

特集2009インフルエンザパンデミック (AH1N1pdm)

新型インフルエンザ検査対応記録

奈良県保健環境研究センター

目次

序

1. 地方衛生研究所の将来像

石倉 清

2. 平成21年新型インフルエンザ流行に遭遇して

玉置 守人

県保健環境研究センターの新型インフルエンザ検査対応

3. 新型インフルエンザ (AH1N1pdm) に保健環境研究センターはどうか ー検査体制の初期対応についてー

北堀 吉映

4. インフルエンザ迅速診断キットに関する一考察

岡山 明子

5. 新型インフルエンザの患者流行疫学およびオセルタミビル耐性ウイルス

北堀 吉映、井上ゆみ子、米田 正樹、岡山 明子

6. 検査業務に参加して

井上ゆみ子・荒井由香理

総務課の対応

7. 新型インフルエンザと総務課

山岡 清

所内チームを越えた人的支援

8. 新型インフルエンザ検査業務に参加して

橋田みさを・榮井 毅・田辺 純子・吉田 孝子

県内他部署からの人的支援

9. 新型インフルエンザ検査業務に参加して

米田 正樹・北條 雅也・水谷 勇一、西川 篤

最新の新型インフルエンザ情報

業績集

編集後記

執 筆 者

石倉 清	所長
玉置 守人	前所長
山岡 清	総務課 総務課長
北堀 吉映	ウイルス・細菌担当 統括主任研究員
岡山 明子	ウイルスチーム 総括研究員
橋田みさを	細菌チーム 総括研究員
井上ゆみ子	ウイルスチーム 主任研究員
米田 正樹	ウイルスチーム 主任研究員
榮井 毅	細菌チーム 主任研究員
田辺 純子	細菌チーム 主任研究員
吉田 孝子	細菌チーム 主任研究員
荒井由香理	ウイルスチーム 日々雇用職員
北條 雅也	農業総合センター 主査
水谷 勇一	奈良市保健所 保健・環境検査課
西川 篤	奈良市保健所 保健・環境検査課

地方衛生研究所の将来像

奈良県保健環境研究センター所長

石倉 清

2009年の新型インフルエンザの検査対応は、真に地方衛生研究所がなすべき感染症コントロール、即ち健康危機管理と情報提供という姿勢が真正面から問われた出来事であったと考えております。これまでも当センターは感染症に関して堺市をはじめとする全国的な腸管出血性大腸菌O157による集団感染、牛乳中の黄色ブドウ球菌毒素混入、米国における炭疽菌事件を機にした“白い粉”事例、SARS対応など、幾つかの健康危機を経験をしまいましたが、新型インフルエンザ対応はその規模、期間ともに今まで経験のないものであったと思われまます。

この度の“特集 2009インフルエンザパンデミック（AH1N1pdm） 新型インフルエンザ検査対応記録”の企画にあたり、昨年あの慌しかった検査初期対応について多くの貴重な経験を振り返り、今後予想される鳥インフルエンザを含めた新興・再興感染症の危機管理において大いなる教訓としたいと考えております。さらに、健康危機管理事例において関係諸機関との連携の明確化等、様々な部分で反省すべき点や地方行政の中で当センターが果たす使命について総合的に考察することで、職員のすべての中で将来を見据えた「新たな地方衛生研究所像」が醸成されることを強く切望します。

平成21年新型インフルエンザ流行に遭遇して

前奈良県保健環境研究センター所長
玉置 守人

平成21年4月、メキシコに端を発した新型インフルエンザ（同月24日に同国政府は豚インフルエンザの発生を確認）流行は、同月28日、日本政府の新型インフルエンザ発生宣言、5月9日には日本での侵入第1例の確認、同16日には渡航歴のない高校生の発症が神戸、大阪で確認され、本県近辺にまで及ぶこととなった。その間、当センターでは、4月30日、大型連休に入った直後からウイルス・細菌担当の統括及びウイルスチーム4名が検査体制に入った。当初は全数把握検査ということで、昼夜を問わず随時に搬入される検体を受付け、あわせて患者情報書面の内容を確認し、その後自ら検査し、結果を発熱相談センターや関係保健所に報告するという作業を繰り返すことになった。また、無理もないことであるが診察した医師、患者家族への対応上少しでも早い結果を求める要求が多くあり、ウイルスチーム職員は検査の進捗状況の説明にも追われるなど、本来の検査以外での負担も相当なものであった。

本県における最初の患者確認は6月15日で、神戸、大阪の確認から1ヶ月後である。メキシコから日本まで1週間足らず。しかるに、大阪から奈良まで1ヶ月。周囲の府県全てで患者が確認されてもなぜ県内で患者の発生がないのか、見落とし、検査ミスか、いやそんなはずはないなどと、私自身、悶々として日々を過ごした。ウイルスチーム職員の検査実施に係る不安（検体の扱い方、検査手順、試薬調製・保管等）から来る精神的負担はその責任意識（確定は地方衛生研究所の検査結果によるとされていた）もあって相当なものであった。第1例後は、続々と陽性例が増え、技術的な不安も完全に払拭され、また、クラスターサーベイランス、入院サーベイランス、ウイルスサーベイランス（重点化）へと移行していき、搬入される検体数もある程度落ち着き、他部局等からの応援で検査担当職員の増員もあり、急な検査実施を求められることもあったが、ほぼ当センターのペースで進められる状況になった。なお、4月末からこのような状態になるまでの間のウイルスチームの他の検査業務は全く手つかずの状態であった。結果として、この新型インフルエンザは、基礎的疾患を有している人は特に注意を要するが、鳥インフルエンザの様な強毒性ではないことが判明したものの、県内感染患者のうち4名が死亡した。現在、ほぼ終息しているが今後とも不断の監視が必要であろう。

今回の経験で、健康危機管理では検査業務に限らず、付随する業務全般について職員の担当割りをしたより具体的な検査過程に即した動員表を作成しておくべきである。問い合わせ対応、検体受付、結果報告等の業務については、専門な技術を有していない職員でも対応可能であり、検査員の負担軽減に役立つ。また、長期にわたる場合には、検査員の員数確保も必要であることから、他の担当職員の、いろいろな分析機器の使用法など検査の実施、あるいは補助ができ

るよう訓練するとともに、それぞれ、保有する技術について整理し、動員表の作成に資することも必要である。また、当センターの役割としては、基本的には検査し結果を現場の医師や保健所に報告することであるが、特に今回のように患者に対する措置、治療に直接繋がる検査では「患者」を意識しておかなければならない。即ち、治療に必要かつ、正確な情報を現場の医師及び患者に提供することである。しかしながら、当センターにおける検査実施の入口である検体情報として提供された簡易キット検査結果の判定にばらつきがあり、検査結果の判断に少なからず影響を与えた事例があった。このようなことを避けるために、診察した医師、連絡役を果たす保健所及び当センターとで判定基準の確認が必要であろう。患者に関する情報（症状、疫学的情報等）の伝達については、独自の書式で医師会の協力もありうまくいったと考えているところであり、工夫すれば簡易キット検査結果の判定のばらつきをもっと少なくできると考える。これまで、いろいろな機会を捉えて今回の新型インフルエンザ流行への対応で問題点の洗い出し、課題の整理がされている。今後の本県の健康危機への対応の参考にすべきであろう。

加えて、本年2月、当センターは県内で初めてインフルエンザ治療薬オセルタミビル（タミフル）耐性の新型インフルエンザウイルスを検出した。このような検査結果は今後の治療薬の開発、使用法などの検討に有用であることから、ウイルスに関する調査は地道ではあるが、怠りなく継続されることを期待する。また、今回の新型インフルエンザに関して流行の状況、ウイルスの話、感染防止対策、学校等の休校等の状況を県感染症情報センター週報として、またホームページに掲載し広報した。希望する機関には直接、週報をメールで送付するようにした。流行中も多くの機関から照会もあり必要な情報の提供ができたものと考えている。今後とも週報やホームページの内容を充実するなど日頃の対策、流行しても冷静な対応ができるよう知識の普及に努めていただくことを希望する。

現在までのウイルス・細菌担当所属職員を初め検査応援してくれた職員、休日の電話当番等応援してくれた職員の苦労を労い、改めて感謝申し上げるとともに、今後ともにインフルエンザを含むあらゆる感染症等の日常の検査、調査研究に邁進していただきたいことを強く望む。

新型インフルエンザ（AH1N1pdm）に保健環境研究センターはどう対応したか － 初期対応について －

ウイルス・細菌担当 統括主任研究員
北堀 吉映

はじめに

2009年4月22日、米国疾病管理予防センター（CDC）はメキシコと米国との国境周辺のカリフォルニア、テキサス両州で複数の小児がブタ由来インフルエンザに感染していることを公表しました。小児はブタとの接触歴がないことから、ヒトからヒトに感染したものと考えられました。その病原体は、同年3月から4月上旬にかけて、メキシコ¹⁾で多くの死亡者を出しているインフルエンザ様疾患の病原体と同一である可能性が指摘²⁾され、一挙に国際的な緊張が高まったのです。また、4月29日にはニューヨーク市内の高校で大規模な集団感染の発生が報じられ、その時点でカナダ、英国を含む数カ国（スペイン、ドイツ、ニュージーランド、イスラエル、オーストリア）に感染が広がっていました。わが国では、世界にウイルス感染の広がりがみられたころから空港ならびに船舶での水際対策の様子が連日報道されるなど国民の強い関心事となったのでした。

本稿では、奈良県保健環境研究センター（研究センター）の新型インフルエンザに関する初期検査体制の構築過程における人員確保と作業区分の整備、患者等の情報収集および健康危機発生時における近畿2府7県地方衛生研究所の協力に関する協定“を踏まえた検査協力要請の経緯等について、その出来事を記録物として残すこととなり、参画した者の視点からその経緯を記載したいと思います。

1. 突然、深夜に行われた疑似症患者の遺伝子検査（2009年4月30日）

新型インフルエンザ感染が各国と地域に拡大した時期は、わが国では国内外を移動するグローバルデンウィークと重なり、ウイルスの国内侵入も時間の問題とされていた頃、奈良県初の新型インフルエンザを疑った検査のため4月30日深夜ウイルスチームの3名が召集された。患者はメキシコ（3月21日から29日まで滞在）からの帰国者で簡易検査は陰性であったが鼻づまりを訴え、医師の判断で遺伝子検査を実施した。その時点では新型インフルエンザ検査体制は整っておらず、感染研がH5N1を想定し提示していたA共通領域プライマーと季節性A香港型およびソ連型インフルエンザ・プライマーを用いて遺伝子検査をおこなった。いずれも陰性であることを確認したのが本県初めての検査であった。

2. 研究センターにおける検査体制の構築

1) 初期の対応

5月1日に横浜市で疑似症例（カナダからの帰国者：最終的には季節性Aソ連型と判定）が発生し、5月2日には国立感染症研究所（感染研）から地方衛生研究所等へ病原体検査マニュアルが電子メールで送付され、新型特異的プライマーなどの検査試薬（プローブ、陽性コントロールRNA）等は5月4日までに届けられました。

研究センターでは、当時保有していた唯一のリアルタイムPCR機（ABI PRISM 7000）が遺伝子組み換え食品検査業務に使用されていたため、RT-PCR法のみで検査を開始しました。リアルタイムPCR法による検査は、およそ2週間後の5月22日から採り入れ、当初のRT-PCR法では新型、A共通、香港型およびソ連型の4項目の検査を実施しましたが、リアルタイムPCR法への移行後は新型およびA共通の2項目の検査を実施しました。

2) 患者情報用紙、検体採取キットの事前配布

奈良県では、“患者情報用紙”による疑似患者情報収集が有効であったことが特筆に値すると考えます。この“疑似症例患者情報用紙”は、医療機関名、主治医名、患者氏名、年齢、性別、住所、連絡先、検体種別（咽頭ぬぐい液、鼻汁）、検体採取日、簡易キットの診断結果、臨床症状（発病日、発熱の有無）および渡航歴などを医師が記入するものです。この様式は2008年の11月ごろにH5N1鳥インフルエンザウイルスの発生を想定して当センターが作成し保健所に配布したもので、今回の検査開始当初から利用されました。この様式により医療現場からの情報伝達がスムーズに行われ、今に思えば有効な手段だったと感じています。また、初期に検体採取キット（ハンクス液、綿棒、検体採取および保存方法を記載した資料など）を十分に準備し各保健所に配布したことも、その後の対応に有益でした。

3) 人員配置と作業区分の整備

ごく初期の検査体制はウイルスチーム職員3名が作業区分に関係なく、入り乱れ対応する場面がしばしば見受けられたが、やがて個々の職員個人の得意業務と役割の分担とが結びつく状態が出来上がりました。検査の主要部は遺伝子増幅であることから、コンタミネーションには最大の注意を払いましたが、数度のトラブルを経験しました。コンタミネーションを防止する対策として、患者検体のサンプリング、PCRの試薬調製と陽性コントロールの調製は別々の安全キャビネットで行うこと、また、各作業に従事する職員も完全に専門化する体制を整備しました。図1には経験から得られた、検査の流れと必要最低限と考えられる人員配置数を示しました。

4) 他部署からの人的支援

— 4名の臨時増員と細菌チーム3名の兼務 —

5月中旬には24時間オンコールによる検査体制を強いられたことでウイルスチーム3名では対応困難で、リアルタイムPCRあるいはRT-PCRを扱った経験がある職員の支援を求めることとしました。そこでウイルスチームの勤務経験がある職員を中心に支援を要請し、5月21日に環境部局から1名、25日に農林部局から1名、更に細菌チームからの1名を臨時に増員しました。また、ほぼ同時期に中核市である奈良市保健所から臨時的な職員2名が派遣されました。県内の感染者増加が著明になった7月初旬以降は、更に細菌チームの2名に兼務辞令が発令され、



図1. 遺伝子検査の流れと、人員配置

全数把握体制が終了した7月末までの検査にあたったでした。その後、他部所からの支援は解消されましたが細菌チーム2名の兼務は継続しました。

このように人員配置は、今後の健康危機管理体制構築を考える上で貴重な経験となりました。医療機関の簡易キット偽陽性判定や緊急検査依頼の多発から検査数が想定を上回るものとなり、職員は深夜を問わない長時間勤務を余儀なくされました。現在の反省点として、より早い段階で検査のための人員確保と検査以外の人的支援（検体受付、結果の報告書作成・発信など直接検査業務に関係しない業務）を要請し、総合的な検査応援体制を整えるべきだったと考えています。

3. 患者確認までの1カ月間に対処した事柄（図2）

渡航歴のない神戸市・大阪府の高校生が新型インフルエンザに感染していることが確認された5月16、17日以降、近畿地方ではマスク姿が目立ち、社会全体がやや混乱した状況となりました。研究センターでは5月の検査開始以降、県内6ヶ所（奈良市保健所を含む）の保健所から1日に数件から10数件の検体が五月雨式に搬入され、連日深夜におよぶ検査が行われることとなりました。この長時間にわたる検査は担当者に緊張の維持を強いるものでした。

1) 簡易キットと遺伝子検査結果の乖離と、キット添付の依頼

奈良県は流行が確認された大阪府のベッドタウンとして隣接し、いつウイルスの県内侵入があってもよい状況でした。標的を国内疑似患者に絞った5月15日から奈良県初発患者が確認された6月15日までの1か月の間に簡易キット陽性47例を含む108例の遺伝子検査が行われました。この間、近畿地区の患者発生状況は5月16日神戸市で国内初の患者を確認、翌日の17

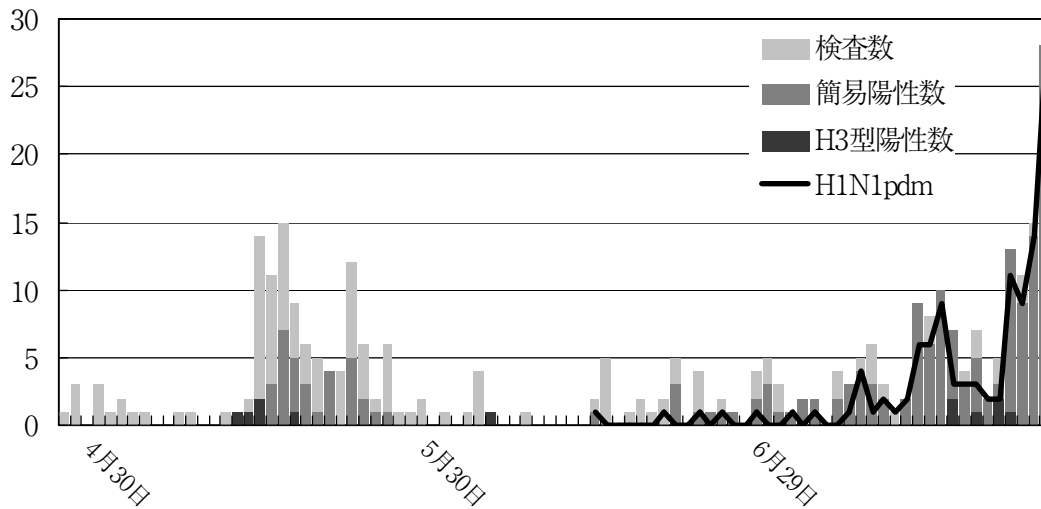


図2. 奈良県における全数把握期間の検体処理数、簡易キット陽性数、A 香港型陽性数
および新型インフルエンザ患者推移 (n=298)

日は大阪府で、その後20日には滋賀県、21日は京都市、27日は和歌山市と次々に感染者が確認されました。当時は、簡易キット検査の陽性報告に対し、インフルエンザウイルス遺伝子検査は陰性という乖離状態が見られました。そこで、RT-PCR法およびリアルタイムPCR法の検査手法の確認、検体採取法の技術的統一、更には、他の地研から陽性患者の検査情報収集など行い、様々な点について再検討を重ねました。奈良県を囲むように患者が発生しているなかでの陰性報告は、県が情報を隠しているのではないかとの憶測を呼び、マスコミから取材を申し込まれるなど、様々な点から研究センター関係者の疲労はピークに達していました。

このような中、我々は簡易キット検査の陽性報告に疑問を抱き、5月21日に県新型インフルエンザ対策室を通じ“検体への簡易キット添付”を医療現場に依頼しました。添付されたキットは微弱な反応が大半で、なかにはA型B型ともに微弱なバンドがみられるなど、判定者のオーバー・ダイアグノーシスの可能性を強く示唆されものが多く含まれていました。県内での発生が確認された6月15日以降の感染者増加時期には微弱（MS）なものは見られず、MあるいはS判定のみとなり、この事からも初期の陽性報告にはオーバー・ダイアグノーシスが含まれていたと強く推察されものでした。

2) “健康危機管理発生時における近畿2府7県地方衛生研究所の協力に関する協定書”を踏まえた検査協力の実施

平成18年8月に、近畿2府7県の地方衛生研究を有する自治体（大阪府、京都府、兵庫県、奈良県、和歌山県、滋賀県、三重県、福井県、徳島県、大阪市、京都市、堺市、東大阪市、神戸市、姫路市、尼崎市、和歌山市）では、健康危機が発生し当該自治体の衛生研究所のみでは対応が困難な場合、協力が迅速かつ円滑に図れるよう協定を締結していました。

今回、神戸市の国内初発患者の確認から、奈良県での患者確認までの大よそ1ヶ月間は、①本県を囲むように患者発生地域が広がった、②患者情報として簡易キット検査の陽性例が増加したにも拘わらず、感染者が確認されないなどの状況であった。このことから、我々が実施している検査は精度よく行われているのか？ 見落としは無いのか？ など職員自身が自問自答しつつ検査過程を再点検すると同時に、陽性患者の検査経験のある大阪府、滋賀県、京都市、堺市、神戸市などの地方衛生研究所に検査所見などの詳細な情報を収集する日々が続いていました。5月18日から20日（18日：16例、19日：10例、20日：14例）の間には搬入された40例中13例が簡易キット検査陽性患者（患者情報用紙の簡易キット陽性の報告でキットの添付はなし）で、臨床的には39℃台の発熱が3例、上気道炎と診断された患者が8例とウイルス感染を疑われる症例ばかりにも拘わらず結果はすべて新型インフルエンザ陰性で、わずか1例に季節性A香港型ウイルスが確認されたただけでした。更に、5月26日には（7例搬入）には同様に簡易キット陽性、39℃台の発熱、上気道炎等の患者検体が2例あったが遺伝子検査結果は陰性となったという状況でした。

このように、簡易キット陽性報告と遺伝子検査結果の乖離から、職員にも焦りが生じて精神的にも、肉体的にも疲れていた頃で、当時衛生微生物技術協議会の理事を務めていた堺市衛生研究所の田中智之所長に我々の不安な心の内を伝え、簡易キット陽性症例のダブルチェックを依頼したところ、堺市も連日多くの検体が搬入される状態であったにも拘わらず快く引き受けていただきました。その結果我々の検査結果は正しかったことが実証され、このダブルチェックは一時的な安堵感が得られた検証行為でありました。今振り返ると検査に必要な精度管理をあの慌ただしいなかで行ったという意味で大変貴重なチェックであったと高く評価されるべきであると感じています。近畿2府7県の協力に関する協定書には、試験検査等の実施、試験検査職員の派遣、施設、設備および機器の使用又は貸与などの協力が規定されていますが、自県の検査に追われる状況では、我々の事例の様に精度管理的な技術サポートが有益でした。更に、近畿圏内のほぼ全域にわたる流行では、それぞれの府県が自県の検査に追われこの協定がうまく機能しないことも想定され、今後、協定に規定された事項以外の事態にも対応できるよう協議されることを望むものです。

4. 奈良県初の感染者の確認

初発の感染者の検体は、6月15日17時5分に研究センター搬入されたもので、患者は奈良市内の民間病院で受診した23歳の女性でした。添付された簡易キットは明らかな陽性像を示し、臨床的にも39.0℃の発熱、咽頭痛を呈しており感染を強く疑う患者でした。検査は速やかにリアルタイムPCRとRT-PCRを同時に行い、約3時間後にはリアルタイムPCRで明らかな遺伝子増幅が観察されました。RT-PCRは、翌日16日に遺伝子産物の電気泳動を行い目視で適正なサイズの遺伝子断片の確認を行いました。最終判定はリアルタイムPCRとのダブルチェックのかたちで陽性確認を担当職員全員で行い、新型対策本部への正式な報告は6月16日午前中で、その後患者は奈良県立医科大学付属病院感染症センターに入院となりました。

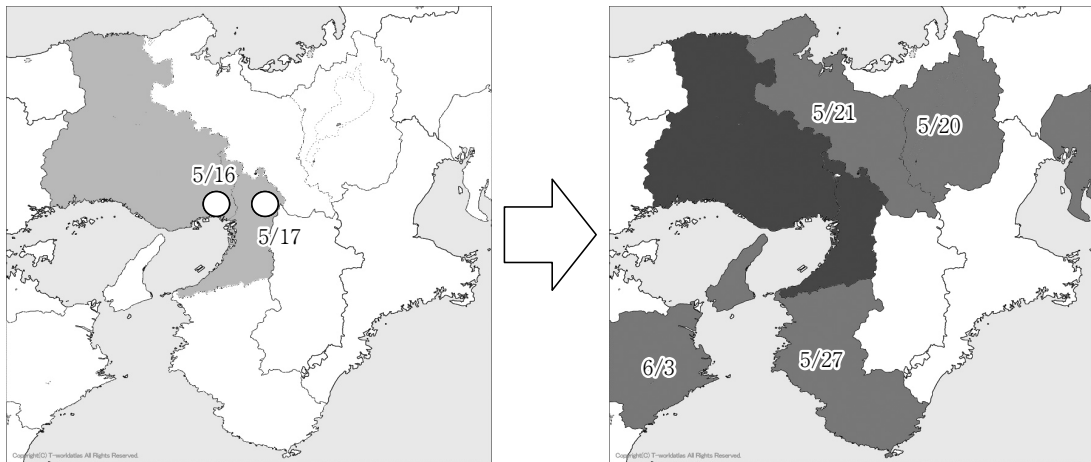


図3. 近畿地区における新型インフルエンザ患者確認状況：左) 5月17日、右) 6月14日の感染者の確認状況

ようやく陽性患者の遺伝子検査を経験したことで、これまでの様々な操作上の懸念が一挙に解消しました。その達成感と安堵感は今もありありと思い起こすことができます。周囲近県で感染患者が確認され本県のみが取り残されたような状況では大変心細く、日々、不安な状態でありました。ここで課題の一つとして、感染研による陽性検体の遺伝子検査データ（リアルタイムPCR、RT-PCR）等の積極的な開示を強く求めるものです。

5. 研究センターの検査体制構築の検証および今後の課題

今回の新型インフルエンザはメキシコで発生し、瞬く間に多くの国々と地域に広がりを見せたなか、我々と同じ様に、多くの地方衛生研究所ではウイルス検査体制の構築は検査を実施しながら整えるという状態であったと思っています。確かに、素早い感染研からの検査マニュアルの提示はあったものの、人員確保、検査の流れに沿った人員配置、患者情報収集などなど、実に多くの様々な問題に直面しながら何とか対応することができたという状況でありました。特筆すべき事柄として、近畿2府7県地方衛生研究所の協力に関する協定が既に締結されていたことは、極めて重要なことで今回の様な広域的流行のなかでの一部とは言え検査協力関係が機能したことは今後の危機管理における対応に有意義であると考えています。

幸いウイルスは弱毒性ウイルスでありましたが、最も危惧される高病原性鳥インフルエンザに由来した新型ウイルスの発生・侵入に備え、今回明らかとなった数多くの問題点について、地方衛生研究所、県対策本部、保健所、医師会等がそれぞれ今回の対応を総括・検証し、新たな対応策を講じる必要性を強く感じています。例えば、地方衛生研究所と感染研との連携では定期的な技術研修、情報発信などをさらに推し進めること。現在、実施されている近畿地域ブロック内での模擬訓練、定期的意見交換などを継続維持し、更には周辺ブロック（中国・四国ブロック、中部東海ブロック）とも定期的意見交換を行い、総合的な見地に立って健康危機管理体制の整備を国、感染研、地方衛生研究所、感染症情報センターが連携を密に緊急

時の検査体制を整備することが大切な事であると考えています。

6. 振り返って

意思疎通、連帯感の重要性

今回の対応を振り返り改めて重要性を再認識させられたこととして、“意思疎通を図る”、“連帯感を失わず”、について強く感じました。膨大な情報が飛び交う中、多くの関係者が業務を分担するなか、変化する状況に即した迅速な対応が求められました。このような状況では、全体的把握、各関係者の連帯、情報の共有化などがうまく機能しなければ過大な労力と精神的な消耗が進み、全体として整合性を保ちながらの機能を失う可能性が大いにあります。このことは、日頃の様々な事例への対応と同様で、関係職員がお互いに意思疎通を図り、連帯感を保ちながら各人が気持ちよく仕事をこなし、最良な結果を求めることが重要であると考えます。

最後に、休日、昼夜を問わず検査業務に携わっていただいた全ての方々に敬意を表しますと同時に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Fraser C., Donnelly C.A., Cauchemez S., *et al.*, Pandemic of a strain of influenza a (H1N1): early findings. *Science* 324: 1557-1561 2009
- 2) Garten R.J., Davis C.T., Russell C.A., *et al.*, Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A (H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science* 325: 197-201 2009

全数把握期間の奈良県保健環境研究センターと、国内外の出来事

日付	フェーズ	保健環境センター	検査員数	WHO、CDC、感染研の動き	
4/24 金	3		4名	WHO：メキシコのインフルエンザ様の呼吸器疾患の流行を報告 CDC：アメリカで豚由来のインフルエンザを発症した患者7が確認	
4/26 日				WHO：メキシコとアメリカで流行中のインフルエンザを「国際的な懸念を有する公衆衛生上の緊急事態」と発表 健康観察の依頼(厚生労働省通達)	
4/28 火	4			WHO：フェーズ4に引き上げ	
4/29 水				WHO：確定症例数が100例をこえたと発表 WHO：名称をブタインフルエンザからインフルエンザA(H1N1)に変更	
4/30 木	5	30日深夜 メキシコ(3/21-3/29)からの帰国者(36歳男性、発熱なし、鼻づまり)を検査(RTPCR)		5名	WHO：フェーズ5に引き上げ
5/ 2 土		病原体検出マニュアルを入手			
5/ 4 月		検査試薬の入手完了			検体を複数採取することを通知(対策推進本部事務連絡)
5/ 5 火		RT-PCR検査体制整備完了			
5/ 9 土					感染研での検査をもって確定検査とすることを通知(厚生労働省通知)
5/16 土					国内最初の感染者を確認(神戸市、高校生)
5/17 日					
5/20 水		堺市衛生研究所にダブルチェックを依頼			大阪府で感染者確認(高校生) 滋賀県で感染者確認(23歳学生)
5/21 木		配置転換で検査員増員(1名)簡易キットの添付を依頼	京都市で感染者確認(10歳男児)		
5/22 金		リアルタイムPCRを開始			
5/25 月	配置転換で検査員増員(1名)				
5/27 水	堺市衛生研究所にダブルチェックを依頼	和歌山市で感染者確認(28歳会社員)			
6/ 3 水					
6/12 金	6		6名	WHO：フェーズ6に引き上げ	
6/15 月		奈良県初の感染者を確認(奈良市、23歳女性)			
6/18 木		県内2例目の感染者を確認(24歳男性)		BSLの変更(厚生労働省告示、第330号)	
6/21 日		県内3例目の感染者(18歳女性)			
7/ 1 水				WHO：名称をパンデミック(H1N1)2009に変更	
7/22 水				積極的疫学調査実施要綱(厚生労働省通達)	
7/24 金		全数把握中止の時点で149名の患者を確認	全数把握を中止(厚生労働省通達)		

インフルエンザ迅速診断キットに関する一考察

ウイルスチーム 総括研究員
岡山 明子

はじめに

2009年は、新型インフルエンザの世界的大流行に伴い、全国各地地方衛生研究所にとって未だかつて経験のない、昼夜を問わない膨大な検査業務および関係諸機関との対応に終始した年となりました。奈良県でも、その状況は詳細に記録としてとどめ置く必要性があります。臨床診断では、多くの場合迅速診断キットが用いられ、その結果を記した患者情報用紙とともに検体が搬入されましたが、特に流行当初は遺伝子検査の結果との乖離に苦悶しました。本報告では、診断に用いた迅速診断キットそのものの提供を医療機関に要求した経緯等、患者の疫学情報を含めて紹介します。

1. 新型インフルエンザ検査の始まり

「メキシコ帰りの患者検体が搬入されるかもしれないから、心づもりしておいて・・・」平成21年4月29日(昭和の日)、統括より何度か携帯電話に連絡がありました。そして午後11時前に招集がかかり、車で職場に向かいました。翌日午前1時45分に検体搬入、午前6時頃陰性の結果報告、そのまま勤務となりました。このようにして始まった奈良県の新型インフルエンザ検査は、5月の連休中も連日連夜実施し、途中で何度か検体搬入に関して県新型インフルエンザ対策室に申し入れを行いつつも年度末まで続いたのです。

2. 患者情報用紙の配布

当センターでは、以前から高病原性鳥インフルエンザの流行を想定し、検体を提出する医師に患者情報を提供してもらうために図1に示した患者情報用紙(医師記入用)を予め用意していました。臨床現場では、インフルエンザの治療にオセルタミビル等の抗インフルエンザ薬投与が一般的で、より正確な診断のために迅速診断キットが取り入れられるようになっていきます。現在市中にある迅速診断キットは、イムノクロマトグラフィーにより15分程度でA型およびB型を判別するタイプが大半を占めています。高病原性鳥インフルエンザも今回の新型インフルエ

(奈良県保健医療研究センター-提出用)

新型インフルエンザ疑似症例 患者情報用紙 (医師記入用)

医療機関名: _____ TEL: _____ () _____
FAX: _____ () _____

主治医: _____

患者氏名	_____ (男・女)
生年月日	____年 ____月 ____日(歳)
自宅住所	_____ 市・町

検体種別	咽拭い/唾液 鼻汁 その他()
検体採取日	____年 ____月 ____日

このキットが迅速診断結果 **陰性** ・ **陽性** ・ **判定不能**

臨床症状 (採血するものも途中で凍らせた)	発病日 _____年 ____月 ____日 ・発熱: なし・あり(____℃) ・上気道炎 _____ ・下気道炎 _____ その他 { _____ }
	海外渡航歴 (概要) _____ _____ _____

連絡事項

図1. 患者情報用紙(医師記入用)

ンザも共通してA型であるため、臨床医の診断のみならず、流行の様式を解析するわれわれセンター職員にとってもこの結果は重要な情報源となるはずです。そこで、県新型インフルエンザ対策室を通じて迅速診断キットの結果を記載できる患者情報用紙を県下医療機関に配布したのです。

3. 迅速診断キット添付の経緯

平成21年5月16日に神戸市、5月17日に大阪府で相次いで新型インフルエンザの患者が発生する中、奈良県でも日夜検査をこなしてはいましたが、医師が記載した迅速診断キット陽性の患者検体からは一向に新型インフルエンザ陽性が出てきませんでした。そして、センターの遺伝子検査技術に対する不信感がセンター外から聞こえはじめました。このような外部のプレッシャーにかかわらず、遺伝子検査手法の再確認や再検査、遺伝子検査体制の再構築、近隣府県への問い合わせ、近畿圏内の地方衛生研究所健康危機管理協定に基づいて技術協力を求めるなど、考え得ることはすべて行いましたが、当時奈良県では新型インフルエンザは検出されなかったのです。そこで、迅速診断キットで陽性というのはどの程度のものなのか、陽性の実物をわれわれの目で確かめたいと考えました。そして県新型インフルエンザ対策室を通じて県下医療機関に依頼し、5月21日から検体とともに迅速診断キットが添付されるようになりました。

4. 添付された迅速診断キットの種類

添付された迅速診断キットは17種類ありました。商品名が不明でメーカー名を割り出すことができないものもあるため、一覧として写真で示すにとどめました(図2)。県新型インフルエンザ対策室が配布した迅速診断キットは図2のAです。迅速診断キットの多くは目視で判定されますが、判定の精度を保つために光学的リーダーによる数値化が行われたキットもありました。

迅速診断キットの評価については、これまで検体間、キット間、年齢層等、種々報告^{1, 3~7)}されています。原ら¹⁾が実施した詳細な検討によれば、第3病日以内に採取した鼻咽腔吸引液が最も陽性率が高いと報告されています。また「新型インフルエンザ診療ガイドライン(第1版)」²⁾によれば、発症早期では感度が低く、発症後24時間くらいが最も感度が高いとされています。さらに、検体の適否はその種類よりも検体採取者の適切な採取手技の習得次第であるとする報告³⁾もあります。しかし、今回われわれが入手した迅速診断キットは、使用者が特定の医療機関ではなく、検体の種類も咽頭ぬぐい液、鼻汁、鼻咽腔ぬぐい液、気管内分泌液など様々であり、さらに検体を採取した患者の病期も異なっているため、迅速診断キットの性能比較は行いませんでした。

5. 患者情報用紙に記載された迅速診断キットの結果

臨床医が記載した迅速診断キットの結果を、表1に示しました。5月20日まで「陽性」と記

載された22検体はすべて新型インフルエンザ陰性でしたが、そのうち5検体から香港型が検出されました。当初は渡航歴のある発熱患者検体が主に搬入され、遺伝子検査を行っていました。この5名のうち渡航歴のあったのは2名で、渡航先は韓国およびベトナムでした。1名は東京都から奈良への修学旅行生でした。また、この期間には、迅速診断キットで陰性であっても新型インフルエンザが検出されたという報道等もあり、「陰性」だが外国人とすれ違ったという理由で検体が搬入されたこともありました。

迅速診断キットが添付され始めた5月21日から7月24日までの全数把握期間に、「陽性」と記載された178検体のうち、111件が新型インフルエンザ陽性、10件が香港型陽性でした。「陰性」と記載された47検体のうち新型インフルエンザ陽性であったのは1件でした。この患者にはオーストラリアへの渡航歴がありました。奈良県では6月15日に搬入された検体から初めて新型インフルエンザが検出されました。添付された迅速診断キットは、明らかにA+を示していました。この患者に渡航歴はなく、そのほか感染リンクを追うことの全く不可能な例でした。このことは、この時期には新型インフルエンザウイルスが蔓延していたことを示しています。その後6月29日までに新型インフルエンザと遺伝子診断された患者は、入院加療となり連続して2回の遺伝子検査で陰性が確認されなければ退院できなかったため、最長5回まで検査を受けた患者もいました。迅速診断キットの結果の記載がなかった17件にはこれら7件の陽性結果も含まれています。臨床的にはすでに回復したとみられる患者検体が、遺伝子診断では陽性となったことから、遺伝子検査の感度の高さが証明されました。しかし、ヒトに感染させ得るウイルスを放出していたかどうかは不明です。7月25日から8月25日までのクラスターサーベイランス期間に「陽性」と記載された117検体のうち、111件が新型インフルエンザ陽性でした。「陰性」と記載された3検体のうち2件が新型インフルエンザ陽性でした。

8月26日以降、入院重症例の臨床情報を収集する入院サーベイランス期間に「陽性」と記載された372検体のうち、327件が新型インフルエンザ陽性、2件が香港型陽性、1件がRSウイルス陽性でした。RSウイルスはインフルエンザの迅速診断キットに反応しないはずですが、添付されなかったため確認はできていません。「陰性」と記載された48検体のうち20件が新型インフルエンザ陽性、1件がRSウイルス陽性でした。RSウイルスが陽性となった患者はいずれ

表1. 患者情報用紙に記載された迅速診断キットの結果

		陽 性*	陰 性	記載なし	添付数
全数把握期間	H21.4.30 ~ H21.5.20	22 (0+5) 45	45 (0+0)	3 (0+0)	0
	H21.5.21 ~ H21.7.24	178(111+10)	47 (1+0)	17 (9**+0)	178
集団把握期間	H21.7.25 ~ H21.8.25	117 (111+2)	3 (2+0)	1 (1+0)	71
入院重症例把握期間	H21.8.26 ~ H22.3.31	372 (327+0)	48 (20+0)	6 (4+0)	11

()内は新型陽性数+香港型陽性数

*: A(+)/B(+), A(±), A(+)?, 擬陽性の表記を含む

** : 退院を決める検査で陽性となった7件を含む

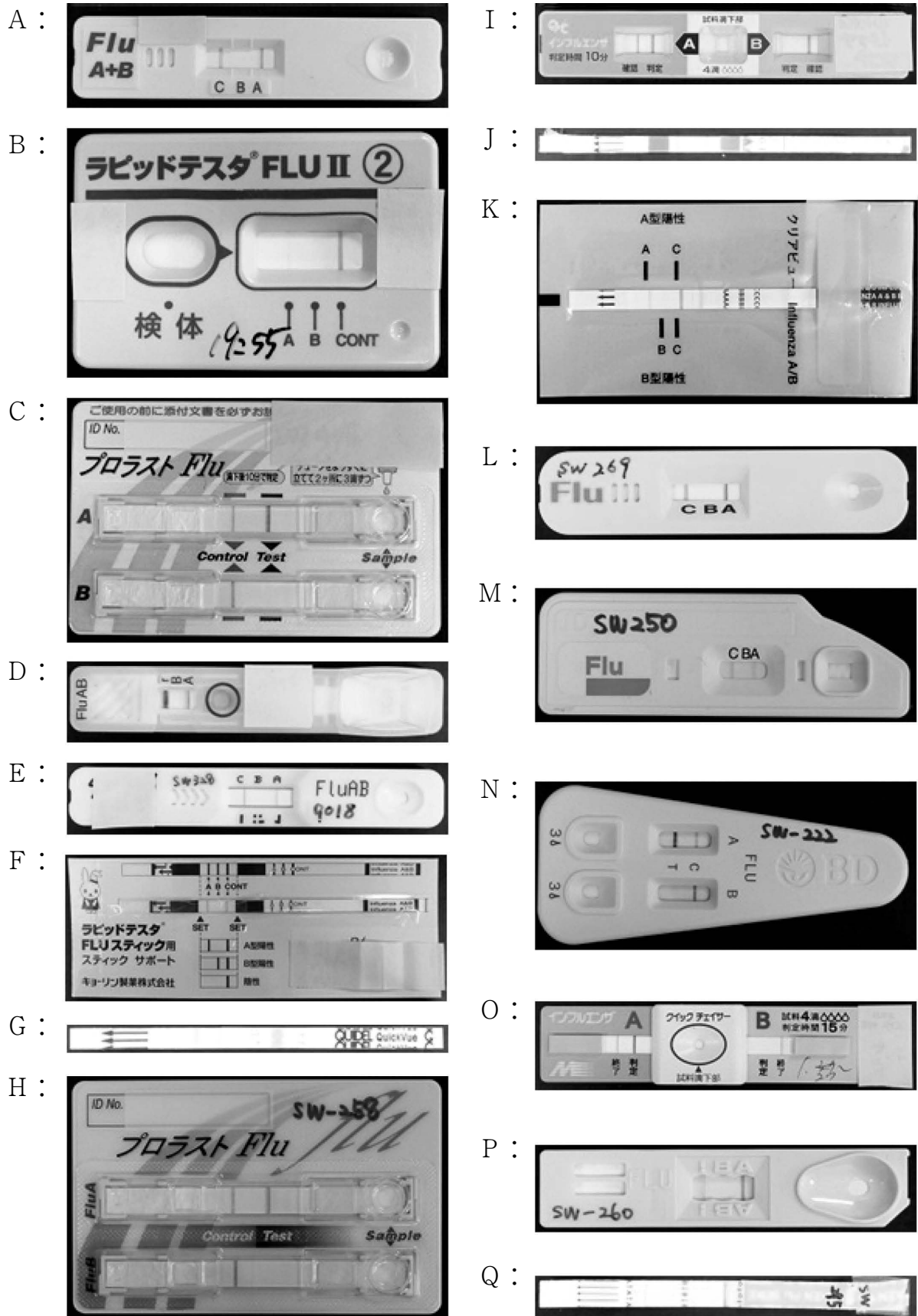


図2. 添付された迅速キット一覧

も2歳の幼児でした。RSウイルスのように下気道炎等をおこしインフルエンザ様の臨床症状を示して重症となる原因ウイルスは、インフルエンザウイルスの他にも種々存在します。この期間は、通常の感染症発生動向調査事業として搬入される中にもインフルエンザ疑いの検体が増え、多数新型インフルエンザを検出し、他の業務をさらに圧迫することになりました。

6. 全数把握期間に添付された迅速診断キットの職員による目視結果

7月24日の全数把握期間が終了するまで、添付されたキットの数は178ありました。この添付された迅速診断キットについて、患者情報用紙に記載された結果と、センター職員が実物を目視で判断した結果の比較を表2に示しました。

本来、迅速診断キットは定められた時間の後に判定するため、臨床医の判断から数時間後の判定はあり得ないことです。しかし、およそ1年を経て乾燥し色調は淡くなっているものの、発色は保持されているため、先入観のない職員の判断は信用できると考えています。また、発色の濃さは判定の基準ではありませんが、まったく発色を認めない場合はマイナス(-)、コントロールよりも淡い場合はweak (W+)、同程度の場合はmedium (M+)、濃い場合はsevere (S+)と表記しました。「陽性」と記載された152件について、職員がマイナスと判定したのは22件でインフルエンザウイルスは検出されませんでした。また「陽性」と記載されたなかで新型でも香港型でもない検体は26件ありました。このなかには図3に示したようなA(+)/B(+)も含まれ、これらは非特異反応によるもので本来積極的に陽性と判定するべきものではありません。しかし、臨床医としては、症状がインフルエンザ様であれば迅速診断キットの結果の如何にかかわらずインフルエンザと診断するのでしょうか。そして、確定診断のために病院の検査室へのオーダーと同じ感覚で当センターに検体を提供したと考えられます。あるいは高熱と咳に苦しみ、新型インフルエンザへの恐怖と不安を訴える患者を前にすれば、抗インフルエンザ薬投与の根拠とするのかもしれませんが。

表2. 添付された迅速診断キットの職員による目視結果(5/21～7/24)

患者情報用紙に記載の表記 職員による目視結果	陽 性	陰 性	記載なし
全く発色を認めず(-)	22 (0+0)	21 (1+0)	1 (1+0)
コントロールよりも淡い発色 (W+)	37 (20+1)	1 (0+0)	2 (0+0)
コントロールと同程度の発色 (M+)	72 (62+3)	0 (0+0)	1 (1+0)
コントロールよりも濃い発色 (S+)	21 (17+1)	0 (0+0)	0 (0+0)
合 計	152 (99+5)	22 (1+0)	4 (2+0)

()内は新型陽性数+香港型陽性数

臨床現場の考え方の一端をうかがい知ることのできた例ではありますが、われわれ検査する立場としては非常に惑わされました。5月20日までに搬入された迅速診断キットの結果「陽性」の中には、このような検体が多く含まれていた可能性が高いと考えられます。一方、「陰性」と記載された22件について、職員がマイナスと判定したのは21件であり、そのうち1件が新型インフルエンザ陽性でした。このことは、誰もがマイナスと判定する検体であっても、遺伝子検査では新型インフルエンザが検出されることがあることを示しています。

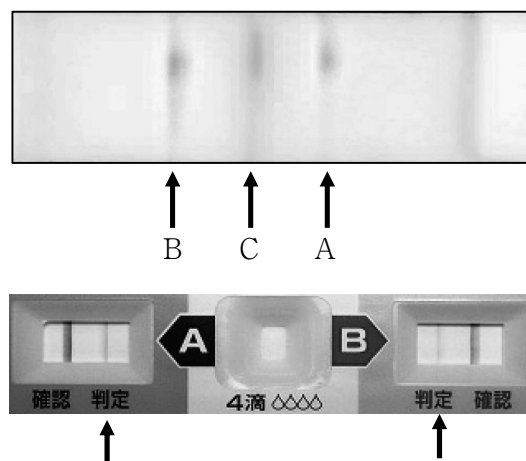


図3. A(+)/B(+)の例

同一患者に対して複数の迅速診断キットを何回も試し、添付されたものも8件ありました。おそらく、通常はそのようなことはしないのですが、日本中が新型インフルエンザウイルスを捕まえるのに躍起となっていたことが背景にあると考えられます。

7. 添付された迅速診断キットの目視結果とリアルタイムPCR結果の比較

平成21年5月21日から平成22年3月31日まで、迅速診断キットが添付された260件について、迅速診断キットの種類別に職員の目視結果とリアルタイムPCR結果の比較を表3に示しました。前述したように、使用者が特定の医療機関ではなく、検体の種類も様々であり、さらに検体を採取された患者の病期も異なっているため、今回の結果では診断キットの性能を単純に比較することはできないと考えています。職員がマイナスと判定した検体からA型インフルエンザウイルスのM1タンパクをコードする遺伝子の増幅を認めたのは21%(10検体/48検体)でした。この結果は、遺伝子検査の感度の高さを証明しています。目視による陽性でA型M1タンパク遺伝子の増幅を認めたのは(W+)、(M+)、(S+)の順に80%(51検体/64検体)、98%(113検体/115検体)、97%(32検体/33検体)とコントロールと同程度以上の発色があった場合に極めて相関性が高くなっています。発色がコントロールより薄い場合は、インフルエンザウイルスの遺伝子が確認できないか、またはインフルエンザではない可能性があることを示しています。また、表には示しませんでした。A型M1タンパク遺伝子陽性に占める新型H1HA遺伝子陽性の割合は、82%(42検体/51検体)、90%(102検体/113検体)、94%(30検体/32検体)で、発色が濃いほど新型インフルエンザである割合が高くなっています。特にDのタイプの迅速診断キットは、Aライン発色の色素がにじみ判定窓全体を覆うような結果を示しているものも多く見られました。これは、ウイルスの特徴というよりは迅速診断キット製品の特徴であると考えられます。

表3. 迅速診断キットとリアルタイムPCR結果の比較

キットの 種類と数	目視による陰性		目視による陽性						
			W+		M+		S+		
	件数	陽性数*	件数	陽性数*	件数	陽性数*	件数	陽性数*	
A	57	24	5	15	12	18	18	0	0
B	1	0	0	1	0	0	0	0	0
C	25	7	2	8	7	9	9	1	1
D	50	1	0	14	12	10	9	25	25
E	19	9	3	1	1	9	9	0	0
F	34	3	0	7	4	24	24	0	0
G	8	2	0	2	1	4	3	0	0
H	6	1	0	2	1	2	2	1	1
I	28	0	0	9	8	17	17	2	2
J	3	0	0	0	0	3	3	0	0
K	7	0	0	1	1	6	6	0	0
L	6	1	0	1	1	2	2	2	2
M	8	0	0	1	1	7	7	0	0
N	5	0	0	2	2	1	1	2**	1
O	1	0	0	0	0	1	1	0	0
P	1	0	0	0	0	1	1	0	0
Q	1	0	0	0	0	1	1	0	0
合計	260	48	10 21%	64	51 80%	115	113 98%	33	32 97%

*：リアルタイムPCRによりA型M1タンパク領域遺伝子の増幅を確認した。

**：内1件はA型M1タンパク領域遺伝子のわずかな増幅を認めたが、当センターの判断基準により陰性とした。

迅速診断キットCの目視による(S+)の検体は、当初RT-PCRで香港型を確認しました。しかし後日実施したリアルタイムPCRでは、A型M1タンパク遺伝子の増幅を認めましたがH3HAの増幅は確認できませんでした。また、迅速診断キットNの目視による(S+)の検体は、A型M1タンパク遺伝子および新型H1HA遺伝子のごくわずかな増幅を認めましたが、当センターの判断基準により陰性としました。いずれもターゲットとする遺伝子が断片化してしまっていると考えられます。

8. 考 察

今回の新型インフルエンザ検査を行うにあたり、迅速診断キットの結果を患者情報として得たことや、迅速診断キットそのものの添付で、遺伝子検査について種々のことを多方面から考えることができました。迅速診断キット陰性の検体から新型インフルエンザが検出されたことは、検体の種類（咽頭ぬぐい液、鼻汁、鼻咽腔ぬぐい液、気管内分泌液等）による検出率の差、患者の病期、測定原理の違いなどにより、必ずしも同一の結果が得られるものではないということが推定されました。また、迅速診断キット陽性の検体からインフルエンザウイルス由来の遺伝子が検出されないことは、インフルエンザ様症状を示す疾患がインフルエンザウイルスによるとは限らないということ、また感染のごく初期にはターゲットとする遺

伝子部位が検体に含まれない可能性も考えられました。所詮、迅速診断キットは簡易検査であります。その特性をよく理解して臨床現場での用いられ方にも留意し、詳細な遺伝子検査のための付帯情報として位置づけるのが妥当でしょう。情報量が多いに超したことはありませんが、それらがどのような局面で得られたのかを冷静に判断して精選し、いたずらに振り回されないようにすることが重要です。そういう意味では、われわれはあまりにも臨床医の診断に頼りすぎた感があります。また、遺伝子検査結果が迅速診断キットの結果と異なった場合には、臨床医が迅速診断キットに用いた検液と提出された臨床検体は別物であるという観点も必要であると考えています。

参考文献

- 1) 原三千丸, 他: 感染症学雑誌, 78, 11, 935-942(2004)
- 2) 「新型インフルエンザ 診療ガイドライン(第1版)」:(社)日本感染症学会・新型インフルエンザ対策委員会・診療ガイドラインワーキンググループ編, 平成21年9月15日
- 3) 庄司眞, 他: 感染症学雑誌, **83**, 1, 19-25(2006)
- 4) 徳野治, 他: 感染症学雑誌, **83**, 5, 525-533(2006)
- 5) 原三千丸, 他: 感染症学雑誌, **80**, 5, 522-526(2006)
- 6) Gavin PJ., et al: *Clin. Appl. Immunol. Rev.* **4**, 151-172(2004)
- 7) WHO: Annex 1. Commercially available influenza rapid diagnostic tests. In WHO recommendations on the use of rapid testing for influenza diagnosis. July 2005

新型インフルエンザの患者流行疫学およびオセルタミビル耐性ウイルス

ウイルス・細菌担当 統括主任研究員

北堀 吉映

はじめに

2009年4月北米で豚に由来する新型インフルエンザが確認され、またたくまに世界に広がりました。県内でも患者は早期では10代の若者を中心に、その後は10代未満に拡大していきました。本稿では、新型インフルエンザ患者の流行疫学について取りまとめたので報告します。

1. 新型インフルエンザの患者流行疫学

研究センターで陽性確認を行った症例数は、全数把握期間112例、クラスターサーベイランス117例、入院サーベイランス317例でした。近畿地区から始まった感染拡大は、概ね6月末をピークとし、その後減少に転じ、再度10月初旬から急激に流行拡大し全国的な流行となり、明らかな二峰性の流行を形成しました。今回、県内で確認した感染者の年齢分布について10代および10代未満に注目し、患者疫学およびオセルタミビル耐性ウイルス検索を含むウイルス性状調査を行いました。

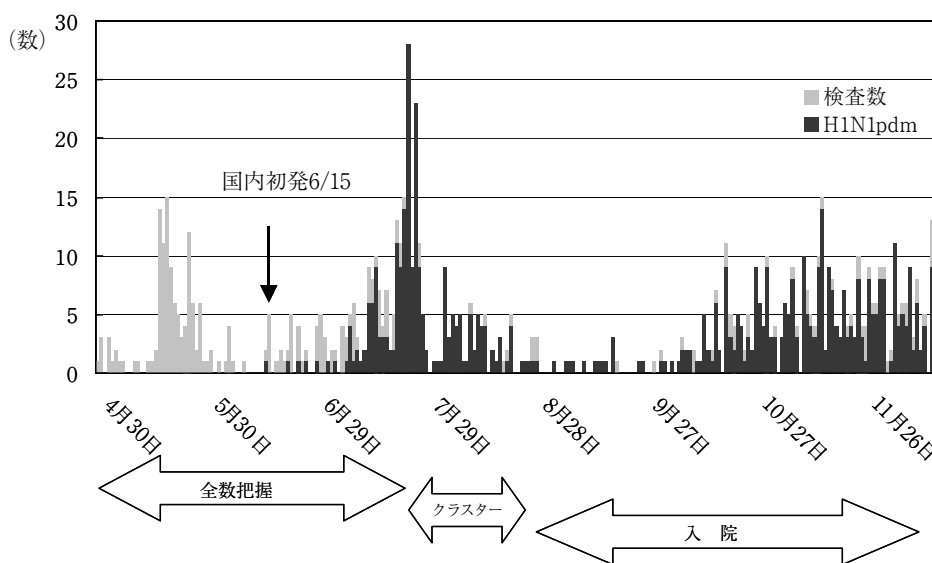


図1. 奈良県での遺伝子検査および陽性確認患者の推移

1) 全期間を通じての患者年齢分布

5月初旬から7月24日までの全数把握期間に確認された112例の患者の年齢分布を表1、上段に示した。感染者の分布は、10歳代が53例47.3%、20歳代が32例28.6%、30歳代が9例8.0%と続き、中年から老年層と年齢が増すごとに感染率は明らかに低く、好発年齢層は10代から20代であった。また、クラスターサーベイランス(表1、中段)(7月25日から8月25日)で確認された117例で最も多数を占めた年代層は、10代で85例72.6%と全数把握期と同様な傾向で

表1. 奈良県の新型インフルエンザ感染確認患者の年齢分布

全数把握検査 (5月初旬から7月24日)

世代	10歳未満	10代	20代	30代	40代	50代	60代以上	n
数	5	53	32	9	8	2	3	112
%	4.5	47.3	28.6	8	7.1	1.8	2.7	

クラスターサーベイランス検査 (7月25日から8月25日)

世代	10歳未満	10代	20代	30代	40代	50代	60代以上	n
数	15	85	7	4	1	1	3	117
%	12.8	72.6	0.9	3.4	0.9	0.9	2.6	

入院サーベイランス検査 (8月26日から12月14日)

世代	10歳未満	10代	20代	30代	40代	50代	60代以上	n
数	202	80	10	4	5	2	14	317
%	63.7	25.2	3.2	0.3	1.6	0.3	4.4	

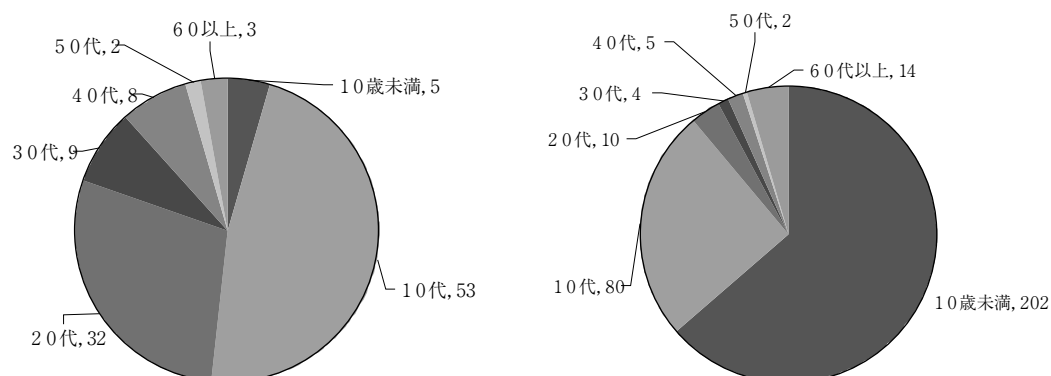


図2. 全数把握期間の患者年齢分布 (左)、入院サーベイランス患者年齢分布 (右)

あったが、20歳代は明らかに減少し7例0.9%で、30歳代以上の年齢層においても一様にさらに減少傾向が観察された。しかし、全数把握時には見られなかった10歳未満の増加傾向が見られた。この傾向は、入院サーベイランス (表1、下段) (8月26日から12月14日) 期間の患者で堅調に観察され、63.7% (202例) の感染者が10歳未満であった。図2は明らかに主たる感染者年齢分布に差がみられた、全数把握期間と入院サーベイランス期間での各年齢層での感染者比率を示すもので初期は10代、20代が主なものであったが、入院サーベイランス期間での患者は10代未満が半数以上を占めていた。

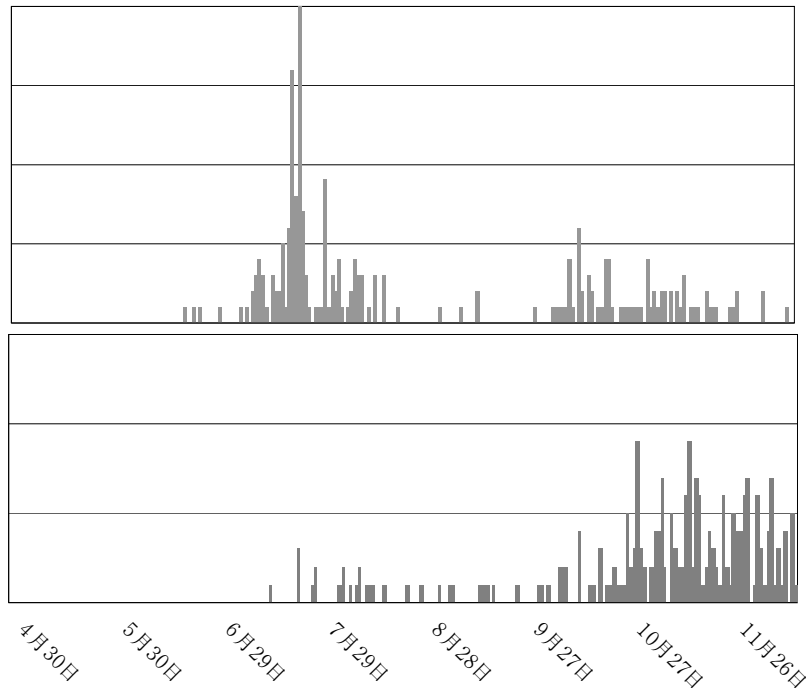


図 3. 全期間を通じての年齢別患者発生推移（上：10 歳代、下：10 歳未満）

2) 全数把握期間と入院サーベイランス期間の患者年齢比較

図 3 では県内で確認された全期間を通じての患者発生を示すもので、上段が10歳代、下段が10歳未満の患者発生推移を示したもので、10歳代では初期に明らかに多くみられたが10歳未満ではおおよそ10月以降の二峰に集中しているのが観察された。

2. ヘマグルチニン領域の遺伝子配列解析

流行の主体が10歳代と10歳未満とでは明らかに異なったことから、ヘマグルチニン領域 (HA1) の遺伝子変化を予測しそれらの解析を行った。解析方法は感染研が示したH1F1とH1R1プライマーで遺伝子増幅を行い、その後に産物の配列判読を行った。10歳代から5

Nara/sw519/2009	ACTCTCCACAGCAAGCTCATGGTCCTA
Nara/sw546/2009	ACTCTCCACAGCAAGCTCATGGTCCTA
Nara/sw238/2009	ACTCTCCACAGCAAGCTCATGGTCCTA
Nara/sw519/2009	CATTGTGGAAACATCTAGTTCAGACAATGGAACGTGTTACCCAGGAGATTTTCATCGATTA
Nara/sw546/2009	CATTGTGGAAACATCTAGTTCAGACAATGGAACGTGTTACCCAGGAGATTTTCATCGATTA
Nara/sw238/2009	CATTGTGGAAACATCTAGTTCAGACAATGGAACGTGTTACCCAGGAGATTTTCATCGATTA
Nara/sw519/2009	TGAGGAGCTAAGAGAGCAATTGAGCTCAGTGTTCATCATTTGAAAGATTTGAGATATTCCTC
Nara/sw546/2009	TGAGGAGCTAAGAGAGCAATTGAGCTCAGTGTTCATCATTTGAAAGATTTGAGATATTCCTC
Nara/sw238/2009	TGAGGAGCTAAGAGAGCAATTGAGCTCAGTGTTCATCATTTGAAAGATTTGAGATATTCCTC
Nara/sw519/2009	CAAGACAAGTTTCATGGCCCAATCATGACTCGAACAAGGTTGTAACGGCAGCATGTCCTCA
Nara/sw546/2009	CAAGACAAGTTTCATGGCCCAATCATGACTCGAACAAGGTTGTAACGGCAGCATGTCCTCA
Nara/sw238/2009	CAAGACAAGTTTCATGGCCCAATCATGACTCGAACAAGGTTGTAACGGCAGCATGTCCTCA
Nara/sw519/2009	TGCTGGAGCAAAAAGCTTCTACAAAAATTTAATATGGCTAGTTAAAAAGGAAATTCATA
Nara/sw546/2009	TGCTGGAGCAAAAAGCTTCTACAAAAATTTAATATGGCTAGTTAAAAAGGAAATTCATA
Nara/sw238/2009	TGCTGGAGCAAAAAGCTTCTACAAAAATTTAATATGGCTAGTTAAAAAGGAAATTCATA
Nara/sw519/2009	CCCAAAGATCAGC
Nara/sw546/2009	CCCAAAGATCAGC
Nara/sw238/2009	CCCAAAGATCAGC

図 4. HA1 遺伝子領域の遺伝子配列変化

株、10歳未満から3株を解析し結果は図4に示した。10歳代のNara/sw238/2009株と比較し、10歳未満（Nara/sw519/2009、Nara/sw546/2009）では2箇所の特突然変異（AGG→AGA、GGT→GGC）が観察されたが、アミノ酸置換を伴う変化ではなかった。しかし、10歳代の5株は全てが検索した領域で同一配列であったが、10歳未満から解析された株では3株すべてで変異が認められ流行の初期と入院サーベイランス期のウイルスでは軽度ながら変化が生じていることを示唆させる結果であった。

3. 抗ウイルス薬（オセルタミビル）耐性株の検索

オセルタミビル薬剤耐性の有無は、流行の拡大阻止ならびに予防対策の上その情報は極めて重要なことである。日々の、ウイルス検査を実施するなかで、流行の早期、クラスターサーベイランス期および入院サーベイランス期のなかから無作為で抽出した検体から、既に国立感染症研究所が提示するNA領域の遺伝子増幅(NIID-sw H1-conv.F1/R1)を行い、その後シーケンスで配列判読を行い解析した。また、新たな耐性株解析法として秋田県健康環境センター齊藤博之氏が考案したりガーゼ反応による一塩基変異を特異的に解析できるLigase Chain Reaction法による解析も同時に行った。現在、643例（シーケンス：47例、LCR法：596例）の解析が終了し、その中で2例のオセルタミビル耐性を示す275位のCACからTACへの変異を認めた（図5）。図5で示した平成22年1月14日に耐性である確認ができた症例は、平成21年11月26日に発熱、上下気道炎を発症し近隣の診療所を受診し、迅速診断検査A型陽性を受けタミフルを処方された生駒市在住の5歳男子であった（報道発表は2月3日）。ウイルスの遺伝子学的解析はBLASTからA/Nagasaki/HA-58/2009、A/Tokushima/2/2009株と極めて高い相同性が確認された。

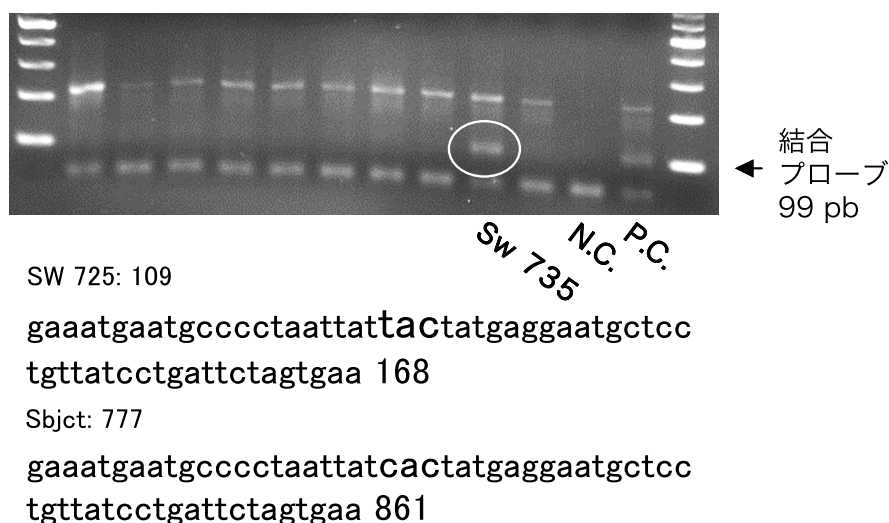


図5. LCR 解析およびオセルタミビル耐性遺伝子配列

4. ウイルス性状解析からみた新型インフルエンザ

流行の初期と入院サーベイランス期における患者年齢層は明らかに異なり、初期は10歳代、入院サーベイランス期では10歳未満と興味ある結果であった。その結果を受け、ウイルスのHA1領域を比較することで、新型インフルエンザのウイルス性状を解析を試みた。標的としたヘマグルチニン蛋白は感染に関与する領域で、今回の解析はその一部であるがわずかな遺伝子変異を確認した。しかし、いずれの遺伝子変異もアミノ酸置換を伴うものではなかったが変異が入院サーベイランス患者から観察されたことは重要と考えている。

更に、極めて重要である抗インフルエンザ薬耐性の存在および頻度について解析したところ、凡そ全期間を通して発生した新型インフルエンザ約650例を検索し2例の耐性株を見出した。頻度としては決して高いものではなく懸念すべきものではないものと考えているが、来シーズンの動向を含め、地方衛生研究所が行うべき社会的役割として、ウイルス性状サーベイランスを強化し、ウイルス変異および薬剤耐性などの健康管理に即した疫学情報を、感染症情報センターを通じて積極的に医療機関、県民等に広く開示が重要と考えている。

新型インフルエンザパンデミック初期における検査態勢構築

ウイルスチーム 主任研究員
井上ゆみ子

2009年の新型インフルエンザ大流行において、ウイルスチームは総力をあげて検査に取り組みました。この流行は、準備を進めていた「高病原性鳥インフルエンザ (H5N1)」ではない豚由来のH1N1型によるもので、最初は検査方法やウイルス性状(病原性、感染力など)も不明で、ただ広がりを見守るしかありませんでした。

4月29日深夜から30日早朝にかけて、最初の検体が搬入されました。ここから、パンデミックに対応した特別検査態勢がスタートしたのです。4月30日には国立感染症研究所から検査マニュアルが提示され、5月1日から5日かけて必要なプライマー、プローブおよび試薬類が次々と届きました。その間にも県下の保健所から続々と疑い例の検体が搬入され、効率化のための工夫を施しました。まず、廊下に専用受付台を設置し、受付台帳への記載、ファイル整理をできるようにしました。また、ホワイトボードにリストを記載し、受付・前処理・検査実施・結果・報告までの進捗状況を共有できるようにしました。さらに、病原体取り扱い「感染防護衣を強化したBSL2とする」という文書が出されたことから、高度安全実験室 (P3) を稼働し、検体前処理に利用しました。実際の検査は、マニュアルが示されたとはいえ試行錯誤が伴います。当初、コンベンショナルRT-PCR法で行いましたが、高感度の新試薬を使うためコンタミネーション防止が大きな問題で、試薬や消耗品類を汚染しないよう取り扱い方法を見直しました。やがて、臨時の増員もなされ本格的に新型インフルエンザ検査態勢が構築されることになりました。検査に関わった全員が休日も返上で深夜におよぶ作業を連日こなうなかで、コンタミネーション防止、作業員の作業分業化、リアルタイムPCR検査系の構築、受付から報告までの情報伝達ルートの明確化、などが徐々に整理されていきました。

このような状況の6月1日から7ヶ月間、私は出産・育児の休暇で職場を離れ、最も大量に検査が実施された嵐のような時期を経験することがありませんでした。翌年の平成22年1月、復帰して目にしたウイルスチームはまるで別のラボの感がありました。リアルタイムPCRをはじめ多くの検査機器が導入され、検査業務全体がより洗練された形で実施されるようになっています。このパンデミック期間を切り抜けたことで、ウイルス・細菌担当は試験検査機関としての力量に確固たる自信を得たように感じました。不在であった私も、このように高度に洗練された検査技術と微生物検査の心構えをあらためて学ぶことができました。

最後になりましたが、パンデミック初期段階において身重の私に対して深夜勤務の免除など、特別な配慮をいただいたことに心から感謝しています。また、育児をしながら仕事を続けることへのご理解にもお礼を申し上げたいと思います。

新型インフルエンザの検査業務に従事して

研究センター日々雇用職員

荒井由香理

2009年6月1日より産休職員代替として奈良県保健環境研究センターにお世話になることとなりました。丁度その頃、新型インフルエンザが関西でも発生した頃でした。そうした中で新型インフルエンザ検査に携わる事になるのですが、その中で私が感じたことについて書いてみたいと思います。

当初、自分が何をするのか全く分からない状況でした。次第に、自分のおかれた状況、チームの仕事内容が漠然と見えてきました。ここは、今世間で騒がれている、新型インフルエンザ検査を業務とする部署であり、ウイルスチームはまさにその中心であるということでした。が、ウイルス学についてあまり知識のなかった私に、今すぐ出来る業務は多くはありませんでした。そして、他機関からの応援の方が、一人、また一人と本務に戻って行き、7月中旬を過ぎるころになると、ウイルスチームとしての職員は4名：総括、正職員2名（内1名産休中）そして私しかいない状況となりました。そのころは一日に数件程度のサンプル数でしたが、随時迅速な対応の検査を実施していたため、まさに一日中新型インフルエンザの検査に追われる日々でした。特に正職員の方々は、連日連夜の超過勤務・土日、休日、夜間の緊急呼び出しに追われていた日々で、そばにいる私は、皆さんの体が心配でなりません。そんな日々の中で、次第に、私でも出来ることから新型インフルエンザの検査に参加させて頂きました。諸先輩方に一から作業を教えていただきながら、6月中旬には前処理済みの検体からRNA抽出に始まり、6月下旬にはRT-PCR法の試薬調製、さらに7月上旬にはリアルタイムPCR法の試薬調製と次々と新しいことに挑戦させて頂きました。7月下旬以降は、新型インフルエンザ検体の前処理取等が、高度安全実験室から通常の実験室へと移るのと前後し、日々、保環研に搬入される検体数が増加していきました。検体受付を待つ保健所の方々が、列をなしていた様子が思い出されます。同じ時期に、ウイルスチームに待望のリアルタイム測定機器が設置されました。それまでは階下の別担当の測定器で行っていましたが、同じ部屋に測定器械が入り、作業効率は少し改善されました。またその頃には、新型インフルエンザの検査報告日が、火曜日と金曜日の午後3時となったため、日々の検査については幾分コントロールが出来るようになっていましたが、たびたび緊急検査の対応におわれました。たった今、リアルタイムPCR機械に検体を入れ、反応・測定を開始したというところで新たに検査依頼が入ることも、数回ではありませんでした。一日に何度も試薬調製作業をした記憶があります。またこの頃は、一日に数十検体のRNA抽出作業も全て手作業で行っていました。いずれの作業も、刻一刻と検査状況が変化していく中での対応でした。そんな中でも、検査精度は保ち続けなければなりません。作業は常に、精密・正確さを求められます。私自身、緊張の連続でした。外部との連絡に追われながら、検査作業・指揮をしていた総括はい

かに大変であったかとそばにいて思いました。検査をしながら、検体の情報整理、健康増進課、各保健所（1月より報告は新型インフルエンザ対策室へ一本化）へ結果報告用紙作成の作業にあたりました。

この新型インフルエンザの検査に追われる日々が落ち着いてきたのは、年が明けてからのことです。世間が新型インフルエンザで騒がなくなってから、随分後のことでした。新型インフルエンザの検査自体は減少しましたが、新型陽性と確認された検体の詳細についてのNESID（国立感染症研究所、感染症情報センター）への入力、タミフル耐性株の検索、新型インフルエンザ陽性株の分離とチームで取り組む課題は、手つかずのまま山積していました。事務作業の多さにいかに当時検査数が膨大であったか思い知らされました。各医療機関から提出された、迅速キットの分類・整理作業も大変でした。迅速キットが多種・多様であったからです。また、新型インフルエンザの検査と共に、通常の病原体定点医療機関から提出される検体についても、検査をしなければならなかったことも業務量の増大の一因でした。

少し時がたち今思うに、2009新型インフルエンザの検査に従事できたことは、私にとって非常に貴重な経験でした。諸先輩方に親切丁寧に教えていただいたこと、チーム一丸となってこの状況を乗り越えたことは、今ではいい思い出です。未熟な私にも検査業務にあたらせてくれた、統括をはじめ総括、各職員の方に感謝の気持ちで一杯です。今回の経験を今後の社会人としての仕事の上でも生かせるように、日々努力し続けたいと思います。

新型インフルエンザと総務課

総務課 課長

山岡 清

新型インフルエンザの到来

- ・平成21年4月22日、メキシコで新型インフルエンザ感染者の発生が報じられ、国内及び県内での感染患者の発生が強く危惧されたことから、本県においては大型連休を前にした4月26日（日曜日）、電話相談窓口が設置され、連休明けの5月7日には発熱相談センター設置により24時間の対応とされた。
- ・5月16日、神戸市で国内の感染者が発見されたのを最初に、以後大阪府、滋賀県、京都府、和歌山県と、5月中には本県を取り巻く近畿地方で感染者が発見され、本県での感染者の発生が懸念され、当センターではセンター全体が強い緊迫感に包まれるなかで、検査担当部門のウイルス・細菌担当では昼夜分かたず検査に忙殺されていた。
- ・6月15日、県内最初の感染者が確認され、以後10月23日に注意報発令、12月3日には警報発令に至り、新型インフルエンザが奈良県内で猛威を奮うこととなった。

その間、検体検査については検査部門であるウイルス・細菌担当で行っているが、管理部門である総務課においても少なからず関わりがあったことから、以下それらについて振り返って見ることにする。

1. 新型インフルエンザと総務課

当センター総務課では、庁舎管理業務、職員の健康管理、人事関係、予算関係、給与手当関係及び職員勤務関係を所管している。またその他に奈良県公衆衛生協議会事務局として第30回奈良県公衆衛生学会の開催事務、平成21年度においては第60回地方衛生研究所全国協議会総会の開催県事務も担当していた。

2. 庁舎管理業務について

庁舎管理業務としては、庁舎建物、設備の維持管理のほか来客受付、電話受付業務も担っている。通常執務時間内については特に問題ないものの、当センターでは時間外警備は機械警備システムとしており、宿日直要員はいないことから、時間外・閉庁日に保健所等から連絡が入っても対応できず、その対応が課題となった。

5月の大型連休を目前に控えて、国では4月25日（土曜日）、奈良県では4月26日（日曜日）より、午前9時から午後9時までの電話相談窓口が設置されることとされたことから、これに即応して時間外及び閉庁日の受付体制は次のとおりとした。

○新型インフルエンザ専用の緊急連絡網を作成、
ウイルス・細菌担当の統括主任研究員を筆頭に複数の連絡先を設定
時間外及び閉庁日の連絡は、これによることを原則とし、本庁関係課及び各保健所へ
周知を図った。

○時間外及び閉庁日は、総務課職員が交代で勤務
原則として午後6時まで居残ることとし、以後は状況に応じて延長勤務

時間外及び閉庁日の総務課職員の出勤は、緊急連絡網があるため本来不要となるはずであるが、連絡先担当者（検査部門責任者等）が対応に追われ遅くまで勤務していることが常であり、また連絡元が即応性を求めて当センターあて連絡してくることが往々にしてあり、結果としては有効であった。

5月7日、県で発熱相談センター設置、24時間対応とされたことから、当センターでも引続き上記体制とし、6月一杯までこの体制を継続した。7月以降については用務の有無により弾力的な対応とした。4月から6月の総務課職員3名の退庁時刻は、午後10時以降2回、午後8時以降8回、午後6時以降38回となっている。（総務事務システムの退庁データのとりまとめ結果による）

3. 職員の健康管理

当センターは健康被害危機管理の対応機関であるが、職員自身が感染する可能性についても懸念された。このため感染防止用のマスクの配布及び消毒用薬剤の設置を早期の段階で行った。幸いにして職員の感染者は発生しなかった。

4. 予算関係

新型インフルエンザにかかる予算関係では、未明帰宅者のための深夜タクシー利用に係る予算の捻出、超過勤務手当予算の枯渇、検査件数の増加に伴う検査試薬・薬品の物品購入及び支払い事務の激増、また高度安全実験室の常時稼働、勤務の長時間化に伴って電気料金も多額の支払いとなった。

新型インフルエンザ流行の初期においては、流行の拡散防止のため即日判定としていたため、検体持ち込み時刻が夕刻、夜半の場合には判定が未明に至ることも度々あり、また日中搬入分の処理に追われるとともに、新型インフルエンザ以外の検査業務も例年同様であったことから、担当検査部門のウイルスチーム担当者らは恒常的に超過勤務となり、勤務明けが深夜または未明近くとなることが度々となった。職員の過重労働が懸念されるとともに、超過勤務手当予算の不足が現実のこととなった。

超過勤務手当及び休日勤務手当については、4時間以上の超過勤務の場合、職員の休息時間確保の観点から原則として振替休としていたのであるが、業務多忙が極まってく状況で振替休日の確保自体が不可能な事態となっていたため、超過勤務手当等の支給により対応することとしたが、本課からの配当割り当て分は、12月には枯渇寸前となった。本課から1回目の追加配当が行われ当面凌ぐことはできたが、年明けには更に不足が見込まれる事態となったことから再度の追加配当を要請した。

新型インフルエンザによる検査担当者の超過勤務手当等支給は、振替休暇によって対応した分を除き、4月9時間、5月271時間、6月160時間、7月61時間、8月14時間、9月2時間となっている。

なお上記時間数は、新型インフルエンザ以外の検査による超過勤務は含まれていない。またウイルス・細菌担当統括主任研究員の超過勤務については役付職員につき超過勤務手当支給対象外のため算定されていない。

深夜タクシーの利用については、新型インフルエンザ流行の蔓延に伴い職員の退庁時刻が公共交通機関の最終以後となることが度々となったため、担当職員の私用車通勤についても弾力的に認めていたものであるが、しかし連日の長時間勤務で、特に検査終了時刻が深夜、未明の場合には、過労運転やそれに伴う事故も危惧されたことから、奈良県では近年、事例がほぼ皆無となっているタクシー借上げを予算工面のうえ実行した。検査担当者の最終退庁時刻は、24時以降が6回、うち26時50分台が3回となっている。

その他、予算の執行関係では、新型インフルエンザ蔓延による検査件数の増大に伴い、使用する検査用試薬や消耗品の消費量が増大するとともに、検査用機器の整備も予算措置された。これらに伴い総務課所管事務として、物品購入処理、支払い事務にかかる事務量が膨大となった。検査用も含めた全体の消耗品関係は、前年度626件、19,660千円の規模であるが、平成21年度は745件、29,710千円で、件数比19%増、金額比51%増となった。総務課支払事務担当者はその処理に忙殺された。

5. 人事関係

担当職員の増強としては、当初はウイルスチーム職員のみで対応していたが、程なく細菌チーム職員も兼務としたが、他の案件も発生していてウイルス・細菌担当全体が多忙となっていたため、短期間ではあるが他所属から応援職員の派遣が得られた。これにより新型インフルエンザ検査は、ウイルス・細菌担当と他所属からの応援要員により対処されることとなったが、センター内の他の担当部門との連携にまでは至っておらず、センター内部での応援態勢構築が、検査受付、検査結果のとりまとめ等事務処理の対応と併せて今後

の課題と考えられる。

6. 第60回地方衛生研究所全国協議会総会と第30回奈良県公衆衛生学会

他平成21年度は、第68回日本公衆衛生学会が奈良県で開催され、その関連行事として第60回全国地方衛生研究所全国協議会総会が開催された。後者は当センターが開催地事務局として会場設営、進行その他開催地事務を担当することとされていたものであるが、4月、5月時点では、開催時期の10月20日頃の新型インフルエンザ流行状況の予測が困難で、また流行予防の観点から多人数が集まる会合等は控えるようアナウンスされていたこともあり、開催中止も想定されたことから、動けない状態となっていた。

その後、日本公衆衛生学会が会合中止の可能性も想定したうえで動き出したことから、同総会も同様のスタンスで進めることとしたが、従前よりも遅いスタートとなったため事務処理上非常にタイトな運びとなった。なお県内では会議を目前に控えた第42週（10月12日～18日）の1定点当たり患者報告数が10を超え、注意報が発令されることとなったが、そのような中で総会は無事開催することが出来た。

奈良県公衆衛生学会については、例年、11月第3木曜日開催と日程設定されているが、平成21年度については上記第60回地方衛生研究所全国協議会総会との関係で12月3日とされていたものであるが、種々検討のうえ挙行することとされ、12月3日には警報が発令されていたが、同学会は順調に開催することができた。

まとめ

新型インフルエンザについては、日本及び世界的には終息傾向となっているが、今なお流行が続いている国もあり、また新たな健康被害危機管理事態もあり得ることでもあり、今後に向けて当センターとしては事前に組織だった体制構築の必要性を痛感した。

人的支援者からみた新型インフルエンザ検査対応

細菌チーム 総括研究員
橋田みさを

当時、私は食品細菌検査の業務に携わっていました。この年度に限って二人体制から一人体制になっていたため、収去検査、及び依頼検査のみならず、行政苦情検査や食中毒時の食品検査もこなしていかなければならず余裕のない日々でした。

ウイルスチーム、細菌チームは同じフロアーに位置していますが、食品細菌の部屋はウイルスの部屋からは一番離れていましたので、新型インフルエンザで世間がにぎやかになるまでは、ウイルスメンバーの顔を見ることもないような生活でした。神戸で、最初の患者発生が伝えられて以来、ウイルスチームは、昼夜を問わない忙しさとなり、統括、総括、係員全員が険しい顔でウイルス検査室と高度安全実験室を行ったり来たりするようになりました。当初は、検査方法も確立していなかった様子で、連日コンタミなどに悩まされ大変そうでした。

急遽応援態勢が生まれ、細菌チームから水質細菌担当者が1名、他所の部局から2名、奈良市から1名が配属され検査されていました。検査の試行錯誤の結果、コンタミを回避するため、私が常勤している部屋のクリーンベンチ内でリアルタイムPCR用の試薬調整及び分注等をするようになりましたが、ピペット等の備品調達も間に合わず、細菌チームで使用中のものを共有し、クリーンベンチ内の仕事が重なる日などは、両方で時間調整して協力しました。

検査体制が軌道に乗っても、全数検査であるため相変わらず忙しそうでした。それにもかかわらず、所外からの応援態勢が打ち切られたため、私と病原細菌検査担当者にも所長から、7月16日付けでウイルスチームへの兼務辞令が下りました。同じ部屋で作業が出来る試薬の調整などが私に課せられた仕事で、本来の仕事の合間に作業を行いました。

その後、全数検査でなくなり徐々に検査も減り落ち着いていったのですが、後から聞くところに寄りますと、他の地研では奈良市を始め、神戸市でも収去等の行政検査はストップして、全所あげてインフルエンザ検査対応に専念したとのこと。当所においても、ある程度緊急性のない業務を制限する体制が取れていれば、所内のメンバーだけでも対応が可能だったのではないかと思います。いずれにせよ、この経験を教訓にして、今後突発的な緊急事態が発生しても、迅速に対応できるような体制作りが必要かと思いました。

最後に新型インフルエンザに係わったウイルスチームをはじめ多くの皆さん、本当にご苦労様でした。

人的支援者からみた新型インフルエンザ検査対応

細菌チーム 主任研究員

榮井 毅

新型インフルエンザの検査対応は当然ウイルスチームが中心となったが、同じ微生物部門である細菌チームの一員として、最初に支援参加することとなった。特に自分の場合、食品検査ではあるがリアルタイムPCR検査の経験があること、コンベンショナルPCRに慣れていること、その年度に担当していたルーチン業務は計画的な仕事でかつ業務量も多くないことなど、条件が揃っていたためと考えられる。

初動期には、昼夜を問わない無秩序な緊急検査要請によって、検査の現場は特に大きな混乱に見舞われていたが、リアルタイムPCRへの対応の遅れも、対応を難しくする要因であったと思われる。当初の検査はRT-PCRにより行われていた。増幅反応開始までの手間はどちらのPCRもほぼ同じであるが、その後は機械任せにできるリアルタイムPCRに比べ、RT-PCRは泳動ゲル作製、電気泳動、泳動後の撮影等、ずっと人手を煩わすことになり、終始人手不足に悩まされている現場の負担を大きくした。また、プローブが入ることによる特異性の向上と、蛍光検出による高感度が一般に言われており、コスト高にはなるものの、結果の信頼性からも望ましい手法である。リアルタイムPCRによる検査体制を整備することを、支援者である自分が志願するまで、誰も着手できなかったことは当時驚きであったが、それだけ追い詰められた状況であったと察している。もう少し早い段階で、支援要請とリアルタイムPCRの着手が行われていれば、困難な状況は多少緩和された可能性がある。

当初感染研プロトコルの細部をいくつか改変して検査を実施していたことも問題であった。食品検査等において、GLP遵守し、公定法に則った検査が当然と考える細菌チームの一員として、相関性データも確認せず、経験的感覚に頼ったアレンジの仕方は、納得しがたいものであった。特に、今回の新型インフルエンザ検査に関しては、当初感染研が最終確定診断を行うとしていたものが、その後各地で疑い事例が頻発する状況に押し切られる形で、地研による検査に委ねられたという経緯があり、感染研としては地研に同じ水準の検査を要求していた。つまり、プロトコルに忠実な検査が当然なされているという認識である。この問題は、その年度の人事異動で転入してきた、新任ではあるが賢明なチームリーダーにより、幸いにも早期に是正された。

リアルタイムPCRによる検査体制を整備する上で、一番問題になったのはコンタミネーションの問題である。細菌検査に携わる我々が扱うのは、同じ遺伝子といってもDNAである。遺伝子組換え食品検査も対象はDNAであり、RNAを扱うことは自分にとってほぼ初めてのことであった。RNAは逆転写酵素でDNAに変換し、後は通常のDNAの扱いという認識であったが、実際には予想だにしていなかった事態に悩まされることとなった。

作業者は手袋とマスクを着用し、フィルター・チップを使用して、その他通常のコタミネーション防止の措置を行っていたにも関わらず、トラブルが発生した。初めは、検出限界付近の高

サイクル数で増幅がみられる程度であったが、そのうち一番高濃度の陽性対照と同じサイクル数で増幅するようになり困惑した。再検を繰り返すごとに「陽性」となる検体が増え、最後にはブランクまで明確な「陽性」になった。コンタミネーションによる擬陽性であることが明らかになり、試薬自体が汚染されていることが懸念された。この頃、RT-PCRでも擬陽性と思われるバンドの出現があった様子である。汚染源は、ピペットであるか作業環境であるか特定できなかった。

この窮地を救ったのは、農業総合センターからの応援要員である北條氏であった。彼の指導・助言のもと、徹底してRNAコンタミネーション対策が行われた。汚染が疑われる試薬は全て新調し、ピペットは汚染の恐れのないものか新規に購入したものに入れ換え、反応液調製からブランク添加までの作業場所と、サンプル添加の作業場所と、陽性対照添加の作業場所は、3箇所明確に分け、それぞれ別の安全キャビネット（クリーンベンチ）で行うこととした。ウイルスチームのエリアでは足りず、細菌チームのエリアを容赦なく借りた。ピペットや作業エリアは作業前、作業後に次亜塩素酸で清拭し、核酸の除去に努めた。

同じリアルタイムPCRを使った遺伝子組み換え食品の検査では、もっとラフな扱いしているにもかかわらず、このような問題が生じたことは一度もなかった。この感覚が、問題の原因の一つとなった。ただし、単純にDNAとRNAの違いによって起きたのか確認できたわけではない。

コンタミネーションの原因追究と改善確認が慎重に進められたため、かなりの手間と日数が掛かり、実際にリアルタイムPCRによる検査の体制が完全に整ったのは、新型インフルエンザ奈良県内第一号（6月16日RT-PCRおよびリアルタイムPCR検査）の直前であった。それまで、正式な検査はRT-PCRのみで行われ、途中2回堺市衛生研究所に支援（リアルタイムPCRによる確認検査）を求めた。この最初の陽性結果を見て、「我々の検査が正しく陽性検体を検出できる」ことが確認でき、ようやく百パーセントの自信を持つことができた。当時感染研から配布されていた陽性対照は、新型インフルエンザとは微妙に異なるものであり、本当の陽性RNAを見たことがなかったためである。

機器の整備が、実際の需要からかなり遅れたことも、初動期の対応を難しいものとした。施設としては、リアルタイムPCRをすでに保有していたものの、別の部署が遺伝子組換え食品検査用として維持管理しており、ちょうどその検査が5月にあったことが、リアルタイムPCRの着手を遅らせる大きな要因となった。他の自治体では食品収去検査等を一定期間中止して、施設全体で新型インフルエンザ検査の協力体制をとったケースもあったと後に伝え聞いたが、そのような上層部の決断があれば、機器・人員の両面から、もっと円滑な対応が可能であったと思われる。

その後、リアルタイムPCRが2台も新規導入されるという、異例の措置がなされたが、1台目の配備は7月末で、すでに新型インフルエンザ陽性患者の最初のピークを迎えている最中であった。2台目は秋であり、核酸自動抽出装置にいたっては翌年である。これらの機器が初動期に導入された自治体もあり、県の予算規模を考えれば仕方ない面はあるとはいえ、消耗品費も含めて当初から十分な手当てがなされていれば、少ない人員でも効率的に検査を実施でき、また

度重なる「緊急検査」の要請にもある程度柔軟に対応できた可能性は高いと思われる。

しかし、何といても一番切実なことは人員の確保であった。中核市である奈良市や県庁本課からの応援は、比較的早期になされたが、手間のかかる作業が多い新型インフルエンザ検査としては、それでも十分とはいえなかった。この時期にウイルスチームの一名が産休に入ったが、臨時職員一名の手当てのみであった。夏の高校総体の影響等で検査需要が大幅に増加した時期に、施設外からの応援が次々と引き上げていき、細菌チームからの自分しか残らなかったことは、ますます対応を難しいものとした。その間も細菌検査の業務は年度計画どおり継続しており、仕事の掛け持ちとなって、十分な応援ができたとは言い難かった。

スタッフの面では、遺伝子の取扱いに関して大学等で専門に教育を受けた者がほとんどいないことが、対応を難しくする要因であったが、幸い農業総合センターの北條氏がその方面の知識経験を有していたため、コンタミネーション対策を含めリアルタイムPCR検査の体制を整え軌道に乗せる大きな力となった。また、産休者の代わりに採用された臨床検査技師の臨時職員は、向学心と責任感に溢れた若い方であり、すぐに業務をマスターし、中心的な人材となった。夏以降の大量の検査需要に何とか応えることができたのは、この方の貢献によるところが大きいと思う。

今振り返ってみると、担当統括主任研究員以下、ウイルスチームの各員が文字通り「倒れるほど」働くなかにあって、自分の参加がどの程度の支援になったのか疑問ではあるが、本来の担当係（チーム）ではないにもかかわらず、滅多にない経験ができたことは有益であったと思う。その一方で、担当統括主任研究員より上位の方々（本課を含め）には、今回の経緯を踏まえ、今後このような事態に当たっては、もっと思い切った決断と、より踏み込んだ迅速な対応が望まれる。

人的支援者から見た新型インフルエンザ検査対応

細菌チーム 主任研究員
田辺 純子

昨年話題となった新型インフルエンザは、5月中旬以降、当センターの検査体制に影響し始めました。当センターにおけるウイルス検査と細菌検査は、それぞれウイルスチームと細菌チームが別々に対応しており、通常どのように仕事を進めているのかをお互いに知りえません。そのため、検査を補助するためには事前の説明や研修が必要でしたが、ウイルスチームは目の前のことに対応することが第一であり、細菌チームにも通常業務があるため、補助体制が整うには時間がかかりました。新型インフルエンザ検査以外の仕事を補助しようにも、ウイルスチームに余裕がなくて指示などできない様子でした。その後、ウイルスチームが滞っていた通常業務も行えるように、細菌チーム員にウイルスチームとの兼務辞令が出され、新型インフルエン

ザ検査の一部を担当するようになりました。ただ、辞令が出たからすぐにそのチーム員のごとく仕事を進められるわけではなく、また担当部屋は別なので今日すべき仕事があるのかわからなかったり、仕事の優先順位においても、ウイルスチーム員は春からずっと過酷な勤務でやっているのだから自分の業務より先に手伝うべきだろうし・・・様々なことを考えさせられました。今後は逆の立場になる可能性もあり、検査対応支援というハード面だけでなく、支援側の思いなどソフト面についても忘れずにいたいと思いました。

“感染症情報センター”としての新型インフルエンザ情報発信について

細菌チーム 主任研究員
吉田 孝子

新型インフルエンザの発生に伴い、最初に感染症情報センターの業務が膨大になったのは、平成21年7月24日からクラスターサーベイランスが開始した時でした。これに伴い、集団発生による新型インフルエンザの患者が確認されると、感染症発生動向調査システム(NESID)による、全数報告が必要になりました。この報告には、それぞれの患者につき、その集団発生での端緒患者の入力が必要で、この端緒患者の特定に、保健所、本庁を交えて情報が混乱し、さらに作業が増大しました。このような状況下で、最初の一週間で56件、次の週は95件と報告は増加し、最終の平成21年8月24日までには合計305件の報告がありました。

クラスターサーベイランスが行われている頃、第32週(8月3日から8月9日)と第33週(8月10日から8月16日)は、奈良県は全国で2番目に定点当たり報告数が多く、県内でも新型インフルエンザ、またその定点当たり報告数への注目が非常に高まってきました。電話による問い合わせも徐々に増えてきたこともあり、感染症情報センターで毎週発行する週報へは新型インフルエンザの記事を連続して掲載する事になりました。

その後も定点当たり報告数が予想していなかったところで使われるようになり、問い合わせが格段に増える状況になりました。最も多かったのは市町村関係で、イベント、行事の開催基準として定点当たり報告数の最新の状況を知りたいというものでした。他にも、医療機関、教育委員会等から、週報、ホームページの事も含めて、問い合わせが多く寄せられました。電話も1日に10件を超えることも多く、電話対応、最新データの集約、記事の作成を1人で行うことは、多忙を極めました。

しかしながら、新型インフルエンザの発生により、感染症情報の必要性を、再認識することになり、感染症情報(週報)の、学校、社会福祉施設、市町村等への直接送付に取り組むきっかけとなりました。その結果、多くの情報を広範囲に直接発信できるようになり、情報提供という意味では非常に充実させることが出来たと思います。

新型インフルエンザ検査業務の人的支援者の一人として

環境政策課
(現ウイルスチーム 主任研究員)
米田 正樹

～騒動発生から辞令発令まで～

新型インフルエンザの騒動が始まった当時、私は本庁に勤務していました。過去に保健環境研究センター（以下、センター）でウイルス検査業務に携わった経験がありましたが、当時の自分の職責では、直接関与する出来事ではないだろうと考えていました。

ところが、センターでは人的支援が必要な事態となっており、平成21年5月21日付で私にセンター勤務の兼務辞令が発令され、急遽検査業務に呼び戻されることになりました。私の場合は、兼務期間があらかじめ限定されていましたが、部局を超えた兼務辞令が発令されるとは思っていませんでしたので、非常に困惑しました。

～センターでの一部始終～

勤務初日の朝は、自分が技術的な業務から離れて2年以上が経過していたこともあり、自分が戦力となりうるのか、またスムーズに業務に加わっていけるのか不安を抱きながら迎えました。着任してからは、騒動の渦中にあるセンター職員から業務内容の説明を受け、また、過去の数少ない経験を生かしながら、高度安全実験室内での検体処理や、遺伝子検査等に携わりました。

私がセンターに着任した当初、県内では遺伝子検査による新型インフルエンザの陽性例が1例も出ていない状況でしたが、新型インフルエンザの流行が広く報道されていたこともあり、通勤途上ではマスクを着用し、ウイルス感染を警戒している人が多数見られました。センターでの検査結果次第では、さらに街中の様子が変わるのではないかと思うと、検査結果を出すことは非常にストレスフルなものでした。

しかしながら、幸か不幸か私が勤務をしていた間には陽性の結果が出ることはありませんでした。センターに搬入される検体の数も一旦落ち着いたこともあり、私は当初の予定通り平成21年6月6日を最後に、この間の仕事が蓄積された元の所属に復帰することとなりました。県内で陽性例が出ることは時間の問題でしたので、陽性例を取り扱うことなくセンターを離れることは少し心残りでした。

～今回の騒動を経験して感じたこと～

センターは県民の健康と安全を守るための保健及び環境分野で科学的かつ技術的中核となる研究機関です。センターには保健及び環境の各分野で専門的な技術や知識を有する職員が必要です。しかしながら県職員が年々削減されているなか、センターの研究員も減少傾向にあり、私のような若輩者が教えを請うべき経験豊かなベテラン研究員が次々と定年を迎えています。

マニュアル等の書面では伝えきれない技術の継承には多くの時間を要しますが、広い年齢層に渡って研究員の養成を行うことは、今回のインフルエンザ騒動のような緊急事態に備えるために、必要なことではないでしょうか。

「新型インフルエンザ」検査業務に参加して

農業総合センター 主査
北條 雅也

「パンデミック」というこれまで聞いたことの無かった言葉が日常的な話題に使われるようになっていた昨年6月に、急遽、新型インフルエンザの検査業務の命を受けました。これまで主に植物を対象に研究を行っていましたが、ウイルスの検査は初めてで、また他部局の方と仕事をするのも初めてのことで貴重な経験をさせていただきました。

配属された当初のウイルスチームでは、市と本庁からの応援の職員二人がすでに検査に入っていました。私も、初日に検査の方法について説明を受け、次の日から検査業務に入りました。私自身これまで遺伝子工学を用いた実験経験はあるものの、すぐに検査に入れたのは、様々な作業工程がマニュアル化されていたことにあると思います。近年の遺伝子工学の実験はキット化された試薬を用いるため比較的簡単にできるようになっていますが、混合する試薬の必要な分量や試薬の調製法について、あらかじめ書かれたマニュアルが作成されていたので間違いもおこりにくく、分かり易かったと思います。

さらにコンタミネーションの原因となるいくつかのポイントについて、例えば試薬の扱い方、マイクロピペットの操作、検査作業の場所など、チーム内で常に議論しながらより最適な方法を検討していきました。

検査は複数の人数で作業するため、統一した書式の用紙に用いる試薬量を記入し、結果と共に管理されていました。そのため、どのような検査が行われたかがすぐにわかるようになっており、また、ウイルス抽出の際に使用する隔離施設の入出時間を記録するなど、検査工程の記録管理が徹底されていることが印象的でした。

検体が保健所から送られてくると、患者の情報もわかり、インフルエンザの特徴である高熱で苦しんでおられる様子が想像され、これまでの植物が相手の仕事とは違い、人の健康に関わる業務であることを改めて認識させられました。また、当時は、各都道府県で感染者が現れたことが毎日のように報道されている状況で、奈良県では感染者はいませんでした。したがって、検体の搬入情報から検査状況、結果について逐一各関係機関から問い合わせがあり、新聞には毎日その状況が掲載されていました。限られた時間の中でいわばガラス張りの中で検査しているようで緊張感が常にありました。検査は週末や深夜に及ぶこともあり、私が配属される前から、数ヶ月にわたって業務を続けてきた職員は大変な疲労があったと思います。その様な中でチー

ムの職員は互いに協力しながら確実に業務を遂行していたと思います。

短い期間でしたが、保健環境センターの業務内容を知ることができ、また、職員の方と知り合う機会ができました。農業総合センターでは、植物の機能性物質を様々な分野へ活用する研究も、民間企業、大学などと協力しながら進めています。公設試をとりまく状況は厳しいものとなってきますが、保健環境研究センターと研究分野などで協力できる事があれば、互いの専門性をさらに有効活用出来るのではないかと思います。

2009新型インフルエンザ検査協力を体験して

奈良市保健所 保健・環境検査課
水谷 勇一

昨年、5月新型インフルエンザの流行により、奈良市保健所は大変な騒ぎになっていた。電話対応、検体の搬送など、保健所全体で対応していた。そんな中、検査の最前線である奈良県保健環境研究センターに、研修という名目ではあるが、新型インフルエンザの検査をお手伝いすることが決まった。このことが決まってから実際にお手伝いするまでの期間いろいろな思いがあった。保健環境研究センターには、奈良市保健所設立に向けての準備として、平成13年度の1年間食品化学と微生物検査の研修を受けさせていただいた。引き続き平成14年度は半年間保健所検査室改築のため、検査室と事務室を貸していただいた経緯もある。今回の研修でなんと縁があるのだろうとの思いもあった。また、24時間体制で検査されているウイルス担当の方々を少しでもお手伝いしたい、全世界を騒がしている病原体の検査というすごく貴重な経験ができるという期待感があった。しかし、微生物検査は4年ほど経験があるが、ウイルスについてはノロウイルスのRT-PCRしか経験なく、新型インフルエンザはどのような検査をするのか分からなく、ウイルス分離等全く行ったことのない検査方法ならかえって迷惑をかけるのではないか、またこの時点ではまだ毒性がよくわかっていなかった新型インフルエンザ疑いの検体が集まってくる所に私のような素人がいく不安感のほうが大きかった。

5月23日いよいよ研修初日 came。早速検体が搬入され検査が始まった。不安に思っていた検査方法は、ウイルス分離することはなく、PCR検査だけであることが分かり少し不安もとれ、お手伝いできるかなと思えるようになった。しかし、緊迫感が全然違うものであった。普段の食中毒検査等も慎重に丁寧に行ってはいるが、まるで別のように思えた。前処理は、BSL3検査室で行わなければいけない、ポジティブコントロールの取り扱いの注意が普段検査しているときのレベルとはまるで違うこと、近畿圏内でも新型インフルエンザが多くの府県で検出しているが、奈良県はまだ1例もないという状況。情報がどんどん入ってくる。検体の搬入も止まらない。全国的にもまだまだ流行の勢いは衰えない。このような状況が今まで経験したことないことばかりであり緊張感、緊迫感は、増すばかりでした。一方、玉置所長、北堀統括をは

じめ以前研修でお世話になった方々、また普段連絡事務などで顔見知りの方が多く、大変良くしていただき仕事以外での不安、緊張は取り除いてもらい非常に助かりました。

ようやく検体受け取り、前処理、抽出、PCR検査とある程度お手伝いできるようになってきたとき、なんと尿管結石を患ってしまい、あっという間に奈良市に戻る事となってしまった。日数もたった5日間、業務を覚えてもらうのに余分な時間を割いていただいた。急遽同僚の西川君が交代で出向となってしまった。こんな時になんで！もう情けなくて情けなくて……。それなのに、皆様に心配していただき非常に申し訳ない気持ちでいっぱいでした。

研修期間は、非常に短いものになってしまいましたが、今回のこのような貴重な経験ができたことは、今後の検査業務に非常に役に立つものとなりました。今後もこのような奈良市では、対応できない事例が発生した場合のお手伝いはもとより、普段から人事交流など県と市の垣根を越えた協力が行える組織づくりができればありがたいです。

新型インフルエンザの検査を体験して

奈良市保健所 保健・環境検査課

西川 篤

検査に携わったのは、6月15日から7月15日までのちょうど1カ月間でした。奈良市保健所から研修という形でお手伝いさせていただきました。最初は2週間程度のお手伝いだと思っていたのですが、新型インフルエンザがなかなか終息せず、1か月にもなりました。ただ、その時点でも終息がまったく見えない状況でした。

外部から参加しているということもあって、インフルエンザの検査以外に決まった仕事もなく、測定待ちとか検体搬入待ちとかの空き時間が結構ありました。その間はインフルエンザの勉強をして過ごしていました。ただ、検体搬入が一日に数回ある日もあって、その度に陰圧の部屋に入ったりして、あまり落ち着かなかったことを覚えています。インフルエンザの検査法自体は、普段から扱っているノロウイルスと同様だったのですが、インフルエンザ独特のものもありましたし、保環研の試薬の管理や検査方法など、奈良市と違った部分もあってとても参考になりました。陰圧の検査室や、リアルタイムPCRなど、奈良市が所有していないものを使用できたのも勉強になりました。特にリアルタイムPCRについては、10月に奈良市保健所でリアルタイムPCR導入した際に経験を生かすことができました。

今から思えば、当時の検査体制は過剰すぎたと思っています。コンタミを防ぐため、検査工程ごとに人を換えたりしていて、結構な負担になっていたのではないかと思います。ただ、騒動の大きさからはそうせざるを得なかったと思っています。操作を間違えてはいけないとか、迅速に結果を出さなければならないといったプレッシャーがかなり強かったように思います。当時の自分の経験では「安全キャビネットの中で持っている検体が何番のものかわからなくなっ

た」と思ってヒヤットして気が付くと夢だったということがありました。多少プレッシャーを感じていたのかもしれませんが。

検査の仕事で、印象に残っている事はたくさんありますが、新型インフルエンザの検査に携われた事は生涯強く思い出に残るのではないかと思います。保環研でお世話になったみなさんどうも有難うございました。

最新の新型インフルエンザ情報

平成22年10月

パンデミックから、その後の世界的発生状況

世界保健機関は新型インフルエンザウイルスの流行状況を、インドの一部とニュージーランドとオーストラリアで現在も続いていることを発表した。特に、インドではモンスーンの始まりとともに南部のケララ州、西部と南部のいくつかの州で、西部のマハラシュトラ州では死亡者も含め最も多くの新型ウイルスが活発な活動をし、ニュージーランドでは昨年第一波の影響の少なかった地域で流行しているようです。特記すべきこととして、これらの地域での新型ウイルス感染者の多くは、ワクチン接種を受けていないとのこと。

この様に、世界的にみればまだ、一部の国と地域では新型インフルエンザが流行しているようです。

パンデミックから、その後の我が国の状況

日本政府は、WHOが平成22年9月10日に世界的大流行（パンデミック）の終息宣言を出したことを受け新型インフルエンザ対策本部（本部長・菅首相）の閉鎖を決定しました。

9月27日の記者会見で「通常の感染症対策として対応する体制に切り替える」と述べ、同日これを受け、厚生労働省は今後の同省の取り組みについて発表しました。それによりますと、今年度末をめどに感染症法上の「新型」インフルエンザの指定を外し、「季節性」と同様の対応とする方針で、ウイルス動向や流行予測等のサーベイランスや必要な調査等は継続して行い、その状況を踏まえた上で、季節性と異なる大きな流行等の特別な事情が生じない場合は通常の季節性インフルエンザ対策に移行するというものです。新型の指定が外れると、昨年の発生当初に実施された徹底した検疫やウイルス検査などは行われなくなり、高校や大学、専門学校は集団発生の報告が不要になり、ワクチン接種の推奨は終了します。

同省によりますと、国内ではこれまでに推定約2,100万人が感染し、202人が死亡しました。流行は昨年11月にピークを越え、今年3月以降は大きな流行は起きていませんとのこと。

業績集

- ・ 新型インフルエンザ(インフルエンザA/H1N1sw1)発生への検査、調査についての準備及び初期対応と、病原体検査や感染者に関する今後の国と地方との連携強化及び対応能力強化に関する緊急研究、研究代表者 宮村 達男(国立感染症研究所)、研究協力 奈良県保健環境研究センター

編集後記

2009年4月に突如現れた新型インフルエンザの検査対応記録は、今後の健康危機対応への一助となる意義あることとして取り組みました。執筆者の方々にはとても忙しいなか主旨を十分理解して原稿を書いて頂き深く感謝いたします。私自身もこの記録物をまとめるにあたり保健環境研究センターが県において何をなすべきかという点について、今までとは異なるところに気づかされました。すなわち、県民のみならず社会貢献による国民全体の利益に如何につなげるかを意識して事にあたることが重要と考えております。この特集ができましたのは、所長、副所長など多くの方々のご理解とお力添えのおかげです。この場をお借りし、感謝の意をお伝えいたします。

編集委員

石倉 清 (編集長)

常岡 秀好

北堀 吉映