

# 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<sup>1)</sup>

平良勝也・岡野祥・仁平稔・久高潤・糸数清正・玉那覇康二・中村正治<sup>2)</sup>

## The Laboratory Corresponds for 2009 Pandemic Influenza A(H1N1) in Okinawa Prefecture

Katsuya TAIRA, Shou OKANO, Minoru NIDAIRA, Jun KUDAKA,  
Kiyomasa ITOKAZU, Koji TAMANAHA and Masaji NAKAMURA<sup>2)</sup>

**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、2009年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、検査体制の整備、検体輸送体制の整備、A型インフルエンザ全数把握調査、A/H1N1pdm侵入後の検査対応、米軍基地内患者の検査対応に焦点をあて、問題点及び課題等を抽出し考察した。

**Key words**：新型インフルエンザ，パンデミック，検査対応，沖縄県

### I はじめに

WHOの新型インフルエンザ(H1N1)2009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<sup>1)</sup>。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ウイルス(A/H1N1pdm)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。

### II 方法

A/H1N1pdmウイルスの国内発生初期における当所の検査対応について、次の5つ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)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。

### III 結果

#### 1. 検査体制の整備

1) 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、A/H1N1pdmを疑うこととした。

2) 5月2日、国立感染症研究所(感染研)より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。

3) 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かったため、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。

4) 5月4日、当所における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) 5月6日、所内会議においてPCR検査対応について

<sup>1)</sup> 本研究は平成21年度厚生労働科学研究費補助金(厚生労働科学特別研究事業)によって実施した。

<sup>2)</sup> 現 沖縄県中央食肉衛生検査所

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 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、リアルタイム 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経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 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ダンス 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 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

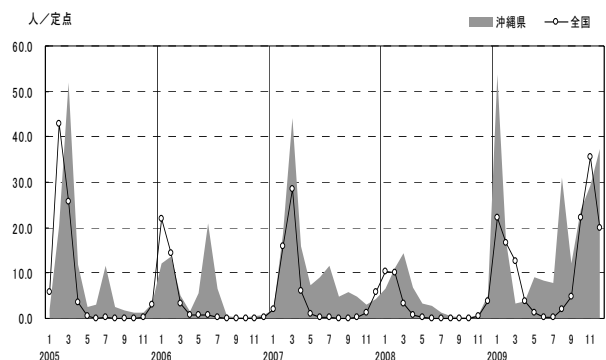


図 1. 2005～2009 年における沖縄県と全国のインフルエンザ年次別患者発生状況の推移。

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(図2)。

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AH1N1pdm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。

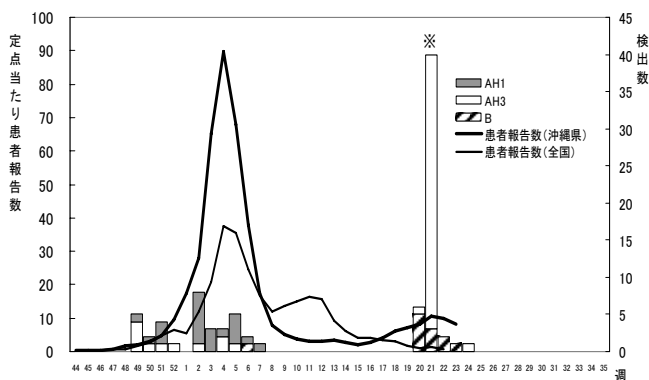


図2. インフルエンザ患者報告数およびウイルス検出状況。※第21週はA型全数把握を実施した。

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. A/H1N1pdm 侵入後の検査対応

全数報告サーベイランスの実施の中、6月29日にオーストラリアからの帰国者から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。その後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(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を図4に示した。まず、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。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。

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た。

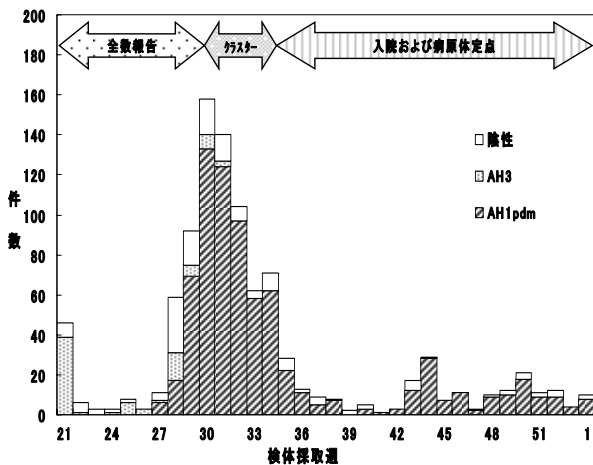


図3. 2009年沖縄県におけるA/H1N1pdm 検出状況.

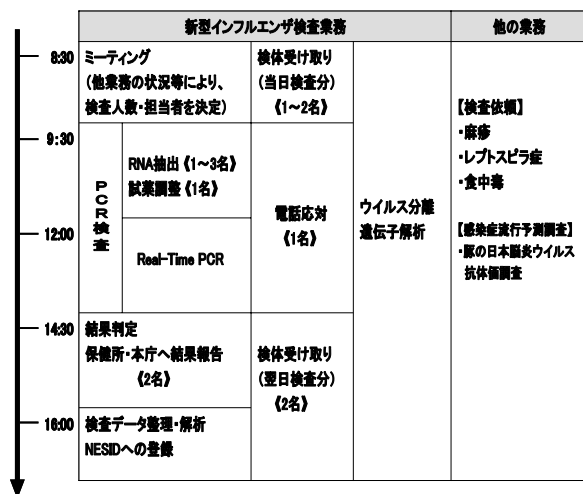


図4. 1日の検査業務の流れ.

表1. 米軍基地内から搬入された検体のA/H1N1pdm の検査結果.

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	AH1pdm	陽性
3	2009/7/7	20歳	男	フィリピン	AH1pdm	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	AH1pdm	陽性
6	2009/8/10	1歳	男	不明	AH1pdm	陰性

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)。

IV 考察

1. 検査体制の整備

感染研よりA/H1N1pdm 検出用の試薬が配布された翌日には、検査体制が整いリアルタイム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考えられた。

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月国立感染症研究所村山庁舎において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、輸送体制を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<sup>2)</sup>。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大きな混乱はなかった。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A/H1N1pdmに置き換えるだけで対応でき、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示唆された。

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πι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. A/H1N1pdm 侵入後の検査対応

6月29日に県内で1例目のA/H1N1pdm感染患者が確認され、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A/H1N1pdm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が、今後さらに、応援可能な職員の人数を増やしていくことが事前の準備対応として重要と考えられた。

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、AH3亜型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の遺伝子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、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4例中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、NESIDに入力することができなかった。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は、新たな項目を設けるなど検討が必要であろう。

## V 参考文献

- 1) World Health Organization (2009) New influenza A (H1N1) virus: global epidemiological situation, June 2009. *Wkly. Epidemiol. Rec*, 84: 249–260.
- 2) 平良勝也・岡野祥・仁平稔 (2009) A型インフルエンザ全数把握調査. *病原微生物検出情報*, 30: 183–184.