

今週の話題：

<麻疹・風疹研究所ネットワーク：監視のためのサンプリング技術に関する 2007 年度の会議>

* WHO の麻疹・風疹研究所ネットワーク：

WHO の麻疹・風疹研究所ネットワーク (LabNet) は、標準化された検査および報告システムに、包括的客観的な品質保証プログラムを提供するために設立された。研究所の第一の役割は、麻疹および風疹ウイルス特異的免疫グロブリン M (IgM) 抗体の存在を同定することにより確定診断を行うことである。2007 年には 18 万件以上の血清サンプルに対して麻疹 IgM の検査がなされ、その 85%には風疹 IgM の検査もなされた。しかし、サンプルの集配が困難な地域では、監視は不十分であった。2003-2007 年にかけて、WHO の麻疹・風疹 Lab Net は、血清サンプルの集配に代わる 2 つの新たな手段が役立つかどうか調べた。本報告では、プログラム管理者がどの方法を採用するかを決定できるよう、3 つの調査方法の主な特性についてまとめている。

* 既存のものに代わる新しいサンプリング技術の発達：

・背景：

麻疹および風疹の確定診断は、制圧プログラムの全段階において重要な構成要素である。

検査室における正確な確定診断は、検査手技を正確に行うことに加えて、臨床サンプルの適切な収集と処理、輸送および保管にも依存している。血液サンプルの採取（特に子どもからの採取）は困難なものになり得る。さらに、全てのサンプルが低温輸送できるわけではない。標準的な血清採取に代わる二つの新しい方法は、濾紙上に集めた乾血スポットを用いる方法と口腔液サンプルを用いる方法である。濾紙上で乾燥させた抗体やウイルス RNA は 37°C で安定であり、低温輸送が実現不可能な地域での検査が可能である。口腔液採取法は非侵襲的に採取でき、人々に受け入れられ易いため、疑診例の全てからサンプル採取を可能とする。

* 新たなサンプリング技術の相対的評価：

麻疹および風疹の基準研究所は、2001 年以来、乾血スポットおよび口腔液における IgM 抗体測定と RNA 検出プロトコルを利用し、両サンプル中の IgM および RNA の安定性を確認している。データは英国における MMR (麻疹・流行性耳下腺炎・風疹) 監視プログラムからも入手できる。さらに、WHO アフリカ地域に所属する 7 カ国 (シエラレオネ、ブルキナ・ファソ、コンゴ民主共和国、エチオピア、ガーナ、セネガル、ザンビア) は 2005-2007 年の期間に、麻疹および風疹の調査のために乾血スポットを使用している。基準研究所による報告は、血清と比較した乾血スポットおよび口腔液の検出感度や特異性の情報を提供している。

* サンプル採取の手順：

・血清：

血液は静脈穿刺術により採取し、凝血させた後、保健医療施設で血清を分離し、低温下で研究所に輸送する。血清を分離する施設がなければ、採取後 24 時間以内に全血を研究室に輸送する。

・乾血スポットサンプル：

滅菌した再使用できない仕組みを持つ穿刺針 (ランセット) を用いて、疑い例の指や踵から血液を採取する。血滴は血液収集用濾紙に集められ、大気中で完全に乾かす。その後、乾燥剤の入ったジッパーのついたビニール袋に入れて室温で研究所に輸送する。

・口腔液サンプル：

歯茎と象牙質の接合部位をスポンジ棒で約 1 分間軽くこすり、スピッツに入れて室温で研究所まで輸送する。研究所ではスポンジにバッファーを加え、遠心により浸出液を抽出する。

・抽出過程：

研究所での口腔液サンプルと乾血スポットの抽出は約 10-15 分間で、口腔液サンプルでは抽出液の最終ボリュームは約 1ml である。一つの乾血スポット上の小円部分から 15 μ L の血清が抽出される。

・IgM の同定：

一般的に麻疹・風疹研 LabNet に用いられる市販の ELISA は、乾血スポットに対する全ネットワーク評価のために標準化された。口腔液用に作られた市販の capture ELISA は血清 IgM 検出にも用いることができる。これらの方法により蓄積されたデータは 2007 年 6 月にジュネーブで開かれた WHO 本部会議で批評され、以下に要約し、図表に示した。

・IgM および RNA 検出感度：

乾血スポットおよび口腔液のウイルス特異的 IgM の検出感度と特異性は血清とほぼ同等であるが (図 1, 2, 表 1)、発病初期の 4-5 日間は風疹ウイルス特異的 IgM の検出感度が口腔液でやや低い (図 2, 表 1)。英国は口腔液サンプルからウイルス RNA を検出することにおいて世界最大の経験を有しており、nested RT-PCR の感度は発疹が出現した最初の週では 80-90% の範囲にあり、発疹出現後 3-4 週間では 50% 以下であることを発見した。多くの症例では発疹出現後 4, 5 日間は風疹特異 IgM は陽性ではないが、口腔液サンプルで IgM と RNA の両方の検査では、確定診断のための感度は劇的に上昇した。

表 1. 各サンプリング方法における検出感度の概要、採取日は発症後の日数に基づく

検出時間		血清 (%)	乾血サンプル	口腔液 (%)	
麻疹	IgM	早期 (0-3日)	60-70	60-70	
		中期 (4-14日)	90-100	90-100	
		後期 (15-28日)	100	100	
	ウイルス検出 (RT-PCR)	早期 (0-3日)	<10	<25	>80
		中期 (4-14日)	<1	<1	50
		後期 (15-28日)	0	0	≤20
風疹	IgM	早期 (0-3日)	~50	~40	
		中期 (4-14日)	60-90	60-90	50-90
		後期 (15-28日)	100	100	100
	ウイルス検出 (RT-PCR)	早期 (0-3日)	データ不足	~20	60-70
		中期 (4-14日)	データ不足	低い	50
		後期 (15-28日)	データ不足	0	データ不足

- ・ サンプルの研究所への輸送：血清サンプルは低温下で輸送することが推奨されている。乾血スポット中の IgM と RNA は完全に乾燥させると安定であり、室温で輸送可能である。口腔液の IgM と RNA は 3 日以内に研究所に到着するのであれば、42℃までの室温で輸送しても安定である。
- ・ サンプル回収装置の入手手段：乾血スポットと口腔液の回収装置は、監視プログラムによって特別に提供されない限り、ほとんどの施設で入手できそうにない。装置は使いやすいが、十分な量を回収するためには、特に乾血スポットについては実施前に訓練を行う必要がある。
- ・ コスト：回収、抽出、検査すべてを含むコストは血清、乾血、口腔液のいずれも同程度であるが、乾血スポットおよび口腔液サンプルを低温輸送しない場合には、大幅にコストを抑えられる可能性がある。
- ・ 品質保証：LabNet で行われている血清を用いた麻疹・風疹の検査では、大規模な品質保証プログラムが確立されている。所定の検査に代替のサンプリングを導入する場合、それぞれの代替となる収集方法に特異的な品質保証プログラムの開発を必要とする。

* 結論：

乾血スポットおよび口腔液サンプルはともに、麻疹・風疹の監視の向上に潜在的な役割を持つことが示された。血清サンプリングと比較すると、これらのサンプリングは以下の特徴を示す；

- ・ ほぼ同程度の感度・特異度であるが、口腔液サンプルにおける風疹の IgM の検出感度がやや低い。
- ・ 実施には練習を必要とするが、容易である。
- ・ 乾血スポットは静脈穿刺を回避でき、口腔液サンプルは非侵襲的であり患者に受け入れられ易い。
- ・ 血液媒介疾患に感染するリスクが最小限である（口腔液）。
- ・ 低温外輸送で、口腔液は 7 日間まで、乾血スポットはそれ以上の期間安定である。
- ・ 回収、抽出、検査すべてを含めたコストは同程度である。
- ・ 運搬にかかるコストを大きく削減できる可能性を有する。
- ・ 同一サンプルで、特異的 IgM、RNA の両方を検出できる。口腔液サンプルを用いれば、発病直後の RNA 検出も可能となる。

・ IgG の検出感度は血清と同程度で、血清疫学研究で多目的に使用できる。

口腔液および乾血スポットは、血清と比較してわずかな欠点がある。以下に具体的に記す：

- ・ 回収装置は一般に市販されておらず、医療センターに提供してもらう必要がある。
- ・ サンプル回収の練習が十分でなければ、採取できる乾血スポットの量には限界がある。
- ・ 研究所での処理時間が増える可能性がある。
- ・ 外部品質保証プログラムは未だ確立されていない。

* 編集ノート：

麻疹・風疹 LabNet は、麻疹および風疹の確定診断のために、血清に代わり乾血スポットと口腔液サンプルを用いることの評価を終えた。全ての状況下で最適であるような単独のサンプル技術は存在しないことが示されたが、血清は IgM 検出において現在でもゆるぎない基本であることを認識すべきである。血清以外のサンプルの導入は、コスト、安定性、正確さを含む多くの問題を生じる。2007 年のジュネーブでの新しいサンプリング方法の評価会議では、上記に示したような詳細な証拠が議論された。

・ 会議の要約：乾血スポットと口腔液サンプルは研究所や現地調査において、血清に代わる新たなサンプルとして十分に評価され、サンプルの長所および短所が示された。適切な状況で、新たな方法の使用を推進していくかどうかは、技術指導顧問や計画作成責任者の手にゆだねられている。

(長谷川菜摘、正井栄一、宇佐美眞)