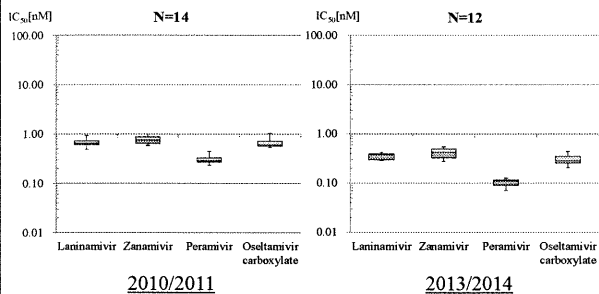
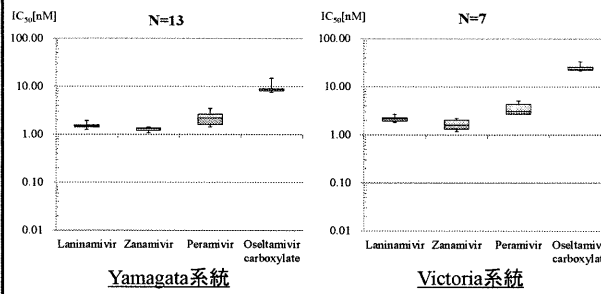


資料1-1. 治療前の鼻腔吸引液中から検出されたA型/H1N1pdm09ウイルスの薬剤感受性



資料1-2. 治療前の鼻腔吸引液中から検出されたB型ウイルスの薬剤感受性



2010/2011

2012/2014

Yamagata系統

Victoria系統

資料1-3. 2013/2014シーズンインフルエンザ迅速検査キットの精度

ウイルス分離・同定

	A型	B型	陰性	計
A型	7	0	0	7
B型	0	12	0	12
陰性	8	8	36	52
計	15	20	36	71

感度
A型: 7/15=46.7%
B型: 12/20=60.0%

特異度: 36/36=100%

的中率
A型: 7/7=100%
B型: 12/12=100%
陰性: 36/52=69.2%

*迅速診断キット: A社製

*ウイルス分離・同定: 「第一三共株式会社 ワクチン事業部研究グループ」による

資料1-4. 2014/2015シーズンインフルエンザ迅速検査キットの精度

PCR法

	A型	B型	陰性	計
A型	28	0	1	29
B型	0	0	0	0
陰性	14	1	29	44
計	42	1	30	73

感度
A型: 28/42=66.7%
B型: 0/1=0%

特異度: 29/30=96.7%

的中率
A型: 28/29=96.6%
B型: (未検出)
陰性: 29/44=65.9%

迅速診断

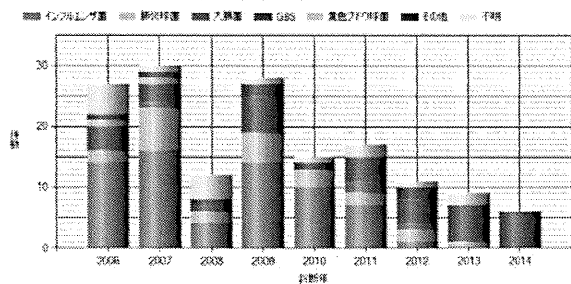
*迅速診断キット: A社製

*ウイルス解析: 「第一三共株式会社 ワクチン事業部研究グループ」による

*PCR法で判明したA型は、すべてH3N2

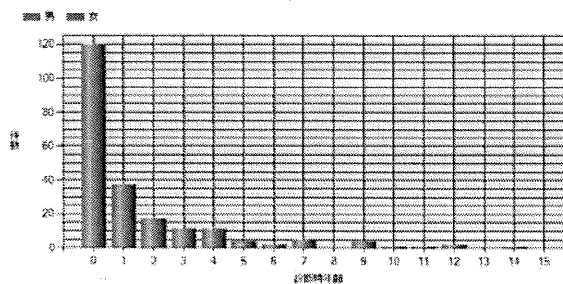
資料2-1. 静岡県内における小児細菌性髄膜炎サーベイランス

診断年齢別分離菌別発症件数

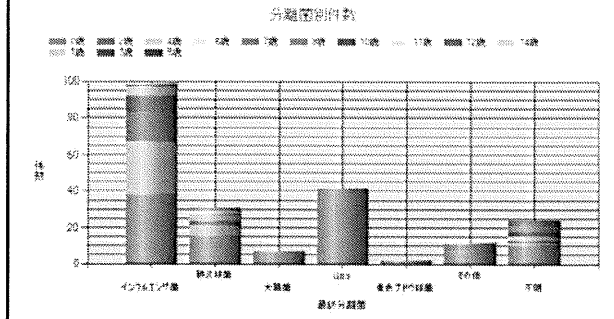


資料2-2. 静岡県内における小児細菌性髄膜炎サーベイランス

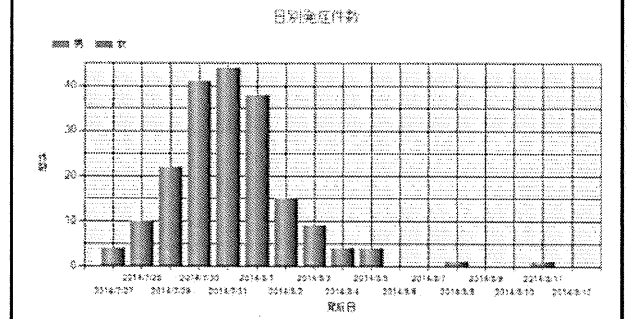
診断年齢別発症件数



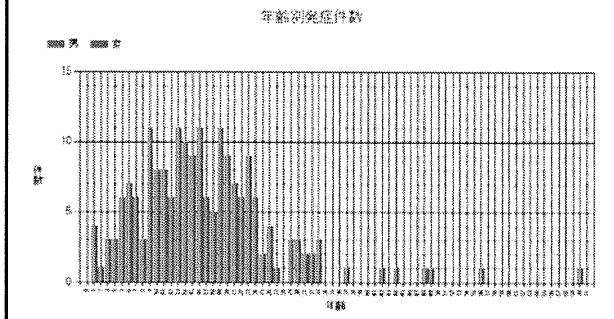
資料2-3. 静岡県内における
小児細菌性髄膜炎サーベイランス



資料3-1. 平成26年夏 静岡県内での
病原性大腸菌O157の集団食中毒におけるサーベイランス



資料3-2. 平成26年夏 静岡県内での
病原性大腸菌O157の集団食中毒におけるサーベイランス



資料4. マイコプラズマ抗原迅速検査キットの
有用性の検討: 179例(陽性例30例)

[年齢] 全体: 5.5±3.1歳、陽性例: 7.5±3.0歳

		PCR法			PCR法			PCR法						
		+	-	計	+	-	計	+	-	計				
プライム チェック	+	7	1	8	リボ テスト	+	22	14	36	LAMP 法	+	26	0	26
	-	23	148	171		-	8	135	143		-	4	149	153
	計	30	149	179		計	30	149	179		計	30	149	179

感度: 7/30 = 23.3% 感度: 22/30 = 73.3% 感度: 26/30 = 86.7%
 特異度: 148/149 = 99.3% 特異度: 135/149 = 90.6% 特異度: 149/149 = 100.0%
 有効度: 155/179 = 86.6% 有効度: 157/179 = 87.7% 有効度: 131/135 = 97.0%

PCR法: 川崎医大 小児科にて

平成 26 年度厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）「自然災害時を含めた感染症サーベイランスの強化・向上に関する研究」
（研究代表者：松井珠乃） 分担研究報告書

「本邦における 2014-2015 年シーズンの RS ウイルスの流行疫学」
分担研究者 齋藤玲子

新潟大学大学院医歯学総合研究科国際保健学分野

研究協力者：日比野亮信

八神錬

近藤大貴

菖蒲川由郷（新潟大学大学院医歯学総合研究科国際保健学分野）、

鈴木宏（新潟青陵大学）

研究要旨

2014-2015 年シーズンに、日本各地から採取した臨床検体より RS ウイルス（RSV）を PCR 法により検出し、A、B 血清型（以後 A、B と記載）を決定した。全国 9 都府県の小児科医療機関（外来と入院）から、臨床検体計 119 件を調査した。119 件中 114 件（95.8%）が PCR 陽性で、A 型 83 件（72.8%）、B 型 31 件（27.2%）と全国的に A 型優位の流行であった。

RSV 罹患児 10 名（A 型 5 名、B 型 5 名）について熱経過とウイルゲノム量の関係を調べた。初診時の平均体温は 38.2°C、37.5 度以上の発熱が続いた平均日数（有熱期間）は 3.9 ± 1.5 日であった。発症早期にあたる、発症日～2 日後の平均ウイルス量は $10^{5.3}$ copy/μl で、発症日から 5-7 日後のウイルス量の平均は $10^{3.62}$ copy/μl と低下していた。解熱後もウイルスは 1-2 日程度検出される傾向にあった。

A. 研究目的

RSV はいわゆる「かぜ」を引き起こす急性呼吸器感染症ウイルスの一つであるが、乳児では細気管支炎、肺炎や無呼吸など重篤な症状を引き起こす。本邦でも、2003 年より感染症発生動向調査の 5 類定点疾患として、RSV 疫学サーベイランスが開始され、季節性などの特徴が明らかにされつつある。しかし、病原体サーベイランスは未だ十分ではない。我々は、2012 年から、全国各地の小児科医と協力し、本邦における RSV の流行株に関する分子疫学的動向の調査を行っている。今回は、2014-2015 年シーズンの結果を報告する。

B. 研究方法

2014 年 10 月から 2015 年 1 月（2014-15 年シーズン）に 9 地域（北海道、青森、新潟、東京、静岡、三重、滋賀、熊本、沖縄）、9 医療機関（小児科）に、急性呼吸器症状を呈して受診した小児に対し、十分なインフォームドコンセントを得た上で、主治医が小児の鼻腔ぬぐい、または鼻腔吸引液を採取し、RSV 迅速診断キットによるスクリーニングを行った。キットで RSV 陽性の場合、性、年齢、発症日、受診日、受診時の体温や症状について記録し、検体は、ウイルス輸送培地に保存した。保護者に依頼し、1 日 3 回の体温測定と、咳、鼻水などの症状を 8 日間記録してもらった。初診から 4-5 日後に

経過観察のために再受診してもらい、その際、鼻腔検体を採取しウイルス輸送培地に保存した。採取された検体は、新潟大学に輸送後、臨床検体から RNA を抽出し、F 蛋白をターゲットとしたコンベンショナル PCR により、A、B 血清型（以後 A、B と記載）を判定した。同じ検体を用い、M 蛋白をターゲットとしたプライマーとプローブを用いて、TaqMan 法によるリアルタイム PCR により、ウイルスゲノム量の定量を行った。

（倫理面への配慮）

本調査においては、検体採取と患者情報聴取に当たって、各医療機関にて患者及保護者に十分な説明を行い保護者から承諾書を取得した。調査については新潟大学医学部倫理委員会にて承認を受けた。

C. 研究結果

RSV 検体の収集状況

2014-15 年シーズンに 9 地域(北海道、青森、新潟、東京、静岡、滋賀、三重、熊本、沖縄)の小児科医療機関で 114 件の迅速キットで RSV 陽性の検体が採取された。(2015 年 1 月 30 日現在、図 1)。

A、B 血清型別の全国的、地域的動向

2014-15 シーズンには、PCR 陽性臨床検体 114 件のうち、A が 83 件 (72.8%) で、B が 31 件 (27.2%) であり、A の割合が高かった(図 1)。地域別には、青森を除くすべての地域で A 型優位の流行であった。しかし、A と B の割合は各地域で異なっていた。PCR 陽性例の平均年齢は 1.3 才であった。

RSV 罹患児の熱経過とウイルス量

2014-2015 年に外来で経過観察を行った RSV 罹患児 10 名 (A 型 5 名、B 型 5 名) について熱経過とウイルスゲノム量の関係を調べた。発症日を基準として、一日の最高体温を日ごとにプロットし、リアルタイム PCR で検出したウイルスゲノム量と比較した(図 2)。初診時の平均体温は 38.2°C、呼吸数は 42.5 回/分、SpO₂ は 97.4 であった。37.5 度以上の発熱が続いた平均日数(有熱期間)は 3.9±1.5 日で、中央値は 4 日であった。A 型の有熱期間は 4.2 日で、B 型は 3.6 日とやや A 型の方が有熱期間は長かったが、統計的な有意差は見られなかった。

ウイルス検体は、初診時と再診時の 2 回採取された。全ての症例で初診時のウイルス量が高く、日にちが経過すると低くなった。発症早期にあたる、発症日～2 日後の平均ウイルス量は 10^{5.3} copy/μl であった。発症日から 5-7 日後のウイルス量の平均は 10^{3.6} copy/μl と低下していた。発症 5, 8, 9 日後に陰性化していたのはいずれも B 型であった。解熱後もウイルスは 1-2 日程度検出される傾向にあった。

D. 考察

当教室では 2012-2013 年シーズン以降、全国各地の小児科医に協力を得て RSV の病原体調査を行ってきた。3 年目にあたる今年度は 9 地域の医療機関で調査を実施し、100 件以上の RSV 陽性検体を集め、PCR 法を用いて各地で流行した RSV の血清型別を明らかにした。

今シーズンは A 型優位の流行を示す地域が多かった。一方で前シーズンは、B 型優位

の流行をしめす地域が多数であった。他の研究者も報告しているように、RSVは1年ごとにA型、B型の交互の流行になる傾向がある。RSVではそれぞれの血清型に対する免疫が初感染で獲得されるため、再感染の際は異なる型に感染することが多いと言われる。交互流行をしめす原因は、個人として再感染の際に違う型に感染するためなのか、あるいは、前シーズンに流行した型に対する集団免疫が獲得されているためなのか、まだはっきりしていない。今回我々の調査では、再感染例について確認していないので、今後調査が必要である。

新しい試みとして、保護者に自宅で記録してもらうことで外来の臨床経過を約1週間追跡し、さらにウイルスを経過中二回サンプリングして、ウイルス量の推移をみる事ができた。RSV罹患児の初診時体温は平均38.2℃と高く、呼吸数も1分間40回以上に上昇している。さらに、37.5℃以上の有熱期間は発症日から約4日間続き、8日間の観察期間の最後までほとんどの児で咳の症状が続いた。我々の調査したRSV罹患児は特に基礎疾患はなくもともと健常児である。保護者にとってもRSVは出生後ほぼはじめての「かぜ」であり、前の日まで元気だったのに急に高熱や鼻水や咳がでて、驚いて小児科を受診すると考えられる。その一方で、インフルエンザはNA阻害剤による治療ができるため、平均解熱期間が2-3日程度になっていることを考えると、RSVはかなり重症感のあるウイルス感染症であると言える。

今回の調査でRSV罹患児のウイルス量は、経過と共に低下していったが、解熱後も

ウイルス排泄が1-2日程度長く続くことが示唆された。インフルエンザでも幼児児ではウイルス排泄が1週間程度続くとされ、RSVでも同様のウイルス排泄期間をもつと考えられた。今後は、個人あたりのサンプリングの回数を増し、さらに詳細なウイルス動態を把握し臨床症状と比較したいと考えている。

E. 結論

我々は2014-2015年シーズンに、全国各地の小児科医の協力を得て、RSVの病原体解析を行った。今年度は、新しい調査として、RSV罹患児の解熱とウイルス排泄の期間の調査を追加した。RSVは、しばしば、乳幼児に気管支炎・細気管支や肺炎を起こし、重症化する。しかし、ワクチンも、治療薬もなく、対処療法のみである。発症予防には、抗体予防薬のパリビズマブが使われるが、高価であるため、適応症例に限られ、全ての児に投与できるわけではない。しかし、世界的には、治療薬やワクチンの開発が急ピッチで進んでいる。それらの変化に備え、RSV感染症の自然経過やウイルス量の変化をあらかじめ把握しておくことは、抗RSV薬による治療効果やワクチンによる重症化予防を評価するためにも重要である。さらに、今後の課題として、患者情報と血清型、遺伝子型を比較することにより、RSVによる呼吸器疾患の重症化を左右するリスクファクターの解明も重要であり、調査を継続する必要がある。

F. 補足 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

齋藤玲子、齋藤孔良、Isolde Caperig
Dapat、近藤大貴、八神錬、日比野亮信、
菖蒲川由郷、池澤滋、加地はるみ、齊藤
匡、西藤成雄、島田康、白川佳代子、杉村
徹、鈴木英太郎、瀬尾智子、武井智昭、富
本和彦、中村豊、西村龍夫、永井崇雄、佐
野康子、田中敏博、谷口清洲. 我が国の
RSV の分子疫学. 病原体微生物検出情報
(IASR). 35 巻 6 号. 148-149 ページ、2014
年

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

RSV 調査協力:

ひらおか公園小児科 長田伸夫先生
とみもと小児科クリニック 富本和彦先生、
加地医院 加地はるみ先生
佐野医院 佐野康子先生
静岡厚生病院 田中敏博先生
国立病院機構三重病院 谷口清州先生
西藤小児科 西藤成雄先生
しまだ小児科 島田康先生
沖縄県立中部病院 真喜屋智子先生、竹蓋
清高先生
日本外来小児科リサーチ委員会
永井崇雄先生

図1. 2014/15シーズンRSウイルス全国調査(血清型別)

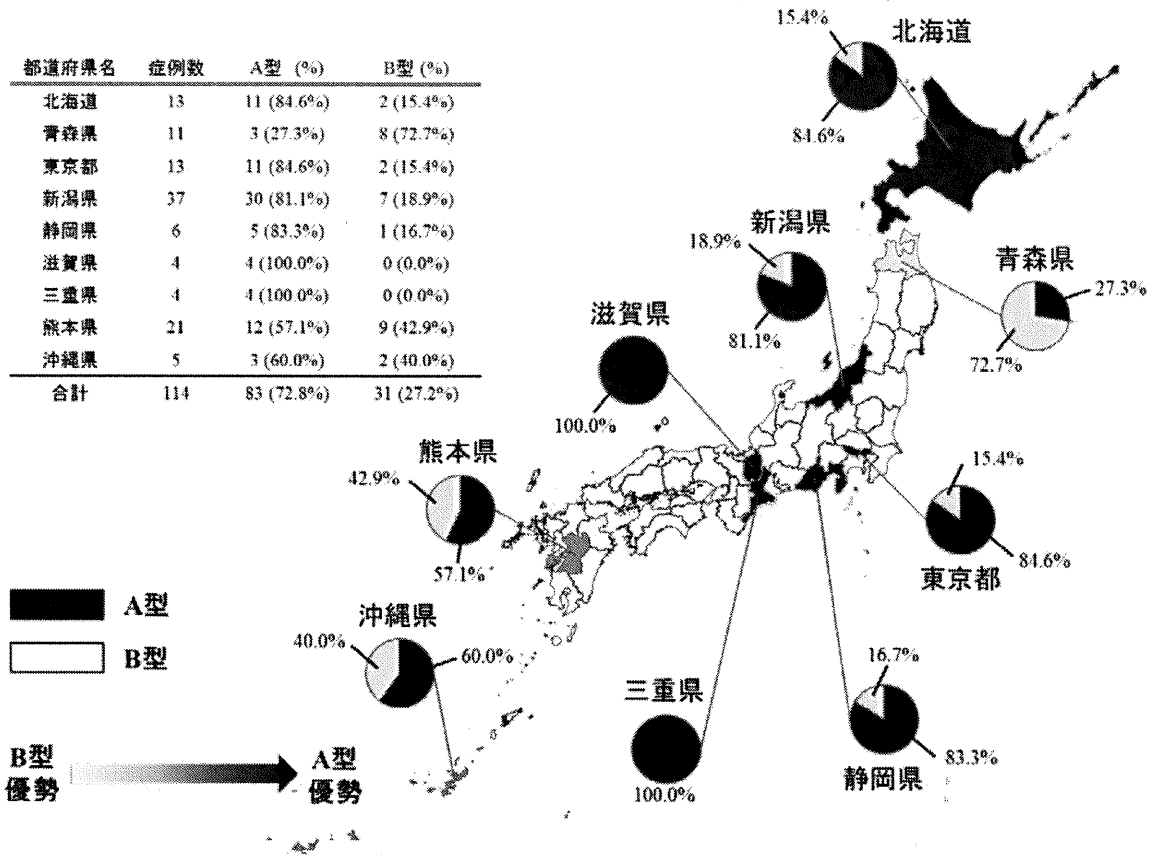
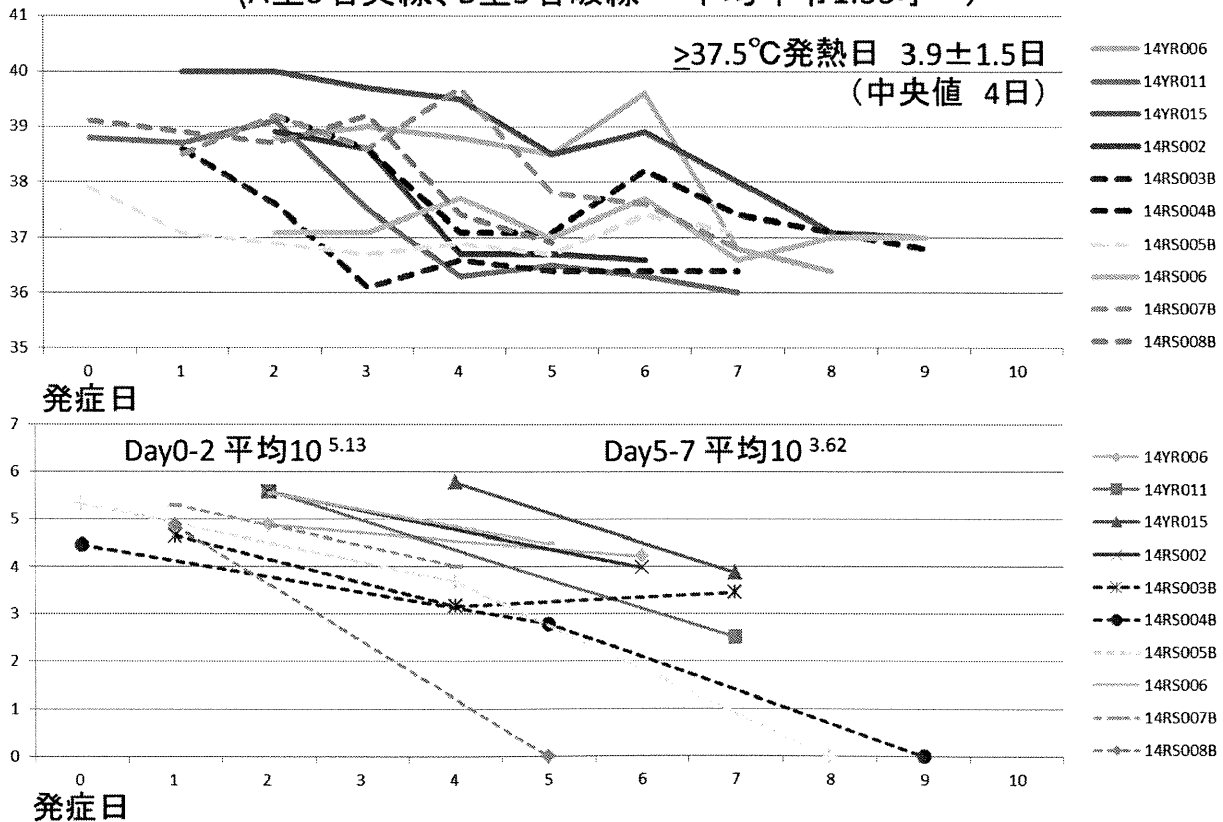


図2 2014-2015年 発症日を基準としたRSV罹患児10名の熱経過(上段)とウイルス量(下段)

(A型5名実線、B型5名破線 平均年齢1.53才)



急性呼吸器感染症起因ウイルスの流行実態調査

研究分担者 佐多 徹太郎 富山県衛生研究所

研究協力者 小渕 正次、滝澤 剛則 富山県衛生研究所ウイルス部

研究要旨 急性呼吸器感染症（ARI）起因ウイルスの検出感度を上げるため、昨年度構築したリアルタイム RT-PCR の改良を行った。その結果、検出率は 63% から 85% に改善された。この検出系を用いて平成 26 年 3 月から平成 27 年 1 月の期間に採取された 160 検体について調査したところ、124 検体から 20 種類のウイルスが検出された。その中でライノウイルスが最も多く検出された。次いで、パラインフルエンザウイルス、ヒトボカウイルスと続き、これら 3 種類のウイルスが全検出ウイルスの 6 割を占めた。

A. 研究目的

インフルエンザウイルスを除いた急性呼吸器感染症（ARI）起因ウイルスは病原体サーベイランスの対象外であるため、その流行実態は明らかでない。そこで、昨年度、呼吸器ウイルスの遺伝子検出診断系（duplex リアルタイム RT-PCR）を構築し、ARI 患者検体を収集してウイルスの検出・同定を試みた。その結果、34 検体から 8 種類のウイルスが検出されたが、ウイルス不検出検体も 35% みられた（平成 25 年度報告）。ウイルス不検出の原因の一つとして、検出に用いたプライマーやプローブの塩基配列のミスマッチが考えられたため、これらの見直しを行った。さらに、検体の収集を継続して、呼吸器ウイルスの流行実態を調査した。

B. 研究方法

ライノウイルス、RS ウイルス A、B 型インフルエンザウイルスについて、リアルタイム RT-PCR のプライマーとプローブの塩基配列を更新した。さらに、新たにパラインフルエンザウイルス 4 型、コロナウイルス HKU1 株、アデノウイルス D を検出対象に加えて 23 種類のウイルスを検出できる遺伝子検出診断系を構築した。

昨年度に続いて、富山県内 2 カ所の小児科医院（平成 26 年 10 月より 1 カ所追加）において、インフルエンザを除く ARI で受診した小児から鼻腔ぬぐい液を採取し（各医院で毎週 1～2 名）、ウイルスを検出・同定した。

（倫理面への配慮）

本研究は、「疫学研究における倫理指針」に基づき、富山県衛生研究所倫理審査委員会に申請し、承認された（平成 25 年度 受付番号 4、9 および平成 26 年度 受付番号 3）。

C. 研究結果

昨年度のウイルス不検出検体（平成 25 年 10 月～平成 26 年 7 月採取の 38 検体）について、今回改良したリアルタイム RT-PCR により再度ウイルスを検出したところ、その 58% からウイルスが検出された。その内訳は、ライノウイルスが 17 検体、RS ウイルス A が 3 検体、パラウイルス 4 型が 1 検体、コロナウイルス HKU1 株が 1 検体であった。これにより、当該期間におけるウイルス検出率は 63% から 85% に改善された（図）。

一方、平成 26 年 3 月～平成 27 年 1 月の期間に、急性咽頭炎や気管支炎等の小児 1 から

160 検体が採取された。そのうちの 124 検体から 20 種類のウイルスが検出された(表)。ライノウイルスが通年で検出され、最も多かった。次いで、パラインフルエンザウイルス、ヒトボカウイルスと続き、これら 3 種のウイルスが全検出ウイルスの 6 割を占めた。さらに、28 検体からは 2 種類以上のウイルスが検出された。ヒトボカウイルス、アデノウイルスではその傾向が強かった。

D. 考察

昨年度構築したリアルタイム RT-PCR を改良した結果、ウイルス検出率は 63% から 85% に改善された。新たに検出されたウイルスの大半はライノウイルスであった。今回の調査期間中、ライノウイルスは通年で検出され、かつ最も頻繁に検出された。本ウイルス感染症は普通感冒の 30~40% を占めるといわれるが、気管支喘息や慢性閉塞性肺疾患の憎悪への関与も報告されており、今後も注視すべき呼吸器ウイルスと考えられた。

また、今回の調査期間中の平成 26 年 3 月には、ヒトボカウイルスが単独で多く検出され、その地域小流行が示唆された。本ウイルスは他の呼吸器ウイルスと同時に検出されることが多く、疾患への関わりも不明な点が多いことから、更なる調査が必要である。他のウイルスについても、調査を継続してデータを蓄積し、それぞれのウイルスの季節消長を明らかにするとともに、臨床所見や罹患年齢と各ウイルスの関連性を明らかにしたい。

E. 結論

呼吸器ウイルス検出系を改良し、小児における ARI の流行実態を調査した。その結果、ライノウイルスが最も多く検出された。次いで、パラインフルエンザウイルス、ヒトボ

カウイルスと続き、これら 3 種のウイルスが全検出ウイルスの 6 割を占めた。今後も本調査を継続し、各ウイルスの季節消長や臨床所見等との関連性を明らかにしたい。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

小渕正次、八木信一、小栗絢子、稲崎倫子、稲畑 良、佐多徹太郎、滝澤剛則. 富山県における呼吸器感染症罹患児からの呼吸器ウイルスの検出と分子疫学. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月.

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

本研究の実施にあたり、臨床検体の採取にご協力いただいた小栗小児科医院の小栗絢子先生、八木小児科医院の八木信一先生ならびにしんたにこどもクリニックの新谷尚久先生に深謝いたします。

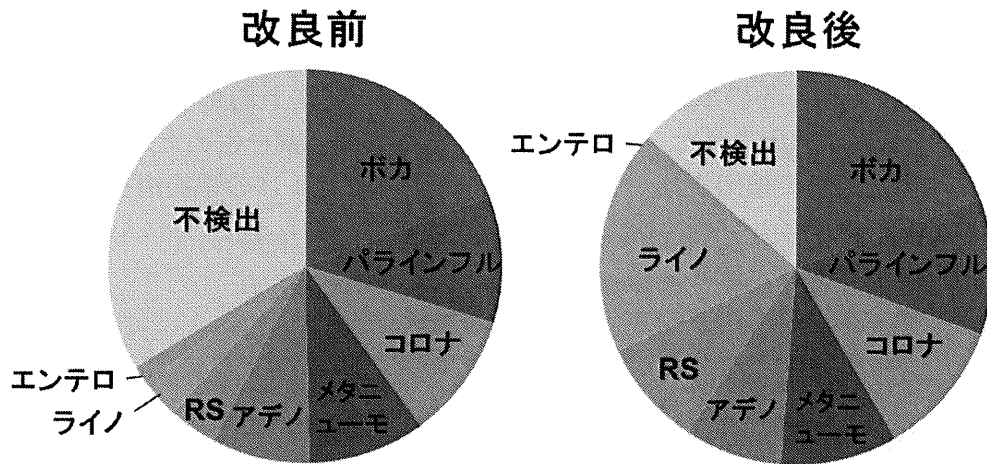


図 リアルタイム RT-PCR 改良前と改良後のウイルス検出率の比較 (n=114)

表 急性呼吸器感染症罹患児からの呼吸器ウイルスの検出

ウイルス	サブグループ等の細分	検出数	割合(%)
ライノウイルス	A	8	5.1
	B	6	3.8
	C	8	5.1
	未同定	12	7.6
RSウイルス	A	16	10.2
	B	4	2.5
パラインフルエンザウイルス	1型	7	4.4
	2型	3	1.9
	3型	15	9.6
	4型	2	1.2
ヒトメタニューモウイルス		15	9.6
インフルエンザウイルス	A型	4	2.5
	B型	0	0
	C型	0	0
コロナウイルス	OC43株	7	4.4
	229E株	0	0
	NL63株	1	0.6
	HKU1株	0	0
エンテロウイルス	コクサッキーウイルスA5	1	0.6
	コクサッキーウイルスA10	2	1.2
	エコーウイルス18	1	0.6
アデノウイルス	B	8	5.1
	C	7	4.4
	D	0	0
	E	2	1.2
ヒトボカウイルス		27	17.3

マクロライド耐性マイコプラズマによる市中感染症の現状と
その治療効果に関する前向き観察研究

研究分担者	石黒信久	北海道大学病院 感染制御部 部長
研究協力者	小関直子	北海道大学医学研究科 小児科学分野
	海方美紀	北海道大学医学研究科 小児科学分野
	有賀 正	北海道大学医学研究科 小児科学分野 教授
	菊田英明	北海道大学 客員教授
	大庭幸治	東京大学大学院 情報学環・学際情報学府 准教授
	富樫武弘	札幌市立大学 看護学部 特任教授

研究要旨

【目的】小児におけるマクロライド(ML)耐性マイコプラズマ感染症の現状把握、各種抗菌剤の治療効果、マイコプラズマ迅速検査キット及び LAMP 法の感度・特異度の調査。

【方法】前向き観察研究。2012年12月1日より2014年12月31日までに724名の患者から鼻咽頭ぬぐい液を採取して ML 耐性率の地域差について解析を行うと同時に、各種抗菌剤の治療効果を判定した。さらに、real-time PCR 検査結果を基準として迅速検査キット及び LAMP 法の感度・特異度を算出した。

【結果】(1) マイコプラズマが検出された検体のうち 49.1%は ML 耐性(A2063G 変異)であった。(2) ML 耐性の検出率には地域差が存在した(例：釧路市で採取された 29 検体全てが耐性であり、旭川市で採取された 19 検体中 18 検体は感受性であった)。(3-1) 抗菌薬開始から解熱するまでの日数を検討したところ、治療開始後 2 日以内に解熱する症例の 81%は ML 感受性であり、発熱が 3 日以上持続する症例の 83%は ML 耐性であった。(3-2) 発熱から解熱するまでの日数を検討したところ、発熱後 6 日以内に解熱する症例の 67%は ML 感受性、発熱が 7 日以上持続する症例の 73%は ML 耐性であった。(4) ML 感受性症例の抗菌薬開始から解熱までの日数は AZM, CAM, MINO, TFLX 間で有意差はなかった。ML 耐性症例の抗菌薬開始日から解熱までの日数は MINO の有熱期間が有意に短かった。(5) 迅速検査によるマイコプラズマ検出の感度と特異度は、A 社は 55%、82%、B 社は 36%、94%であった。LAMP 法によるマイコプラズマ検出検査の感度 99%、特異度 100%であった。

【結語】(1) ML 耐性マイコプラズマの検出には地域によって大きな偏りが存在した。各地域の臨床医は地域における ML 耐性マイコプラズマの検出率を知ったうえで治療にあたる必要がある。(2) ML 耐性マイコプラズマ感染症に対する各種抗菌薬の効果について、今後ともデータを収集する必要がある。(3) 今後、マイコプラズマ感染症の抗菌薬の選択に際しては、迅速検査や LAMP 法などの検査結果を加味する必要がある。

A. 研究目的

近年、マクロライド(ML)耐性マイコプラズマの出現が大きな問題となっている。ML耐性菌は *in vitro* の検査でエリスロマイシン(EM)、クラリスロマイシン(CAM)、アジスロマイシン(AZM)等に対して耐性を示すが、臨床的には ML 耐性菌による感染症の治療に対して ML が全く無効で、ミノサイクリン(MINO)やトスフロキサシン(TFLX)を必要とするのか等については統一した見解が得られていない。小児に対する MINO 使用は小児の健康問題(歯牙着色)、TFLX 使用は関節障害やキノロン耐性菌出現増加の危険性を抱えており、その安易な使用は慎むべきである。これらの理由から、ML 耐性マイコプラズマ感染症の現状把握とその治療指針の作成は急務である。

本研究では小児におけるマイコプラズマ感染症の実態を明らかにするとともに、それらに対する抗菌剤の選択を調査すること、マイコプラズマの ML 耐性率を調査すること、ML 耐性マイコプラズマ感染症に対する各種抗菌剤の治療効果を追跡調査すること、近年開発されたマイコプラズマ感染症の迅速検査キットの感度・特異度を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

1. 研究の種類・デザイン

前向き観察研究(検体による探索的研究)

2. 対象患者

2012年12月1日以降、北海道大学病院小児科、東栄病院小児科など道内30余の医療機関に通院または入院したマイコプラズマ感染症(疑いも含む)患者のうち、18歳以下で、胸部レントゲン写真上で肺炎あるいは気管支炎の所見があり、本研究の参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理

解の上、患者本人(代諾者を含む)の自由意思による文書同意あるいは口頭説明で同意が得られた患者を対象とする。迅速検査で他の病原体(アデノウイルス、溶連菌、RSウイルス等)が検出された患者は除外する。

3. 検体採取方法

喀痰(咽頭ぬぐい液でも可)を2本の綿棒で採取する。採取した1本の検体はBDユニバーサルバイラルトランスポートに入れて、北海道大学大学院医学研究科小児科学分野に運び、「遺伝子検査方法」に示す測定をおこなう。残りの1本は各医療機関にてマイコプラズマ感染症の迅速検査キットにて検査を行う。

4. 遺伝子検査方法

採取した咽頭ぬぐい液から QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN 社)を用いて核酸を抽出し、real-time PCR 法にてマイコプラズマ遺伝子を検出する。プライマーの設計や各種条件設定は Winchell らの報告に従った(J. Clin. Microbiol. 2008, 46(9): 3116)。ML 耐性遺伝子の検出は Matsuoka らの報告に従い、23S リボソーム RNA ドメイン V 上の A2063C, A2063G, A2064G, C2617G 変異の有無を検査した(Antimicrob Agents Chemother. 48: 4624, 2004)。

5. 被験者の診療情報

以下の項目について、被験者への調査票と主治医への調査票から情報を入手する。

被験者への調査票から入手する診療情報: ①性別、②生年月日、③発症日(体温が37.5度以上になった日、咳嗽が出現した日)と体温・咳嗽の推移、④マイコプラズマ感染症と診断され、抗菌薬が処方された日、⑤④以降の体温・咳嗽の推移、⑥抗生剤の服用状況。

主治医への調査票から入手する診療情

報：①整理番号、②患者の体重、③疾患情報（マイコプラズマ感染症と診断した日、感染症名）、④迅速検査の結果、⑤基礎疾患、⑥血液検査所見、⑦胸部レントゲン検査所見、⑧経過中に処方した抗菌薬に関する情報、⑨その他の併用薬、⑩入院した場合にはその期間、血中酸素飽和度の最低値、治療、⑪有害事象（抗菌薬と因果関係があると推定される場合）。

6. 統計学的解析

主要評価項目は抗菌薬服用開始日から解熱（37.5 度未満）までに要した時間とする。

ML 感受性あるいは ML 耐性マイコプラズマ感染症患者に使用された抗菌薬の効果を検定する場合、抗菌薬服用開始日から解熱（37.5 度未満）までに要した時間を横軸、37.5 度以上の有熱率を縦軸とする Kaplan-Meier 曲線を作成し、ログランク検定（log-rank test）を用いて 2 つの曲線の差を検定する。

Cox 比例ハザード・モデルを用いて、抗菌薬服用開始日から解熱（37.5 度未満）までに要した時間に影響を与える因子を解析する。

7. 倫理的配慮

本研究のすべての担当者は、「ヘルシンキ宣言（2008 年 10 月修正）」および「臨床研究に関する倫理指針（平成 20 年 7 月 31 日改正、以下臨床研究倫理指針）」を遵守して実施する。本研究は、北海道大学病院自主臨床研究審査委員会の審査を経て、北海道大学病院により承認されている（臨床研究番号：自 012-0174）。

C. 研究成果

1. 検体収集状況

2012 年 12 月 1 日より 2014 年 12 月 31 日までに合計 724 名の患者から検体を採取

し、106 名（14.6%）よりマイコプラズマ遺伝子を検出した。このうち 66 名の患者情報を取得した。

2. ML 耐性マイコプラズマの検出状況

106 検体中 54 検体（50.9%）は ML 感受性マイコプラズマであり、52 検体（49.1%）は ML 耐性マイコプラズマであった。ML 耐性株は全て A2063G 変異を有していた。

ML 耐性率の地域差をみるために、5 件以上のマイコプラズマ陽性検体が検出された市を対象として解析を行ったところ、ML 耐性株の検出率には地域差が存在した。例えば、釧路市で採取された 29 検体全てが耐性株であるのに対して、旭川市で採取された 19 検体中 18 検体は感受性株であった。（図 1、表 1）。札幌市で採取された 38 検体中 21 検体（55.3%）が ML 耐性株であったが、市内の地区によりその検出率に違いがあった（図 2）。

入院患者における ML 耐性株の検出率は外来患者よりも高く（80.0% vs 44.3%、 $P=0.0021$ ）（表 2）、病院における ML 耐性株の検出率はクリニックよりも高かった（77.4% vs 9.1%、 $P<0.0001$ ）（表 3）。

3. ML 感受性株と耐性株による有熱期間

66 名の患者背景を表 4 に記載した。入院患者に ML 耐性株の検出率が高いこと、入院患者と外来患者との間に最初に選択された抗菌薬の選択に偏りがあることを除けば、年齢、性別、マイコプラズマ遺伝子のコピー数、発熱から治療開始までの日数に差異はなかった。

抗菌薬開始日から解熱までの日数に関与する各種因子を Cox 回帰分析による多変量解析にて解析したところ、最初に選択した抗菌薬、ML 耐性遺伝子が影響を与えることが判明した（表 5）。即ち、TFLX に比べて AZM では解熱する確率が 2.66 倍高く、

TFLX に比べて MINO では解熱する確率が 6.67 倍高く、ML 耐性に比べて ML 感受性では解熱する確率が 2.57 倍高かった(表 5)。

ML 感受性(31 症例)に限定したサブ解析を行うと、最初に選択した抗菌薬は抗菌薬開始日から解熱までの日数に影響を与えなかった(表 6)。ML 耐性(35 症例)に限定したサブ解析を行うと、TFLX に比べて MINO では解熱する確率が 36.97 倍高くなった(表 7)。

ML 感受性株と耐性株の違いによる解熱時間を最初に選択した抗菌薬別に解析したところ、ML 耐性株に ML 系抗菌薬(クラリスロマイシン、アジスロマイシン)を使用した場合、ML 感受性株に比べて発熱が 3 日間程度長引くことが判明した(図 3)。MINO を使用した症例数は少ないが、ML 感受性と ML 耐性株共に有熱期間は短く、両者に有熱期間の有意差はなかった(図 3)。TFLX を使用した症例数も少ないが、ML 感受性と ML 耐性株による有熱期間の有意差はなかった(図 3)。

抗菌薬開始から解熱するまでの日数を、ML 感受性あるいは耐性株に分けて検討したところ、治療開始後 2 日以内に解熱する症例の 81%は ML 感受性であり、発熱が 3 日以上持続する症例の 83%は ML 耐性株であった(図 4)。発熱から解熱するまでの日数でみると、発熱後 6 日以内に解熱する症例の 67%は ML 感受性、発熱が 7 日以上持続する症例の 73%は ML 耐性株であった(図 5)。

4. 迅速検査の感度・特異度

Real-time PCR 検査結果を基準として、マイコプラズマ迅速検査(A 社, B 社)の感度と特異度を算出したところ、A 社迅速検査の感度は 55% (6/11)、特異度は 82% (23/28)、B 社迅速検査の感度は 36% (21/59)、特異度

は 94% (236/252)であった。

5. LAMP 法による検査の感度・特異度

LAMP 法によるマイコプラズマ検出検査の感度は 99% (105/106)、特異度 (117/117)であった。

D. 考察

1. ML 耐性マイコプラズマの検出頻度

全体の集計では、ML 耐性株の占める割合は 49.1% (52/106)であったが、ML 耐性率には地域による大きな偏りが存在した。(例：釧路市で採取された 29 検体全てが耐性であり、旭川市で採取された 19 検体中 18 検体は感受性であった。)「ML 耐性株 49.1%」が「目前のマイコプラズマ感染症患者の半数が ML 耐性株に感染している」ことを示しているわけではないことに注意する必要がある。

入院患者と外来患者の ML 耐性率には有意差があり(入院患者 80.0%、外来患者 44.3%, $P=0.0021$)、病院受診患者とクリニック受診患者の ML 耐性率には有意差があった(病院受診患者 77.4%、クリニック受診患者 9.1%, $P=0.0001$)。

ML 感受性株が流行している地域には ML 耐性株は流行しないのであろうか？その逆は如何か？今後とも地域毎に経時的なサーベイランスが必要と思われる。

2. ML 耐性株と ML 感受性株による感染症は有熱期間から区別が可能か？

治療開始後 2 日以内に解熱する症例の 81%は ML 感受性であり、発熱が 3 日以上持続する症例の 83%は ML 耐性株であった。また、発熱後 6 日以内に解熱する症例の 67%は ML 感受性、発熱が 7 日以上持続する症例の 73%は ML 耐性株であった。従って、治療開始から解熱までの期間、あるいは発熱から解熱までに期間により、ML 耐性株に

よる感染症か ML 感受性株による感染症かの区別はある程度可能であると考えられる。

3. ML 耐性株による感染症に有効な抗菌薬

ML 感受性株によるマイコプラズマ感染症においては、AZM, CAM, MINO, TFLX を使用した群では抗菌薬開始から解熱までの日数には有意差はなかった。一方、ML 耐性株によるマイコプラズマ感染症においては、MINO を使用した群では抗菌薬開始日から解熱までの日数が有意に短かった。今後、症例数を積み重ねる必要がある。

4. 抗原迅速検査の有用性

A 社、B 社共に特異度に優れている(A 社 82%, B 社 94%)ものの、感度には改善の余地があると考えられる(A 社 55%, B 社 36%)。現時点では、抗原迅速検査の結果にのみ頼ってマイコプラズマ感染症診療を行うことは慎むべきであろう。

5. LAMP 法による検査の有用性

迅速性には欠けるものの、real-time PCR 法とほぼ同等の感度、特異度を示した。LAMP 法によるマイコプラズマ検出法は保険収載されており、利用される機会は増えてくると考えられる。

E. 結論

ML 耐性マイコプラズマの検出には地域によって大きな偏りが存在した。各地域の臨床医は地域における ML 耐性マイコプラズマの検出率を知ったうえで治療にあたる必要がある。

ML 耐性マイコプラズマ感染症に対する各種抗菌薬の効果について、今後ともデータを収集する必要がある。

今後、マイコプラズマ感染症の抗菌薬の選択に際しては、迅速検査や LAMP 法などの検査結果を加味する必要がある。

※謝辞：

本研究にご協力頂いた先生方に厚く御礼申し上げます。森田啓介先生（旭川赤十字病院小児科）、岡村暁子先生（うめつ小児科）、山崎茂先生（ウルトラ内科小児科クリニック）、梶井直文先生、信太知先生（江別市立病院小児科）、永島哲郎先生、仲西正憲先生（釧路赤十字病院小児科）、高橋豊先生、吉岡幹朗先生（KKR 札幌医療センター小児科）、上野範博先生（琴似小児科クリニック）、今野武津子先生（札幌厚生病院小児科）、川村信明先生（市立札幌病院小児科）、石坂明人先生（住吉こどもクリニック）、高田 公彦先生（たかだ小児クリニック）、竹林武恭先生（竹林小児科医院）、菊田英明先生（特定医療法人とこはる 東栄病院小児科）、長野奈緒子先生（ながのこどもクリニック）、柴田睦郎先生（北海道医療大学病院小児科）、澤田博行先生、古山秀人先生（北海道社会保険病院小児科）、松藺嘉裕先生（まつぞの小児科医院）、小池明美先生（宮の沢小池こどもクリニック）、古賀康嗣（みんなのこどもクリニック）、村下眞理（むらしたこどもクリニック）、畑江 芳郎先生、大倉有加先生（医療法人北農会 恵み野病院小児科）、山中樹先生（医療法人社団 山中たつる小児科）、渡辺徹先生（わたなべ小児科・アレルギー科クリニック）、田端祐一先生（岩見沢こども・産科婦人科クリニック）、汲田喜宏先生（医療法人社団 くみたこどもクリニック）、間峽介先生（はざま小児科クリニック）、内藤広行先生（市立千歳市民病院小児科）、飽津泰史先生（医療法人社団 あくつこどもクリニック）、青柳勇人先生（帯広協会病院小児科）、飛世克之先生、飛世千恵先生（とびせ小児科内科医院）、東克己先生（あずまこども家庭クリニック）、佐々木聡先生（財団法人小児愛育協会附属 愛育病院）、坪内

友先生（医療法人社団香友会 富丘まごころ
内科クリニック）。（順不同）

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Nobuhisa Ishiguro, Naoko Koseki,
Miki Kaiho, Hideaki Kikuta, Takahiro
Togashi, Toru Watanabe, Tadashi Ariga
and Hokkaido Pediatric Respiratory
Infection Study Group. Sensitivity and
Specificity of a Loop-Mediated Isothermal
Amplification Assay for Detection of
Mycoplasma pneumonia from
Nasopharyngeal Swab Samples
Compared with those of Real-time PCR.
Clinical Laboratory 2014 (in press)

2. 学会発表

(1)石黒信久、小関直子、有賀正、菊田英明、
渡辺徹、富樫武弘。マイコプラズマのマク
ロライド耐性率は地域によって大きく異なる。
第46回日本小児感染症学会総会・学術
集会(2014/10/18-19)

(2)石黒信久、小関直子、有賀正、菊田英明、
渡辺徹、富樫武弘。マクロライド感受性及
び耐性マイコプラズマの治療効果に関する
前向き観察研究。第46回日本小児感染症学
会総会・学術集会(2014/10/18-19)

H. 知的財産の出願・登録情報

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

図1 マクロライド耐性マイコプラズマの検出状況

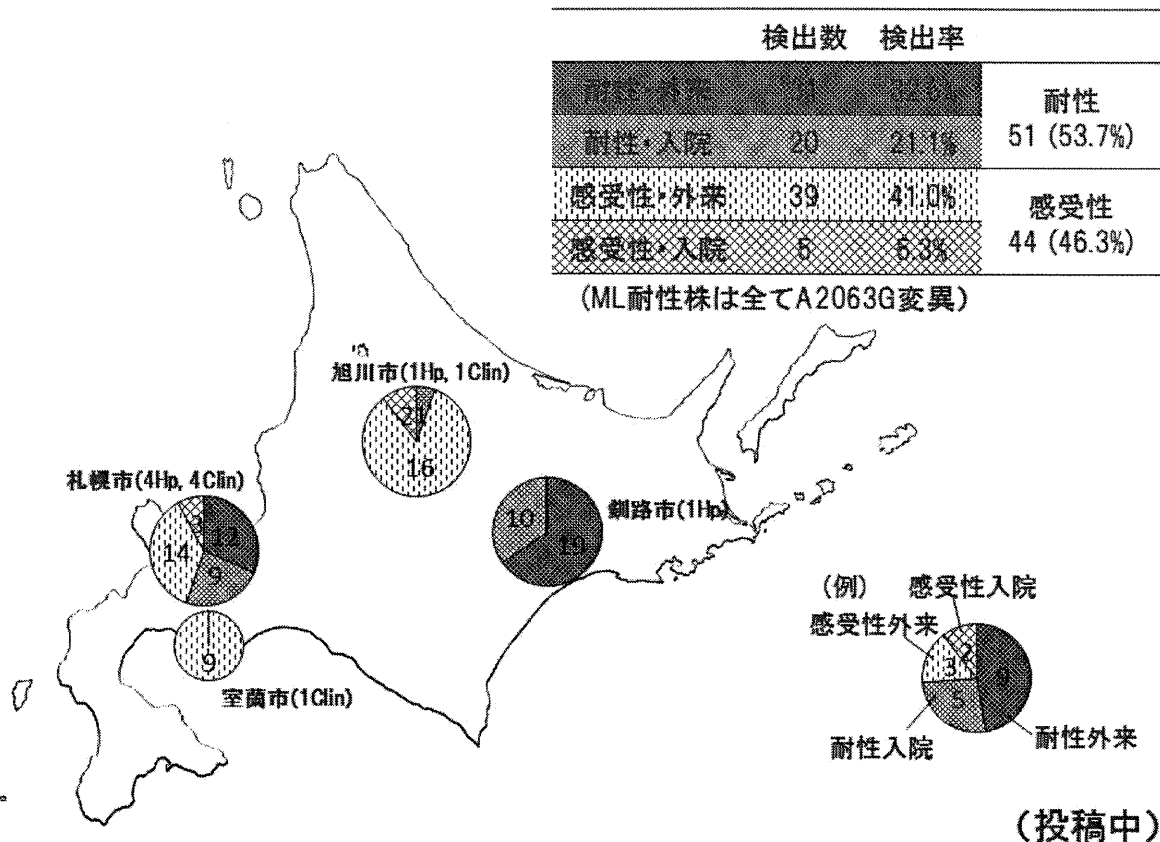


表1 4市におけるマクロライド耐性マイコプラズマ

市	マクロライド耐性マイコプラズマ 検出数/総数 (%)	
札幌市	21/38 (55.3%)	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;"> 有意差がないのは 「旭川市vs.室蘭市」のみ </div>
旭川市	1/19 (5.3%)	
釧路市	29/29 (100.0%)	
室蘭市	0/9 (0.0%)	
51/95 (53.7%)		

*P値 (カイ2乗テスト) <0.0005
 **P値 (カイ2乗テスト) <0.0001

(投稿中)

図2 マクロライド耐性マイコプラズマの検出状況：札幌市

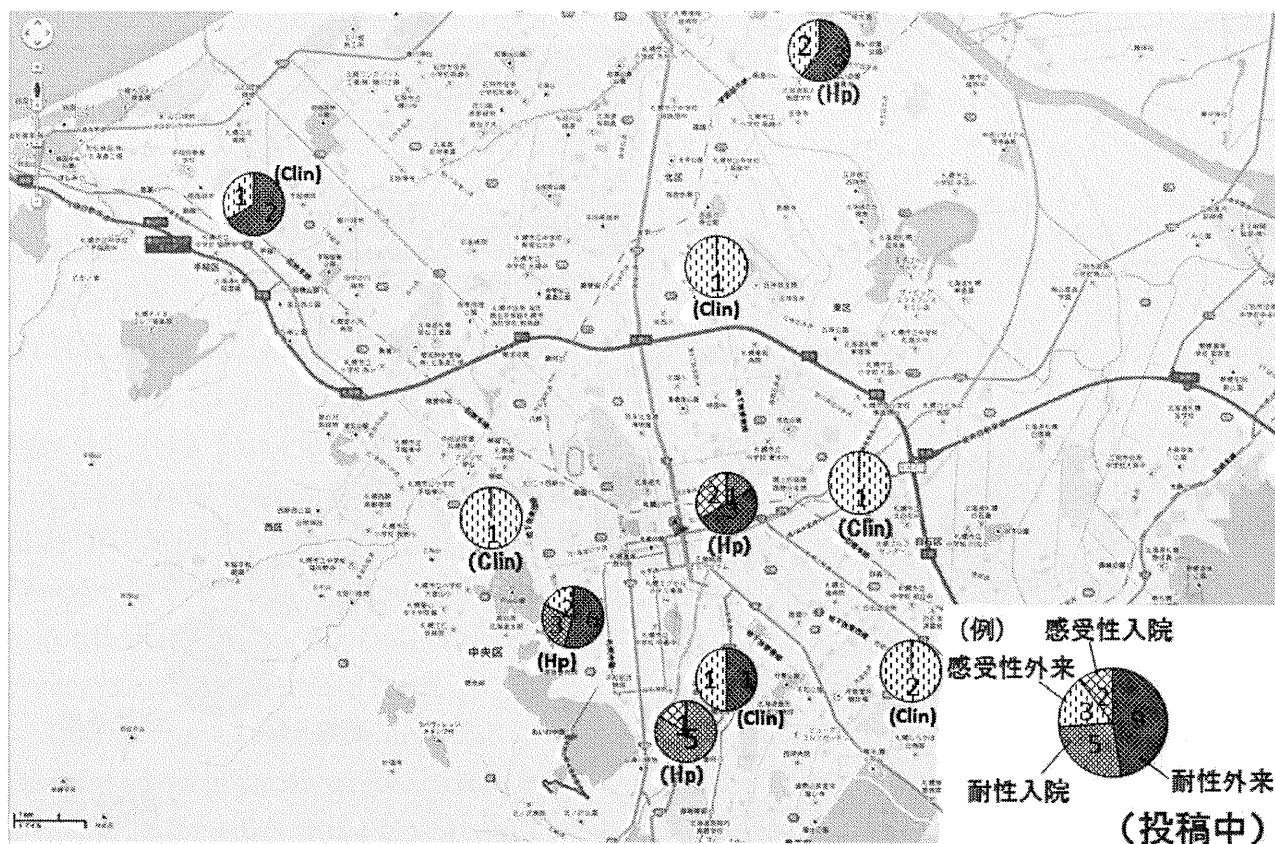


表2 外来/入院患者別にみたマクロライド耐性マイコプラズマの検出状況

	総数	マクロライド感受性	マクロライド耐性	<i>P</i> 値 (カイ2乗)
外来患者	70	39 (55.7%)	31 (44.3%)	0.0021*
入院患者	25	5 (20.0%)	20 (80.0%)	

(投稿中)

表3 病院/クリニック受診患者別にみたマクロライド耐性マイコプラズマの検出状況

	総数	マクロライド感受性	マクロライド耐性	<i>P</i> 値 (カイ2乗)
病院受診患者	62	14 (22.6%)	48 (77.4%)	<0.0001*
クリニック受診患者	33	30 (90.9%)	3 (9.1%)	

(投稿中)

表4 患者背景

		ML感受性	ML耐性	<i>P</i>
患者数		31	35	
年齢 (歳)	平均 ± 標準偏差	8.6 ± 2.9	8.9 ± 3.1	0.6915
	範囲	3 - 14	3 - 15	
性別	女性患者数 (%)	15 (48.4%)	18 (51.4%)	0.8052
	男性患者数 (%)	16 (51.6%)	17 (48.6%)	
コピー数	平均 ± 標準偏差	1598 ± 3839	1487 ± 2386	0.8866
	範囲	1 - 16615	4 - 10591	
外来/入院別	外来患者数 (%)	25 (80.7%)	19 (54.3%)	0.0214*
	入院患者数 (%)	6 (19.3%)	16 (45.7%)	
発熱から治療開始までの日数	平均 ± 標準偏差	3.8 ± 2.0	3.3 ± 2.0	0.3808
	範囲	0 - 7	0 - 6	
最初に選択した抗菌薬	CAM	15 (48.4%)	20 (57.2%)	0.5714
	AZM	8 (25.8%)	9 (25.7%)	
	MINO	5 (16.1%)	2 (5.7%)	
	TFLX	3 (9.7%)	4 (11.4%)	

表5 抗菌薬開始日から解熱までの日数に関する各種因子
(Cox回帰分析による多変量解析)

独立因子	基準	ハザード比	(95%信頼区間)	P
年齢	1歳当り	0.96	(0.87-1.05)	0.3613
性別	女性	0.80	(0.46-1.39)	0.4316
コピー数	1コピー当り	1.0	(1.00-1.00)	0.4394
外来・入院	入院	1.81	(0.84-4.22)	0.1332
発症～抗菌薬開始日	1日当り	1.13	(0.96-1.33)	0.1590
最初の抗菌薬の選択				
AZM*	TFLX	2.66	(1.03-7.82)	0.0421*
CAM	TFLX	1.56	(0.66-4.31)	0.3285
MINO**	TFLX	6.67	(1.73-27.39)	0.0061*
抗菌薬変更の有無	変更無し	0.53	(0.22-1.31)	0.1672
ML耐性の有無***	ML耐性有	2.57	(1.42-4.68)	0.0019*

*TFLXに比べてAZMでは解熱する確率が2.66倍高い。

**TFLXに比べてMINOでは解熱する確率が6.67倍高い。

***ML耐性有に比べてML耐性無では解熱する確率が2.57倍高い。

表6 抗菌薬開始日から解熱までの日数に関する各種因子
(Cox回帰分析による多変量解析)

ML感受性(31症例)に限定したサブ解析

独立因子	基準	ハザード比	(95%信頼区間)	P
年齢	1歳当り	0.98	(0.81-1.16)	0.7935
性別	女性	0.48	(0.20-1.13)	0.0942
コピー数	1コピー当り	1.0	(1.00-1.00)	0.3095
外来・入院	入院	1.92	(0.53-7.63)	0.3261
発症～抗菌薬開始日	1日当り	1.16	(0.89-1.54)	0.2729
最初の抗菌薬の選択				
AZM	TFLX	3.72	(0.77-23.60)	0.1045
CAM	TFLX	2.52	(0.65-13.13)	0.1890
MINO	TFLX	6.49	(0.84-70.90)	0.0747
抗菌薬変更の有無	変更無し	0.30	(0.04-1.76)	0.1844