

図5 新型タミフル耐性鑑別反応産物のアガロースゲル(5%)電気泳動 (GelRed 染色)  
 M: 25bp marker、H: 新型感受性株、Y: 新型耐性株

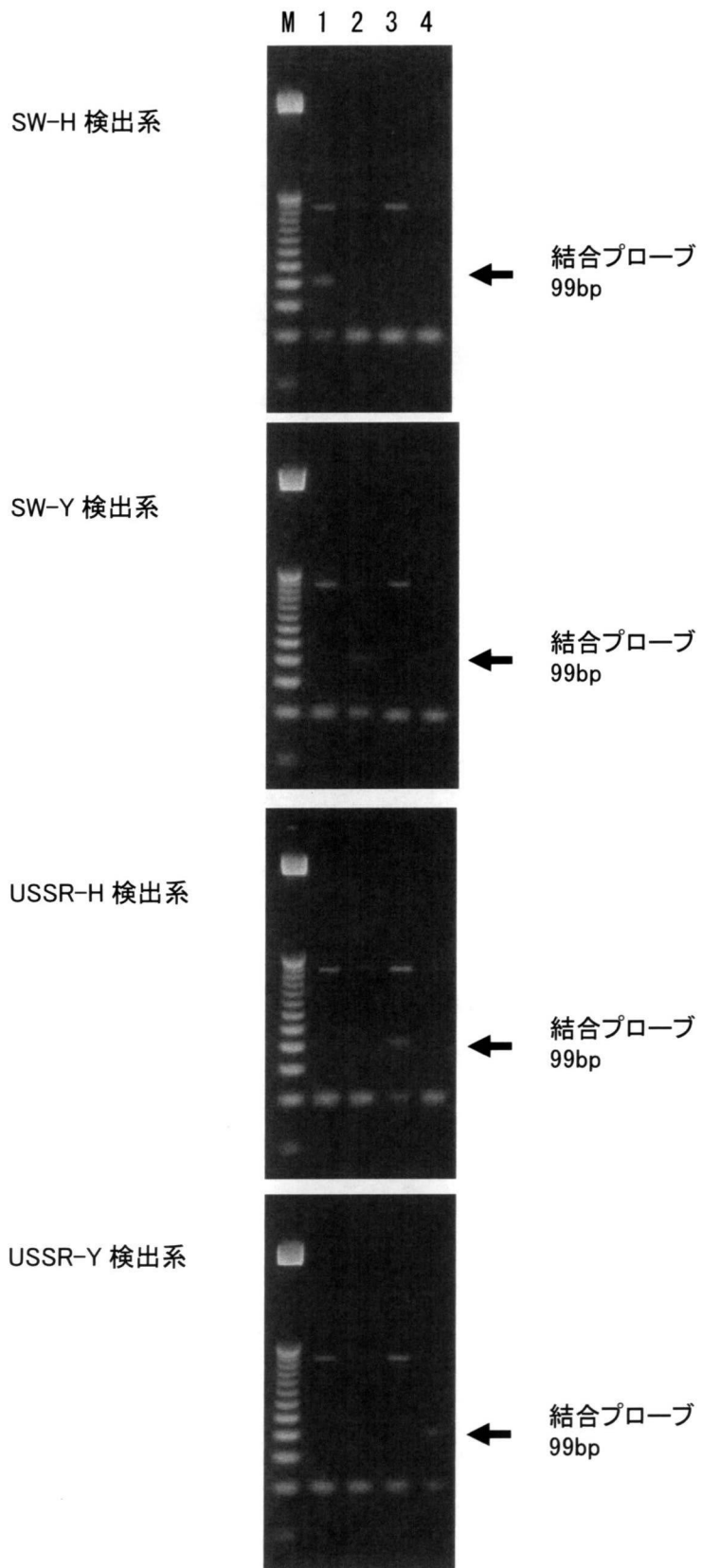


図 6 新型と A ソ連型との交叉反応 (5%アガロース、GelRed 染色)  
M: 25bp marker、1: 新型感受性株、2: 新型耐性株、3: A ソ連型感受性株、3: A ソ連型耐性株

表 6 各地方衛生研究所における LCR の実証評価試験結果(シーケンス解析で確認済)

地研名	H275Y		A ソ連型			新型		
	H	Y	H	Y	Y ホジコン	H	Y	Y ホジコン
札幌市衛生研究所	5	5	9	1	1	9	1	1
秋田県健康環境センター	10	40	42 <sup>*1</sup>	0	1	42 <sup>*1</sup>	0	1
東京都健康安全研究センター	5	5	10	0	1	10	0	1
富山県衛生研究所	0	1	0	0	1	0	0	1
愛知県衛生研究所	0	5	13 <sup>*2</sup>	2 <sup>*2</sup>	1	13 <sup>*2</sup>	2 <sup>*2</sup>	1
奈良県保健環境研究センター	0	0	30	1	1	30	1	1
大阪府立公衆衛生研究所	0	0	16	4	1	16	4	1
堺市衛生研究所	0	4	16	0	1	16	0	1
神戸市環境保健研究所	2	2	2	0	1	2	0	1
沖縄県衛生環境研究所	5	5	10	0	1	10	0	1
山口県環境保健センター	0	1	1	1	1	1	1	1
合計	27	68	149	9	11	149	9	11

\*1 分離株 10 株、検体からの直接 PCR 産物 32 検体

\*2 検体からの直接 PCR 産物

LCR のみの試験は秋田県で新型 113 検体 (全て H 判定)、富山県で新型 19 検体 (全て H 判定)、山口県で A ソ連型 9 検体 (H 判定 6 検体、Y 判定 3 検体) と新型 8 検体 (全て H 判定) について実施している。



図7 LCRによるタミフル耐性鑑別の一例 (写真提供:神戸市環境保健研究所)

1. A/KOBE/65/2007(H1N1)・・・Aソ連型、シーケンス解析:感受性
2. A/KOBE/70/2007(H1N1)・・・Aソ連型、シーケンス解析:感受性
3. A/KOBE/49/2008(H1N1)・・・Aソ連型、シーケンス解析:耐性
4. A/KOBE/29/2009(H1N1)・・・Aソ連型、シーケンス解析:耐性
5. A/KOBE/9109/2009(H1N1pdm)・・・新型、シーケンス解析:感受性
6. A/KOBE/91524/2009(H1N1pdm)・・・新型、シーケンス解析:感受性
- PC. 新型耐性ポジティブコントロール

H. タミフル感受性

Y. タミフル耐性

M. 分子量マーカー

予備増幅産物: Aソ連型 275bp、新型 217bp

未反応プローブ: 50bp

結合プローブ: 99bp

地方衛生研究所における検査能力の検証と今後の在り方検討  
分担研究報告書

研究課題: 秋田県における新型インフルエンザ(A/H1N1)発生への検査、調査に  
ついての準備及び初期対応状況について

研究協力者 斎藤 博之 (秋田県健康環境センター)

研究分担者 田中 智之 (堺市衛生研究所)

研究代表者 宮村 達男 (国立感染症研究所)

研究要旨: 4 月下旬～8 月上旬における新型インフルエンザ(A/H1N1)流行に対する初期対応について総括した。この期間内に、鼻咽頭拭い液 189 検体が搬入され、64 検体から新型インフルエンザ(A/H1N1)ウイルスが検出された。また、医療機関において簡易検査キットで陽性と判定された検体の 18%が擬陽性であり、今後の対応に課題を残した。総じてウイルスそのものに起因する被害よりも風評被害の方が遥かに大きく、同様に検査業務そのものよりも連絡調整や問合せ対応といった間接的な業務負担が大きかった。今後は適切なリスク評価に基づき現実的な対応が望まれる。

#### A. 研究目的

2009 年 4 月のメキシコに端を発した新型インフルエンザ(A/H1N1)の流行は、5 月の国内初発例を経て全国に拡大した。秋田県では 6 月 11 日に県内初発例があり、7 月には集団感染事例を経験した。その後、8 月上旬まで全数把握等の初期対応を続けたが、一方で予想外の問題点も浮上した。本研究は、初動体制について検証し問題点を整理することで今後の再流行時における対応に資することを目的とする。

#### B. 研究方法

##### 1. 初期対応の検証

4 月 28 日～8 月 10 日までの検査状況、簡易検査キットの信頼性、検査対応におけ

る問題点等について総括する。

##### 2. 研究材料と検査方法

上記期間に搬入された鼻咽頭拭い液 189 検体を用いた。ウイルスの検出は、平成 21 年 5 月 2 日に国立感染症研究所(感染研)から受領した新型インフルエンザ(A/H1N1)特異的なプライマー・プローブセットを用いた Real-time PCR を用いて行った。また、補助的に A 型インフルエンザ(共通)・A 香港型(AH3)・A ソ連型(AH1)に対する Real-time PCR も行った。

#### C. 研究結果

##### 1. 流行初期の対応

秋田県では平成 21 年 1 月にインフルエンザ H5N1 型を想定した行動マニュアルを作

成するためのワーキンググループが発足し、本庁健康推進課・保健所・健康環境センターが協議を重ねた。3月に行動マニュアルが完成し、新年度から必要物品等の備蓄を開始する予定となっていた。こうした中で、4月下旬のメキシコにおける新型インフルエンザ(A/H1N1)発生の報が届き検査対応を迫られる事態となった。この時点で当センターが保有していた検査試薬とプロトコルは、インフルエンザA型(共通)、A香港型(AH3)、Aソ連型(AH1)、AH5、N1(AH5特異部分)及びB型のReal-time PCRであり、A型については平成20年8月に感染研で行われたインフルエンザH5N1型に関する研修会で配布された資料をもとに準備してあったものである。メキシコで発生した新型インフルエンザについてはA型共通のプライマー・プローブセットは有効であるものの、他のReal-time PCRの系では検出できないことが感染研から通知されたため、当面の対応としてはA型共通のReal-time PCRを主軸に他の反応系は否定検査に用いる方針を決めた。5月1日(金)に新型インフルエンザ用のプライマーが、5月2日(土)に同プローブとポジティブコントロールRNAが到着したことから直ちに反応系を確認し、翌5月3日(日)には検査可能な体制を整えた。

## 2. 流行初期の検査状況

図1には秋田県で全数把握を行っていた8月10日までの検査状況を示した(新型はswH1と表記)。5月16日に神戸市における国内発生が報道された直後から、少数ながらも連日検体が搬入されるようになった。6月11日に修学旅行客からの感染と思われる県内初発例があったが、検体は依然として少数がさみだれ式に持ち込まれる状況が続

いた。7月中旬に某会社のハワイ社員旅行があり、秋田県としては初めて複数の感染者を確認する事態となった。8月には再び検体数・感染者が急増したが、これは特定の集団感染事例によるものではなく、蔓延期に入ったこと示すものである。秋田県では8月10日を最後に、全数把握を中止してクラスターサーベイランスに移行した。4～8月の当センターの対応としては、検体搬入後直ちに検査を行うようにしていたが、他事業を中止するような措置は取らなかった。この期間に189検体が搬入され、64検体から新型インフルエンザ(A/H1N1)ウイルスが検出された。また、9検体からA香港型が検出された。

## 3. 簡易検査キットの信頼性

全数把握期間に搬入された検体の内、簡易検査キットの結果が記載されていたものは185検体であり、Real-time PCRとの比較を表1に示した。キットで陽性と判定された66検体の内、12検体(18%)はReal-time PCRで陰性であり、今後の対応に課題を残した。

## D. 考察

### 1. 初期対応について

今回の流行では、社会の様々な部分で未曾有の混乱が起こったが、特に対応に苦慮したのは次の点である。

#### 1) 強毒型の対応方針が続いたこと

症状が季節性インフルエンザと同等とわかった後も、全数把握と隔離を中心とした強毒型(H5N1)の対応が続けられたため、無用の混乱を引き起こした。この対応によって一般住民や医療関係者の間に、「絶対に感染してはいけない死病」というイメージが広がり、対応が緩和された後も尾を引いている。

すなわち感染者は、病気そのものよりも、社会的に排除されることの恐怖に怯えることとなった。この状況は、2006～2007年のノロウイルスによるパニックと酷似している。

#### 2) 1 検体の頻回搬入

1 検体だけの搬入が延々と繰り返された場合の労働負荷は、大量検体が一度に搬入された場合よりも遥かに大きかった。これまでの行動計画では、「〇〇検体分の対応」という形で検体数だけの想定をしていたが、そのような単純な数値評価は現実的ではないと考えられた。

#### 3) 検査以外の業務負担

検査そのものよりも、結果の連絡(連絡先・順番等)や問い合わせへの対応に忙殺されて、本来の業務に専念できない状態が続いた。もともとウイルスの専門家は非常に数が少ないため、専念できる環境を整えることが重要と考えられる。

#### 4) 簡易検査キットの問題

検体搬入時に、医療機関で行った簡易検査の結果が添付されてくるが、擬陽性が多く、特に5月は開始したばかりの Real-time PCR の精度に不安を覚える局面もあった。その後の調査で擬陽性が全国的に多発していることがわかったが、早い段階で「そのようなこともあり得る」といった情報を共有すべきであったと考えられる。

### E. 結論

今回の新型インフルエンザ(A/H1N1)の流行は、ウイルスそのものよりも社会的パニックによる損失が遥かに大きかったと考えられる。かつてのノロウイルスによるパニックも同様な経過をたどったが、いたずらに警戒心を煽るだけではかえって被害(感染以外も

含む)が拡大することが明らかとなった。もとより、感染症対策においてゼロ・リスクは不可能であるため、病原性等を適切に評価したうえで、現実的かつ柔軟な対応をとる必要があると考えられた。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

なし

### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

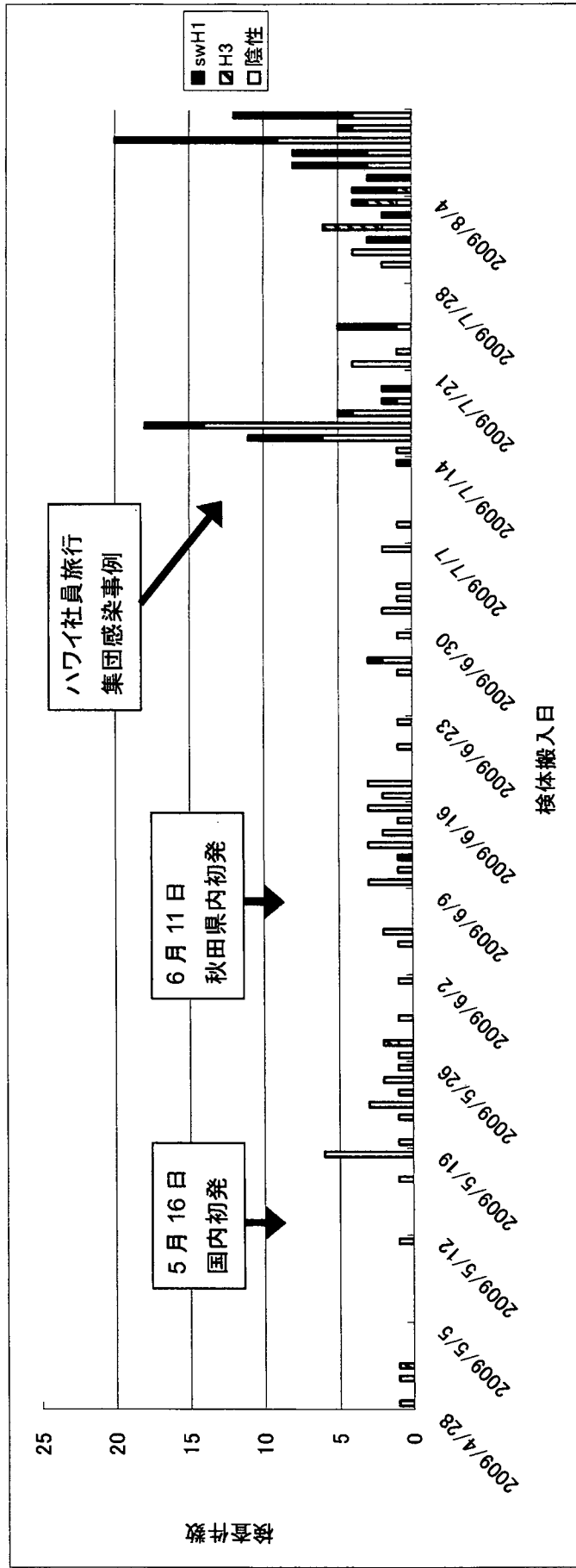


図1 秋田県における新型インフルエンザ検査状況の推移(全数把握期間抜粋:4月28日~8月10日)



		Real-time PCR		
		+	-	
簡易キット	+	54 (swH1:46, H3:8)	12	66
	-	17 (swH1:16, H3:1)	102	119
		71	114	185

表 1 秋田県におけるインフルエンザ簡易キットと Real-time PCR との差異  
 4 月 28 日～8 月 10 日に搬入された検体の内、簡易キットの結果が添付された 185 検体  
 について比較した。

厚生労働科学研究費補助金(厚生労働省科学特別研究事業)

地方衛生研究所における検査能力の検証と今後の在り方検討  
分担研究報告書

「東京都健康安全研究センターの新型インフルエンザ初期対応」

研究協力者 中西 好子 (東京都健康安全研究センター)  
研究代表者 宮村 達男 (国立感染症研究所)  
研究分担者 田中 智之 (堺市衛生研究所)  
研究協力者 甲斐 明美、保坂 三継、新開 敬行、長島 真美、  
神谷 信行、増田 和貴、灘岡 陽子  
(東京都健康安全研究センター)

**研究要旨:**

東京都健康安全研究センターでの(H1N1)2009パンデミックの初動対応を検証した。発生直後にただちに検査体制を整え検査を実施するとともに、発生動向の把握や情報発信を的確に行った。発生当初の約2か月間は、ウイルス検査と疫学情報の収集解析の業務量が爆発的に増えたものの、他の業務を中止せず、24時間対応としたので、職員動員体制については今後の課題を残したが、事前の計画や資材の備蓄が十分にされており、おおむね混乱なく対応できた。

都では国立感染症研究所から全国の地方衛生研究所への検査試薬等の配布前に、独自に検査系を確立した。国からの配付されたリアルタイムPCRウイルス検出試薬と都の開発した試薬の検出率の比較検討を行ったところ、新型A/H1N1pdmの検出は、都および国の検出系ともに概ね良好であったが、感染初期等のウイルス量の少ない検体からの検出例では、国の検出系は十分な検出が出来ない場合があった。

**A. 目的**

2009年春に北米で豚に由来する(H1N1)2009パンデミックが確認され、またたくまに世界に広がった。東京都では、新型インフルエンザの発生に備え、あらかじめ計画やマニュアルの策定、検査対応についての機器の整備をはじめとした準備を

行っていたところであるが、海外での発生状況を把握後ただちに東京都健康安全研究センター(以下、当センター)では、新型A/H1N1pdmの検査法を確立し、職員動員体制を構築した。また、東京都感染症情報センターとして検体とリンクした疫学情報把握体制を構築し発生動向の収集、分析を開

始し、情報発信を行った。また、5月末におこった都内初の集団感染事例と6月中旬に起こった都内初の高等学校での広域にわたる集団発生事例の疫学調査の支援を行った。当センターの初期の対応を検証し、今後の病原性の高い新型インフルエンザ等新興・再興感染症の発生への対応能力の向上に資する。

## B. 方法

東京都健康安全センターの(H1N1)2009パンデミックの発生前までの準備状況、計画と、さらに発生から平成21年7月23日までの(H1N1)2009パンデミック全数把握時期の検査対応とサーベイランスおよび情報発信について、検査実績、業務実績を検証する。また、都内の発生状況の分析と初期の集団発生事例の調査を実施した2事例について疫学的に分析した。

次に、当センター独自に開発した新型A/H1N1pdmのPCR検出系を、国の検査系と比較した。

## C. 結果

### (1) 事前準備

#### ①事前計画

##### 「東京都新型インフルエンザ対策行動計画」(平成17年12月)(表1)

東京都全体の新型インフルエンザ対策行動計画の中に健康安全研究センターに関して、各発生段階に応じた迅速かつ効果的な検査体制とサーベイランス体制を構築し、PCR検査等を実施する検査体制を整備すること、検査に必要な資器材(検査機器、試薬など)を確保することと記載されている。

##### 「東京都新型インフルエンザ対応マニュアル」(平成19年3月)(表2)

健康安全研究センターに関する部分は、発生各段階におけるサーベイランスと確定検査の記述が具体的にされている。

##### 「東京都健康安全研究センター新型インフルエンザ対策マニュアル」

当センター自身の対策マニュアルは、平成20年11月に作成した。内容は、緊急的な封じ込めや健康被害の拡大防止のために、当センターには、迅速かつ継続的な検査体制や情報の収集・解析及び発信機能の強化などの役割が求められおり、新型インフルエンザの流行期においても、日常業務として行っている食品、医薬品、飲料水などの試験検査で緊急性が求められる検査を継続しつつ、新型インフルエンザへの対応を的確に行うための、健康危機対応時の業務とそれに伴う人員配置を計画している。①流行フェーズに応じた検査体制及び情報ネットワークの運用体制 ②業務運営体制に必要な検査資器材、施設・設備の確保及び整備 ③職員の安全確保にかかる感染予防策に分けのサイしている。

(全文は、以下のホームページに掲載している。

<http://www.tokyo-eiken.go.jp/eiken/influenza/influenzamanual2008.pdf> )

#### ②サーベイランス体制の強化

公衆衛生情報の収集・発信・公表の強化のため、平成18年度に微生物部に疫学情報室を設置した。新型インフルエンザをはじめとする新興再興感染症の発生に備えた東京都独自の情報共有システムである「感染

症危機管理情報ネットワークシステム

(K-net)」(図1)の運用及び「感染症法」に基づいて都内の医療機関から保健所に報告される感染症情報を収集・解析し、迅速に関係機関や都民に提供する「東京都感染症情報センター」の運営を行っている。

K-netのシステムは、以下の3つで構成している。

i) 感染症情報ネットワークシステム

感染症に係る情報提供及び意見交換などを行うポータルサイトシステム

ii) 診療情報迅速把握システム

一類感染症等が発生した場合に、医療機関からの診療情報など患者に係る情報を継続的・効率的に把握するとともに、集団発生時における保健所間の情報の共有化を目的としたシステム

iii) 症候群別サーベイランスシステム

新感染症及び不明疾患の発生状況を、症候群別に収集することにより早期の段階で把握するシステム

疫学情報室は、必要に応じ、都区市の保健所への積極的疫学調査の支援も随時行っている。

③ 東京感染症アラートシステム (図2)

都内の新興・再興感染症の早期探知システムとして、疑い例の段階で医療機関から保健所へ報告をもらい、早期に病原体検査を実施することにより、患者の発生を迅速的確に把握することを目的とした、東京都独自の仕組みである。休日・夜間であっても、東京都保健医療情報センター(ひまわり)に連絡することで、24時間365日対応可能で、他の新たな感染症が発生した場

合でも、症例定義を追加することにより、アラートが発動可能となっている。

④ 検査体制

検査の中心となるリアルタイムPCR装置は、ウイルス部門で5台(このうち3月に2台新規)、RT-PCRに使用するサーマルサイクラーは23台、シークエンサーは4台を保有し、また検体採取用滅菌綿棒(図3)、検体採取2次容器各5万本、搬送用安全パック1万(カテゴリーB検体輸送2次容器(PATH-POUCH)(図4)を購入保管していた。

検体採取用滅菌綿棒は、図3に示すような2本棒がつながっているタイプであるが、これは、遺伝子検査のみならず、再検査やウイルス分離に供するようにしたもので、またウイルス輸送液を入れておらず、これは、アラート検査では、都内は、採取後ただちに搬入されるため、距離的、時間的にウイルス輸送液を要せず、またウイルス輸送液による希釈がなく、ウイルス検出率が上がるためである。

⑤ 技術研修会

平成20年8月に国立感染症研究所で行われた「高病原性H5N1鳥インフルエンザ感染診断技術研修会」に参加し、試薬の調合や操作が簡便な上、コンタミネーションのリスクが軽減されるOne-stepリアルタイムPCR試薬を用いた方法について研修を受けた。この研修会で用いられたPCR試薬を東京感染症アラート検査で行うリアルタイムPCR検査に応用し、検査法の改良を行った。

## (2) 初期の取り組み

平成 21 年 4 月 24 日（金）21 時に当センター所長がメキシコで新たなインフルエンザ発生の事態を察知し、ただちに企画管理部（事務部門）と微生物部の管理職を通じ職員にスタンバイの指示をする。4 月 26 日

（日）所内関係者を緊急招集し、第 1 回健康安全研究センター新型インフルエンザ対策会議（通称 SW 会議）開催（以後、6 月末まで毎日定例化）し、検査法の検討を開始、カリフォルニアで分離された新型 A/H1N1pdm の遺伝子配列を WHO から入手、解析し、プライマー等の設計に着手した。また、情報共有の一元化、迅速化のために、関係者の所内、自宅及び携帯緊急連絡一斉メーリングリストを構築した。

4 月 27 日（月）には、都内 31 保健所あて咽頭ぬぐい資材を各所 200 セット送付し、当センターが独自に設計した新型 A/H1N1pdm 用プライマー・プローブセット（都 A/H1N1pdm 検出系：都 H1pdm）等を発注した。また、約 30 年前に当センター（当時は都立衛生研究所）で発育鶏卵を用いて分離培養したブタインフルエンザウイルス株（A/Hsw/NJ/08/1976:H1N1）の保存抗原液から陽性コントロールを作成した。

4 月 28 日 感染症対策課（都庁担当課）と健康安全研究センターで都区市保健所、感染症指定・診療協力病院説明会を実施し、検体の採り方、搬送方法及び、検査の依頼方法、及び東京都感染症危機管理情報ネットワークシステム（通称 K-net）へ検査検体疫学情報の入力方法等操作方法を説明した。これにより、事前の検体容器等の配布及び説明の徹底で、検体の採取や搬送に伴うトラブルはまったくなかった。

4 月 29 日から東京感染症アラートに基づく検査として 7 項目（都 H1pdm, H1, H3, N1, N2, A 共, B）による新型 A/H1N1pdm 検査を開始した。

5 月 1 日～2 日 国から新型 A/H1N1pdm 用プライマー等（国 A/H1N1pdm 検出系：国 H1pdm）が到着した。以後、新型 A/H1N1pdm のリアルタイム PCR 検査は、8 項目（国 H1pdm, 都 H1pdm, H1, H3, N1, N2, A 共, B）で実施した。

なお、東京感染症アラートに基づき、保健所から持ち込まれる検体は、発熱外来での疑い患者のトリアージのため、患者を外来で待機させている関係で、当初は、すべて検体搬入後ただちに 1 回ごとに検査し、6 時間後に結果を返す体制をとった。検体数の増加により、5 月 15 日からは、緊急時を除き、9、13、15、18、21、24 時の 1 日 6 回（土日休日を含む）の定時検査とした。

また、必要に応じ、RT-PCR、シークエンサーでの遺伝子解析による確認を行った。一部の検体についてはウイルス分離を行った。

### 東京感染症アラート定義

新型 A/H1N1pdm 検査は、国の症例定義を踏まえ、東京都では東京感染症アラートの症例定義により検査対象を定めて実施した。東京感染症アラートの症例定義は、国の症例定義の変更のつど、また都内の発生動向等を踏まえ、適宜変更した。

Version1.0 4 月 25 日

発生国（メキシコ、アメリカ合衆国カリフォルニア州及びテキサス州）への渡航歴を有し、所定の症状を呈する者。

Version5.0 5 月 19 日

国内発生を受け、発生国、発生地域を拡

大するとともに、国に先駆け集団クラスターサーベイランスを開始した。

なお、平成 21 年 5 月 4 日付 厚生労働省 新型インフルエンザ対策推進本部事務局長 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」により、

(H1N1)2009 パンデミック患者が疑われる患者検体は、地衛研に送ると同時に国立感染症研究所に送付することとされ、さらに 5 月 9 日健感発第 0509001 号厚生労働省健康局結核感染症課長通知「新型インフルエンザに係る症例定義及び届出様式の改定について」において、(H1N1)2009 パンデミック患者の確定は、当面、国立感染症研究所の検査結果をもって行うとされた。また、5 月 5 日には警察庁生活安全局地域課長から新型 A/H1N1pdm 検査検体の緊急搬送に対する協力通知が発出された。その後、5 月 18 日付けの厚労省感染症対策課長事務連絡で「地方衛生研究所及び検疫所において判明した検査結果をもって確定診断する」とした通知が出されるまでの間、当センターから国立感染症研究所（村山庁舎）まで搬入した疑似症患者検体は 3 検体であった。これらは、すべて新型 A/H1N1pdm 陰性であった。

### (3) 人員動員体制について

図 6 及び表 3 に示す通り。

検査対応は、ウイルス研究科に 5 名配置し、繁忙期には、微生物部を中心に 17 名でローテーションを組んだ。

感染症情報センターとしては、6 名配置し、繁忙期は、他部署から 2 名配置した。

なお、9 月 15 日からは、非常勤職員をウイルス研究科に 3 名、感染症情報センター

に 2 名増員した。

### (4) 検査法について

新型 A/H1N1pdm および季節性インフルエンザウイルスの鑑別を行うためにリアルタイム PCR 法を用いた検査法の構築を行った。

新型 A/H1N1pdm の検査法として A/California/04/2009 株の遺伝子配列を参考にプライマーおよびプローブの設計を行った。(表 7)

検出系の作成ポイントとして、スクリーニング試験で使用することを前提としたので感度の設定を高くすることを目的として、なるべく短い増幅領域で特異性を維持できる配列の選択を行った。テンプレートモデルとした A/California/04/2009 株 HA 遺伝子配列の 364 番目から 425 番目の 62bp にプライマーおよびプローブを設定した。A/California/04/2009 株およびそれ以外のブタインフルエンザウイルス株の遺伝子配列から検出領域の配列を比較検討し、元になったプライマー/プローブ配列に修正、変更を加え、プライマーおよびプローブ配列を決定した。

RT-SW-F	5'-TTGAGCTCWTGTCATCATTTGA-3'
RT-SW-R	5'-TWGGGCCATGAAYTTGYCTT-3'
Flu-Hsw-P	5'-AGRTTTGAGATATTCCTCC-MGB-3'

作製したプライマー・プローブセットの動作確認ならびに性能の検証を行う目的で、約 30 年前に当センターで発育鶏卵を用いて分離培養したブタインフルエンザウイルス株 (A/Hsw/NJ/08/1976:H1N1) の RNA を用いて動作確認を行ったところ、鶏卵培養液 0.5μL 相当から作製された RNA を明確に検出した。(図 12)。また、感度検定のために A/California/04/2009 株の HA 遺伝子配

列 338 番目から 436 番目の 99 塩基を化学合成して作製した長鎖 DNA を 10 倍段階希釈して DNA 検出感度を実験的に求めた結果では、最大 35.5 サイクルで 3.0 copies/tube の DNA を検出することが出来た。したがって、35 サイクル以降に増幅反応が検出された場合には、RT-PCR 法または RT-nested PCR 法による検出と増幅産物を用いたシーケンスによる塩基配列の確認を行うことでより確実な結果を提供することとした。

#### (5) 検査状況・発生状況

検査状況を図 5 に示す。

平成 21 年 4 月 28 日～7 月 23 日

東京感染症アラート、クラスター検査等に基づく、PCR 検査 732 件（陰性確認を含む）。うち新型 A/H1N1pdm 陽性のべ 260 件であった。（図 8）。

陽性が確認された患者は実 229 名。感染推定地（国内 139 名、海外 90 名、不明 2 名）、男 128、女 101 名であった。

東京都では、5 月中旬の兵庫県、大阪府での国内感染集団感染事例発生を踏まえ、クラスターサーベイランスを 5 月 19 日から開始し、海外渡航歴のないものにも PCR 検査を開始した。（第 19 週から 28 週まで）学校等集団発生事例検査 77 事例のうち新型陽性は、36 事例（99 名陽性）。図 8 は 6 月中旬から発生した集団施設種別のクラスター発生状況を示す。高等学校、大学からまず感染が広がり、次第に中学校、小学校、幼稚園、保育園と低年齢化していった。

（第 19 週から 28 週まで）定点医療機関検体検査 183 件うち、第 27 週までは新型 A/H1N1pdm 陰性、第 28 週ではじめて新型

A/H1N1pdm1 件陽性を確認した。（図 9）。

#### (6) 積極的疫学調査支援

都内の集団感染事例となった、ある集会を介しての A 事例（表 4、5）と、都内初の学校クラスター B 事例（表 6、図 10、11）について管轄保健所の積極的疫学調査の支援を行った。

##### 【A 事例の概要】

初発患者（都内第 4 例目の 29 歳女性）は平成 20 年 9 月から平成 21 年 5 月 29 日までニューヨークに留学しており、帰国後の 5 月 30 日に出席した集会で他の出席者に感染を広めた。初発患者を含め合計 10 名の出席者の感染が確認されている。この事例は初発患者の発症日が 5 月 31 日であったことから、発症 1 日前から新型 A/H1N1pdm に感染することを実際に証明した非常に興味深い事例であった。発端者は、5 月 30 日のパーティーで 9 人に集団感染した事例である。発端者は 5 月 31 日から発熱したが、発症前に出席したパーティーの一次会では出席者 84 人中 6 人発症（発症率 7.1%）、二次会では 89 人参加中 9 人（発症率 10.1%）、三次会では参加 5 人中 3 人（発症率 60.0%）であった。当事例は、東京都、特別区のみならず、他区市と広域的に疫学調査が及び、発端者を管轄する保健所および関係区市、東京都、厚生労働省と連携し技術的助言をした。

##### 【B 事例の概要】

B の集団感染事例は、6 月 10 日に探知し、初発患者を含め合計 19 人（生徒 15 人、教職員 4 人）の感染が確認された。すべての患者は（H1N1）2009 パンデミックが流行していた国又は地域の滞在歴がなかった。1 年生発症 0 人（在籍者 256 人）、2 年生発症者

0人(在籍者285人)、3年生発症者15人(在籍者354人)。当センターでは、保健所と東京都による会議に参加するとともに、現地調査や質問票による疫学調査を実施した。患者は3年生の生徒、3年生の担任及びその接触が認められる教職員が主であり、3年生の授業(共通科目・選択科目)や部活動など学校生活をとおして感染が拡大したと考えられた。感染危険因子として、室内空間の狭い教室及び教室座席位置が挙げられる。5月22日から6月21日までの期間にインフルエンザ様症状を呈したと答えた疑い症例は97名であり、都内で確定例がまだ3名しか判明していない時期の5月末にはすでに疑い例が発生していた可能性があった。また分子疫学的解析では、確定例19名中14名の検体を当センターで検査し、14名中8名の検体に関してHA(ヘマグルチニン)領域の約600塩基について塩基配列を確認したところ、全てニューヨーク系統であった。地域で流行していた新型A/H1N1pdmが学校内に持ち込まれ、集団発生に至ったと推察した。

#### (7) 情報収集と情報発信

東京都独自の「東京都感染症健康危機管理情報ネットワークシステム(通称K-net)」システムを利用して、患者情報の登録や検査依頼並びに結果入力を行い、本庁、保健所、当センターの迅速な情報共有及び疫学解析を行い、情報発信をした。

## D. 考 察

### 1. 事前準備と職員動員について

東京都では、(H1N1)2009パンデミック発

生時から、ただちに東京感染症アラートに基づき、発熱外来の診断支援と学校や施設の集団発生の早期探知のため、迅速なPCR検査を行った。あらかじめの準備態勢が整っていたため、感染症指定医療機関や感染症診療協力病院、保健所とも連携がスムーズに行き、都内では混乱なく、比較的円滑に対応できたところである。ただ、強毒性を想定した当初のBCPマニュアルとは異なり、中断できる業務がほとんどなく、また、24時間対応が長期間続いたため、一部シフト制やウイルス部門に外からの応援態勢などで対応はしたものの、特定の職員への負担が大きかったといわざるを得ない。

## 2. 発生状況

東京都は、国際的な交流も最も活発な人口密度の多い都市であり、国内発生事例は、都が最も早い時期に発生するであろうという想定をし、また当初感染拡大を抑えるために疑い患者は、感染症指定医療機関、診療協力病院の発熱外来で診療を受け、PCR検査結果で陰性が確認されるまで留め置かれる。そのため、当センターでは、連休前には独自の検査法を確立し、また検査は、検体搬入後、1件ごとただちに検査にあたった。5月中は、季節性のA/H1、A/H3インフルエンザがまだ残っている状況であり(図5、9)、学校等のクラスター事例もすべて新型A/H1N1pdmは陰性であった。5月16日に兵庫、大阪で国内発生事例が集団で出た後は、都ではクラスターサーベイランスも開始したが、実際に都内の初事例は、5月20日に、海外渡航例から発見された(図7)。それ以降海外渡航例が散発し出し、6月に入ると国内感染事例、6月中旬からは、



都内の集団感染事例が高等学校、大学と始まり、次第に小中学校、保育園等の低年齢層の施設にも感染拡大がはじまった。

### 3. 情報システムについて

患者情報の管理は、東京都では、都独自の「東京都感染症健康危機管理情報ネットワークシステム(通称K-net)」を利用して、本庁、当センターと都内保健所間の情報共有、患者情報管理を行った。東京都には、人口800万人を抱える特別区23区がそれぞれに一つずつ保健所があり、さらに平成19年から保健所を設置した八王子市と東京都が設置している多摩部の6保健所と島しょ保健所の計31保健所がある。特に特別区は政令市同様の基礎的自治体であるが、新型A/H1N1pdmの検査や疫学情報のとりまとめを東京都で行っているため、K-netシステムは有効に機能した。本来ならば、患者情報は、東京都独自システムというよりも、国のNESIDシステムで一元管理をし、また関係自治体間での情報のやりとりが迅速かつ円滑に行われ、かつ広域的な疫学情報の分析ができることが望ましい。しかし、NESIDは同一自治体の保健所間や保健所・地方感染症情報センターとの情報共有の点でも不都合が多かった。

国は、今回、(H1N1)2009パンデミックの情報を地方自治体から収集する方法として、疑似症、確定患者は、NESIDの「感染症発生動向調査システム」の「全数把握システム」ではなく、「疑似症例調査支援システム」を利用するという方針をたて、疑似患者を把握した直後に保健所にNESID入力を要請し、一方地衛研には、感染研から配布された「検体情報入力フォーマット」(excel)

に検体情報の入力を求めた。これらは、疑似例すべての検体を感染研へ送付することとされた5月4日付 厚生労働省新型インフルエンザ対策推進本部事務局長事務連絡が5月18日に廃止されるまで続いた。その上、PCR検査が陰性であった場合は、NESID登録を削除するよう要請された。当初は、迅速診断でA陽性であれば、疑似例となるような症例定義となっていたため、全国的に膨大な数の症例が疑似例として登録され、さらにPCR検査で陰性確認後に、登録の削除という無駄な労力を使う作業をさせられたと思われる。このころより、NESID入力率が落ちていった。また、6月末の国の今後の方針転換の説明会で「今後のサーベイランス体制について」、NESID「疑似症例調査支援システム」入力は必ずしも必要ないという方針を示した。

7月末までの確定例のNESID登録率は低く(113件登録/204件都内確定例)、かつ「疑似症例調査支援システム」の本来の目的の積極的疫学調査の支援にもほとんど役に立っておらず、また、このシステムは、登録された全情報を地方感染症情報センターが一括してダウンロードできないので、地域の疫学情報の解析にも適さないなど、多くの問題点がある。今後、上記のような問題点を踏まえたNESIDの改修がまたれる。

7月下旬から、感染者の増大に伴い、全数把握から集団での感染早期探知のためのクラスターサーベイランス、重症者の早期探知、治療支援のためのインフルエンザ入院サーベイランス等へと転換し、急きょ従来のNESIDとはまったく独立してiNESIDというシステムも導入されたが、これは各自治体単位であり、特別区等保健所の情報が

都では収集できないなどの問題もあったため、K-net を利用して情報収集を行った。

国全体の感染症情報ネットワークシステムは、今季のさまざまな問題点を整理し、各発生段階でなにが必要であるかを精査し、入力上、過大な負担がなく、効率的で、迅速な情報収集と解析ができるようなシステムに再構築すべきである。

また、国及び国立感染症研究所並びに地方衛生研究所は、こうした今回の (H1N1)2009 パンデミックの流行に対する初期の情報収集における一連の経過について、指摘された問題点ならびにそこから得られた教訓について深く認識し、かつ共有するとともに、病原性の強い H5N1 鳥インフルエンザの流行への警戒などを踏まえ、感染研や地衛研同士の連携協力のもとで、さらなる検査体制の充実、検査情報と疫学調査を組み合わせた分析強化など情報センターとしての機能強化が必要である。

#### 4. 国立感染症研究所等の対応について

平成 20 年 8 月に国立感染症研究所で行われた「高病原性 H5N1 鳥インフルエンザ感染診断技術研修会」での One-step リアルタイム PCR 試薬を用いた研修は、職員の人材育成に役立つとともに、この研修会で用いられた PCR 試薬を東京感染症アラート検査で行うリアルタイム PCR 検査に応用し、検査法の改良を行うことができた。

このような研修は、地方衛生研究所の人材確保・育成および試験法の統一化、精度管理上大変有効であった。

次に今季の (H1N1)2009 パンデミック発生後には、平成 21 年 5 月 2 日に国立感染症研究所から病原体検出マニュアル H1N1 新

型インフルエンザ 2009 年 5 月 ver. 1 が示され、全国の地方衛生研究所に試薬が提供されたことは、全国の試験検査の標準化に役立った。

一方、国立感染症研究所とは全く別に厚生労働省新型インフルエンザ対策推進本部事務局から発出された平成 21 年 5 月 4 日付事務連絡 (のち、平成 21 年 5 月 18 日廃止)「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」については、保健所は、(H1N1)2009 パンデミック患者が疑われる患者検体を、地衛研に送ると同時に国立感染症研究所に送付することとされ、これに基づき、インフルエンザ迅速診断で (A+) となった検体を、全国から、国立感染症研究所 (村山庁舎) まで飛行機やパトカーを使ってまで搬送がなされた。当センターでは 3 検体を村山庁舎まで職員が夜間搬入したが、都内のため、他の自治体と比べて混乱はなかった。

今後の厚生労働省と国立感染症研究所、地方衛生研究所の検査における役割分担や検体搬送について、整理が必要である。

#### 5. 検査法について

当センターは、かねて季節性インフルエンザのリアルタイム PCR 法を開発していた。国はいまだ季節性インフルエンザについては 2009 年 11 月発行の病原体検出マニュアル H1N1 新型インフルエンザ Ver. 2 で参考例として示すに止まっている。当センターの開発した季節性インフルエンザのプライマー・プローブ系を用いて、今回の新型 A/H1N1pdm と季節性インフルエンザを同時にリアルタイム PCR で検査したとする地方衛生研究所が複数あった。

また、新型インフルエンザ発生の報に接した直後から、当センター独自で、WHO が公開した遺伝子配列を元に、プライマー、プローブを開発した。(表 7)

新型 A/H1N1pdm の検出感度は、都の検出系および国の検出系ともに概ね良好であったが、感染初期等のウイルス量の少ない検体からの検出例では、国のリアルタイム検出系は十分な検出が出来ない場合があり、RT-nested PCR を行い、さらにシーケンサーによる遺伝子配列解析で新型 A/H1N1pdm か否かを確認した。(表 8、13)

これらを検証するために東京都の検出系と国の検出系を用いた新型 A/H1N1pdm 遺伝子検出の感度比較を陽性検体から抽出した RNA 希釈液を用いて行ったところ(図 14)、東京都の検出系は 10 万分の 1 希釈まで検出できたが、国の検出系は 1 万分の 1 希釈までしか検出できなかった。これらから東京都の検出系の感度は国の検出系に比べ 10 倍程度高いことが判明した。国や東京都のどちらの検出系も新型 A/H1N1pdm の検出に特化した方法であるが、国の検出系のみで検査を行っている場合、全ての陽性例を検出できない可能性がある。

さらに、東京都の新型 A/H1N1pdm 検出系や A 型共通検出系では検出できるが、国の検出系では検出できないウイルス株が、例数は少ないが各地で出現している。このような変異株に対処したブタインフルエンザプローブ検出系 Ver. 2 が 2009 年 11 月発行の病原体検出マニュアル H1N1 新型インフルエンザ Ver. 2 で国立感染症研究所から提示されたが、変異株以外の株に対しては増幅曲線の低下などが見られることから、検出系の見直しやプライマー・プローブの再

開発が要望される。

## G. 結 論

東京都健康安全研究センターは、発生直後にただちに検査体制を整え検査を実施するとともに、発生動向の的確な把握や情報発信を的確に行った。発生当初の約 2 か月間は、ウイルス検査と疫学情報の収集解析の業務量が爆発的に増えたものの、他の業務を中止せず、24 時間対応としたので、職員動員体制については今後の課題を残したが、事前の計画や資材の備蓄が十分にされており、おおむね混乱なく対応できた。

病原性の強い H5 インフルエンザ等のパンデミックに備え、さらには地域での発生動向、また病原性の変化などに対しても柔軟な対応ができるよう計画を改善していく。

国民を健康危機から守るため、地方衛生研究所は、科学的・技術的中核機関として、国や国立感染症研究所、また全国の各地方衛生研究所との連携を進め、必要な試験検査を確実に実施し、その精度管理や疫学調査能力などの水準確保できるよう、施設・資材や人材確保や育成を進めていく必要がある。

## E. 知的所有権の取得状況

1. 特許申請 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

## F. 研究発表

### 1. 学会発表

- 1) 新型インフルエンザ検出試薬の開発と検査への応用 新開敬行 長島真美 他  
第57回日本ウイルス学会学術集会 平成  
21年10月25日
  
- 2) 高病原性鳥インフルエンザ診断のための遺伝子検査システムの確立 貞升健志 新開敬行 他 東京都健康安全研究センター研究年報 第57号 59-64 2006年