデータから国立感染症研究所感染症情報センターが日報を作成し強化監視の評価をした。全体統括は、名古屋市健康福祉局健康部1名、国立感染症研究所感染症情報センター2名で、期間中の評価体制は名古屋市1名、国立感染症研究所5名（うち事務局2名）で

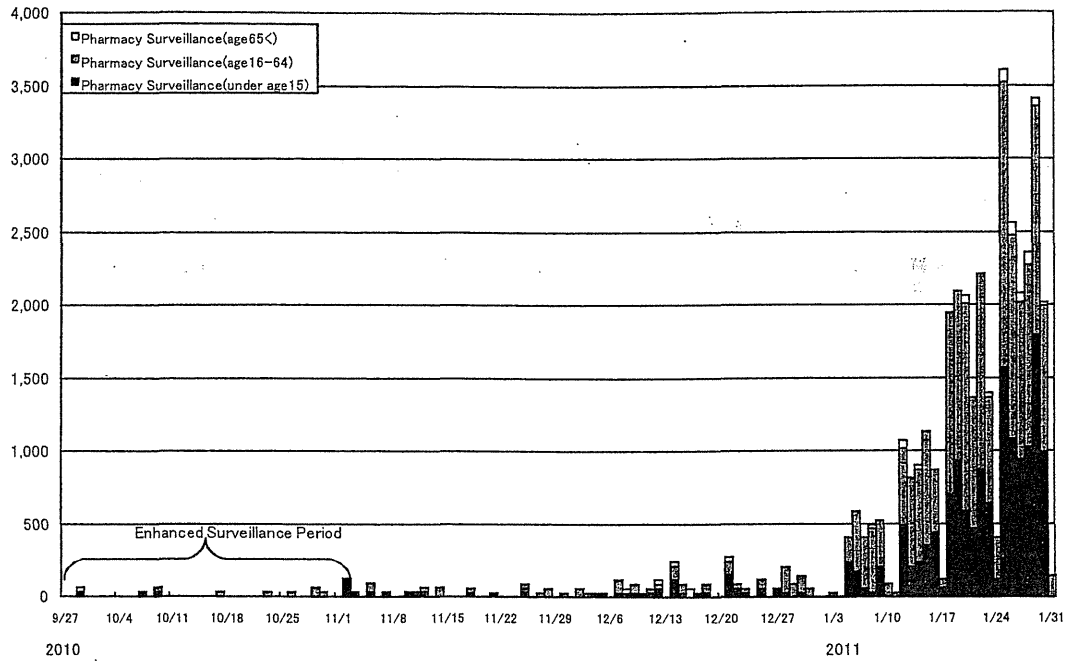


Fig. 2 The Estimated Number of Influenza Patients from the Number of Prescription of the Neuramitaze Inhibitor in the Surveillance for Prescriptions in Nagoya

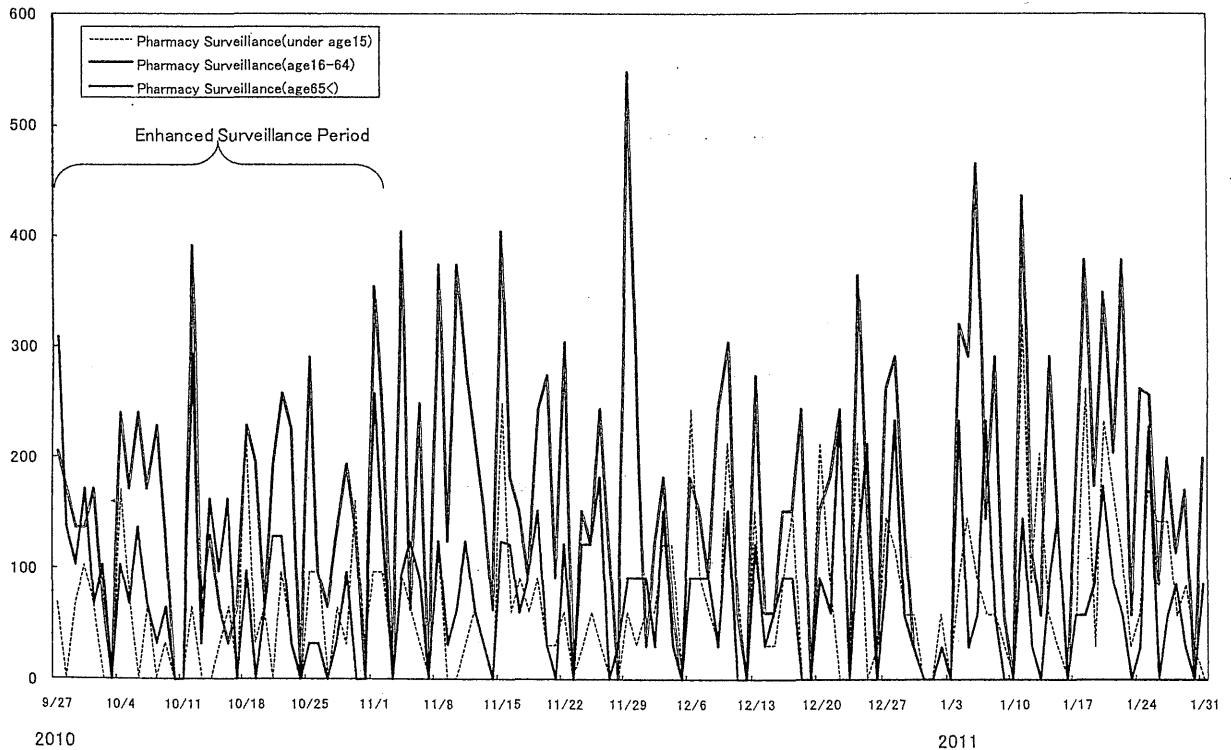


Fig. 3 The Estimated Number of Patients from the Number of Prescription of the Acyclovir Drug in the Surveillance for Prescriptions in Nagoya

実施した。事前打ち合わせは2回した。実施期間中は、特段の異常が探知されなければ日報作成および評価に30分、異常が探知された場合には情報収集の時間が必要とされた。

強化監視による異常探知の対応は、感染症法に

基づく疑似症定点が報告された時と、他2つのサーベイランスで高いレベルが表示されていた場合とした。対応は名古屋市健康福祉局健康増進課が市役所内関係部局、保健所、消防局救急対策室および管轄保健所を經由して医療機関等へ、詳細

な問い合わせをし、地域集積性および年齢集積性等、疫学的特徴について確認した。通常（異常が発生していない場合）は、これで終了となるが、「さらなる対応が必要」と判断した場合、追加調査および収集された情報からの現状分析を行うこととした。この問い合わせは9回あり、下記の内容を確かめた。

10/10：痙攣、下痢の患者、市内3区5件の救急搬送内容を確認したが、地域集積性および年齢集積性は認めなかった。

10/11：発熱、下痢の患者、市内7区19件の救急搬送内容を確認したが、地域集積性および年齢集積性は認めなかった。

10/24：発熱の患者、市内4区10件の救急搬送内容を確認したが、地域集積性および年齢集積性は認めなかった。

10/26～27：解熱鎮痛剤処方数増加、感染症週報および区内の感染症定点医療機関からの聞き取りをしたが、感染症の発生等見つけられず地域集積性および年齢集積性は認めなかった。

10/30：守山区から感染症法に基づく疑似症定点の報告あり、11/2 検体（咽頭ぬぐい液、水疱内容物、痂皮）採取し、組織培養によるウイルス検査をした。12/20検査結果判明、ウイルス検出されなかった。

11/2：痙攣の患者散発、市内2区4件の救急搬送内容を確認したが、地域集積性および年齢集積性は認めず、小児の発熱が多い傾向が認められた。

11/8：痙攣の患者、市内1区2件の救急搬送内容を確認したが、地域集積性および年齢集積性は認めなかった。

11/9：発熱の患者、市内1区4件の救急搬送内容を確認したが、地域集積性および年齢集積性は認めなかった。

11/9～11：千種区にて解熱鎮痛剤・総合感冒薬・抗生物質の処方数増加、保健所経由で、管轄区域内の感染症発生動向調査定点医療機関からの聞き取りをしたが、感染症の発生等見つけられず地域集積性および年齢集積性は認めなかった。

5. 救急搬送サーベイランスの検討

救急隊員による実施してよかった点と今後の改善点について記載内容を3点にまとめた。1つ目は「関係者の安心感」である。メイン会場を管轄する熱田区の救急隊員からは「生物テロ等の災害を懸念していたが、サーベイランスシステムの導入で安心して業務につくことができた」というコメントが寄せられた。2つ目は「他機関との連携

事例の経験」である。「他機関との連携により感染症監視体制の強化を図り、市民および救急隊員等の安全を資するという試みは有意義であった」というコメントが寄せられた。3つ目は「有事対応として必要」である。「疫学上、重要な調査であり、今後も続けていく必要があるのではないか。今後発生する恐れのある、健康危惧事象における対策としても有用である」というコメントが寄せられた。

一方、今後の改善についての意見については、救急活動に直接的に生かせなかったこと、救急活動においてその有効性が実感できなかったこと、数多くある救急事務処理に加え、新システムへの移行時期でもあり、入力負担であったこと、救急活動上および隊員の安全管理等に関連したフィードバックを望むこと、警告や注意が必要だということコメントが出されても、その後のフォローがわかりづらかったこと、などがあげられた。

IV. 考 察

2009/2010 インフルエンザシーズンの新型インフルエンザの流行の経験を通して、また天然痘ウイルスなどによるバイオテロに備えることは、住民の健康をまもる健康危機管理の上では最重要であり、感染症の兆候をいち早く捉えるサーベイランスは、欠かせない。従来研究成果から、個々のサーベイランスの特性を生かし、相互に補完して結果を解釈することでより質の高いサーベイランスになることが示唆されている⁷⁾。

今回、期間中健康危機事案は幸いにもみられなかった。これまで国が実施主体となって行った強化監視はあるが^{1)~3)}、市町村が実施主体となるのは今回が初めてであり、実施できたことが日本においては新しい発見となった。

感染症法に基づく疑似症定点は、届出基準があること、医師による診断であることであり、法に基づいているために、異常を感知した後の対応がとりやすいという利点がある。追加的なシステム構築や新たな事務経費等は発生せず、医師が診断して報告を行うため、特異度は高いことが期待されるが、一方の短所は、現場での周知が不十分であること、ゼロ報告をしないため発生していないということが日ごろから確認することができず、ベースラインがないという大きな課題がある。今回の届出例は、当該医師が目的を十分理解していたことが、対応成功の基本にあったとも考えられる。今後は、感染症法に基づく疑似症定点の目的が、眼前の患者の治療に直結はしないものの、公

衆衛生対応として意義あることをさらに医療機関に向けて周知していく必要があると考えられた。また、検体を搬送する保健所およびウイルス分離を行う衛生研究所の動きも円滑であり、このように関係機関の円滑な対応には、法的な位置づけが非常に重要であることを再確認できた。

救急搬送サーベイランスは、迅速な情報収集、全住民をカバーしていること、症状等の簡単な入力であること、発生地域がわかることが長所であるが、手入力方式を採用せざるをえなかったため、救急隊員の入力作業が発生し負担があった。今後の入力負担感を軽減する対策として、手入力を採用する場合には、十分な説明を行い、救急隊員が意義を理解し、入力した情報に対してのフィードバックがあることが必要と考えられた。今回は準備期間が短かったため説明会等の開催ができなかったが、業務にかかわる職員のモチベーションを維持するためには、このプロセスはできる限り省略するべきではないと考えられた。また入力WEBサイトでは、1時間ごとに解析結果が参照できるように組み込まれていたものの、その解析結果に基づく情報提供は十分に行われていなかった。フィードバックの内容を入力画面のトップ画面に入れるなど、作業に係る職員に徒労感が発生しないような工夫が重要であると考えられた。また、別の視点からの解決方法としては、出勤記録から自動的にデータを抽出し共有する方法であるが、次の出勤記録に関するシステムの更新時期を待って検討しなければならず、自動化については今後の課題である。また、救急活動に従事する職員の安全に寄与できた事例がなかったため、有効性が実感できなかったが、実施前の説明会等を開催したならば、救急隊員が好意的に理解できたのではないかと示唆された。

薬局サーベイランスは、抗ウイルス薬以外は疾患の特定は困難であるが、システム内で自動処理できる情報収集で負担感はなく、保健所への問い合わせ対応に担当者が注力できたのは利点であった。

強化監視の成果は3点あった。1点目は、市役所内（特に健康福祉局と消防局）の連携を強めることができたことがあげられる。これらは互いに市民の生命や健康をまもることを目的としている組織であるが、通常業務での直接的なかわり合いが少ないため、実施に向けての打ち合わせや説明会を開催することで、より連帯感が強まった。

2点目は、健康危機管理マニュアルを健康福祉局内で再確認できたことである。この種のマニュアルは行政では多く作成されているところである

が、「〇〇（健康危機事例を引き起こす原因）発生時マニュアル」等、原因が判明していることを前提とした対応マニュアルであることが多い。しかしながら、ある異変が健康危機事例に繋がるものか否かを見極めるための手順から想定されているものは意外に少ない。本稿で示したようなイベント開催時における強化監視は、これまで想定していた脆弱性を強化するための実証であり、その意義は大きいと考えられた。既存の「健康危機管理マニュアル」を健康福祉局内で再確認することができたことは、「健康危機事例の端緒」を把握することの難しさを関係者で共有できたという点で一定の成果は得られたと考える。本来ならば、それを踏まえた健康危機事案発生時の訓練を実施した上でCOP10に臨めればよかつたのであろうが、導入に向けての調整で時間的余裕がなかったのは残念であった。APECやサミットの対応のように国からの実施の通知が出されていれば、自治体内の動きはずいぶん違ったことが想定される。しかしながら、危機管理対応の任務にあたる者は、健康危機の知識や熱意はもちろん必要であるが、組織内の仕組みを熟知していること、組織内における信頼度など総合的な実力が求められ、組織にとってもその人選は重要な要素であることは再認識できた。

3点目は、COP10の会場を担当する救急隊員やCOP10事務局から「サーベイランスを実施してくれたおかげで、安心して任務につくことができた」というコメントが寄せられたことである。従来はイベント会場を管轄する地区だけでの危機管理対応になりがちであるが、全市域的な取り組みが現場職員への安心感を増加させる効果が表れていたのであった。自治体職員の業務が増加するなかで、新たな業務の導入についての実施は困難な場面も多く、特に危機管理対応は、誰もが実施したほうがよいと思う反面、「危機管理に費やす労力」と「危機が発生する頻度」とのバランスにより、導入の可否がシビアに判断される。例えば、症候群サーベイランスとして他の情報、学校欠席者情報収集システムや保育園欠席者発症者情報収集システムの導入も検討されたが、実現は難しく、学校や保育関係者と連携が図れなかったが、実施しなければ成果も得られないと思われた。

V. 結 論

COP10名古屋開催により、日常行われている薬局サーベイランスおよび感染症法に基づく疑似症定点に加え、名古屋市消防局救急搬送サーベ

ランスを実施し、強化監視の意義および課題等を明らかにした。また、早期探知された場合には直ちに名古屋市健康福祉局および名古屋市内の16保健所で現地調査を行うよう備えたが、幸いにも健康危機事案に該当するような感染症の発現はなかった。

本研究は、2010年度厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策研究事業「健康危機事象の早期探知システムの実用化に関する研究」(研究代表者：国立感染症研究所感染症情報センター大日康史)の研究成果の一環である。

文 献

- 1) 松井珠乃, 高橋央, 大山卓昭, 他: G8福岡・宮崎サミット2000に伴う症候群サーベイランスの評価. 感染症誌 2002; 76: 161-6.
- 2) 鈴木里和, 大山卓昭, 谷口清州, 他: 2002年FIFAワールドカップ開催に伴う感染症・症候群別サーベイランス. 病原微生物検出情報 2003; 24: 37-8.
- 3) 大日康史, 山口亮, 杉浦弘明, 他: 北海道洞爺湖サミットにおける症候群サーベイランスの実施. 感染症誌 2009; 84: 159-64.
- 4) Henning KJ: what is Syndromic Surveillance? MMWR 2004; 53 (Suppl): 7-11.
- 5) Buehler JW, Berkelman RL, Hartley DM, Peters CJ: Syndromic surveillance and bioterrorism-related epidemics. Emerg Infect Dis 2003; 9: 1197-204.
- 6) 大日康史, 杉浦弘明, 菅原民枝, 他: 症状における症候群サーベイランスのための基礎的研究. 感染症誌 2006; 80: 366-76.
- 7) 大日康史: 平成19-21年度厚生労働省科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業「地域での健康管理情報の早期探知, 行政機関も含めた情報共有システムの実証的研究」総合報告書.
- 8) 杉浦弘明, 秦正, 児玉和夫, 他: 学校欠席者情報システムを用いた新型インフルエンザに対する学級閉鎖の有効性. 学校保健研究 2010; 52: 214-8.
- 9) 菅原民枝, 大日康史, 川野原弘和, 他: 2009/2010インフルエンザパンデミックにおけるリアルタイム薬局サーベイランスとインフルエンザ推定患者数. 感染症学雑誌 2011; 85: 8-15.
- 10) 大日康史, 川口行彦, 菅原民枝, 他: 救急車搬送数による症候群サーベイランスのための基礎的研究. 日本救急医学会雑誌 2006; 17: 712-20.
- 11) 平成19年3月29日付 健発第0329005号「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律等の一部を改正する法律等の施行について(施行通知)」厚生労働省健康局長通知
- 12) 平成22年5月31日付 健感発0531第1号「2010年日本APEC首脳会議等開催に伴う感染症発生動向調査の徹底について」厚生労働省健康局結核感染症課長通知

病原体と遺伝子検査

呼吸器・消化器ウイルス

FUJIMOTO TSUGUTO

藤本嗣人

●国立感染症研究所感染症情報センター

要旨 呼吸器および消化器感染症などの病原体検査における分子生物学的検査は日常的に行われ、実験室診断における中心的な検査法となっている。呼吸器感染症、消化器感染症およびその両方を引き起こすウイルスについて、PCRを中心とした遺伝子増幅検査法が主要な検査法である。その基礎から応用までを包括的に概説した。

はじめに

病原体検査において、分子生物学的検査は必要不可欠なツールとなっている。呼吸器・消化器ウイルスについて1990年代の半ばまでは、培養細胞を利用したウイルス分離、ELISA等の抗原検出が中心であり、消化器ウイルスに関しては電子顕微鏡による観察が中心であった。消化器ウイルスに関して培養があまり使用されなかったのは、ノロウイルス〔当時は小型球形ウイルス(SRSV)〕、腸管アデノウイルスなどのウイルス分離が困難なためである。

1997年頃から、PCR (polymerase chain reaction) 法を中心とした分子生物学的検査が実験室レベルの検査法として導入され、多くの呼吸器・消化器ウイルス(図1)の検査に導入された。本稿ではその現状と課題について述べる。

1 呼吸器ウイルスの検査診断

●呼吸器感染症の起因ウイルス

季節によって流行状況が変動する。冬季のインフルエンザ、夏季のエンテロウイルスは典型例である。しかし、近年になって季節はずれの検出も

みられることが多く報告されるようになった。これはPCR法等の遺伝子検査が日常的に実施されているようになったことも関与しているものと思われる。新型インフルエンザが春季から夏季に流行したことにみられるように、新型のウイルスで出現当初は季節性がみられないこともある。

主要な起因ウイルスとしては、上記の他にRSウイルス、ヒトメタニューモウイルス、麻疹ウイルス、風疹ウイルス、ライノウイルス、コロナウイルス、アデノウイルス、パレコウイルスなどがあげられる¹⁾。

日本感染症学会・日本化学療法学会の『JAID/JSC 感染症治療ガイド2011』によると、気道性感染症を、①急性上気道炎〔上気道炎(普通感冒)、急性咽頭・扁桃炎、急性喉頭蓋炎〕、②インフルエンザ、③急性気管支炎、④小児の気道感染症等に分類している。

このうちウイルス性が主体なのは、上気道炎および小児の気道感染症であり、前者は咳、鼻汁、咽頭痛の3つを同程度に訴えることが多く、後者は発熱、鼻汁、咳が多い。いずれもウイルス感染と細菌感染の鑑別が重要とされる。

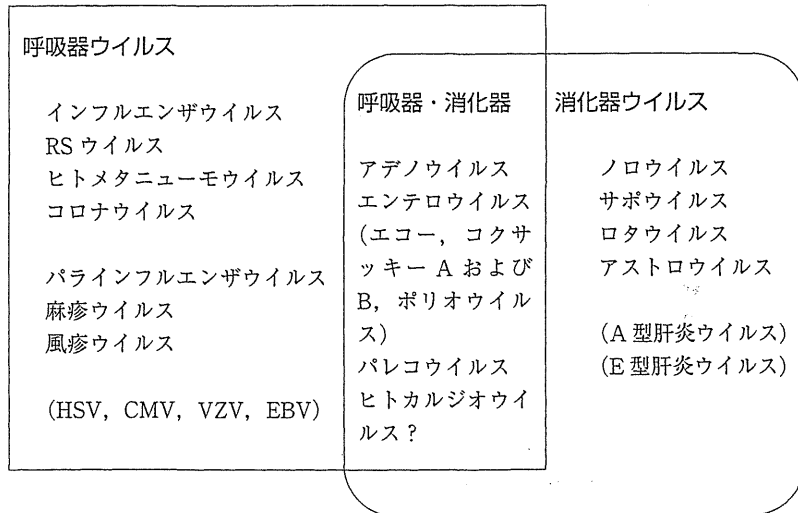


図1 呼吸器ウイルス，消化器ウイルスおよび呼吸器・消化器の両方に関与するウイルス

●臨床現場における呼吸器ウイルスの検出

呼吸器感染症において最もインパクトのある疾患はインフルエンザであり，医療現場では迅速診断キットが多用されている．また，小児科領域で重要なRSウイルス，アデノウイルスに関しても同様に迅速診断キットが用いられている．さらに，ヒトメタニューモウイルスに関するキットも入手可能になった²⁾．これらキットの検出感度は向上しつつあるが，PCR法等の分子生物学的な手法に対して60～90%程度である．

どのようなモノクローナル抗体を使用するかによって検出感度が変わる．また，銀増幅イムノクロマト法などが取り入れられ，感度の向上が図られている³⁾．

2 分子生物学的検査

●ウイルス性か細菌性か

呼吸器感染症においては，そもそも当該疾患がウイルス性か細菌性か自体が不明なことも多い．肺炎球菌が検出された場合などでは，それが常在性なのか起因菌なのか不明に終わることも多い．これは，抗生剤の適切な使用にも影響する問題であり，早期の分子生物学的な検査法の進歩と医療現場への浸透が将来的に医療を変えていくものと思われる．

●PCR—シークエンシング

PCRによる検査は高速かつ高感度であり，さらにその後の遺伝子配列の決定により型別や系統樹解析ができるので，有用である．麻疹ウイルスは撲滅計画の最終段階にあり，その検出同定をPCRで行っている．それにより，検出された麻疹ウイルスが国内症例なのか輸入症例なのかがわかる段階にまで達している．

●ゲノム情報の活用

ウイルスにおいて，ゲノム情報は，①ウイルスの同定，②ウイルスの分子疫学（前述の麻疹の例など），③ウイルスの病原性の判定（ポリオウイルスにおける野生株とワクチン株など），④ウイルスの薬剤耐性の判定（インフルエンザウイルスのタミフル耐性など）に有用である．

3 消化器感染症の検査診断

●消化器感染症の起因ウイルス

ノロウイルスによる冬季の下痢症感染症の多発はよく知られている．また，小児におけるロタウイルスは重症化しやすく，そのワクチンが2011年に承認され，生後6～24週までを対象に接種可能となった．アデノウイルスも乳幼児を中心に下痢症を引き起こしている．その他，アストロウイ

ルス、サポウイルス等のウイルスも下痢症を引き起こす。A型肝炎およびE型肝炎ウイルスも経口感染するが、これらは肝炎の起因ウイルスである。

●臨床現場における消化器ウイルスの検出

ノロウイルス、ロタウイルスおよびアデノウイルスについて、迅速診断キットが市販されている。それぞれを単独で検出するキットに加えて、ロタウイルスとアデノウイルスを同時に検査できるキットも市販されている。

●呼吸器感染症と消化器感染症のいずれも引き起こすウイルス

アデノウイルスは、呼吸器感染症および消化器感染症のいずれも引き起こす。エンテロウイルス、パレコウイルスもいずれの疾患も引き起こす。パレコウイルスは、エンテロウイルス属に分類されていたエコーウイルス22型およびエコーウイルス23型がウイルス学的特徴から、1999年にパレコウイルス属とされたもので、それぞれパレコウイルス1型および2型とされた。現在少なくとも6型まで報告されている⁴⁾。

●分子生物学的検査

分子生物学的な検査として、PCR検査が中心的に行われている。呼吸器ウイルスよりも起因ウイルスの種類が少ない。

糞便中や食品中のウイルスを検出する必要があるが、一般的にPCR法に使用されているDNAポリメラーゼは、サンプルに含まれる夾雑物によって強く反応が阻害される。糞便をPBSバッファーで10%になるよう攪拌して乳剤とした後、低速遠心した上清を10,000~12,000rpmで20分間冷却遠心した後の上清から、RNAを抽出している。

阻害物質の影響を受けにくいPCRキットも発売されていて、検体からのゲノム抽出を不要とするPCRキットもある⁵⁾。

●遺伝子増幅検査法

臨床検体中の病原体遺伝子は、耐熱性DNAポリメラーゼを使用した方法が用いられており、温度を上下させる必要があるか、恒温で反応させるかによって分類することもできる。温度変化(高温、低温)を要するのはPCR法などであり、恒温(65℃など)で反応するのはloop-mediated isothermal amplification (LAMP)法などである。

ウイルスは、アデノウイルスやヘルペスウイルスなどのDNAを遺伝子として持つDNAウイルスより、RNAを遺伝子として持つインフルエンザウイルス、エンテロウイルスなどのRNAウイルスの方が種類が多い。

RNAウイルスの検出には逆転写反応(reverse transcription: RT)後にPCRを実施するRT-PCRが実施されている。LAMP反応においても逆転写反応を加えることによりRNAウイルスの増幅・検出が可能である。

その他、様々な遺伝子増幅検査法が開発されている(蛍光マイクロビーズアレイ法、網羅的遺伝子検査法、次世代シーケンサー⁶⁾による検査など)。

4 DNAポリメラーゼの改良と反応阻害物質の克服

●ポリメラーゼの改良(一般論として)

ポリメラーゼの種類によって、これらの反応は大きく影響を受けている。現在までに6種類のDNA依存性ポリメラーゼ(family A, B, C, D, XおよびY)が知られている。このうち、ファミリーAおよびBが分子生物学的に重要なツールになっている。

ファミリーA(Pol I型)には、*Taq* DNA polymerase(以下、*Taq*)に代表される好熱細菌から分離されたポリメラーゼのグループであり、ファミリーB(*a*型)はvent DNA polymeraseに代表される正確性が高い酵素である。

ファミリーB(*a*型)は、DNA伸張反応の正確性が高い。これは3'→5'エキソヌクレアーゼ活

性を有するため間違っ取り込んだ塩基を除去・修復することができるためである。ところが、この活性が強いことはDNAの伸張効率（速度）を落とす要因となる。

両者の欠点を補うため、適切な比率でブレンドした酵素が市販され、多用されている。しかし、近年はファミリーB（ α 型）であるにもかかわらず、伸張反応の速い酵素が入手可能である〔例えば、PrimeSTAR[®] GXL DNAポリメラーゼ（タカラバイオ）など〕。

●臨床検体中の阻害物質克服

臨床検体中には阻害物質が含まれ、PCR反応が阻害される場合がある。特に糞便検体および全血検体の場合にその傾向が強い。このため阻害物質に強いPCR反応系が、前述のとおり開発され市販されている。Ampdirect[®]（島津製作所）やMightyAMP[®] DNA polymerase（タカラバイオ）が、検体の精製なしにPCRができる酵素系として市販されている。

◆5 検体の採取と輸送

●検体採取時期

一般的に、発症後、速やかに採取することで検出率が上がる。インフルエンザの迅速診断キットで発症後の早期に結果が陰性になることが知られている。しかし、インフルエンザにおいてみられるこの現象より、ウイルス検査用の検体採取時期が遅すぎたために適切な検査ができない場合の方がはるかに多い。特に実験室診断用の検体においては、検体採取の時期が早すぎる問題より遅すぎる問題の方が多⁷⁾。

消化器感染症の場合などで、糞便中に長期間にわたり排泄されるという表現がなされることがあるが、それは病原体の感染リスクを示すもので、長期間にわたり検体が採取できることを示すものではない。

●採取検体の種類

呼吸器感染症の場合は、咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液などを専用の綿棒（swab）を用いて、専用のウイルス保存液〔UTM（Copan）〕等を用いて採取・保存する。

消化器感染症の場合は糞便を、そのまま密封できる容器に入れて漏れないようにする。細菌用のCary-Blair等のアガロースが入った採取容器は、PCRおよびウイルス分離を阻害するので使用できない。

●病原体検査にかかわる検体管理・搬送・輸送

近年まで、臨床検体の輸送は病原体の輸送と比較すると容易であった。しかし、近年は臨床検体の輸送が厳しくなりつつある。このような状況は米国における炭疽菌テロ事件以後に発生した。この数年に病原体を含む可能性がある検体輸送はさらに厳しくなりつつあるので、輸送に関しては受け取り側とよく確認しておく必要がある。

◆6 感染症発生動向調査における流行の把握

国立感染症研究所では、全国の定点医療機関および地方衛生研究所等の協力のもと、感染症の流行を把握している。図2は2012年の風疹の流行を示す。呼吸器感染症といっても、妊婦が妊娠初期に風疹に罹患して、新生児に先天性風疹症候群（congenital rubella syndrome：CRS）がみられることがある。

CRSは、母子感染後の出生者に主な障害として眼疾患（白内障、緑内障、網膜症、小眼球）、耳疾患（高度難聴）、心臓疾患（動脈管開存症、心房中隔欠損、心室中隔欠損など）の3大障害がみられるものである。

風疹のようにワクチンで予防できる疾患は、積極的にワクチンを受けて、周りに感染させないことも重要である。本人は軽症であっても、周りに重篤な影響を及ぼすことがある。

感染症発生動向調査（国立感染症研究所感染症

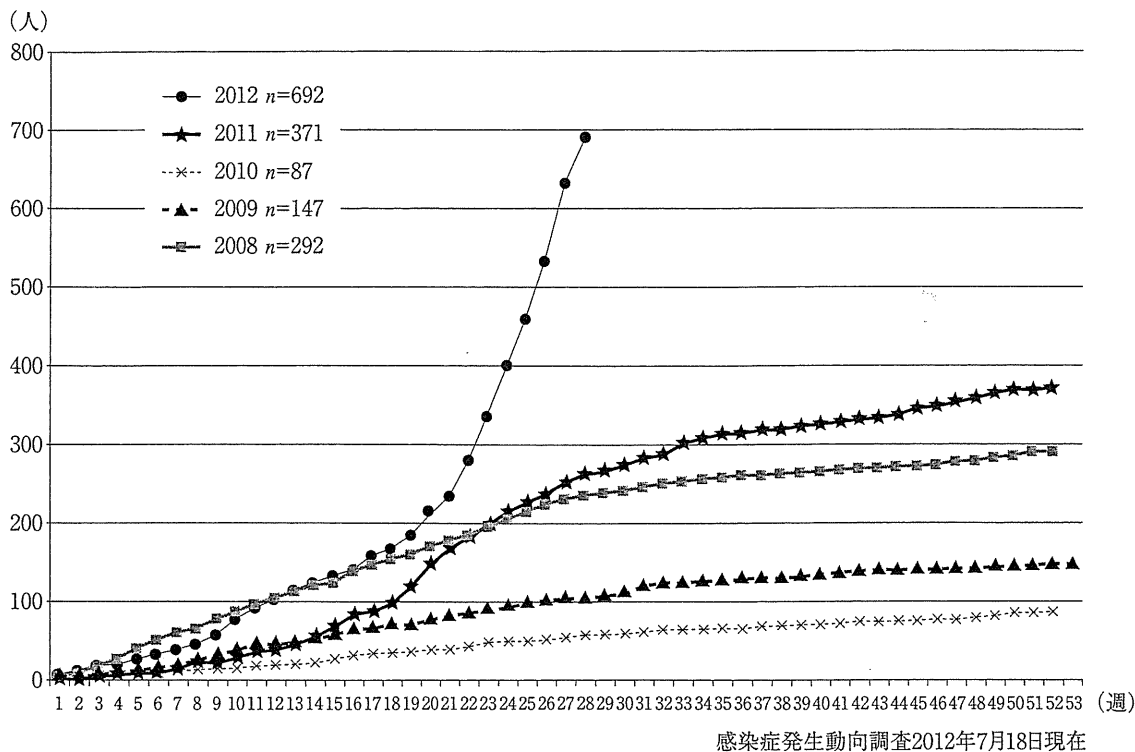


図2 風疹累積報告数の推移 (2008~2012年28週)
 2012年に風疹の全国的な流行がみられている (第17週から急増している)

情報センターのホームページで公開)は、どのような疾患が流行しているのかを知るうえで役立つ(図2)ので参照していただければ幸いです。

風疹の検査においても、PCRによる確認検査が最も信頼できる手法として使用されており、類似の疾患との鑑別に役立っている。分子生物学的検査法は、強力な公衆衛生のためのツールとしてこれからも発展し続けるであろう。

文 献

- 1) 堤 裕幸：風邪の全体像. 臨床とウイルス 34 : 391-395, 2006.
- 2) 高尾信一：RSウイルス, ヒト・メタニューモウイルス. 臨床とウイルス 40 : 124-133, 2012.
- 3) 清水英明：高感度イムノクロマト法によるウイルス検査. 臨床とウイルス 40 : 2012 (印刷中).
- 4) 伊藤 雅, 山下照夫, 皆川洋子：ヒトパレコウイルス (Human Parechovirus : HPeV) 感染症. モダンメディア 53 : 329-336, 2007.
- 5) Nishimura N, Nakayama H, Yoshizumi S *et al.* : Detection of noroviruses in fecal specimens by direct RT-PCR without RNA purification. *J Virol Methods* 163 : 282-286, 2010.
- 6) Ronaghi M, Karamohamed S, Pettersson B *et al.* : Real-time DNA sequencing using detection of pyrophosphate release. *Anal Biochem* 242 : 84-89, 1996.
- 7) 藤本嗣人, 花岡 希, 谷口清州ほか：ウイルス感染症のための検体採取 10 原則. 小児科 52 : 471-475, 2011.

* * *

日常の実験手法となった Polymerase chain reaction (PCR) と電気泳動の進展：超高速 PCR (Hyper-PCR) および Microcapillary Electrophoresis (MultiNA)

藤本 嗣人, 花岡 希, 小長谷昌未 国立感染症研究所 感染症情報センター

〔論文要旨〕

PCR は実験室において日常的なありふれた検査法となっている。しかし、PCR の一連の反応過程において未だ改良すべき点がある。PCR の一連の過程を概説するとともに、その改良の流れを、我々が研究（および検査）で使用している超高速 PCR 法 (Hyper-PCR) およびマイクロチップ電気泳動法 (MultiNA) について概説した。PCR の過程は臨床検体からのウイルスゲノムの抽出からはじまり、その検出およびゲノム解析までの一連の流れの中でとらえられるべきである。そして、各過程において様々な工夫がなされその技術が進展している。機器および試薬の進歩が PCR の改良につながり、その所要時間短縮および高精度化に役立つものと考えられる。

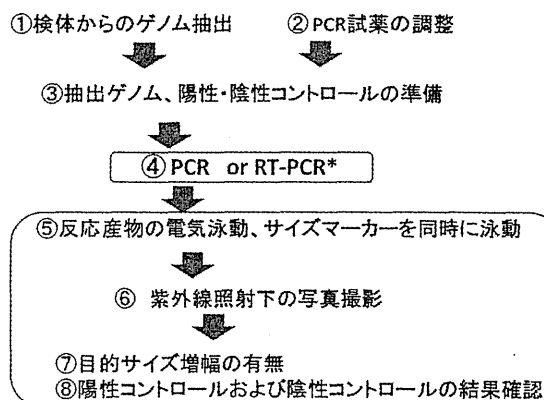
1. はじめに

ウイルス検査法として、様々な遺伝子増幅検査法が使用されている。その中で Polymerase chain reaction (PCR) は古典的かつ中心的な手法となり、その後の塩基配列の決定により多くの情報を得ることが出来る。

汎用性および迅速性の点から PCR は大変優れたツールである。PCR の増幅を確認する手法として電気泳動は重要な手法であり、アガロースやアクリルアミドなどを使用した手法が広く実施されている。

PCR およびそれに続く電気泳動は実験室検査法として汎用されているものの、それを臨床検体からの病原体の検出に適用するためには図1のとおり多くの過程を要する。

本稿では、それぞれの過程について改良され続けている現状を著者の知りうる範囲でまとめた。



* Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

図1 病原体検査における古典的な PCR 法

本稿は、図1の④のPCR(系によって異なるが通常2時間以上を要する)の所要時間を15分程度に短縮したHyper-PCRについて記述する。

一概に、PCRと言っても使用する酵素、プライマー、温度条件、機器などによって感度や

Progress in polymerase chain reaction and electrophoresis : Ultra-high speed PCR (Hyper-PCR) and Microcapillary Electrophoresis (MultiNA)

Tsuguto FUJIMOTO, Nozomu HANAOKA, Masami KONAGAYA, National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjyuku-ku, Tokyo 162-8640

別刷請求先：藤本嗣人 〒162-8640 東京都新宿区戸山1-23-1

Tel : 03-5285-1111 Fax : 03-5285-1129 E-mail : fujimo-t@nih.go.jp

特異度が異なる。本稿では超高速 PCR である Hyper-PCR 以外の様々な polymerase chain reaction を PCR と呼称する。Hyper-PCR はリアルタイム PCR としても使用できるが、高速の PCR と位置づけた。機器の進歩は検査技術の進歩に大きく貢献する。

ヘルペスウイルス、アデノウイルス、パピローマウイルスなどの DNA ウイルス以外、多くのウイルスは RNA をゲノムとして持つため PCR の前に RNA を DNA に翻訳する Reverse Transcription (逆転写, RT) を行った後に PCR を実施する。この反応 (RT-PCR) についても様々な酵素や反応条件が使用されている。

RT と Hyper-PCR を連続的に実施する RT-Hyper-PCR (所要時間 20 分程度) についても概説する。

また、図 1 の⑤～⑧の過程を自動化したマイクロキャピラリー電気泳動法 (本稿ではマイクロチップ電気泳動, MultiNA) についても概説する。

2. 臨床検体の採取・保存

図 1 に示した一連の PCR の前段階として検体が適切に採取されるべきである¹⁾。本稿では病原診断法の進歩について述べるため、臨床検体の採取の詳細については述べない。しかし、病原体診断のために適切な時期に、適切な部位から、適切な手技で検体が採取され、その検体が検査されるまで、適切に保存および輸送されることは重要である。

3. PCR の前段階

3-1. ゲノム抽出

図 1 の①の検体からのゲノム抽出について、RNA ウイルス用、DNA ウイルス用あるいはいずれのウイルスにも対応したキットが発売されている。キットにより PCR の結果に差が見られる場合もある²⁾。検体からゲノム抽出をしないで PCR 反応ができる系も市販されている。例として、Ampdirect (島津製作所)^{3,4)} や Mighty AMP DNA polymerase (TaKaRa) が検体の精製なしに PCR ができる酵素系として市販されている。

検体からのゲノム抽出過程を、微量ウイルス

の濃縮に用いる方法もある。たとえば、PureLink viral RNA/DNA mini kit (ライフテクノロジーズ ジャパン) は、ゲノム抽出の過程を用いて、髄液、血清、尿など (細胞が無い状態) に含まれる微量ウイルスの DNA や RNA を最大で 50 倍濃縮できるキットとして市販されている (ウイルスそのものを濃縮するものでない)。

ゲノム抽出には①出来るだけ簡易化する手法の開発、②微量ゲノムの濃縮、③保存性の向上: 例えば抽出ゲノムの室温保存ができることなど様々な方向性で検討されている。

3-2. 試薬の調整

試薬調整の過程は、できるだけ必要な操作が少ないことが望ましい。そのためプライマー、抽出されたゲノム (テンプレート)、および水を加えるだけで PCR を行うことが出来る凍結乾燥された製品も市販されている。乾燥品を開封した場合、吸湿して失活することを避けるため、デシケーター内に保存して出来るだけ早く使い切るべきである。

PCR 用試薬やプライマーおよび水が過去の PCR 産物や陽性コントロールに汚染された場合に誤った結果が得られる。そのようなコンタミネーションを防ぐため、試薬調整の部屋や器具器材と PCR 後の電気泳動等 (反応容器をあける行為を行う) の場所とを完全に分けるべきである。コンタミネーションによる誤った結果は検査の信頼性を大きく低下させるので陽性コントロールは検体中の陽性と区別が出来ることなどの工夫が必要と思われる。

4. Hyper-PCR

4-1. 機器

Hyper-PCR は超高速 PCR としての概念でトラストメディカル (加西市) と国立感染症研究所の共同研究で開発・改良され続けている技術である。Hyper-PCR はサーマルサイクラー (MK-III および MK-IV, トラストメディカル) の名前にも冠された。

Hyper-PCR MK-IV は、単純にいうと等速で回転する CD 様の円盤中の穴 (シールで封入する) の中で PCR 反応が進む。CD が等速で 1 回転する間に、高温、低温、中温の熱源に接触するので、1 回転で 1 反応が終わる (図 2)。