

表1 山口県で分離されたタミフル耐性 2009A/H1N1pdm の性質

株名	亜型	A.A. of 275	IC50 (nM)	
			oseltamivir	zanamivir
A/CALIFORNIA/07/2009	H1N1pdm	275H	0.1	0.40
A/NARITA/1/2009Epdm	H1N1pdm	275H	0.37	0.99
A/OSAKA/1/2009pdm	H1N1pdm	275H	0.13	0.44
A/YAMAGUCHI/22/2009pdm	H1N1pdm	275Y	59.8	0.42
A/KITAKYUSHU/10/2008	H1N1	275Y	225.7	-
季節性 H1N1 (2007/08)平均値	H1N1	275H	0.10 ± 0.06	0.35 ± 0.23

表2 検査対応のべ職員数

	ウイルスG	細菌G	病理G	食品分析G
RNA抽出	3	3	1	0
リアルタイムPCR		0	1	2

表3 検査機器の導入

	平成20年度	平成21年度
塩基配列決定装置	0	1
リアルタイムPCR	1台 (ABI7500)	2台 (ABI7500,7500fast)
核酸自動抽出装置	0	1
炭酸ガス培養器	3	3 (一台更新)

表4 山口県における新型インフルエンザ PCR 検査結果

	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	合計
検査依頼数	16	59	75	49	22	33	196	100	7	557
PCR 陽性 A/H1pd m	0	8	48	43	21	23	174	87	5	409
PCR 陽性 A/H1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
PCR 陽性 A/H3	12	20	1	0	0	0	0	0	0	33
PCR 陽性 A not typed	1	1	2	0	0	0	0	0	0	4
PCR 陰性 PCR 陰性	3	27	22	6	1	9	17	11	2	98

判定保留	判定保	0	3	1	0	0	1	5	2	0	12
	留										

表5 ウイルス分離同定とPCR検出の比較

診断手法	所要日数	ウイルス株 (次期ワクチン等)	抗原性 検索	薬剤耐性・病原性検索
ウイルス分離	△7日～28日	○得られる	○可能	○可(ウイルス株の性状解析)
PCR	○8～24時間	×得られない	×不可	△不可～限定的*

*:秋田県健康環境センター齊藤博之主任研究員が開発したLCR法により薬剤耐性ウイルスのスクリーニングを行う事が可能となったが、この方法でも臨床検体ではなく、分離したウイルスから精製したRNAを鋳型として用いる事を推奨している。

表6 2009年4月以降のインフルエンザウイルス分離数

A/H1pdm	160
A/H1	1
A/H3	6
B/Yamagata	0
B/Victoria	2

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

沖縄県における新型インフルエンザ(H1N1)2009 パンデミック発生への検査対応

研究協力者 平良 勝也 (沖縄県衛生環境研究所)
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)
研究協力者 稲福 恭雄、玉那覇 康二、岡野 祥、仁平 稔、久高 潤、
糸数 清正、中村 正治 (沖縄県衛生環境研究所)

研究要旨:

感染症健康危機管理対応時における対応能力の向上に資することを目的として、今回の新型インフルエンザ(H1N1)2009 パンデミック国内発生初期における沖縄県衛生環境研究所の検査対応について、(1)検査体制の整備、(2)検体輸送体制の整備、(3)A型インフルエンザ全数把握調査、(4)新型 A/H1N1pdm 侵入後の検査対応、(5)米軍基地内患者の検査対応に区分してとりまとめ、問題点及び課題等を抽出し考察した。

A. 研究目的

WHO の新型インフルエンザのパンデミック警報レベルは、2009年4月28日にはフェーズ4に、4月30日にはフェーズ5に、さらに6月12日にはフェーズ6へ引き上げられた。沖縄県では6月29日に1例目の患者が報告され、その後患者は急増し8月には県全域に広がった。

本研究は、新型インフルエンザ(H1N1)2009 パンデミックの国内発生初期(2009年5月～7月)における沖縄県衛生環境研究所の検査対応及び関係機関との連携について検証し、今後の感染症健康危機管理対応時における対応能力の向上に資することを目的とした。

B. 研究方法

新型インフルエンザの国内発生初期における当所の検査対応について、次の(1)～(5)に区分してとりまとめた。(1)検査体制の整備、(2)検体輸送体制の整備、(3)A型インフルエンザ全数把握調査、(4)新型 A/H1N1pdm 侵入後の検査対応、(5)米軍基地内患者の検査対応。また、これらの対応時に生じた問題点・課題等を抽出し考察した。

C. 研究結果

(1)検査体制の整備

4月下旬、新型インフルエンザ遺伝子(H1pdm)の検出法が確立されるまでの検

査対応は、コンベンショナル PCR 法により MP 遺伝子(A 型)、A ソ連型遺伝子(H1)、A 香港型遺伝子(H3)を検出し、A 型(+)、H1(-)、H3(-)と判定された場合に、新型 A/H1N1pdm を疑うこととした。

5 月 2 日、国立感染症研究所(感染研)より新型 A/H1N1pdm 検出試薬として陽性コントロール、プローブ、プライマーが全国の地方衛生研究所(地衛研)に配布された。

5 月 3 日、感染研が示した「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)」に基づき、コンベンショナル PCR 法とリアルタイム PCR 法により、A 型、H1pdm、H1 及び H3 の各遺伝子の陽性コントロールが検出できることを確認し、当所でも検査が可能となった。なお、リアルタイム PCR 法による H1 と H3 の検出方法は上記マニュアルには示されていないため、2008 年 8 月に感染研村山庁舎で開催された「H5N1 診断技術研修」で示された方法に基づいて実施した。

コンベンショナル PCR 法の検査試薬は、H5N1 の発生を想定した検査体制を構築するなかで、すでに 400 名分を備蓄していた。一方、リアルタイム PCR 法の検査試薬の備蓄は 50 名分程度しかなかったため追加発注した。しかし、この時点で国内メーカーには在庫がなく、購入まで約 2 週間を要した。

5 月 4 日、当所における新型 A/H1N1pdm 検査マニュアル、検査ワークシート及び検査記録書を作成した。また、連休中ではあったが、他県の地衛研の担当者と電話やメール等により情報交

換を行った。

5 月 6 日、所内会議において PCR 検査対応について協議した。その結果、検査対応人員は、これまで細菌やウイルスの PCR 検査の経験がある 6 名とした。検査方法は、コンベンショナル PCR 法とリアルタイム PCR 法を比較し検討した結果、コンタミネーションのリスクが低く、一度の検査で多検体の検査が可能なりリアルタイム PCR 法を採用し、コンベンショナル PCR は緊急時対応など状況に応じて実施することとした。

当所で所有しているリアルタイム PCR 機器(ABI7500)は 96well のプレートを使用しており、この機器で新型 A/H1N1pdm のみを対象として A 型及び H1pdm の 2 種の遺伝子を検出すると、一回の検査で対応可能な検体数は 40 検体(陽性及び陰性コントロールの分は除く)となる。ところが、この時期本県では季節性インフルエンザが流行していたため、H1 と H3 の遺伝子も同時に検出することとし、一回の検査の対応検体数は 20 検体とした。また、PCR 検査は 1 日 2 回までとし、24 時間対応とした。

5 月 10 日、リアルタイム PCR 法について、検査担当の研究員を対象にトレーニングを行った。

(2)検体輸送体制の整備

医療機関で採取する検体については、厚生労働省(厚労省)からの平成 21 年 5 月 1 日付け事務連絡により、咽頭拭い液と鼻腔拭い液の両方を採取し、地衛研へ搬送するとしていたが、平成 21 年 5 月 4 日付け事務連絡では、咽頭拭い液又は鼻

腔拭い液を採取に変更され、さらに保健所から地衛研と感染研に同時搬送するよう示された。このような、度重なる方針の変更に現場では混乱が生じた。そこで、本県では感染研への検体輸送に関しては、保健所からは直接輸送せず当所を經由して感染研へ輸送することとした。

本県では、医療機関で採取された検体は保健所の担当者が当所まで輸送する体制が構築されている。輸送方法は、沖縄本島内では保健所の担当者により道路輸送され、離島では宅配業者を利用し航空輸送される。

5月16日、神戸で国内1例目となる新型A/H1N1pdmが報告されてからは、保健所の担当者から検体の梱包方法や航空輸送を行う際の表示方法に関する問い合わせが多く寄せられた。そこで当所では、検体の梱包や表示の不備により輸送に支障をきたさないよう、5月28日に保健所担当者を対象に講習会を開催した。講習会では「感染性物質の輸送に関するガイドランス2007-2008版(WHO)」について解説した。特に、検体を入れた容器が破損しても外に漏れ出さないようにする3層構造の梱包方法や航空機で輸送する際の表示方法について実演を交えて説明し、梱包に使用する国連容器及び検体輸送マニュアルは全保健所に配布した。

地衛研から感染研に検体を輸送する際にかかる費用の負担については、平成20年9月1日付、感染研発第368号により「ゆうパック」に限り感染研が負担することが示されていた。しかし、「ゆうパック」で検体を輸送する場合は、道路輸送、鉄道輸送及び海上輸送のみが可能で、航

空輸送は取り扱っていないことが明らかになった。そこで、当所から感染研まで「ゆうパック」による海上輸送を試みた。その結果、4日間を要し、さらに輸送する船舶には貨物の冷蔵機能が備わっていないことから、検体の輸送手段としては適切でないと判断した。最終的に、当所から感染研に検体を輸送する際は「ゆうパック」は利用せず、当所負担により航空輸送が可能な宅配業者を利用することにした。

(3)A型インフルエンザ全数把握調査

本県のインフルエンザの流行は、2005年から冬季だけでなく夏季にもみられる特徴がある(図1)。2009年は、第16週(4月13日～19日)から患者報告数の増加が認められ、第20週(5月11日～17日)の報告数は定点あたり8.2人でAH3亜型及びB型が分離されていた(図2)。

このような状況の中、5月16日に海外渡航歴のない新型A/H1N1pdm感染患者が国内での1例目として確認された。これを受け本県では、季節性インフルエンザと新型A/H1N1pdmの混合流行の懸念から、県内のインフルエンザ流行株を詳細に把握する目的で、第21週(5月18～24日)に県内全医療機関を対象としたA型インフルエンザ全数把握調査を緊急的に実施することを決定した。

医療機関への周知は医師会を通して行われたが、調査決定から開始までわずか2日間しかなかったため、県内の全医療機関に対し検体採取用のウイルス輸送培地を配布することは困難であった。そこで当所は、輸送培地を持っていない医療機

関に対して「患者の咽頭または鼻腔を拭いた綿棒を、手持ちの滅菌スピッツ管等の空容器に入れ、乾燥しないように冷蔵保管し、24時間以内に保健所あるいは当所で培地を添加する」という方法を提案した。

医療機関では、迅速診断キットでA型陽性を示した症例を中心に咽頭または鼻腔拭い液が採取され、調査期間内に46検体(迅速診断キット陰性3例を含む)が集められた。これら46検体のうち、PCR陽性は39例、陰性は7例であった。PCR陽性例はすべてAH3亜型で、新型A/H1N1pdmは検出されなかった。

A型インフルエンザ全数把握調査で分離されたAH3亜型26株及び第20～23週に通常の病原体サーベイランスで分離されたB型10株について、感染研から配布された2008/09シーズンキットを用いて赤血球凝集抑制(HI)試験(0.75%モルモット赤血球を使用)を行った。その結果、AH3亜型分離株はいずれも抗A/Brisbane/59/2007(ホモ価640)に対してHI価<10、抗A/Uruguay/716/2007(同640)に対してHI価40～80(1株のみHI価160)で低反応性を示した。B型分離株は、いずれも抗B/Brisbane/3/2007(同1280)に対してHI価<10、抗B/Malaysia/2506/2004(同1280)に対してHI価80～160で低反応性を示した。

以上の結果から、第16週以降に県内で発生しているインフルエンザ小流行は、2008/09シーズンワクチン株とは抗原性が大きく異なるAH3亜型とB型による混合流行と考えられ、第21週の時点で新型AH1pdmは県内に侵入していないと判断

した。

一方、今回の全数把握調査では集まった46検体のうち、当所が提案した輸送培地なしの空のスピッツ管を使用した検体は12検体あり、24時間以内に輸送培地が添加された。これらはすべてPCR検査で陽性となり、このうち7検体(58%)がウイルス分離陽性であった。

(4) 新型A/H1N1pdm 侵入後の検査対応

全数報告サーベイランスの実施中、6月29日にオーストラリアからの帰国者から新型A/H1N1pdmが検出され、これが県内における1例目の患者であった。それから1週間以内にフィリピン2例、ハワイ1例、計3例の輸入例が判明した。これらの輸入例が発端となり、2次感染による集団発生も報告されたが、当初は疫学的リンクが追える状況であった。しかし、その後は疫学的リンクが不明な新型A/H1N1pdm感染患者が沖縄本島中部地域を中心に増加し、7月下旬より8月にかけて県全域に感染が拡大した(図1)。全国的な患者数の増加を受け全数報告サーベイランスは停止され、7月24日よりクラスターサーベイランスに移行することになった。

当所における検査対応は、全数報告サーベイランスにおいては、前述したとおりリアルタイムPCRではA型、H1pdm、H1、H3の4種の遺伝子を検査項目とし、1回の検査数を20検体として対応した。7月中旬第29週(7月13日～19日)からは1日20検体を超えるなど検体数が増加し、1日の検査においてH1pdmの占める割合も全体の約90%を占めるようになった。

た(図3)。そこで、クラスターサーベイランス移行時には、H3とH1を検査項目から外し、A型とH1pdmのみを検査することで1回の検査数を20検体から40検体に増やし検体数の増加に対応した。リアルタイムPCRの検査結果がA型(+)、H1pdm(-)となった場合は、補足的にコンベンショナルPCRによりH1とH3を検出した。

新型インフルエンザの検査数は、全数報告サーベイランス(5月18日～7月23日)では285検体が検査され、クラスターサーベイランス(7月24日～8月23日)では452検体、合計737検体が検査された(図3)。この期間に検出されたウイルスの型は、5月～6月にかけてはH3のみが検出されていたが、H3は6月29日の1例目のH1pdm検出を契機に徐々に減少し、8月以降は全てH1pdmに置き換わった(図3)。

当所における1日の検査業務の流れとしては、朝8:30にミーティングを行い、当日の役割分担及び検査人数を決めた。検体は午前中で受付け、13:00からPCR検査を開始していたが、結果報告が勤務時間外になることがあり、保健所の対応に支障をきたした。そのため、受付け時間を前日の16:00～翌朝9:30までとし、保健所への結果報告が勤務時間内に出来るよう改善した。

ウイルスRNAの抽出作業は、検体数が20検体以下であれば1名、20検体以上であれば2～3名で対応した。結果判定及び報告は2名、電話対応は1名で対応した(図4)。また、長期化することを想定し、検査は基本的に1日1回平日に行い、土

日は休日(緊急依頼の場合はその都度対応)とすることで、研究員のモチベーションを維持させたが、検査対応が2ヶ月以上続くと肉体的及び精神的負担は増大した。

新型A/H1N1pdm検査以外の業務のうち、麻疹、レプトスピラ、食中毒等の検査及び流行予測調査については、検査の合間や時間外に対応したが、それ以外の調査研究業務などはほとんど休止状態であった。

8月24日からは、病原体サーベイランス、重症例を中心とした入院サーベイランスに移行し、患者から分離したウイルスについてHI試験による抗原解析やタミフル耐性株の検出を行っている。

(5)米軍基地内患者の検査対応

5月12日、新型インフルエンザ対策について組織的な連携体制を確認するため、県、国、在沖米軍の衛生部門による合同対策会議(非公開)が嘉手納基地で行われた。

県側から参加した担当者によると、米軍は嘉手納基地に到着した航空機の搭乗者について、疑わしい場合には簡易検査を実施しているが、PCR検査はできないとのことであった。そのため、米軍側からPCR検査の依頼があった場合、当所が協力することになった。

検体の搬入は、米軍基地の医療機関から当研究への直接の搬入はせず、中部保健所を経由して搬入することとした。検査依頼は2009年6月～8月の間に6件あり、PCR検査によるH1pdm陽性例は4件、陰性例は2件であった(表1)。

D. 考 察

(1)検査体制の整備

感染研より新型 A/H1N1pdm 検出用の試薬が配布された翌日には、検査体制が整い PCR 検査が可能となった。しかし、試薬の備蓄や発注のタイミングについては課題が残った。試薬の備蓄は、コンベンショナル PCR 用の試薬を中心に進めていたため、リアルタイム PCR 用の試薬の備蓄は十分でなかった。このため試薬を追加発注したが、メーカーに在庫はなく購入するまで約 2 週間を要した。この理由として、同時期に全国の地衛研から試薬の注文が殺到したことや、感染研が全国の地衛研に試薬を配布するため試薬を大量購入したことが挙げられた。今後、このような事が起きないように、試薬の備蓄を充実させる必要があるが、使用期限を考慮しなければならないことや予算の確保などの課題をクリアしなければならない。使用期限については、他の病原体検査と共通で使用できるような試薬を購入するなど、効率的な対応が必要となる。

リアルタイム PCR 法による検査は、6 名の検査員のうち 4 名は未経験者であった。そこで、インフルエンザ検査担当者が中心となり、検査員全員にトレーニングを行った。トレーニングを行う上で、2008 年 8 月感染研(村山庁舎)で全国の地方衛生研究所のインフルエンザ担当者を対象に開催された「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」がとても役立ち、そのおかげでスムーズに検査体制を確立できた。今回の検査体制の整備には、感染研によって事前に開催された技術研修、緊急的に配布さ

れたマニュアル及び試薬が大きな支えになったことはいまでもなく、他県の地衛研との情報交換も役立った。今後も感染研と地衛研がこのような連携を維持していくことが重要と考えられた。

(2)検体輸送体制の整備

検体の採取や輸送方法については、厚労省による 5 月 1 日付け及び 5 月 4 日付けの事務連絡により方針の変更があった。これらの通知では、なぜ変更が行われたのかという理由や、対応をどうやって実行するのかという具体的な説明は十分ではなく、これが現場で混乱が生じた原因の一つと考えられた。

当所では、保健所による検体輸送が円滑に行われることを目的に、保健所担当者を対象に講習会を実施した。本講習会は、平成 19 年 12 月 20 日～21 日まで宮崎県で開催された平成 19 年度地域保健総合推進事業「健康危機管理における地方衛生研究所の広域連携システムの確立」に係る九州ブロック研修会での資料を参考にした。この研修会は、厚労省、感染研及び九州の地衛研が参加して行われ、病原体輸送体制の構築を目的とした研修会であった。

講習会を実施してから現在(平成 22 年 1 月)まで道路輸送及び離島からの航空輸送によるは問題なく行われている。しかし、これまで検体輸送を実際に行った離島は、比較的人口が多く直接沖縄本島へ航空輸送が可能な宮古島、石垣島、久米島の 3 箇所であった。本県には 40 以上の有人離島が存在しており、今後はこれ以外の離島でも輸送体制が整備されている

か確認しておく必要があると考えられた。また、保健所の担当者は人事異動の可能性があるため、輸送体制維持していくためには講習会を毎年開催することが重要と考えられた。

感染研への検体輸送は、平成 20 年 9 月 1 日付、感染研発第 368 号により「ゆうパック」を利用する場合に限り感染研が負担することが示された。しかし、「ゆうパック」で検体を輸送する場合は、道路輸送、鉄道輸送及び海上輸送が利用可能で、航空輸送は利用できないことが明らかになった。そこで、当所から感染研まで海上輸送を試みたが 4 日間を要し、船舶には貨物の冷蔵機能が備わっていないため、当所では「ゆうパック」は利用せず、航空輸送が可能な宅配業者を利用することとした。しかし、感染研への 1 回あたりの輸送費用は約 13,000 円かかるため、輸送回数が増えると大きな負担となる。今後、感染研には「ゆうパック」だけでなく、航空輸送が可能な業者を認めて頂き、当所においても着払いの利用ができるよう要望したい。

(3) A 型インフルエンザ全数把握調査

インフルエンザ流行株を詳細に把握する目的で、本県独自の対応として A 型インフルエンザ全数把握調査が緊急的に実施された。調査の決定から開始までわずか 2 日間しかなかったが、保健所及び医療機関への周知及び調査実施にあたり混乱はなかった。その理由一つとして、本県では 2003 年より麻疹全数把握システムを構築し成果を上げていることが考えられる。つまり、今回の全数把握調査は

対象となる病原体を麻疹ウイルスから新型 A/H1N1pdm に置き換えただけで、検体の採取及び輸送方法はほぼ同じであったため、このシステムが有効に機能したことが考えられた。このような全数把握システムは、今後他の感染症発生時の健康危機管理対応にも役立つことが期待できる。

今回の調査は緊急的に実施したため、調査までの準備期間が短く一部の医療機関にウイルス輸送培地を配布することは困難であった。これらの医療機関に対しては「患者の咽頭または鼻腔を拭った綿棒を、手持ちの滅菌スピッツ管等の空容器に入れ、乾燥しないように冷蔵保管し、24 時間以内に保健所あるいは当所で培地を添加する」という方法を提案し、12 検体で実施された。その結果、PCR は全て陽性、ウイルスは 7 例で分離され良好な成績が得られたことから、この方法は保健所が行う輸送培地配布業務の負担軽減にもつながり、緊急時の調査には有用な方法であると考えられた。

(4) 新型 A/H1N1pdm 侵入後の検査対応

6 月 29 日に県内で 1 例目の新型インフルエンザ患者が確認され、その後 7 月には患者が増加し、8 月には県全体に感染が拡大した。これに伴い、検査依頼数も増加し 1 回あたりの検査数の限度である 20 検体を超えるようになり、検出されるウイルスは H1pdm が全体の約 90% を占めた。そこで、当所では検査項目を、A 型、H1pdm、H1、H3 の 4 項目から A 型、H1pdm の 2 項目とし、1 回あたりの検体数を 20 から 40 検体に増やすことで検体

数の急増に対応できた。しかし、毎日の検査が数ヶ月続いたことで、検査担当者の疲労はピークとなり、6名の検査人員体制では限界であった。また、検査データは膨大に増え、データ整理や NESID への入力ができない状況も出てきた。これを改善するため、所内の応援体制を整備することになり、新たに 3 名の職員に対してトレーニングを行った。

新型インフルエンザ(H1N1)2009 パンデミック発生後、数ヶ月間にわたり多数の検体を検査する日がほぼ毎日続いたが、当所ではリアルタイム PCR 機器 1 台で対応した。現在、予備の機器がないため、故障した場合を考えると 1 台では十分とはいえない。また、他の緊急性の高い検査が重なった場合、予備の機器があれば迅速に対応することが可能である。したがってリアルタイム PCR の機器は、最低でもあと 1 台は整備する必要がある。

5 月～7 月の間は、H3 が検出されていたことから、季節性インフルエンザと新型 A/H1N1pdm の混合流行を想定し、A 型、H1pdm、H3、H1 の項目を同時に検査していたため、試薬の消耗が予想以上に早かった。そのため、検査のために計上していた予算は 7 月には枯渇する状況に至った。今後は、試薬等の備蓄を充実させるとともに、限りある予算の中で効率的に病原体検査を行っていく方法の検討も必要と考えられた。

(5)米軍基地内患者の検査対応

米軍基地から検査依頼のあった 6 例のうち 4 例が PCR 検査陽性となり、新型 A/H1N1pdm による感染が確認された。

そのうち 2 例は輸入例で、残り 2 例の疫学的リンクは不明であった。今回、PCR 検査陽性となった 3 例からはウイルスが分離された。通常分離されたウイルスには、ウイルス株の命名法に基づき株名が付けられ、病原体情報として NESID に登録され、詳細な解析が必要であれば感染研からウイルス株の分与依頼が来る。しかし、米軍基地内で発生した患者は、国内発生例としては取り扱われないことから、分離ウイルスに株名を付けることができず、NESID にも入力することもできなかった。このため、米軍基地内の患者から分離されたウイルス株は感染研へ分与できない現状にある。

国内の感染症健康危機管理対応を考えた場合、国内未発生時における米軍基地内での患者発生動向はわが国にとって重要である。現在一応の連携はあるが、今後は基地内での感染症発生動向の詳細な報告を求めるとともに、地衛研で米軍基地内の患者から病原体が分離された場合は、分離株を感染研へ分与できるよう国が米軍側と事前に協議しておくことが重要と考えられた。また NESID への病原体情報入力、新たな項目を設けるなど検討が必要であろう。

E. 結 論

(1)検査体制の整備

試薬の備蓄の重要性を再認識し、使用期限を考慮しながら、効率的な対応が必要となる。今回の検査体制整備には、感染研による事前の技術研修、検査マニュアル及び試薬の配布などが役立った。今後も感染研と地衛研が連携していくことが

重要である。

(2)検体輸送体制の整備

保健所担当者を対象に検体輸送に関する講習会の実施により、道路輸送及び航空輸送が円滑に行われた。講習会は毎年開催し体制を維持していくことが重要である。また、「ゆうパック」で検体を輸送する場合、道路輸送、鉄道輸送及び海上輸送は利用可能だが、航空輸送は利用できないことが明らかになった。そのため、他の宅配業者を利用し航空輸送行っているが、輸送費用が高いため、輸送回数が制限される。

(3)A型インフルエンザ全数把握調査

本県独自の対応としてA型インフルエンザ全数把握調査を緊急的に実施し、この時点では新型インフルエンザは侵入していないと判断された。本調査は、2003年より構築した麻疹全数把握システムが活用され、緊急調査に有用であった。また、今回当所が提案した、空のスピッツ管を用いた検体採取法は、緊急時の調査には有用な方法と考えられた。

(4)新型A/H1N1pdm 侵入後の検査対応

検体数の増加時には、流行状況をみながら検査項目を減らすなど臨機応変に対応した。所内の応援体制を充実させることが今後の課題として挙げられた。また、リアルタイムPCR機器1台で対応しているため、故障や緊急対応を想定してあと1台は整備する必要がある。

(5)米軍基地内患者の検査対応

米軍基地内における感染症発生動向の詳細な報告を求めるとともに、地衛研で米軍基地内の患者から病原体が分離された場合は、分離株を感染研へ分与できるよう国が米軍側と事前に協議しておくことが重要と考えられた。

F. 研究発表

(1)論文発表

平良勝也、岡野祥、仁平稔、糸数清正、久高潤、中村正治、糸数公、古謝由紀子、多和田弘、東朝幸、大峰悦子、松野朝之、上原健司、国吉秀樹、中村幸一、小林孝暢、山川宗貞：A型インフルエンザ全数把握調査 IASR 30 (7):183-184, 2009

(2)学会発表

なし

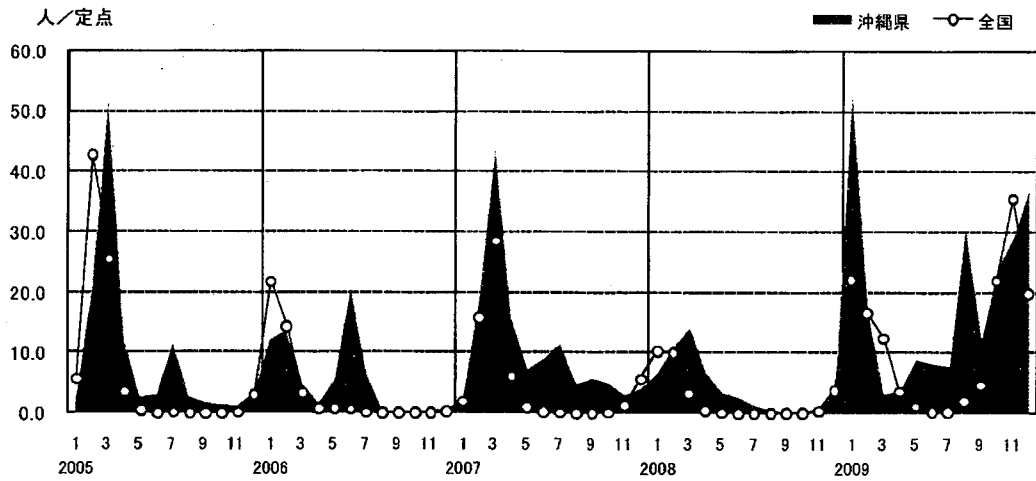


図1. インフルエンザ年次別患者発生状況の推移

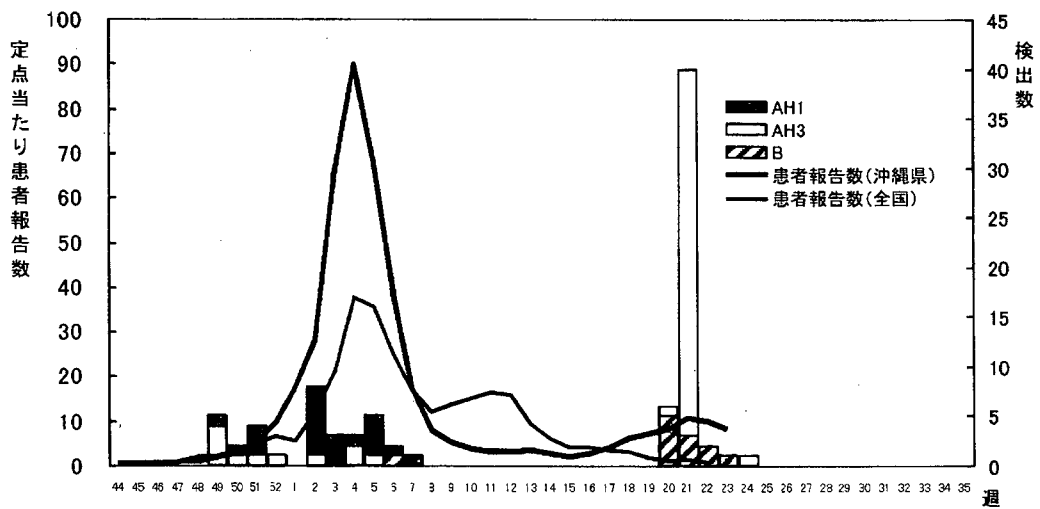


図2. インフルエンザ患者報告数とインフルエンザウイルス検出状況

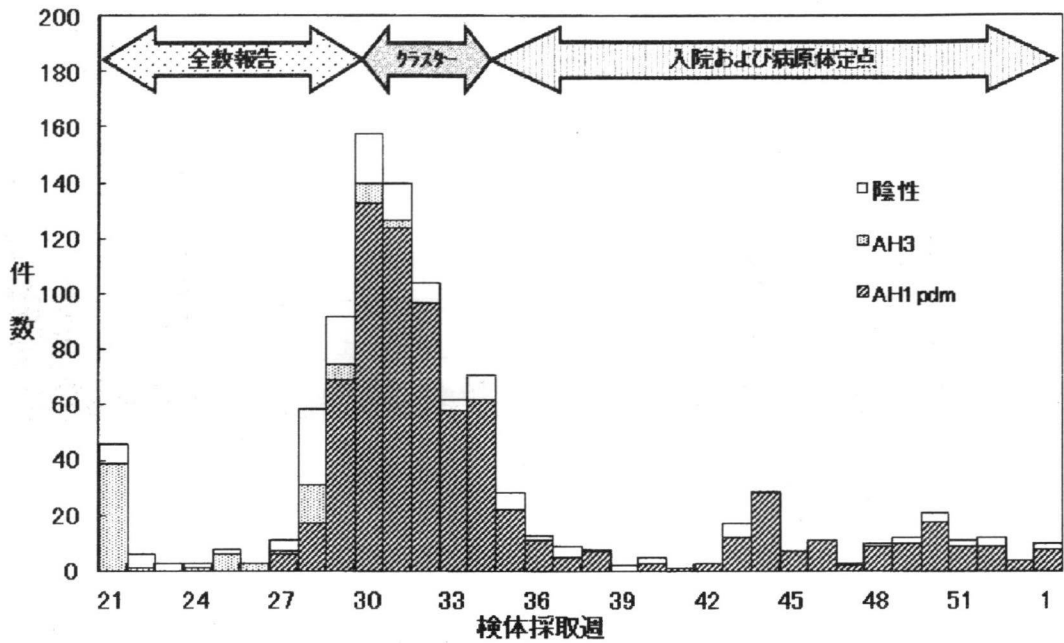


図3. 新インフルエンザ検査状況

新型インフルエンザ検査業務			他の業務
8:30	ミーティング (他業務の状況等により、 検査人数・担当者を決定)	検体受け取り (当日検査分) 《1~2名》	ウイルス分離 遺伝子解析 【検査依頼】 ・麻疹 ・レプトスピラ症 ・食中毒 【感染症流行予測調査】 ・豚の日本脳炎ウイルス 抗体価調査
9:30	RNA抽出《1~3名》 試薬調整《1名》	電話応対 《1名》	
12:00	Real-Time PCR		
14:30	結果判定 保健所・本庁へ結果報告 《2名》	検体受け取り (翌日検査分) 《2名》	
16:00	検査データ整理・解析 NESIDへの登録		

図4. 1日の検査業務の流れ

表 1. 米軍基地内患者の新型インフルエンザ検査状況

No	検体採取日	年齢	性別	渡航歴	PCR検査結果	ウイルス分離
1	2009/6/10	14歳	女	アメリカ	検出されず	陰性
2	2009/7/1	45歳	男	フィリピン	H1pdm	陽性
3	2009/7/7	20歳	男	フィリピン	H1pdm	陽性
4	2009/7/9	22歳	女	アメリカ	検出されず	陰性
5	2009/7/23	不明	男	不明	H1pdm	陽性
6	2009/8/10	1歳	男	不明	H1pdm	陰性



A型インフルエンザ全数把握調査—沖縄県

(Vol. 30 p. 183-184: 2009年7月号)

2009(平成21)年5月9日、国際空港における検疫段階で新型インフルエンザ輸入症例が初めて確認され、さらに5月16日には、海外渡航歴のない新型インフルエンザ感染患者が国内での1例目として確認された。一方、沖縄県では第16週(4/13~4/19)以降インフルエンザの小流行が認められ、第20週(5/11~5/17)の患者報告数は定点当たり8.2人でAH3亜型およびB型が分離された(図1)。このような状況において県は、季節性インフルエンザと新型インフルエンザの混合流行も懸念されることから、県内のインフルエンザ流行株を詳細に把握する目的で、第21週(5/18~5/24)に県内の全医療機関を対象としたA型インフルエンザ全数把握調査を緊急的に実施した。

医療機関では、患者同意のもと迅速診断キットでA型陽性を示した症例を中心に咽頭または鼻腔ぬぐい液が採取され、調査期間内に46検体(迅速診断キット陰性3例を含む)が集められた。このうちの35検体は定点以外の医療機関で採取され、残りの11検体は定点医療機関で採取された。患者の年齢は、0~9歳19名、10~19歳と30~39歳が各7名、40~49歳と50~59歳が各4名、20~29歳3名、60歳以上2名であった。

集められた46検体について、リアルタイムPCR検査およびMDCK細胞によるウイルス分離を行った。その結果、PCR陽性は39例、陰性は7例であった。PCR陽性例はすべてAH3亜型で、新型インフルエンザAH1pdmは検出されなかった。PCR検査と迅速診断キットの結果を照合すると、PCR陽性39例のうち38例は迅速診断キットでA型陽性、1例は陰性であった。また、PCR陰性7例のうち5例は迅速診断キットでA型陽性、2例は陰性であった。MDCK細胞によるウイルス分離は、PCR陽性例のうち26例で分離され、PCR陰性例からは分離されなかった。

A型インフルエンザ全数把握調査で分離されたAH3亜型26株および第20~23週に通常の病原体サーベイランスで分離されたB型10株について、国立感染症研究所から配布された2008/09シーズンキットを用いて赤血球凝集抑制(HI)試験(0.75%モルモット赤血球を使用)を行った。その結果、AH3亜型分離株はいずれも抗A/Brisbane/59/2007(ホモ価640)に対してHI価<10、抗A/Uruguay/716/2007(同640)に対してHI価40~80(1株のみHI価160)で低反応性を示した。B型分離株は、いずれも抗B/Brisbane/3/2007(同1,280)に対してHI価<10、抗B/Malaysia/2506/2004(同1,280)に対してHI価80~160で低反応性を示した。

以上の結果から、第16週以降に県内で発生しているインフルエンザ小流行は、2008/09シーズンワクチン株とは抗原性が大きく異なるAH3亜型とB型による混合流行と考えられ、現時点で新型AH1pdmは県内に侵入していないことが示唆された。このインフルエンザ小流行は、第23週(6/1~6/7)の時点でまだ終息に至っておらず、新型AH1pdmと合わせて今後の動向を注視しなければならない。

今回のA型インフルエンザ全数把握調査において、迅速診断キットではA型陽性を示したがPCRでは陰性を示した症例が5例確認された。PCR検査は迅速診断キットより検出感度が優れていることから、この5例については同検体を用いて再度PCR検査を実施したが、結果は前回と同じであった。この理由として、迅速診断キットでの偽陽性や、PCR検査に供した検体に含まれるウイルスが少量であったなどの可能性が考えられるが、今後詳細な検討が必要と思われる。

沖縄県衛生環境研究所

平良勝也 岡野 祥 仁平 稔 系数清正 久高 潤 中村正治

沖縄県福祉保健部医務課 系数 公

沖縄県感染症情報センター 古謝由紀子

沖縄県北部保健所 多和田弘 東 朝幸

沖縄県中部保健所 大嶺悦子 松野朝之

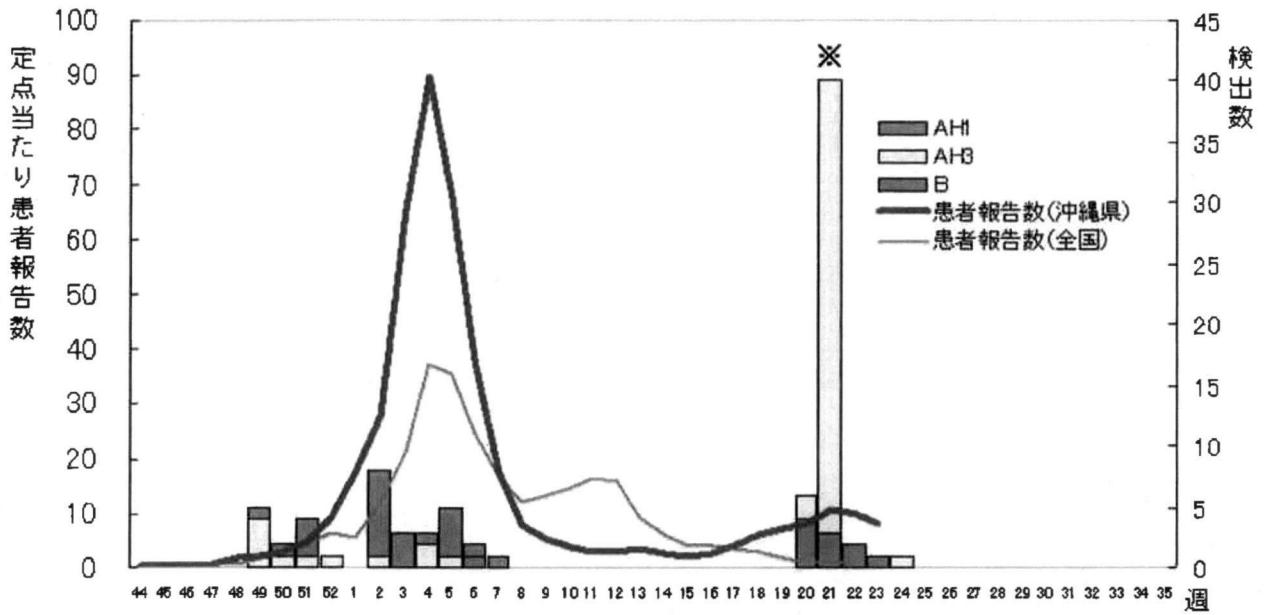
沖縄県中央保健所 上原健司 国吉秀樹

沖縄県南部保健所 中村孝一 小林孝暢 山川宗貞

沖縄県宮古保健所 下地 崇 平良セツ子

沖縄県八重山保健所 嘉手納克子

図1. インフルエンザ患者報告数とインフルエンザウイルス検出状況 2008/09 (沖縄県)



※ 第21週は迅速診断キットA型陽性例について全数把握調査を実施した。



Infectious Agents Surveillance and Report

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業） 分担研究報告書

新型インフルエンザ（パンデミック(H1N1) 2009)発生初期における
検疫所と国立感染症研究所の対応と今後のあり方に関する研究

研究分担者 藤井紀男 国立感染症研究所企画調整主幹

研究要旨

平成21年4月の新型インフルエンザ（パンデミック(H1N1) 2009)発生初期において検疫所と感染研が協働して行った主な対応としては、1. 病原体検査、2. 隔離者等の疫学調査があげられる。本分担研究においては、今後の対応の改善等の検討に資する基礎資料とするため、今回の対応における、①準備状況、②実際の対応状況、③関係者の意見について記録やアンケート等をもとにとりまとめを行った。

今回は、感染研と検疫所は概ね円滑に協働して対応が行われたと考えられるものの、双方の役割分担の明確化とその共通認識の醸成、日頃からのコミュニケーションの確保等については、さらに組織的な連携・協力体制の強化を図ることが必要であると考えられた。

A. 研究目的

平成21年4月に発生した新型インフルエンザ（パンデミック(H1N1) 2009)の発生初期においては、水際対応として検疫の強化がなされ、国立感染症研究所（以下、「感染研」）は、検疫所における病原体検査や隔離・停留者の調査に関する技術的支援及び検疫官業務等の支援のための職員の派遣を行った。これまで検疫所と感染研が協働して対応した事例としては、一類感染症疑い症例や SARS への検査対応、チクングニア熱診断に関する協力等、個別・単発的な事例はあるものの、複数の検疫所を対象とした体系

的・緊急的な対応事例は初めてであり、これらの対応における体制的な課題等も明らかとなった。

このため、本分担研究課題においては、新型インフルエンザ（パンデミック(H1N1) 2009)発生初期において検疫所と感染研が協働して実施した病原体検査等に関する対応をレビューするとともに、今後、新たに発生が想定されている高病原性鳥インフルエンザ由来の新型インフルエンザをはじめ、両者連携・協力して対応を円滑かつ適切に行うための基礎資料としてとりまとめを行う。

B. 研究方法

今回の新型インフルエンザ（パンデミック（H1N1）2009）発生初期（平成21年4月23日以降7月末頃まで）の検疫所と感染研が協働して行った対応及びこれらに関連する準備対応について記録をもとに整理した。また、当初、新型インフルエンザ発生時に発生国からの航空機を集約することが想定されていた国際空港を有する検疫所（成田空港検疫所、中部空港検疫所支所、関西空港検疫所、福岡空港検疫所支所）を中心に、ヒアリング及びアンケートを行った。

その後、これらの結果を踏まえ、検疫所等から今後の改善点等について意見を聴取した。

（倫理面への配慮）

本分担研究は、個人を特定できる個人情報やヒト試料を用いないことから、疫学研究に関する倫理指針、臨床研究に関する倫理指針等の対象となる研究ではない。

データ等の使用については、政府対応として慎重な取扱いを要するものもあることから、取扱いには留意した。

C. 研究結果

今回のパンデミック（H1N1）2009対応において、検疫所と感染研が協働して行った主な対応としては、1. 病原体検査、2. 隔離・停留者の疫学調査、3. 検疫業務（検疫官業務）へ

の感染研職員の派遣があげられる。以下、1. 2. 3. について、①準備対応、②パンデミック（H1N1）2009発生初期の対応状況、③関係者の意見について記載する。

1. 病原体検査

（1）準備対応

我が国における新型インフルエンザへの対応準備は、高病原性鳥H5N1インフルエンザウイルス（以下「H5N1」）からの発生を想定してすすめられていた。このため、厚生労働省では、H5N1を全国の検疫所及び地方衛生研究所で迅速に診断ができる体制の構築を目的に、PCR法（RT-PCR法及びTaqManプローブを用いたリアルタイムRT-PCR法）検査用機器の整備を行っており、感染研においては、平成20年度に検査用試薬（プライマー、プローブ等）の配布と検疫所検査担当者に対する技術研修を行っている。

【高病原性H5N1鳥インフルエンザウイルス感染診断技術研修】

平成20年6月19、20日
於：感染研村山庁舎

各検疫所においては、研修参加者を中心に、各所の検査担当者に対する技術共有が行われ、各検疫所間で精度管理、定期的な検査訓練等が行われている。

なお、平成21年6月19日付

で厚生労働省から示された「医療の確保、検疫、学校・保育施設等の臨時休業の陽性に関する運用指針（改訂版）」により、機内検疫の実施等の検疫強化は緩められたが、感染研では8月24、25日にも検疫所検査担当者に対する技術研修を実施し、引き続き、検査担当者の技術向上を図っている。

(2) パンデミック(H1N1)2009 対応

① 検査体制の構築

平成21年4月23日、米国疾病管理センター(CDC)が米国内において豚由来H1N1のA型インフルエンザウイルスのヒトへの感染事例を報告したこと等を受け、感染研においては、前述のPCR法を用いてパンデミック(H1N1)2009の検出し、季節性インフルエンザウイルスとの鑑別可能なプライマー及びプローベの設計を直ちに開始し、厚生労働省との協議により可及的速やかに全国の地方衛生研究所、検疫所への配布を行うことを決定した。その後、プライマー等の特異性・検出感度、季節性インフルエンザとの交差反応性等の検証を経て最終的な配布用プライマー等を決定する一方、地方衛生研究所等とも連絡をとり、5月2日には全国の地方衛生研究所(75カ所)・検疫所(15カ所)へ試験用試薬とともにプ

ライマー、プローベの配布が完了した。

また、並行して検査マニュアル及びフローチャート、検体送付用の検体情報入力フォーマットシート等を作成し、検疫所には5月1日に厚生労働省本省検疫所業務管理室をとおして配布した。

その結果、検疫所等では検査系の立ち上げと検証が行われ、5月の第一週にはほぼ全てで検査が可能な状況が整った。

② 検査の実施

検疫所における検査体制が整備されるまでの間も成田空港検疫所ではパンデミック(H1N1)2009疑い事例があり感染研において検査を実施したが、検査体制整備後も5月中旬まで検疫所と感染研は併行して検査を実施して確定診断を行った。

この間、検疫所から感染研に対して検査依頼のあったパンデミック(H1N1)2009疑い検体数は、3検疫所から6名分である。

【検疫所から感染研へのパンデミック(H1N1)2009にかかるPCR検査件数】

<詳細：表1>

うち、5月8日に成田空港検疫所で採取された検体3名分から、我が国で初めてのパンデミック(H1N1)2009の陽性が確認された。

検体の搬送は、成田空港検疫所からは検疫所の警察車両・公用車による陸送、中部空港検疫支所からは警察車両による陸送、関西空港検疫所からは航空機により羽田空港まで空輸し、羽田空港からは東京検疫所の車両により陸送された。

なお、成田空港検疫所における停留者の中から発熱等のパンデミック(H1N1)2009疑い者の検体検査は千葉県衛生研究所、千葉市衛生研究所で行われ、これらは併行して感染研にも搬送された。

(3) 当該検査に関する検疫所の意見

成田空港検疫所、中部空港検疫所支所、関西空港検疫所、福岡空港検疫所支所について、アンケート等により、今回の検査対応等についての意見を聴取した。

いずれも、事前のPCR法による検査体制の整備及び技術研修等の事前準備、パンデミック(H1N1)2009鑑別用プライマー等の迅速な配布については有用であったと評価されているが、検疫所での検査の実施と併行して感染研へ検体を搬送し、感染研での検査結果を待って確定とする、とした初期の方式については、検体搬送にかかるマンパワーの確保や時間的なロス、本省の検疫所の診断技術に対する信頼等の観点からの課題を

指摘する意見が多い。また、感染研に対する要望としては、引き続き技術研修を行う、DVD等による検査手技習得ツールの提供、メーリングリスト等による検査方法の変更・改善時の情報共有の円滑化等が寄せられた。

検体受入側の感染研では、検体の搬送に関しては、本省検疫所業務管理室が窓口となって感染研との連絡が行われ、検疫所から感染研へ直接の連絡が行われない状況があり、検疫所及び感染研の検査担当者間で双方の検査状況・等の情報共有が十分になされていない場面もあったことから、感染研と検疫所との意思疎通にはさらに配慮する必要性を感じている。

2. 隔離・停留者の疫学調査

(1) 準備対応

① 研修

感染研では、厚生労働省本省の依頼に基づき、毎年定期的に「感染症危機管理研修会」を実施しており、平成20年度においても全国の地方自治体の衛生主幹部局及び保健所等の担当者とともに、検疫所職員も参加した。

【平成20年度感染症危機管理研修会】

平成20年9月18, 19日
於：感染研戸山庁舎

平成20年度の研修会では、感