

28 May 2009

Characteristics of the emergent influenza A (H1N1) viruses and recommendations for vaccine development

26 May 2009

Summary report of a High-Level Consultation: new influenza A (H1N1)

22 May 2009

Instructions for storage and transport of suspected or confirmed human and animal specimens and virus isolates of pandemic (H1N1) 2009

20 May 2009

Recommendations of the Strategic Advisory Group of Experts (SAGE) on Influenza A (H1N1) vaccines

19 May 2009

Protocol for antiviral susceptibility testing by pyrosequencing

13 May 2009

Sequencing primers and protocol

12 May 2009

Status of candidate vaccine virus development for the current Influenza A(H1N1) virus

9 May 2009

Countries able to perform PCR to diagnose influenza A (H1N1) virus infection in humans

7 May 2009

WHO Technical Consultation on the Severity of Disease Caused by the new influenza A (H1N1) virus infections

6 May 2009

Joint WHO-OFFLU technical teleconference to discuss human–animal interface aspects of the current influenza A (H1N1) situation

4 May 2009

WHO ad hoc scientific teleconference on the current influenza A(H1N1) situation 4 May 2009

Instructions for shipments of pandemic (H1N1) 2009 specimens and virus isolates to WHO Collaborating Centres for influenza

28 April 2009

Global surveillance during an influenza pandemic

28 April 2009

Second meeting of the IHR Emergency Committee

27 April 2009

Pandemic influenza preparedness and response

25 April 2009

First meeting of the IHR Emergency Committee

25 April 2009

2. 学会発表

1. 白倉雅之、信澤枝里、田代真人：リバーシジェネティクス (RG) 法による新型インフルエンザワクチン製造株の作成 第 57 回日本ウイルス学会学術集会、東京、2009 年 10 月

2. 原田勇一、高橋仁、佐藤佳代子、信澤枝里、河野直子、板村繁之、田代真人、奥野良信、佐々木学、庵原俊昭、小田切孝人：沈降 H5N1 インフルエンザワクチン接種者の野生型ウイルス株及び弱毒ワクチン株に対する抗体応答の評価 第 57 回日本ウイルス学会学術集会、東京、2009 年 10 月

3. 長谷川秀樹、相内章、永田典代、岩田奈緒子、

網康至、小淵正次、岸田典子、小田切孝人、佐多徹太郎、田代真人：新型インフルエンザ H1N1 のフェレットにおける病原性の検討 第 57 回日本ウイルス学会学術集会、東京、2009 年 10 月

4. 相内章、伊藤良、岸田典子、小淵正次、高下恵美、小田切孝人、千葉丈、田村慎一、倉田毅、佐多徹太郎、田代真人、長谷川秀樹：経鼻インフルエンザワクチンの新型インフルエンザウイルスに対する交叉防御能の検討 第 57 回日本ウイルス学会学術集会、東京、2009 年 10 月

5. 岸田典子、小淵正次、高下恵美、徐 紅、氏家誠、永田典代、岩田奈織子、相内章、長谷川秀樹、田代真人、齋藤玲子、鈴木宏、池松秀之、小田切孝人：季節性インフルエンザワクチンにより誘導される中和抗体の新型インフルエンザウイルスに対する交差反応性および新型インフルエンザウイルスの性状 第 57 回日本ウイルス学会学術集会、東京、2009 年 10 月

6. 影山努、中内美名、田代真人：新型インフルエンザウイルス (H1N1) 核酸検出法の構築 第 57 回日本ウイルス学会学術集会、東京、2009 年 10 月

7. 小淵正次、氏家誠、岸田典子、徐 紅、高下恵美、伊東玲子、松浦純子、菅原裕美、安樂茜、江島美穂、田代真人、小田切孝人：2008/09 シーズンの季節性インフルエンザウイルス流行株と平成 21 年度のワクチン株 第 57 回日本ウイルス学会学術集会、東京、2009 年 10 月

8. 氏家誠、島袋梢、安樂茜、江島美穂、小淵正次、岸田典子、徐 紅、高下恵美、伊東玲子、松浦純子、菅原裕美、田代真人、堀川博司、加藤裕美子、小口晃央、山崎秀司、藤田信之、小田切孝人：2008/09 シーズンにおけるインフルエンザ (A/H1N1) オセルタミビル耐性株 (H275Y*) の国内発

生状況 第 57 回日本ウイルス学会学術集会、東京、2009 年 10 月

9. 長谷川秀樹、相内章、網康至、永田典代、田村慎一、谷本武史、真鍋貞夫、石川豊数、宮崎隆、小田切孝人、田代真人、倉田毅、佐多徹太郎：経鼻粘膜投与型インフルエンザワクチンの剤形と効果検討 第 13 回日本ワクチン学会学術集会、札幌、2009 年 9 月

10. 河野直子、板村繁之、小田切孝人、田代真人：インフルエンザワクチンの力価測定に用いる一元放射免疫拡散 (SRD) 試験法の精度評価 第 13 回日本ワクチン学会学術集会、札幌、2009 年 9 月

11. 高橋仁、原田勇一、佐藤佳代子、河野直子、板村繁之、田代真人：インフルエンザワクチン力価測定に使用する標準抗原の HA 含量決定に重要な HA 含有率のエンドグリコシダーゼを用いた測定法の検討 第 13 回日本ワクチン学会学術集会、札幌、2009 年 9 月

12. 池野大介、来海和彦、工藤康博、後藤修朗、板村繁之、小田切孝人、田代真人、城野洋一郎：マウスを用いた H5N1 株インフルエンザワクチンのプライム-ブースト効果の検討 第 13 回日本ワクチン学会学術集会、札幌、2009 年 9 月

13. 原田勇一、河野直子、板村繁之、小田切孝人、城野洋一郎、五反田亨、多田善一、池田富夫、田代真人：沈降型インフルエンザワクチン (H5N1 株) 接種者の血清ウイルス中和抗体の交差反応性の検討 第 13 回日本ワクチン学会学術集会、札幌、2009 年 9 月

14. 高橋宜聖、小野寺大志、阿戸学、小田切孝人、田代真人、小林和夫：ヒト血清移入マウスを用いたインフルエンザウイルス感染防御能の解析

第13回日本ワクチン学会学術集会、札幌、2009

年9月

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 無
2. 実用新案登録 無
3. その他 無

分担研究報告書

新型インフルエンザに対する診断検査の事前準備と初期対応および薬剤耐性株サーベイランスへの展開に関する研究

研究分担者	小田切孝人	国立感染症研究所・インフルエンザウイルス 研究センター第一室 室長
協力研究者	影山 努	同第二室 室長
	板村繁之	同第三室 室長
	信澤枝里	同第四室 室長
	山本典生	同第五室 室長
	長谷川秀樹	同第六室 室長
	田代真人	同センター長
	国立感染症研究所・インフルエンザウイルス研 究センター職員 ^{*)}	
	国立感染症研究所・新型インフルエ ンザ検査対応ワーキンググループ ^{**)}	

^{*)} 第1室：小淵正次、氏家誠、徐紅、高下恵美、岸田典子、第2室：中内美名、第3室：原田勇一、高橋仁、佐藤佳代子、嶋崎典子、第4室：浅沼秀樹、白倉雅之、有田和子、第六室：相内章

^{**)} 森川茂、西條政幸(ウイルス1部)、清水博之(ウイルス2部)、大西 真(細菌第1部)、柴山恵吾(細菌第2部)、岡田義明(血液・安全性部)、木村博一、藤本嗣人(感染症情報センター)、本村和嗣(病原体ゲノム解析センター)、梁明秀(エイズ研究センター)、高橋宜聖(免疫部)、金子幸弘(生物活性物質部)、高木弘隆、篠原克明(バイオセーフティー管理室)、前濱朝彦(細胞化学部)、澤辺京子(昆虫医科学部)、棚林清(獣医科学部)、藤本浩文(放射能管理室)、平井明香(動物管理室)、中永和枝、中田 登(ハンセン病研究センター)

研究要旨 2009年4月からブタ由来のA/H1N1インフルエンザウイルス(新型A/H1N1pdm)による新型インフルエンザが発生し、世界規模の大流行となった。これまで新型インフルエンザPCR診断検査系は、高病原性A/H5N1鳥インフルエンザウイルスを前提として構築され、検疫所、地方衛生研究所への技術研修により事前準備されてきたことから、PCR検査系を新型A/H1N1pdmウイルス用に修正し、新型インフルエンザが本邦に上陸する前に全国規模での検査体制が立ち上がった。同様に、国立感染症研究所における検査体制は、全所一丸となって対応することが事前に合意されていたこと、また、各部・センター検査担当者の役割分担、検査試薬の所内備蓄等、事前に準備が進められていたことから、新型インフルエンザの国内発生に際しては、迅速な初期対応が可能であった。新型インフルエンザの蔓延期においては、変異株の出現にあわせてPCR検査系の更新を行い、地方衛生研究所における検査系の更新を支援した。並行してWHOのPCR-ワーキンググループへ情報提供し、海外の検査機関での診断検査系の開発に貢献した。また、新型インフルエンザウイルスに対する抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを地方衛生研究所と連携して実施し、耐性株検出情報を毎月一般へ情報提供した。

A. 研究目的

2003 年末から高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザウイルスによる家禽での流行とそれによるヒトへの感染事例が東南アジア諸国や中東・アフリカ地域で相次いで報告されたことから、本ウイルスによる世界的大流行(パンデミック)に備えて、本邦を含む各国では、本ウイルスを前提とした各種新型インフルエンザ対策(行動計画、ワクチン製造と国家備蓄、抗ウイルス薬の国家備蓄等)を進めてきた。その間、わが国では 2004 年に山口県、京都府の養鶏場で、2007 年には宮崎県、岡山県の養鶏場でそれぞれ大規模な A/H5N1 鳥インフルエンザの流行が発生したが、ヒトへの感染発症事例を出すことなく、それらは短期間で封じ込められてきた。

国立感染症研究所(感染研)では、高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザウイルスを RT-PCR 法により的確に捉える診断検査系を 2004 年初めには完成させ、東南アジア諸国からの検査依頼に応じる国際協力をしつつ、並行して国内での発生に備えて、全国地方衛生研究所(地衛研)および検疫所でも一律に標準化された検査が実施できるように、PCR 検査マニュアルを配布し、検査技術支援を行ってきた。検疫所には 2006 年から毎年感染研で技術研修を実施し、各施設の現状に即した検査系の構築と技術移転を行ってきた。2008 年 8 月には、全国 76 ヶ所の地衛研検査担当者を感染研に招聘し、新規に構築した A/H5N1 検出用リアルタイム PCR 検査法の実技研修を 3 週間にわたり実施した。これによって、A/H5N1 ウイルスが新型インフルエンザとして国内で流行した場合は、標準化検査法で、全国規模での診断検査ができる事前準備が整った。

一方、新型インフルエンザの国内発生初期から蔓延期に至るまでの間は、検疫所および地衛研から膨大な量の検査依頼が殺到することが予想されたことから、感染研全所体制で検査に対応することが決議され、詳細な運営戦略を検討するために、各部から代表者 1 名が参加した新型インフルエンザウイルス検査対応ワーキンググループ(WG)が 2008 年 3 月に立ち上がった。本 WG では、全所体制で対応するための相互理解から始まり、具体的な役割分担、検査実施場所の特定や検査設

備の準備、試薬の所内備蓄と予算交渉、バイオセーフティーの問題、また事前の技術研修戦略について協議され、そのまとめは行動計画案として 2009 年 3 月の部長会へ提出され、4 月 27 日付けで了承された。

一方、国の新型インフルエンザ対策の一環として、2009 年 4 月には定員 27 名の 6 室からなるインフルエンザウイルス研究センターが感染研に新設され、新型インフルエンザ検査、サーベイランスおよびワクチン株の開発と供給、品質管理体制の強化が図られた。

このように感染研内での新型インフルエンザ対策が着々と進められている中、2009 年 4 月に米国、メキシコでブタ由来の A/H1N1 インフルエンザウイルスのヒトへの感染例が相次いで発生し、瞬く間に世界中に流行が広がり、6 月 12 日にはパンデミック期に相当するフェーズ 6 宣言が WHO から出される事態となった。人々の予想とは全く異なる新しい弱毒型の A/H1N1 ウイルス(新型 A/H1N1pdm ウイルス)によってパンデミックが引き起こされたことから、これまでの高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザウイルスを前提とした新型インフルエンザ対策を新型 A/H1N1pdm ウイルスに修正する必要があり、検査体制、マニュアルの変更も余儀なくされた。しかし、これまで最高警戒レベルで事前準備をしてきたことから、検査体制の組み直しは迅速にすることが可能であった。

本研究では、新型インフルエンザに備えた診断検査の事前準備、国内発生時の初期対応、パンデミック期の薬剤耐性株サーベイランスの実施などを振り返り、問題点を明確にして今後の対策、さらには、将来同様の感染症が発生し全所協力体制で対応する場合の基礎となるべき、これまでの新型インフルエンザウイルス検査対応を検証する。

B. 研究方法

① 新型インフルエンザ発生に備えた事前準備として、高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザウイルス検査診断マニュアルを作成し、陽性対照ウイルス RNA と共に全国地

衛研および検疫所へ配布した。

- ② 検疫所および地衛研検査担当者を感染研へ招聘し、各種 PCR 法を駆使したウイルス遺伝子検出検査の技術研修を実施した。
- ③ WHO が主催する PCR 検査診断マニュアル作成 WG に参画し、世界標準の PCR 検査法の構築を行った。
- ④ 感染研に新型インフルエンザウイルス検査対応 WG を設立し、行動計画の策定を行った。
- ⑤ 新型 A/H1N1pdm ウイルス用の検査系の緊急構築を行い、全国地衛研へマニュアル、プライマー、試薬を緊急配布した。さらに、検査対応方針の策定を行った。また、流行状況の変化に応じて、マニュアルの改訂、検査戦略の見直しを行った。
- ⑥ 全国地衛研との連携により、新型インフルエンザウイルスに対する抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施した。

C. 研究結果

1) 新型インフルエンザ発生に備えた事前準備。

①高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザウイルス診断検査マニュアルの作成と公開。

2003 年末に韓国、ベトナムの養鶏場で高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザの流行が起こり、わが国でも 2004 年 1 月には山口県、2 月には京都府のそれぞれの養鶏場で大規模な流行が発生し、国内での流行拡大、ヒトへの感染者が出る可能性が高まった。このことから、全国地衛研で A/H5N1 鳥インフルエンザウイルス遺伝子検出検査が実施できるように、感染研で PCR 検査標準マニュアル『RT-PCR 法による強毒型 H5 トリインフルエンザウイルス遺伝子の検出』を作成し、各地衛研担当者へ陽性コントロールウイルス RNA と共に配布した。大学等の研究機関や関連機関でも PCR 検査ができるように、本マニュアルを感染研情報センター website から 2004 年 1 月 14 日に一般公開した。本マニュアルはその後のウイルスの変異と新たに構築したリアルタイム PCR 系を盛り込んだ『病原体検査マニュアル・高病原性鳥インフルエンザ』として 2006 年 6 月に改訂され、地衛研および検疫所へ配布された。さらに、2008 年 8 月には、これまでの One-Step RT-PCR 法のプライ

マーを全面改訂し、TaqMan-リアルタイム PCR 法および検査結果判定の解釈を詳細に記載した改訂版を作成し、同年 10 月に追加修正を加えた最終版を地衛研へ配布した。これによって、複数種の異なるクレードの H5N1 ウイルスが国内に侵入しても、地衛研で最新の PCR 系で検査可能な体制が構築された。

②検疫所検査担当者への PCR 検査技術研修。

東南アジア諸国では、高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザウイルスへの感染者が増え続け、その間本邦からの旅行者が当該国で感染し帰国する場合も想定された。このため、感染者を水際で捉える為に、検疫所における A/H5N1 ウイルス検出検査系の構築と検査技術訓練が必須となった。感染研は、厚生労働省の要請を受けて、2006 年から毎年 2 日間の日程で術研修を実施した（別添資料 1）。この研修会では、検疫所に実備されているリアルタイム PCR 装置に特化した検査法の実技訓練、検査結果の解釈および精度管理、さらには、検体の保管、輸送法などを研修し、各施設での問題点や改良法について徹底討論された。これによって、検疫所での検査体制が構築された。

③地衛研検査担当者への PCR 検査技術研修。

感染研では、2008 年にこれまで用いてきた One-Step RT-PCR 法の全面改定を行い、新たに TaqMan-リアルタイム PCR 法を加えて、インフルエンザ A 型、H5 亜型、N1 亜型を同時に検出できる検査系を完成させた。本検査系を全国の地衛研に普及させ、検査担当者のレベルを向上させるために、同年 8 月 11-22 日まで 3 日間コース、2 日間コースそれぞれ 4 班に分けて技術研修を実施した（別添資料 2）。本研修では、検査法の技術習得のみならず、検査試薬の所内備蓄戦略や検査対応者のバックアップ体制の構築についても、各地衛研の実情に応じて検討し、事前準備を全所的に進めるよう助言し、それに伴う問題点などを徹底討論した。また、厚労省新型インフルエンザ対策推進室から担当官を招き、地衛研から国への要望等の意見交換をし、国の新型インフルエンザ検査ガイドラインに地方自治体検査現場からの意見が反映されるよう、国の対策本部

と意思疎通を図った。

④感染研新型インフルエンザウイルス検査対応WGの設立と行動計画の策定。

感染研の新型インフルエンザ診断検査の役割は、検査系の構築と更新、検査技術の地方自治体への普及と支援および地衛研、検疫所で捉えた陽性例の確認試験の実施である。このため、新型インフルエンザが発生し、WHOのフェーズ3から4への移行期および国内での流行初期においては、膨大な数の感染疑い例の検査依頼が地方自治体や検疫所から殺到することが予想された。そのような事態では、職員数11名のインフルエンザウイルス室(旧ウイルス第3部第1室、第6室)のみでは処理しきれず、短期間で検査対応の破綻が予想された。このため、検査数の増加に応じて検査対応者をインフルエンザウイルス室から所内各部・センターへ拡大して、全所体制で診断検査をすることになった。具体的な運用案を検討し行動計画にまとめるため、インフルエンザウイルス室長を座長とする「新型インフルエンザウイルス検査対応WG」を立ち上げ、検査対応人員の配置、ローテーション、PCR機器の確保、検査実施スペースの確保、バイオセーフティーの検討、検体受け入れ、PC登録・事務処理の手順等について検討された。

WGは2008年3月11日の第1回目から7月1日まで5回開催され、新型インフルエンザウイルス検査を各部・センターが一丸となって実施しなければならないこと、フェーズ4になった場合に感染研が求められる検査対応とそれに対する具体的な戦略について共通認識をもつべく徹底協議された(別添資料3)。本WGで協議された行動計画の概要としてまとめられた事項は以下のとおりである(別添資料4)。

- A) 感染研に検査依頼がくるのは、第1段階(海外発生期)から第2段階(国内発生早期)までと想定され、所内各部・センターが連携して対応する時期は、第2段階と想定される。
- B) 患者の接触歴が疫学調査で追えなくなる第3段階(感染拡大期)は、診断検査からウイルス分離を主体とするウイルス性状分析とワクチン候補株の検索と開発へと国の方針が変更される。よって、感染研での大量の診断

検査は不要となり、その時点で所全体での対応は解除され、ウイルス第3部でのウイルス分析を中心とした対応へと移行する。

- C) 感染研の役割は、地衛研でA/H5N1と同定された検体の確認試験を実施することであるから、未同定検体については原則対応しない。
- D) 感染研は地衛研の検査能力、精度の向上を支援し、必要な技術、情報の移管を随時行う。
- E) 検査対応の拡大戦略は、ウイルス第3部インフルエンザ室(50検体/day)→ウイルス第3部全体(50~100検体/day)、それ以上となった場合は、村山、戸山、ハンセン病センターの各部・センターによる一斉検査対応へと移行する。
- F) 検査実施場所:6号棟6F研修施設(南北両側を効率よく使用し、交叉汚染を防止する)。検査はBSL2で実施するが、必要に応じてPPEを強化する。
- G) 検査は作業内容に応じて4グループに別れ、一方向への流れ作業で実施される。
- H) 検査担当者の時間割を決め、土日もローテーションで実施する。
- I) 試薬の所内備蓄、保管場所:手動対応の試薬が所内備蓄されている。保管場所は6号棟6F研修施設内、およびウイルス第3部6号棟5F。
- J) 検査マニュアルの作成と検査対応者への研修:自動化のための機器が整備されたことから、検査マニュアルの更新をし、所内検査対応者へ技術研修会を実施する。
- K) 検体情報、検査結果を効率よく登録できるようにNESIDを検査対応用に改訂することが急務。

2) 新型A/H1N1インフルエンザウイルス発生時の初期対応。

2009年4月21日に米国CDCからカルフォルニアで小児へブタ由来のA/H1N1ウイルスの感染事例が報告された。24日には同様のウイルスがメキシコでも人々の間で広がっているとの

情報が入り、本ウイルスが新型インフルエンザとしてパンデミックを引き起こす可能性が強く示唆された。しかし、ブタの A/H1N1 ウイルスによるヒトでの大流行は想定外であり、ブタウイルスを検出できる PCR 検査系の緊急構築が急務となった。同日には、初発例から分離されたカルフォルニア株の遺伝子配列が公開されたことから、それをもとにプライマー、プローブ設計を行い、新型 A/H1N1pdm ウイルス検査系の構築を行った。以下は、時間軸に沿って我々が行った新型インフルエンザに対する初期対応である。

①PCR 検査系の構築

4月24日 A/California/4/2009 (H1N1pdm) 遺伝子配列情報の入手。PCR 検査用プライマー、プローブの設計、発注。

4月28日 プライマー、プローブが感染研へ納入される。

4月28-29日 プライマー、プローブの特異性、検出感度、季節性インフルエンザウイルスとの交叉反応性を検討し、最適なプライマー、プローブであることを確認。

4月30日 プライマー、プローブおよび PCR 試薬を大量発注し、75ヶ所の地衛研および15ヶ所の検疫所へメーカーから直送するよう依頼。

5月1日 新型インフルエンザ診断検査対応ガイドラインに基づき、新型 A/H1N1 インフルエンザ検査対応指針、検査マニュアル、検体情報入力フォーマットシートを作成し（別添資料5）、感染研情報センター連絡網により地衛研へ、また厚労省検疫所業務管理室を通じて検疫所へそれぞれ配布。A/California/4/2009 (H1N1pdm) 株はまだ入手できていなかったことから、陽性コントロールとして、系統保存事業で感染研に保管していた、埼玉県の本猪から分離された H1N2 ウイルスから抽出した RNA を配布。

5月2日 各地衛研、検疫所へ PCR 試薬、プライマー、プローブの納入完了。A/California/4/2009 (H1N1pdm) 株が米国 CDC から感染研に到着。直ちに、遺伝子 RNA を抽出し、新規設計したプライマー、プローブの特異性、検出感度を検討し、新型 A/H1N1 pdm ウイルス検査への有効性を確認。

5月4日までは、全国地衛研および検疫所における PCR 検査系が整い、新型 A/H1N1pdm ウイルス

の全国的な検査体制が整備された。

②感染研における検査対応

5月1日深夜 横浜市衛研から疑い例検体が搬入され、検査により陰性が確認される。

5月2-3日 インフルエンザウイルス研究センター職員4-5名/組で一日6時間2交代制シフトで検査対応開始。外部との連絡係1名を12時間交代で配置。検体の受け取りは、総務部事務官が12時間交代で対応（別添資料6）。

5月4日 厚労省新型インフルエンザ対策推進本部事務局長から事務連絡『新型インフルエンザの診断検査のための検体送付について』が地方自治体へ発出され、地衛研の検査結果を待たずに、全検体を並行して感染研へ搬入することになった。これによって、同日

から3交代24時間体制での検査対応が必要となった（別添資料7）。新たなシフトは、インフルエンザウイルス研究センター職員3名/組で日中は6時間交代、夜勤は12時間、外部との連絡係は24時間対応とした。検体受け取り事務官も24時間体制で対応することになった。

5月7日 24時間体制での検査対応を維持しつつ、国内発生時のウイルス分離、性状解析、ワクチン株開発を並行して実施するのは不可能であり、検査対応は全所に拡大する必要ありとの判断により、所長から各部・センターへ協力要請された。これを受けて、検査対応WG会議が緊急招集され、各部から検査対応候補者131名が登録され、その中からコアメンバー37名（各部・センターから1名以上）を選出して、24時間検査対応シフト表が編成された（別添資料8）。

5月8-9日 成田空港検疫所からカナダからの帰国者から新型インフルエンザ陽性例が検出された旨の報告を受ける。確認検査のために検体は深夜に感染研に搬入され、即日、検査を実施した結果、新型インフルエンザウイルス陽性が確認された（別添資料9）。本邦初の検出例であり、後に分離培養により回収されたウイルスは、A/Narita/1/2009 (H1N1pdm) と命名され、わが国の標準株として国内外へ分与された。

5月9-17日 各部・センターから選抜され

たコアメンバーの3交代による検査対応の開始。これは、5月18日から導入される各部の検査対応者の指導者となるべく、トレーナーズトレーニングを兼ねた(別添資料8)。

5月15-16日 神戸市環境保健研究所から新型インフルエンザ陽性例の報告を受け、翌日検体が搬入され、感染研でも陽性が確認された。海外渡航歴のない国内感染初発例となった。その後、関西地区で新型インフルエンザ陽性例が続発し、感染研へ搬入される検体数の激増が予想されたため、RNAの自動抽出等、検査の一部自動化が検討された。

5月18日 厚労省健康局結核感染症課から事務連絡『新型インフルエンザ患者の確定診断について』が地方自治体へ発出され、同日以降は地衛研および検疫所における判定結果で新型インフルエンザ確定とすることになった。これによって、感染研での確認検査は原則必要なくなり、検査依頼が定期的になることが予想された。

5月19日 全所体制で進められてきた検査対応は、この日をもって一旦解除され、同日からはインフルエンザウイルス研究センター職員(室長、職員2名/班)の24時間交代制で対応することになった。

3) 新型インフルエンザ診断検査初期対応時の問題点と今後への教訓

①国の検査対応方針の変更による混乱について。国のフェーズ4以降の「医療機関における診断のための検査ガイドライン」は2007年3月に策定され、2008年8月には改訂作業WGが結成された。改訂ガイドラインには、地衛研の現状と要望が可能な限り反映されるように、WG委員には衛生微生物協議会感染症部会長も加わった。

改訂ガイドラインでは、診断検査の目的と意義および検査優先期からウイルス学的サーベイランス優先期への切り替え戦略を明確にし、さらに地衛研、検疫所における陽性例の検出、感染研では確認検査の実施というそれぞれの機関における役割が明記された。本ガイドラインは新型インフルエンザが発生した2009年5月1日付で厚労省から暫定版として出された。それと並行して、同日には新型A/H1N1インフルエンザ検査対応指

針(別添資料5)が感染研からも各地衛研、検疫所へ配布され、検査の流れが明確にされた。

新型インフルエンザが海外で発生し、国内でも疑い例が出るに従って、厚労省は国の検査ガイドラインや地衛研-感染研合意の検査対応指針とは異なる対応を指示するようになり、5月4日には『新型インフルエンザの診断検査のための検体送付について』の事務連絡が出され、地衛研、検疫所の検査結果を待たずに全検体が同時に感染研に送付されることになった。これによって、2交代制で構築した検査担当ローテーションを3交代制24時間対応に組み直すことになり、検査現場の混乱と担当者の疲弊を招くことになった。

地衛研、感染研双方の検査担当者の疲弊が進む中、感染研から厚労省へ検査方針を元に戻すよう再三要望が出され、5月18日に厚労省から出された事務連絡『新型インフルエンザ患者の確定診断について』で、正常な検査体制へ戻されることになった。国の対応方針の変更に当たっては、検査現場の状況と対応能力についてよく情報収集して実施すべきであり、今後への教訓としていただきたい。

②検査対応の感染研全所体制への移行時期について。

新型インフルエンザの事前準備期における検査対応戦略では、地衛研、検疫所からの検査依頼数に応じて、検査担当部(旧ウイルス第3部)から各部・センターへ拡大することになっていた。しかし、新型インフルエンザ発生初期には、陽性例の迅速な確認検査が必要であり、感染研は検体の搬入から結果報告まで短時間で対応することが求められた。よって、検査は一定時間帯ごとに検体をまとめて実施することはできず、現実的には五月雨的に搬入される検体を、受け付ける度に検査を実施せざるを得なかった。また、感染研に検体が搬入されるのは深夜であることが多く、明け方まで繰り返し検査を実施するため(別添資料9)、検査対応者の疲弊が激しく想定以上の検査対応者の確保が必要であった。今回の全所体制への切り替えは、検査回数の増加に応

じて実施されたことから、的を射た適切な対応であった。

③検査対応者の事前訓練について。

地衛研および検疫所に対しては、高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザウイルスを前提とした技術研修が、新型インフルエンザの発生前に完了していたため、A/H1N1pdm ウイルスによる新型インフルエンザ発生の際は、プライマー・プローブ、マニュアルの一部修正のみで迅速な検査系構築が可能であった。一方、感染研所内については、検査マニュアルの配布が完了し、技術研修の計画中に新型インフルエンザが発生したため、全所体制での検査開始においては、日常の研究業務で PCR 経験者をコアメンバーとした本番検査とトレーナーズトレーニングを兼ねた検査対応を余儀なくされた。幸い、検査中の事故や誤判定はなかったが、検査精度の維持の上で早めの事前訓練は必須である。

④診断検査における事務担当部との連携

検査対応においては、事務方からの協力が検査の効率的な遂行に必須であった。新型インフルエンザ発生初期においては、検体は地衛研、検疫所、地方自治体職員による直接持参のケースが多く、到着時間も不定期で深夜が多かった（別添資料 9）。検査担当はその都度、実験を中断し受付まで検体を受け取りに行かなければならない。この事態を回避するために、感染研総務部事務担当者が検体受付・登録、実験室まで検体搬送を 24 時間当直体制で担当した。この事務処理の協力は、検査作業をスムーズに進める上で、非常に効率的であり検査担当者の疲弊軽減に大いに有効であった。また、事務担当部による夜勤担当者のための簡易宿泊施設の設定は、検査対応の長期戦に有効であった。検査担当部および事務担当部の連携は、全所的対応に必須な戦略である。

4) 新型インフルエンザ蔓延期の対応

①地衛研との連携による PCR 検査系の更新と改訂検査マニュアル、PCR プローブおよびプライマーの再配布。

新型インフルエンザウイルスが国内外で流行株の大半を占める蔓延期では、変異株の出現に応じて、PCR 検査系の更新が必要となる。そのため、

感染研は地衛研に対して研修会等の機会あるごとに、PCR 検査で検出できないケースや感度低下が見られた場合には、速やかに情報提供してくれるよう依頼していた。これを受けて、2009 年 7 月 21 日には愛知県衛生研究所から、8 月 10 日には堺市衛生研究所から、それぞれ変異株が検出され、現行のリアルタイム PCR プライマー・プローブキットでは見逃す可能性がある旨の情報提供と変異株の分与があった。感染研で直ちに変異株の遺伝子解析を実施し、プローブ領域内に塩基ミスマッチを確認できたことから、変異株も高感度に検出できるプローブの再設計および発注を行った

（別添資料 10）。改訂版のプライマー・プローブセットでは、変異株および流行株を PCR の検出限界である 5 コピー/反応（ウイルス遺伝子 5 コピーが臨床検体中に存在すれば検出可能）で検出できるようになり、変異株も確実に捉える PCR 検査系の改良が迅速に実現できた（別添資料 10）。

その後、一定数の流行株との反応性を精査し、10 月 20 日には、改訂版のプライマー・プローブセットを大量発注し、改訂検査マニュアルおよび新規に新型 A/H1N1pdm ウイルスより抽出した RNA を陽性コントロールとして、75 カ所の地衛研および 15 カ所の検疫所に発送し、検査系の更新が完了した。

並行して WHO の PCR-WG へも報告し、WHO website から 2009 年 11 月改訂版として全世界に情報提供した

（http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/WHO_Diagnostic_RecommendationsH1N1_20090521.pdf）。今後も変異株の出現状況、検出感度の定期的な検討に応じて、PCR 検査マニュアルは更新される。

②新型インフルエンザ抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスの開始

新型 A/H1N1pdm ウイルスは、抗インフルエンザ薬アマンタジンには耐性であるが、ノイラミニダーゼ阻害剤のオセルタミビルおよびザナミビルには感受性である。しかし、国内外から 100 株程度のオセルタミビル耐性株が散見されており、そのうち 63 株はわが国で分離

された耐性株である。

オセルタミビル耐性の新型 A/H1N1pdm ウイルスは、ヒト-ヒト感染伝播効率の極めて悪い自然消滅型であるが、季節性 A/H1N1 ウイルス耐性株のように、流行拡大型に変化した場合は、抗インフルエンザ薬の治療戦略見直しが必要となる

(<http://idsc.nih.gov/iasr/rapid/pr3601.html>)。このため、ノイラミニダーゼ阻害剤耐性株サーベイランスを実施し、耐性株の出現、流行状況を逐一把握する必要がある。

本研究では、新型 A/H1N1pdm ウイルス薬剤耐性株サーベイランスを実施するために、地衛研と協議の上、実施方針、要綱およびマニュアルを作成し、地衛研へ配布した。耐性株はノイラミニダーゼ遺伝子の部分塩基配列の決定による耐性株マーカーの検索で検出するため、シーケンス試薬を10月に配布し、11月から全国規模で薬剤耐性株サーベイランスが開始された。現時点での検出頻度は1.6%と極めて低い。詳細結果は、<http://idsc.nih.gov/iasr/graph/tamiful09-10.gif> を参照されたい。

D. 考察

新型インフルエンザ対策は、2009年にブタ由来の A/H1N1pdm ウイルスが新型インフルエンザとしてパンデミックを引き起こすまでは、高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルスを前提に進められてきた。その間、H5N1 ウイルスのヒトでの流行は起きなかったことから、『狼と少年』を例えた皮肉とも批判とも取れる言動を多く耳にしてきた。新型インフルエンザ対策は、事前準備、行動計画に基づいた共通認識と事前の合意戦略があれば、実際に新型インフルエンザが発生した際には、ウイルスの亜型が異なっても事前準備の一部を修正することで柔軟かつ迅速に対応可能であり、今回の A/H1N1pdm ウイルス検査対応が典型例である。新型インフルエンザ発生 の 9 カ月前までには、H5N1 ウイルス用ではあったが検査所、地衛研に対する PCR 検査の技術研修が終了し、全国組織での検査網の構築がなされていた。新型インフルエンザ発生の際は、新型 A/H1N1pdm ウイルス用に変更したプライマー、プローブを設計し、全国の地衛研、検査所に PCR 試薬と共に配布する

ことで、5月の連休の最中ではあったが、新型ウイルスがわが国に上陸する前に短期間で検査網が構築された。これは、地衛研、検査所側の協力と同じベクトルで危機意識を共有した新型インフルエンザへの取り組みの成果と言える。

一方、感染研においては、2008年1月から所内インフルエンザ対策各WGが稼働しており、診断検査対応WGも全所協力体制で検査に当たるとの合意のもとに、インフルエンザウイルス担当室から各部・センター全体で検査を進める拡大戦略、検査担当者の班分け・時間割、ローテーション表の作成、検査機器の自動化へ向けた予算申請、検査実施場所の特定とバイオセーフティー・セキュリティのアクションプラン策定、検査試薬の所内備蓄などが終わり、行動計画として2009年4月27日付で承認されたところであった。新型インフルエンザは、その直後に海外で発生し、5月中旬からは、わが国でも大流行に曝されることになった。この様なタイムリーな事前準備があったために、感染研への検査依頼が増え、全所体制へ移行する際も、各部・センターおよび事務方が一致協力して、スムーズに検査対応することが可能であった。これも事前準備の大きな産物であるといえよう。

一方、厚労省の対応は、「医療機関における診断のための検査ガイドライン」(2009年5月1日改訂)に基づいて、検査の流れと方針について地方自治体と合意していたにもかかわらず、度重なる方針変更がなされ、検査現場からの不信感と混乱を招いた。方針変更の際には、国-感染研-地衛研、検査所との連携のもと、現場の対応状況を反映したものが現実的な対応策である。

新型インフルエンザウイルスが市中に蔓延し、流行期が進むに従って、変異株が出現するようになる。これは、遺伝子変異の修復機構をもたないインフルエンザウイルスの宿命であるため、これを見越した検査系の感度の見直しと更新が必要となる。これには、現場からの声として、地衛研からの PCR 感度の低下や変異株の検出情報が必須である。今回は

地衛研からの協力により、PCR 感度が低下した変異株をいち早く捉えることができ、国内での流行ピーク前に、変異株をも高感度に捉える改訂版 PCR 検査系が完成し、迅速に地衛研、検疫所へ提供することができた。これは、国全体の検査精度の向上、しいては諸外国との情報共有による国際貢献にもなったことから、今後も継続した地衛研-感染研の連携と協力が重要である。

最後に、今回の新型インフルエンザの発生に際して、通常業務を抱えながらも昼夜を問わずに率先して診断検査に協力していただいた感染研全職員、事務担当部、さらには、地衛研、検疫所職員、厚労省担当官に敬意を表したいと思います。

E. 結論

- ・新型インフルエンザ対策として、高病原性 A/H5N1 鳥インフルエンザウイルスによる大流行を想定した診断検査の全国組織網の構築が新型インフルエンザ発生前に完了していた。

- ・プタ由来の A/H1N1pdm ウイルスが新型インフルエンザとして国内外で大流行した際も、上記の事前準備をもとに、新型インフルエンザが本邦に上陸する前に、短期間で全国規模の検査系の構築が可能であった。

- ・感染研所内の検査対応 WG が 2008 年 3 月から稼働し、行動計画と事前準備が完了していたことから、新型インフルエンザ発生の際には、各部・センター、事務方が一致協力して全所体制で検査対応することが可能であった。

- ・新型インフルエンザ蔓延期には、地衛研-感染研の連携と協力により、変異株をも捉える検査系の改訂を迅速に実施できた。

- ・薬剤耐性株サーベイランスを全国規模で実施した。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Ikeno D., Kimachi K., Kudo Y., Goto S., Itamura S., Odagiri T., Tashiro M., Kino Y. A prime-boost

vaccination of mice with heterologous H5N1 strains. *Vaccine* 27, 3121-3125 (2009)

Takahashi Y, Hasegawa H, Hara Y, Ato M, Ninomiya A, Takagi H, Odagiri T, Sata T, Tashiro M, Kobayashi K Protective immunity afforded by inactivated H5N1 (NIBRG-14) vaccine requires antibodies against both hemagglutinin and neuraminidase in mice. *J Infect Dis.* 199(11):1629-37, 2009 .

Kawakami, C., Obuchi, M., Saikusa, M., Noguchi, Y., Ujike, M., Odagiri, T., Tashiro, M. :Outbreaks of oseltamivir-resistant influenza A/H1N1 virus in an elementary school and a family in Yokohama City, Japan during the 2007-2008 season. *Jpn. J. Infect. Dis.* 62: 83-86, 2009.

Ikeno, D., Kimachi, K., Kudo, Y., Goto, S., Itamura, S., Odagiri, T., Tashiro, M., Kino, Y. :The prime-boost vaccination of H5N1 heterologous strains in a mouse model *Vaccine*: 27, 3121-3125, 2009.

Ichinohe, T., Ainai, A., Nakamura, T., Akiyama, Y., Maeyama, J., Odagiri, T., Tashiro, M., Takahashi, H., Sawa, H., Tamura, S., Chiba, J., Kurata, T., Sata, T., Hasegawa, H.:Induction of cross-protective immunity against influenza A virus H5N1 by an intranasal vaccine with extracts of mushroom mycelia *J. Med. Virol.* 82: 128-137, 2010.

Barr IG, McCauley J, Cox N, Daniels R, Engelhardt OG, Fukuda K, Grohmann G, Hay A, Kelso A, Klimov A, Odagiri T, Smith D, Russell C, Tashiro M, Webby R, Wood J, Ye Z, Zhang W; Writing Committee of the World Health Organization Consultation on Northern Hemisphere Influenza Vaccine Composition for 2009-2010. Epidemiological, antigenic and genetic characteristics of seasonal influenza A(H1N1), A(H3N2) and B influenza viruses: basis for the WHO recommendation on the composition of influenza vaccines for use in the 2009-2010 Northern

Hemisphere season. *Vaccine*. 2010 Feb 3;28(5):1156-67.
Epub 2009 Dec 9.

2. 学会発表

長谷川秀樹、相内章、網康至、永田典子、田村慎一、
谷本武史、真鍋貞夫、石川豊数、宮崎隆氏、小田切
孝人、田代真人、倉田毅、佐多徹太郎 経鼻粘膜投
与型インフルエンザワクチンの剤形と効果検討 第
13回日本ワクチン学会、札幌、9月(2009)

河野直子、板村繁之、小田切孝人、田代真人 イン
フルエンザワクチンの力価測定に用いる一元放射
免疫拡散(SDR)試験法の精度評価 第13回日本ワク
チン学会、札幌、9月(2009)

池野大介、来海和彦、工藤康宏、後藤修郎、板村繁
之、小田切孝人、田代真人、城野洋一郎 マウスを
用いたH5N1株インフルエンザワクチンのプライム
ーブースト効果の検討 13回日本ワクチン学会、
札幌、9月(2009)

原田勇一、河野直子、板村繁之、小田切孝人、城野
洋一郎、五反田亨、多田善一、池田富夫、田代真人
沈降型インフルエンザワクチン(H5N1株)接種者
の血清ウイルス中和抗体の交叉反応性の検討 13
回日本ワクチン学会、札幌、9月(2009)

高橋宣聖、小野寺大志、阿戸学、小田切孝人、田代
真人、小林和夫 ヒト血清移入マウスを用いたイン
フルエンザウイルス感染防御能の解析 13回日本
ワクチン学会、札幌、9月(2009)

小田切孝人 新型インフルエンザA/H1N1ウイルス
とワクチン製造、接種の見通し 第58回日本感染
症学会東日本地方学術集会、東京、10月(2009)

氏家誠、島袋梢、安楽茜、江島美穂、小淵正次、岸
田典子、徐紅、高下恵美、伊東玲子、松浦純子、菅
原裕美、田代真人、堀川博司、加藤裕美子、小口晃
央、山崎秀司、藤田信之、小田切孝人 2008/09シ
ーズンにおけるインフルエンザ(A/H1N1)オセルタ
ミビル耐性株(H275Y)の国内発生状況 第57回日本
ウイルス学会、東京、10月(2009)

相内章、伊藤良、岸田典子、小淵正次、高下恵
美、小田切孝人、千葉丈、田村慎一、倉田毅、
佐多徹太郎、田代真人、長谷川秀樹 経鼻イン
フルエンザワクチンの新型インフルエンザウイ
ルスに対する交叉防御能の検討 第57回日本ウ
イルス学会、東京、10月(2009)

岸田典子、小淵正次、高下恵美、徐紅、氏家誠、
永田典子、岩田奈織子、相内章、長谷川秀樹、
田代真人、齊藤玲子、鈴木宏、池松秀之、小田
切孝人 季節性インフルエンザワクチンにより
誘導される中和抗体の新型インフルエンザウイ
ルスに対する交叉反応性および新型インフルエ
ンザウイルスの性状 第57回日本ウイルス学会、
東京、10月(2009)

長谷川秀樹、相内章、永田典子、岩田奈織子、
網康至、小淵正次、岸田典子、小田切孝人、佐
多徹太郎、田代真人 新型インフルエンザH1N1
のフェレットにおける病原性の検討 第57回日
本ウイルス学会、東京、10月(2009)

小淵正次、氏家誠、岸田典子、徐紅、高下恵美、
伊東玲子、松浦純子、菅原裕美、安楽茜、江島
美穂、田代真人、小田切孝人 2008/09シーズ
ンの季節性インフルエンザウイルス流行株と平成
21年度のワクチン株 第57回日本ウイルス学会、
東京、10月(2009)

原田勇一、高橋仁、佐藤佳代子、信澤枝里、河
野直子、板村繁之、田代真人、奥野良信、佐々
木学、庵原俊昭、小田切孝人 沈降H5N1インフ
ルエンザワクチン接種者の野生型ウイルス株及
び弱毒ワクチン株に対する抗体応答の評価 第
57回日本ウイルス学会、東京、10月(2009)

原田勇一、森愛、多田善一、高橋宣聖、田代真
人、小田切孝人 弱毒化H5N1インフルエンザウ
イルスに対する沈降H5N1インフルエンザワクチ
ン(clade2.3)のマウスにおける有効性の検討 第
57回日本ウイルス学会、東京、10月(2009)

Takato Odagiri Immune response to pandemic A/H1N1 virus by seasonal influenza vaccination. International Scientific Symposium on Influenza A (H1N1) pandemic response and preparedness, China, 21-23 August, 2009.

Takato Odagiri Characterizations of oseltamivir resistance influenza A/H1N1 viruses isolated in 2007/08 and 2008/09 seasons. US/Japan Cooperative Medical Science Meeting. 13th Acute respiratory infections (ARI)

subcommittee, Feb 16-17, 2009.

Ⅱ 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

I. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. その他 なし

高病原性 H5N1 鳥インフルエンザの診断検査研修（検疫所）

○平成 18 年 5 月 25 日（木）13:00～18:00

26 日（金）9:00～17:30（実習が終わるまで）

国立感染症研究所村山庁舎 6 号棟 6 階実習室および講義室

担当：ウイルス 3 部インフルエンザウイルス室

（室長 小田切孝人、主任研究官 今井正樹、研究員 影山努、二宮愛、氏家誠）

○平成 19 年 5 月 14 日（木）13:00～18:00（実習が終わるまで）

15 日（金）9:00～16:00

国立感染症研究所村山庁舎 6 号棟 6 階実習室および講義室

研修担当：今井正樹 (maimai@nih.go.jp)、影山努 (tkage@nih.go.jp)

氏家誠 (ujike@nih.go.jp)、小田切孝人 (todayiri@nih.go.jp)

○平成 20 年 6 月 19 日（木）10:00～実習終了まで

20 日（金）9:00～16:00

場所：国立感染症研究所村山庁舎 6 号棟 6 階実習室および講義室

研修担当：影山努 (tkage@nih.go.jp)、白倉雅之 (masayuki@nih.go.jp)、

岸田典子 (kishidan@nih.go.jp)、小田切孝人 (todayiri@nih.go.jp)

1. 研修項目：H5N1 ウイルス遺伝子検出検査法

➤ 実習編

- ・ Real-time PCR による検査
- ・ H5-LAMP による検査（参考、可能であれば）

➤ 講義および討論編

- ・ 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザについて
- ・ 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザ診断検査の概要と流れ
- ・ 検査室の設定と検査制度管理について
- ・ 検査系の利点と問題点

2. 研修日程

第 1 日目

13:00～15:00（オープニングセッション）

- ・ 開会挨拶（厚労省：原田補佐、感染研：小田切）

（講義）

- ・ 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザの流行の現状と診断検査の概要と流れ
（小田切）

—高病原性鳥インフルエンザの実態

—高病原性鳥インフルエンザの検査系の一般的概要

—検体の送付法について

（講義）

- ・ 検査実習の概要説明（影山）

—Real-time PCR 検査の概要と実習手順の説明

—臨床検体から RNA 抽出、

—実験手順についての注意点の説明

休憩

15:00-18:00 (実習)

- ・ Real-time PCR 実習 (thermal cycler まで overnight) (影山 ; 今井 ; 氏家)

第2日目

9:00-12:00 (実習)

- ・ Real-time PCR の成績検討

13:30-14:50 (影山、今井、氏家)

- ・ Real-time PCR の成績検討 (実習の続き)

休憩

15:00-16:00

- ・ 総合討論 (影山、今井、氏家、小田切)
 - 検査精度管理と問題点の克服 (交差汚染の防止の工夫)
 - 検査系の利点と問題点の理解 (3 遺伝子検出検査法の比較をもとに)
 - 紛らわしい結果が出たときの対処法 (実例を示したトラブルシューティング)
 - 各検疫所検査室の実情に応じた、検査手順の考察と助言

閉会の挨拶 (厚労省 : 原田補佐、感染研 : 小田切)

3. 実習手順

手順 :

- 1) 試薬調整
- 2) 検体添加
- 3) 陽性コントロール添加
- 4) Real-time PCR 開始
- 5) 成績解釈
- 6) 問題点の議論

同一のキャビネット使用 (理屈を十分に理解していることが前提)

4. 準備

- ・ マニュアルの準備と修正
 - ・ 実験機器の搬入
- テキスト

高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルス感染診断技術研究会(地方衛生研究所)

- 日時:平成 20 年 8 月 11 日(月)10:00 ～ (実習終了まで)
12 日(火) 9:00 ～ (実習終了まで)
13 日(水) 9:00 ～ 15:00
- 日時:平成 20 年 8 月 14 日(木)10:00 ～ (実習終了まで)
15 日(金) 9:00 ～ 15:00
- 日時:平成 20 年 8 月 18 日(月)10:00 ～ (実習終了まで)
19 日(火) 9:00 ～ (実習終了まで)
20 日(水) 9:00 ～ 15:00
- 日時:平成 20 年 8 月 21 日(木)10:00 ～ (実習終了まで)
22 日(金) 9:00 ～ 15:00

場所:国立感染症研究所村山庁舎 6 号棟 6 階実習室および講義室
 研修担当:影山努(tkage@nih.go.jp)、白倉雅之(masayuki@nih.go.jp)、
 岸田典子(kishidan@nih.go.jp)、小田切孝人(todagiri@nih.go.jp)

研修会の目標

1. 地方衛生研究所(地衛研)における感染診断検査対応の再確認
2. H5 および N1 両亜型の同定技術の習得
 - ・ 地衛研の検査結果で二類感染症指定が可能となる(指定感染症対応の迅速化)
3. 全地衛研における診断検査技術の一律向上
 - ・ コンベ RT-PCR の実施体制(Minimum requirement)
 - ・ TaqMan Real-time PCR の実施体制(Standard requirement)
 - ・ 検査結果の適正な判断能力と検査精度の評価
 - ・ 両システムを適宜組み合わせ合わせた柔軟性のある検査対応能力の育成
4. その他
 - ・ 各地方における検査対応戦略の検討と策定準備

研修項目:H5N1 ウイルス遺伝子検出検査法

- 講義および討論編
 - ・ 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザについて
 - ・ 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルス診断検査の概要について
 - ・ 検体の取扱および臨床検体から RNA 抽出について
 - ・ Conventional RT-PCR による H5N1 鳥インフルエンザウイルス診断について
 - ・ 陽性コントロールの保存および希釈について
 - ・ TaqMan Real-time RT-PCR による H5N1 鳥インフルエンザウイルス診断について
 - ・ 検査室の設定と検査制度管理について
 - ・ 検体輸送について
 - ・ 検査結果の解釈・問題点・トラブルシューティング
- 実習編(グループに分かれて実習を行う)
 - ・ Conventional RT-PCR による検査
 - ・ アガロースゲル電気泳動
 - ・ TaqMan Real-time RT-PCR による検査

研修日程

第1日目

10:00 ~ 12:00

講義(講義室)

- ・ 開会挨拶(感染研:小田切、厚生労働省結核感染症課:高山)
- ・ 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルスについて(小田切)
- ・ 高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルス診断検査の概要について(影山)
- ・ 検体の取扱および臨床検体から RNA 抽出について(岸田)
- ・ Conventional RT-PCR による H5N1 鳥インフルエンザウイルス診断について(白倉)
- ・ 陽性コントロールの保存および希釈について(白倉)

13:00 ~ 実習終了まで(影山、白倉、岸田)

実習(実習室)

- ・ Conventional RT-PCR 実習作業手順説明(岸田)
- ・ Conventional RT-PCR による H5N1 鳥インフルエンザウイルス診断実習(1)
 - － Type A, H5, N1 診断
 - － アガロースゲルの作製
 - － H1, H3 診断
 - － アガロースゲル電気泳動(Type A, H5, N1)

第2日目

9:00 ~ 11:00(影山、白倉、岸田)

実習(実習室)

- ・ Conventional RT-PCR による H5N1 鳥インフルエンザウイルス診断実習(2)
 - － アガロースゲル電気泳動(H1, H3)
 - － アガロースゲル電気泳動結果解析
- ・ 結果解釈についての説明(白倉)

11:00 ~ 12:00

講義(実習室)

- ・ TaqMan Real-time RT-PCR による H5N1 鳥インフルエンザウイルス診断について(影山)

13:00 ~ 実習終了まで(影山、白倉、岸田)

実習(実習室)

- ・ TaqMan Real-time RT-PCR 実習作業手順説明(岸田)
- ・ TaqMan Real-time RT-PCR による H5N1 鳥インフルエンザウイルス診断実習(A,H5,N1 についてそれぞれ2回行う)(1)

第3日目

9:00 ~ 12:00(影山、白倉、岸田)

実習(実習室)

- ・ TaqMan Real-time RT-PCR による H5N1 鳥インフルエンザウイルス診断実習(2)
 - － TaqMan Real-time RT-PCR 結果解析
- ・ TaqMan Real-time RT-PCR 結果解釈についての説明(影山)
- ・ 検査結果の解釈・問題点・トラブルシューティング(影山)

13:00 ~ 15:00

講義(講義室)

- ・ 総合討論(小田切)
- ・ 検査室の設定と検査精度管理について(岸田)
- ・ 検体輸送について:保管法、培地作製法、輸送温度等(白倉)

- ・ 各衛生研究所検査室の実情に応じた、検査手順の考察と助言
- ・ 閉会の挨拶(小田切)
- ・ 陽性コントロールの配布

総合討論

目的

地衛研、感染研、厚労省間で意見交換・情報共有を行い、検査対応現場の声（問題点、要望）を把握し、ガイドライン等の策定の一助とする。

議事項目

1. サーベイランスにおける検体、ウイルスの迅速輸送対応について
 - ・ 迅速対応が必要な理由
 - ・ 緊急サーベイランスの対応について
 - ・ 所内手続きの問題点
 - ・ 輸送費用の問題
2. 検査試薬の所内備蓄について
 - ・ 備蓄の必要性と予算処置の問題
3. 感染診断検査およびウイルス分離（高病原性鳥インフルエンザウイルス）のBSL対応について
 - ・ WHO Recommendation について
 - ・ 感染研バイオリスク管理委員会の判断について（例として提示）
4. 検査対応の戦略、ガイドライン作成に向けて
 - ・ 検査の目的は？
 - ・ 検査対応はいつまで必要か？検査対応からウイルス学的サーベイランスへの切り替え時期は？
 - ・ 切り替えの手続きは？
 - ・ 検査担当者のバックアップ体制の構築について
5. その他

感染研で開催された地衛研検査担当者への診断検査技術研修会(2008. 8. 11-22)

