

ノート

1999年度のポリオ, 日本脳炎, 風疹, インフルエンザ流行予測調査の解析

川田一伸, 矢野拓弥, 福田美和, 杉山明, 櫻井悠郎

Epidemiological Surveillance for Poliomyelitis, Japanese Encephalitis,
Rubella and Influenza in 1999

Kazunobu KAWADA, Takuya YANO, Miwa FUKUTA,
Akira SUGIYAMA and Nakao SAKURAI

ポリオウイルスの分離は14名より試みたが全て陰性であり, また他の腸管系ウイルスも分離されなかった。日本脳炎のHI抗体保有豚は, 7月27日から9月26日まで検出された。また2-ME感受性抗体保有豚は, 7月27日に検出され8月17日には消失して再び8月24日から9月14日まで出現した。風疹のHI抗体保有率は男性で87%, 女性では89%であった。インフルエンザは流行期前, 各年齢層で抗体保有率の低かったAソ連型(H1N1)が流行し, 次いで保有率の高かったA香港型(H3N2)の流行も認められた。豚のA/New Jersey/1/76(H1N1)に対する抗体保有率は7.5%であったが, A/duck/Singapore/3/97(H5N3)とA/turkey/Wisconsin/66(H9N2)に対しては保有していなかった。

キーワード: 流行予測調査, ポリオ, 日本脳炎, 風疹, インフルエンザ, 1999年

はじめに

伝染病流行予測調査は, 「集団免疫の現状把握及び病原体の検索等の調査を行い, 各種免疫資料と併せ検討し予防接種事業の効果的な運用を図り, さらに長期的視野にたち総合的に疾病の流行を予測する」ことを目的として, 1962年に開始された¹⁾⁹⁾。ポリオ, ジフテリア, インフルエンザ, 日本脳炎, 風疹, 麻疹および百日咳の7疾病を対象として, 全国都道府県の地方衛生研究所及び保健所等の協力のもとに行われている¹⁾⁹⁾。三重県では, 日本脳炎は1966年, 風疹は1973年, インフルエンザは1969年, ポリオは1997年¹⁾⁰⁾から本事業に参加するとともに, 長期にわたる調査から, 冬季に日本脳炎ウイルスに対する2-ME感受性抗体がと畜場搬入豚で確認されたこと²⁾⁴⁾²⁾⁷⁾²⁾⁹⁾, 風疹は3年を周期に流行を繰り返すこと²⁾³⁾, インフルエンザの抗原変異の周期性がみられなくなったこと¹⁾⁵⁾⁶⁾²⁾⁵⁾²⁾⁸⁾³⁾⁰⁾等, いくつかの特徴を見出してきた。今年度もポリオ, 日本脳炎, 風疹, インフルエンザの各疾患についてウイルス分離や抗体保有状況を中心とした流行予測調査を行ったのでその概要を報告する。

検査材料と方法

1. ポリオ検査材料及びウイルス分離検査

津保健所管内の0歳~6歳14名の乳小児から便を採取した。糞便の採取はワクチン株の混入をさけるため接種後2ヵ月を経過した時点とした。糞便をペニシリン, ストレプトマイシン添加のEagles' MEMで約10%乳剤にし, 3,000rpm 30分間の遠心後上清を再度3,000rpm 30分間の遠心を行い, 処理した上清を細胞接種材料とした。あらかじめEagles' MEMで試験管に単層培養したVero細胞に便の処理材料0.2mLを接種し, 37℃で1時間吸着後, 接種検体を取り除きそこに2%FBSを添加したEagles' MEMを加え, 37℃にて静置培養を行った。検体を接種した培養試験管は, 毎日顕微鏡で観察し70%以上に細胞変性効果(CPE)が発現したものを同定に供した。ウイルスの同定はエンテロウイルス混合抗血清および型特異抗血清を用いた中和試験により行った¹⁾⁷⁾。

2. 日本脳炎検査材料及びHI抗体検査

三重県中部に位置する松阪市近郊で飼育された6~8ヵ月齢の豚動脈血をと殺時に試験管に採血し血清分離後, 赤血球凝集抑制(HI)抗体測定に供した。採血は, 1999年7月27日から9月26日まで毎週1回10頭の計8回80頭

行った。被検血清はアセトン処理を行い非特異的な凝集抑制物質を除去した後、U型マイクロトレイの第1管目に25 μ L入れ、第2管目から25 μ L ずつの2倍階段希釈を行った。これらに日本脳炎ウイルス JaGAr 01株(デンカ生研)で作った4HA単位の抗原を25 μ L ずつ加えた。4にて24時間感作後0.33%ヒヨコ血球を50 μ L添加し、室温にて1時間放置後判定した。HI抗体10倍以上を陽性とし、40倍以上の血清については、2-ME処理をし、処理後の抗体価が処理前の1/8に減じたものを2-ME感受性抗体陽性とした¹⁹⁾²²⁾。

3. 風疹感受性抗体検査材料及びHI抗体検査

風疹感受性抗体検査は、1999年9月から同年11月の期間に県下の病院で採血された男性、女性100例ずつの計200例の血清を検査材料とし、0~19歳までを5歳ごとに、男女別各8グループ25例ずつを対象とした。HI抗体検査は伝染病流行予測調査検査術式により行った¹⁸⁾²⁰⁾。

4. インフルエンザ調査材料及びHI抗体検査

感受性材料は、インフルエンザ流行期前の1999年9月から同年11月に県下の病院と人間ドックで採血された残血清を0~19歳までは5歳ごとに、20~59歳までは10歳ごとに、60歳以上は1グループとして各々25例ずつ計225例を抽出した。感染源調査材料は、学校等でのインフルエンザの集団発症事例の患者及び、北勢地区の1医療機関に受診するインフルエンザ様疾患患者から採取したうがい液もしくは咽頭拭い液と、急性期及び回復期血清である。これらに本年度のワクチン株であるインフルエンザ A/北京/262/95(H1N1)、A/シドニー/05/97(H3N2)、B/山東/07/97、B/山梨/166/98の各株を用いて伝染病流行予測調査検査術式により行い40倍以上を陽性とした¹⁶⁾²⁰⁾。

5. インフルエンザウイルスの分離法

材料を1スワブ当たりペニシリン200IU、ストレプトマイシン200を添加したEagles' MEM 2.5mLに溶出した。3,000rpm30分間の遠心上清をウイルス分離材料とした。うがい液も同様に抗生物質を添加し、同様に処理

したものの上清を分離材料にした。材料0.2mLを8日発育鶏卵羊膜腔内及びMDCK単層培養²²⁾に接種した。接種後毎日観察し、培養細胞はCPEの出現したのについて、また発育鶏卵は、接種後3日目に羊水を採取し、モルモットまたはニワトリ赤血球に対する凝集能(HA)を検査した。そしてHAが認められたものについて既知のインフルエンザ抗血清とHI反応により同定した¹⁸⁾²¹⁾。

6. 豚インフルエンザHI抗体検査

日本脳炎を検査した血清をHI抗体測定に供した。被検血清をトリプシン処理し、56~30分非働化後、1/90MKIO₄を加え、室温に60分放置する。その後1%グリセロール食塩水を添加し、生理食塩水で10倍希釈し、ニワトリ赤血球を加え室温に60分静置し吸着した。2000rpm15分間の遠心上清をマイクロトレイの第1管目に25 μ L入れ、第2管目から25 μ L ずつ2倍階段希釈を行った。これらに国立感染症研究所より分与されたA/New Jersey/1/76(H1N1)、A/duck/Singapore/3/97(H5N3)、A/turkey/Wisconsin/66(H9N2)の3株の不活化抗原16HA単位を25 μ Lをずつ加えた。室温にて60分間放置後、0.5%ヒヨコ赤血球を50 μ L添加し、60分間放置後判定した。HI抗体価は、HIを起こした最高希釈倍数とした¹⁸⁾²²⁾。

検査成績

1. ポリオウイルス分離状況

本年検査した14検体からはポリオウイルスをはじめとするエンテロウイルスは分離されなかった。

2. 日本脳炎HI抗体価の経時的推移

日本脳炎ウイルス(JEV)に対する豚および2-ME感受性抗体価の経時的推移を表1に示した。HI抗体を保有(10倍以上)している豚は、7月27日にすでに8頭(80%)に認められ、9月26日まで高い陽性率で推移した。2-ME感受性抗体は、7月27日に1例中1例(100%)に認められ、8月17日に一旦消失したが8月24日から9月14日まで毎週認められた。

表1. 日本脳炎ウイルスに対する豚HI抗体及び2-ME感受性抗体

採血日	頭数	HI抗体価							GMT	HI抗体陽性率(%) [*]	2-ME感受性抗体	
		<10	10	20	40	80	160	320			640	陽性数/検査数
7/27	10	2	7			1			10.7	80	1/1	100
8/3	10	1	8					1	14.1	90	1/1	100
8/17	10		2	7	1				18.6	100	0/1	0
8/24	10	1	4	2	3				20.0	90	3/3	100
8/31	10		4	3	2		1		26.3	100	3/3	100
9/7	10							10	631.0	100	6/10	60
9/14	10							10	631.0	100	7/10	70
9/26	10	4		2	2	1		1	26.3	60	0/4	0

^{*} HI抗体価は10倍以上を陽性とした。

3. 風疹年齢別 HI 抗体分布状況

表2.表3.に男性と女性の風疹の年齢別 HI 抗体状況を示した.1999年度の調査によると女性の風疹の年齢別 HI 抗体保有率は0～4歳96%,5～9歳88%,10～14歳84%であり,15～19歳では88%で,全体的にほぼ高い抗体保有率であった.男性の風疹の年齢別 HI 抗体保有率は0～4歳88%,5～9歳100%,10～14歳80%,15～19歳で80%あった.なお男性女性のそれぞれの全体の HI 抗体保有率は男性で87%,女性で89%で男女間に有意差はなかった.

4. 年別風疹患者発生状況

図1.に感染症サ-ベランスにて,三重県内の定点病院等から報告された年別風疹患者発生数を示した.1989年には1,563名あり,1990年は増加し,4,296名であった.その後1991年には467名,1992年には615名と減少した.1993年には2,179名と流行が見られたが,1994年には595名に再び減少し,1995年は127名1996年には117名に激減したが,1997年には805名に増加したが1998年には278名,1999年25名と減少した.ただし,報告定点病院数は1999年3月までは56定点であったのが1999年4月から45定点に減少した.

5. インフルエンザ年齢別 HI 抗体保有状況

1999-2000シーズンのワクチン株である A/北京/262/95(H1N1),A/シドニー/05/97(H3N2),B/山東/07/97,B/山梨/166/98 に対する年齢別 HI 抗体保有状況(HI 抗体価40倍以上を図2.に示した).Aソ連型は10～14歳で陽性率が高かったが,その前後では低かった.A香港型は0歳～19歳で高い傾向にあった.5～9歳におけるB山梨型の HI 抗体保有率は,やや高い傾向にあったがB山東型は全年齢層において HI 抗体保有率が低かった.1999-2000シーズンのインフルエンザ様疾患の集団発生の初発は11月30日で1996-97シーズンより1日遅く,1997-98シーズンより5日早かった.

このシ-ズンは患者数に違いはあれ1996-97シーズンと同様の増加模様を呈した.また,感染症サ-ベランスによると三重県におけるインフルエンザ様疾患の患者数は,1991年に14,303名で翌年1992年には23,456名と大流行があり,1993年は3,415名と過去5年間で最低であった.しかし1994年には18,906名の大きな流行がみられた.1995年は9,578名,1996年は14,619名の中規模の流行,1997年は16,617名の比較的大きな流行があり,1998年は15,784名,1999年には18,061名と1994年並みの大流行があった.表4.に集団発生例からのウイルス分離と抗体調査の結果を示した.1月17日に発生があった津市の中学校から搬入された8例中4例からA香港型ウイルスが分離された.

表2. 風疹・男性 HI 抗体保有者分布表

年齢区分	H I 抗体価							陽性率 (%)
	<8	8	16	32	64	128	256 512	
0～4	3	4	4	2	3	9		88
5～9			7	2	5	10	1	100
10～14	5	4	5	4	3	2	2	80
15～19	5	1	4	7	2	5	1	80
合計	13	9	20	15	13	26	3	87

表3. 風疹・女性 HI 抗体保有者分布表

年齢区分	H I 抗体価							陽性率 (%)
	<8	8	16	32	64	128	256 512	
0～4	1	4	6	2	3	6	3	96
5～9	3	1		8	3	7	2	88
10～14	4	1	6	4	5	4	1	84
15～19	3		2	4	11	4	1	88
合計	11	6	14	18	22	21	7	89

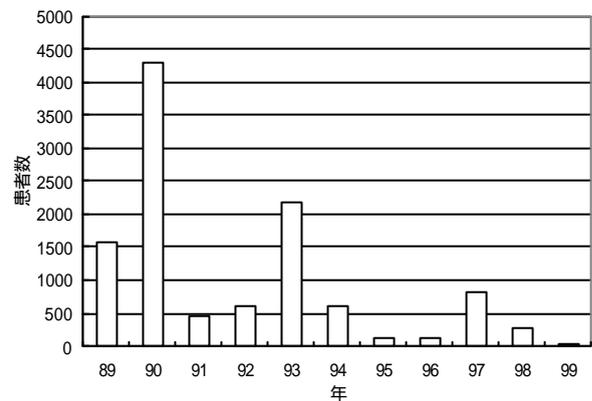


図1. 年別風疹患者発生状況

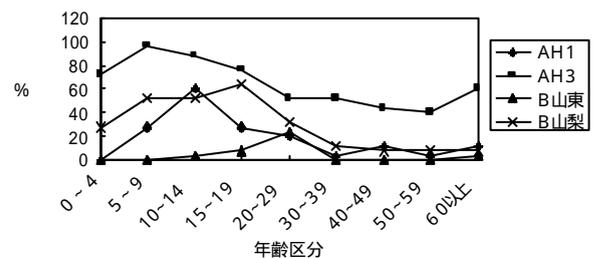


図2. 年齢別インフルエンザ抗体保有状況

表4. 1999年度インフルエンザ調査成績

発生地区	年齢	検査日	血清検査	ウイルス分離
津市	14	1/18	A香港:6/8	A香港:4/8
志摩町	13	1/19	A香港:4/5	0/6
玉城町	10~12	1/19	A香港:5/5	0/6
名張市	15	1/21	Aソ連:4/5	0/5
津市	18~56	1/24	A香港:7/8	A香港:1/7

6. 豚インフルエンザ抗体保有状況

国立感染症研究所から分与された A/New Jersey/1/76 (H1N1), A/duck/Singapore/3/97(H5N3), A/turkey/Wisconsin/66(H9N2)の3抗原に対するHI検査成績はヒト型で10倍が5頭40倍が1頭であった。その他トリ由来の抗原に対してはHI抗体保有は確認できなかった。

考 察

厚生省の流行予測事業におけるポリオ感染源調査¹⁾⁵⁾は国内のポリオウイルスの動向を監視するために、1997年から実施した調査である。ポリオウイルスは急性灰白髄炎原因ウイルスで、四肢の弛緩性麻痺を主徴とし、しばしば大きな流行をみた本疾患は古くから注目を集めてきた。麻痺の出現や病巣の程度により強毒株と弱毒株に区分でき、その中間的な株も存在する。臨床所見的には不顕性感染、不全型ポリオ、非麻痺型ポリオ、麻痺型ポリオに区分できる²⁾⁶⁾。ウイルスは世界各地に分布しているが、ワクチンの普及に伴い患者の数は激減して疫学の様相も一変してきた。熱帯、亜熱帯の地域では常在していて年中散発例をみている²⁾⁶⁾が、日本のような温帯地域では夏から秋にかけて流行する²⁾⁶⁾。患者の年齢分布はその地域のウイルス汚染に関係する²⁾⁶⁾。非衛生的な環境では、母親からの移行抗体を保有している生後の早い時期に感染し²⁾⁶⁾、発症することなく能動免疫を獲得するので大きな流行を起こさず、発病者の年齢も低年齢層に限られる。しかし、衛生環境の優れた地域ではウイルスの汚染度が低く、能動免疫の獲得が遅れ、感受性者の年齢層が高くなっている。したがってウイルスの侵入があると大きな流行となり発病者の年齢も高くなる²⁾⁶⁾。日本におけるポリオ患者は1949年頃より全国各地で報告され1960年には北海道や九州を中心に大流行し1年間の患者が5,000名を超えた。1961年には輸入生ワクチンの緊急投与が行われ、1963年からは定期接種が始まった。その結果ポリオ患者は激減し現在までほぼ完全に制圧されている⁷⁾¹³⁾。ウイルスの伝播は人から人への経口感染によるもの⁷⁾で、日本では生ワクチン被投与者および接触者のなかからワクチン非接種の成人のポリオ疑似症例の報告¹²⁾にみられるように、僅かではあるがワクチン関連患者の発生が報告されている。日本脳炎調査¹⁷⁾は、肥育豚の感染抗体調査豚情報およびヒトに対する抗体調査を実施しているが、三重県では肥育豚の感染抗体調査に参加している。日本では豚が

JEV増幅動物⁴⁾²¹⁾であるため、豚におけるJEV抗体の出現を知ることにより、ウイルスの動きを推測している。また前年度の流行時期を越えていない生後5~8ヵ月齢の豚を使用することにより、免疫のない若い豚による感染が日本脳炎感染の指標¹⁷⁾となっている。この方式は四季のはっきりしている東アジア地方では有効であるが、この方法により流行予測を行っているのは日本のみである。我々も、三重県南部の玉城町で生産された6~8ヵ月齢の肉豚を対象に、調査時点ごと10頭を、種類に関係なく選定した。今回の調査では、当該年の夏の気温が高めであったので、2-ME感受性抗体保有豚が、例年並みの7月に認められ9月までほぼ持続した。すなわちこの期間中にウイルスが豚から豚への伝播が示唆された。近年わが国における日本脳炎患者発生数は、昨年及び今年本県においては、真性患者、疑似患者ともに認められていないが、昨年全国では患者5例が報告されている。このように致命率も高く、治療は対症療法にたよらなければならない疾病のため、患者発生数にかかわらず流行予測事業は重要で今後とも継続して実施していかねばならない。

風疹に対する免疫のない人が妊娠中に感染すると、胎児もウイルスに感染し、難聴、心疾患、眼疾患などのいわゆる先天性風疹症候群(CRS)の子供が生まれる確率が高くなる¹⁾²⁾²³⁾。したがって、CRSの子供が生まれるのを防ぐ目的で、中学生女子を対象として、1977年から予防接種が行われている¹⁾²⁾。1989年4月から1993年3月にかけてMMRワクチン定期接種が開始されたが、おたふくかぜワクチンが原因と考えられる髄膜炎が発生したことにより中断した。そして1994年10月予防接種法の改正に伴い風疹ワクチンは任意接種となったが、男性が感染した場合も造精機能に影響を及ぼすことが判明したため接種対象者も男女の小児生後12~90ヵ月と男女中学生(12~15歳、2003年まで実施に大幅に変更された。ワクチン接種により獲得された抗体は少なくとも10年以上その抗体が保持されていることが判明しており、風疹そのものの根絶が期待され、風疹流行の阻止には接種率の高さが重要な鍵である²²⁾。

我々が日頃よくかかるいわゆる「かぜ」は、急性に起こる呼吸器粘膜の炎症性疾患であり、米国のオハイオ州クリーヴランド郊外に住む86家庭443名について10年間にわたって疾病調査³⁾が行われその間に観察された全疾患の中でcommon respiratory diseasesが6割を占めていて年間1人あたりの罹患回数が5.6になるという結果が出ていて⁸⁾、わが国で取り扱われている風邪症候群とほぼ同じと考えられる。特にインフルエンザウイルスは、ひとたび流行すると、短期間のうちに多数の患者を発生させるため、重点的な対策が望まれている。すなわち、インフルエンザは小学校、幼稚園を中心とする小児の間で流行ウイルスが増幅され、周囲の地域社会に拡大していき大流行を引き起こす。したがって、流行期前のHI抗体価測定により、その年の流行予測が可能となる。

さらに、流行期にウイルスの分離・同定および血清中の抗体価の上昇を測定する等の感染源調査を行うことによりインフルエンザ流行の状況が把握できる¹⁶⁾³¹⁾。三重県における今回の感受性調査では、A/シドニー/05/97に対する幾何平均抗体価(GMT)は、5～9歳120倍と高い値を示しているが、他のワクチン株は低いGMTを見いだした。A型インフルエンザは、10年から40年周期でHA抗原の大異変が起こり、1918年のスペインかぜ(H1N1)、1943年のイタリアかぜ(H1N1)、1957年のアジアかぜ(H2N2)、1968年の香港かぜ(H3N2)、1977年のソ連かぜ(H1N1)の大流行が起こっており、現在は香港型(H3)とソ連型(H1)が引き続き毎年のように小・中規模の流行を繰り返しているが、香港型が出現してからすでに29年、ソ連型も20年経過している。これらのウイルスに対してすでに多くのヒトが免疫を獲得していること、ウイルス伝播が極端に遅くなっている最近の流行状況、分離ウイルス株の解析から今後大きな連続変異は起こりにくいとの予想などから、これらのウイルスは末期的様相を呈していると考えられる。近々に不連続抗原変異が起こり大流行が起きるのではないかと予想される。トリ型インフルエンザA(H5N1)型が1997年5月に香港でヒトから分離され、その後同年11～12月の間にさらに17名の患者からH5が検出されたが、ヒト-ヒト感染の確証はなかった¹¹⁾。それを受けて今年も豚におけるインフルエンザ抗体保有状況を調査しているが抗原性が古いせいかもしれないが抗体保有は今のところないから豚の間ではこれらのウイルス株による流行はなかったと推測される。

文 献

- 1) Ben-Zwi, A., Gili, U., Russell, A. and Schlesinger, M. (1977): Age-associated changes in subpopulation of human lymphocytes, Clin. Immunol. Immunopath., 1, 139-149.
- 2) Cooper, L. Z., Ziring, P. R., Weiss, H. J., Matters, B. A. et al. (1969): Transient arthritis after rubella vaccination, Am. J. Dis. Child., 118, 218-225.
- 3) Dingle, J. H., Bagber, G. F. and Jordan Jr., W. S. (1964): Illness in the home - A study of 25,000 illnesses in a group of Cleveland Families, p. 19. The press of Western Reserve University, Cleveland.
- 4) 藤崎優次郎(1971): 豚の日本脳炎家畜衛生試験報告, ¹ 62, 16-24.
- 5) 福田美和川田一伸小林真美杉山明他(1994): 1994年度の日本脳炎風疹インフルエンザ流行予測調査の解析三重衛研年報, ¹ 40, 127-132.
- 6) 林充子高橋恵子井土遵櫻井悠郎他(1980): 伝染病流行予測事業三重衛研年報, ¹ 26, 9-12.
- 7) 神谷齊山本光興他(1996): 新しい予防接種, 309-316, 東京日本小児医事出版.
- 8) 加地正郎根路銘国昭加地正英廣田良夫(1997): インフルエンザとかぜ症候群, 1-15, 東京南山堂.
- 9) 川田一伸福田美和仲正子, 上妻久近他(1995): 1995年度の日本脳炎風疹インフルエンザ流行予測調査の解析三重衛研年報, ¹ 41, 63-69.
- 10) 川田一伸矢野拓弥福田美和杉山明他(1997): 1997年度のポリオ, 日本脳炎インフルエンザ流行予測調査の解析三重衛研年報, ¹ 43, 55-63.
- 11) 国立感染症研究所厚生省保健医療局結核感染症課編(1998): 病原微生物検出情報, 19, 58.
- 12) 国立予防衛生研究所厚生省保健医療局エイズ結核感染症課編(1996): 病原微生物検出情報, 17, 219-220.
- 13) 国立予防衛生研究所厚生省保健医療局エイズ結核感染症課編(1997): 病原微生物検出情報, 18, 1-3.
- 14) 国立予防衛生研究所学友会編(1994): ワクチンハンドブック, 170-179, 東京丸善.
- 15) 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課国立予防衛生研究所流行予測事業委員会(1996): 伝染病流行予測調査検査術式(一部改定), 2-8.
- 16) 厚生省保健局結核難病感染症課感染症対策室(1986): インフルエンザ伝染病流行予測調査検査術式, 28-56.
- 17) 厚生省保健局結核難病感染症課感染症対策室(1986): 日本脳炎伝染病流行予測調査検査術式, 57-80.
- 18) 厚生省保健局結核難病感染症課感染症対策室(1986): 風疹伝染病流行予測調査検査術式, 81-94.
- 19) 厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室, 国立予防衛生研究所感染症疫学部(1993): 伝染病流行予測調査報告書.
- 20) 厚生省監修(1987): 微生物検査必携ウイルス, リケッチア, クラミジア検査東京日本公衆衛生協会.
- 21) 今野二郎遠藤好喜, 我妻仁宇留野勝水他(1965): 日本脳炎の疫学—昭和39年宮城県における調査成績医学のあゆみ, 53, 113-118.
- 22) 細菌製剤協会(1990): 最近予防接種の知識 予防接種の意義とワクチンの使い方.
- 23) 櫻井悠郎喜田雅子, 北本よね子西岡計他(1977): 1975～1977年の風疹の流行および血清疫学に関する研究, 三重衛研年報, ¹ 23, 23-29.
- 24) 塩見俊朗岡田尚武吉仲由之櫻井悠郎他(1977): 流行閉期に豚から分離されたアルポウイルスについて第21回日本ウイルス学会総会講演予稿集, 1077.
- 25) 高橋裕明長谷川一子, 一色博井土遵他(1982): 流行予測事業について, 三重衛研年報, ¹ 28, 7-11.
- 26) 植竹久雄, 尾崎良克, 他(1992): ウイルス学, 420-427, 東京, 理工学社.
- 27) 山中葉子, 広森真哉石井堅造杉山明他(1989): 1989年

度流行予測事業三重衛研年報,¹ 35,25-30.

28)山中葉子,広森真哉,石井堅造,杉山明他(1990):1990年
度流行予測事業三重衛研年報,¹ 36,25-30.

29)山脇玲子,山中葉子,広森真哉,石井堅造他(1991):1991
年度の日本脳炎,風疹,インフルエンザ流行予測調査特
に冬季に検出された日本脳炎ウイルス
2-Mercaptoethanol 感受性抗体三重衛研年報,¹ 37,61-68.

30)山脇玲子,広森真哉,川田一伸,杉山明他(1993):1993年
度の日本脳炎,風疹,インフルエンザ流行予測調査,三重
衛研年報,¹ 39,73-78.

31)Yolkeu,R.H.,Torsch,V.M.,Berg,R.,Murphy,B.R.et
al.(1980):Fluorometric assayfor measurement of viral
neuraminidase-Application to the rapid detection of
Influenzavirusinnasalwashspecimens,J.Inf.dis.,**142**,
516-523.