

病原体定点医療機関における 2006/2007 シーズンのインフルエンザウイルス検出状況

新開敬行, 貞升健志, 長島真美, 尾形和恵, 吉田靖子, 矢野一好, 天木 聡
柏田和子, 加藤隆司, 片平潤一, 加茂 隆, 城所功文, 塩崎正英, 鈴木昌和
田中光彦, 平田俊吉, 北條 稔, 松永貞一, 山上恵一, 山口規夫

Detection of Influenza Virus in Sentinels for Infectious Agent Surveillance in Tokyo (2006/2007season)

Takayuki SHINKAI, Kenji SADAMASU, Mami NAGASHIMA, Kazue OGATA, Yasuko YOSHIDA,
Kazuyoshi YANO, Satoshi AMAKI, Kazuko KASHIWADA, Takashi KATO, Junichi KATAHIRA,
Takashi KAMO, Isafumi KIDOKORO, Masahide SHIOZAKI, Masakazu SUZUKI, Mitsuhiko TANAKA,
Shunkichi HIRATA, Minoru HOUJHO, Teiichi MATSUNAGA, Keiichi YAMAGAMI
and Norio YAMAGUCHI

病原体定点医療機関における2006/2007シーズンのインフルエンザウイルス検出状況

新開敬行^{*1}, 貞升健志^{*1}, 長島真美^{*1}, 尾形和恵^{*1}, 吉田靖子^{*1}, 矢野一好^{*2}, 天木 聡^{*3}
柏田和子^{*4}, 加藤隆司^{*5}, 片平潤一^{*6}, 加茂 隆^{*7}, 城所功文^{*8}, 塩崎正英^{*9}, 鈴木昌和^{*10}
田中光彦^{*11}, 平田俊吉^{*12}, 北條 稔^{*13}, 松永貞一^{*14}, 山上恵一^{*15}, 山口規夫^{*16}

Detection of Influenza Virus in Sentinels for Infectious Agent Surveillance in Tokyo (2006/2007season) .

Takayuki SHINKAI^{*1}, Kenji SADAMASU^{*1}, Mami NAGASHIMA^{*1}, Kazue OGATA^{*1}, Yasuko YOSHIDA^{*1},
Kazuyoshi YANO^{*2}, Satoshi AMAKI^{*3}, Kazuko KASHIWADA^{*4}, Takashi KATO^{*5}, Junichi KATAHIRA^{*6},
Takashi KAMO^{*7}, Isafumi KIDOKORO^{*8}, Masahide SHIOZAKI^{*9}, Masakazu SUZUKI^{*10}, Mitsuhiko TANAKA^{*11},
Shunkichi HIRATA^{*12}, Minoru HOUJHO^{*13}, Teiichi MATSUNAGA^{*14}, Keiichi YAMAGAMI^{*15}
and Norio YAMAGUCHI^{*16}

Keywords : 病原体定点医療機関 sentinel for infectious agent surveillance , インフルエンザウイルス influenza virus , 遺伝子解析 sequencing analysis , ウイルス分離試験 virus isolation test

はじめに

東京都の感染症発生病動向調査事業において定められている内科定点医療機関は、インフルエンザおよび新型インフルエンザの早期検出を目的として、2007年1月より新たに104カ所が追加され、そのうち14カ所が病原体定点として選定された^{1, 2)}。

これらの病原体定点医療機関から搬入された咽頭ぬぐい液ならびに鼻腔ぬぐい液は、RT-nested PCR法³⁾を用いた遺伝子検査および株化細胞 (MDCK: イヌの腎臓細胞, H Ep-2: ヒト喉頭癌細胞) を用いたウイルス分離試験によりウイルス検出を行った。遺伝子検査により検出されたインフルエンザウイルスについては、HA (ヘマグルチニン) 領域の一部の遺伝子配列を決定し、アミノ酸配列に置換した後、系統樹解析を行った。また、ウイルス分離試験により検出されたウイルスは、ワクチン株抗血清を用いた赤血球凝集抑制 (HI) 試験による抗原解析を行い、各型別に対する抗原性状についての評価を行った。

実験方法

1. 検体採取

2007年1月から6月までに14病原体定点医療機関において臨床的にインフルエンザ様症状を呈する患者から咽頭ぬぐい液または鼻腔ぬぐい液を採取した。各医療機関における月当たりの検体採取数は、4件程度であり、期間中の総検体数は249件であった。

2. 遺伝子検査

ウイルス RNA の抽出は、咽頭ぬぐい液または鼻腔ぬぐい液 100 μL から核酸抽出剤 (SepaGeneRV-R, 三光純薬) を用いて行った。抽出した核酸を 20 μL の精製水で浮遊させ RNA 試料とした。インフルエンザウイルス AH1 型, A H3 型, B 型の HA 遺伝子領域 (566 アミノ酸) の一部遺伝子を各型に特異的なプライマーを用いた Multiplex RT-nested PCR 法により増幅した³⁾。

2006/2007 シーズンの AH3 型ウイルス遺伝子は、既存のプライマーを用いた PCR 反応での増幅効率が低下したため、新たなプライマー (HN153-07:TTTTGTGAACGCA GCAAAGC, IFAA453-07:TATTCCTACTCTGGGTCTA G) を開発し、従来のプライマーセットに追加して使用した³⁾。PCR 反応条件は、プライマーのアニーリング温度を 53 °C から 51 °C に変更し、① 94 °C 3 分, ② 94 °C 1 分, 51 °C 2 分, 72 °C 2 分を 35 回, ③ 72 °C 10 分の 3 ステップとした。遺伝子の増幅後、この産物を 2 % アガロースゲルを用いて電気泳動し、出現した特異的断片の有無によりウイルス核酸検出の確認および判別を行った。

3. 遺伝子解析

PCR 法により確認された増幅産物は、2.5 % の低融点アガロースゲルにて電気泳動し、至適泳動位置の核酸バンドのみを紫外線照射下で切り出し、QIAquick PCR Purification Kit を用いて核酸の精製を行った。この核酸を Dye

* 1 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan

* 2 東京都健康安全研究センター微生物部

* 3 天木診療所, * 4 柏田内科クリニック, * 5 かとうクリニック, * 6 片平医院, * 7 富士見丘医院

* 8 城所医院, * 9 しおぎき内科, * 10 鈴木小児科内科医院, * 11 京王八王子駅前診療所, * 12 平田循環器・内科,

* 13 北條医院, * 14 永寿堂医院, * 15 恵仁堂医院, * 16 山口内科・呼吸器科クリニック

Terminator 法による Cycle Sequencing 反応にて処理し、ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer (ABI) を用いたダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。得られた塩基配列のうち、AH1 型では 171 塩基、AH3 型では 309 塩基、B 型では 201 塩基をアミノ酸配列に置換後、ワクチン株 (2005/2006 シーズンおよび 2006/2007 シーズン) および近年流行ウイルス株のアミノ酸配列より作成した遺伝子系統樹を用いて 2006/2007 シーズンに検出された流行株の抗原解析を行った⁴⁾。

4. ウイルス分離試験

細胞培養：咽頭ぬぐい液および鼻腔ぬぐい液は、かくはん後、単層培養した株化細胞 (MDCK、HEp-2) に接種した。MDCK 細胞には、トリプシンを添加した最少必須培地 (MEM) を、HEp-2 細胞には 1% 牛胎児血清を添加した MEM を用いて 37℃ の炭酸ガスふ卵器で培養した。1 週間を 1 継代期間として計 3 代の培養を行った^{5, 6)}。

ふ化鶏卵培養：咽頭ぬぐい液ならびに鼻腔ぬぐい液は、ペニシリン・ストレプトマイシン混合液を添加した MEM にて 10 倍に希釈し、9 日目のふ化鶏卵の奨尿膜腔および羊膜腔に接種した。検体を接種したふ化鶏卵は、35℃ のふ卵器内で 4 日間培養し、この期間を 1 継代期間として計 3 代の培養を行った。培養後のふ化鶏卵は、4℃ で一夜冷却し、ふ化鶏卵の奨尿液および羊水を採取し検査材料とした^{5, 6)}。ふ化鶏卵培養に供する検体の選別は、遺伝子解析においてワクチン株から乖離した結果となり、かつ、細胞培養によって増殖性の認められた検体を選択した。

5. 抗原解析

1 継代期間の培養が終了した検体は、細胞培養上清ならびに奨尿液中のウイルスの有無を確認した。常法に従いモルモット赤血球を用いた凝集反応 (HA) にて凝集を確認されたウイルス株は、国立感染症研究所配布の 2006/2007 シーズン用インフルエンザサーベイランスキットならびにデンカ生研製ワクチン株抗血清を用いて赤血球凝集抑制 (HI) 試験により抗原解析を行った^{5, 6)}。

結 果

1. インフルエンザウイルスの検出状況

14カ所の病原体定点医療機関から搬入された検体は、週あたり平均13件であり、総検体数は249件であった。搬入週別のインフルエンザウイルス検出率は、第3週の1月中旬～第18週の5月中旬までは週あたり40%以上の検出率であった (図1)。

また、Multiplex RT-nested PCR 法によるインフルエンザウイルスの型別遺伝子検出数は、2007 年第 3 週 (1月中旬) に検出した AH1 型および AH3 型をはじめとして、第 23 週 (6月中旬) までに AH1 型を 11 件、AH3 型を 109 件、B 型を 45 件の計 165 件であった (図2)。2007 年 1 月から 6 月までのインフルエンザ遺伝子検出率は、66.3 %

であり、検出された各型の割合は、AH3 型 : B 型 : AH1 型 = 10:4:1 であった。

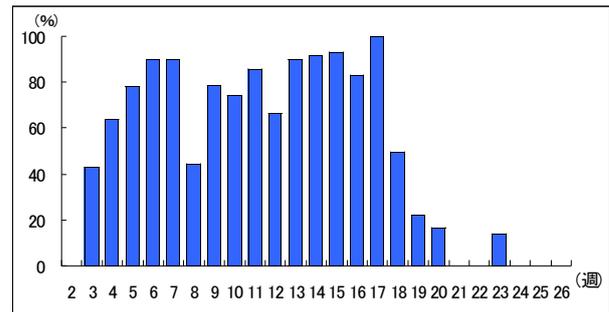


図 1. 週別インフルエンザウイルス検出率

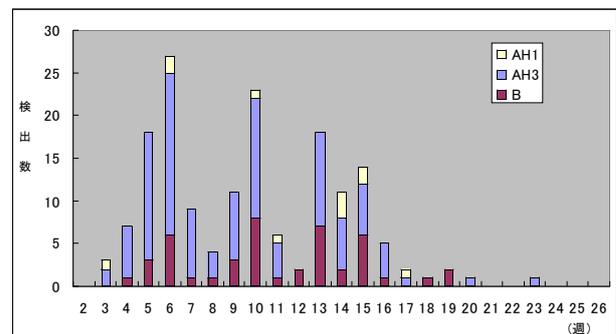


図 2. ウイルス型別検出数の推移

2. 遺伝子解析

2006/2007 シーズンに検出された AH1 型 11 件の HA 解析領域におけるアミノ酸配列は、ワクチン株 (A/New Caledonia/20/99 (H1N1)) と 93.0 ~ 96.5 % (2005/2006 シーズンは 98.2 %) の相同性であった (図 3 に代表株を表示)。今シーズン流行株のアミノ酸配列は、ワクチン株および 1999 年以降に流行した各株と比較すると HA 領域の 182, 205, 206, 210 番目のアミノ酸に変異が確認された (182 番目の V → A, 205 番目の R → K, M, N : 206 番目の A → T : 210 番目の T → K) が確認された。さらに、系統樹上におけるワクチン株と 2006/2007 シーズン流行株の位置は、クラスターを形成しており、ワクチン株から大きく離れていた (図 4)。

A/Newcaledonia/20/99	RNLLWLTGKNGLYPNLSKSYVNNKEKELVLIWGVHPPNIGDGRALYHTENAIVSVV
A/Yokohama/12/2000A.....
A/Tokyo/65/2001A.....
A/Tokyo/72/2001M.....
A/Tokyo/176/2003A.....
A/NewYork/227/2003A.....
A/Tokyo/05-6707/2005A.....
A/Tokyo/05-13072/2006A.....
A/TAMA/200/2006A.....
A/Tokyo/07-135/2007A.....K.....
A/Tokyo/07-373/2007A.....MT.....K.....
A/Tokyo/07-572/2007A.....NT.....
A/Tokyo/07-574/2007A.....K.....
A/Tokyo/07-1252/2007A.....MT.....K.....
A/Solomon Island/03/2006A.....

図 3. 遺伝子増幅領域のアミノ酸配置図 (AH1 型ウイルス)

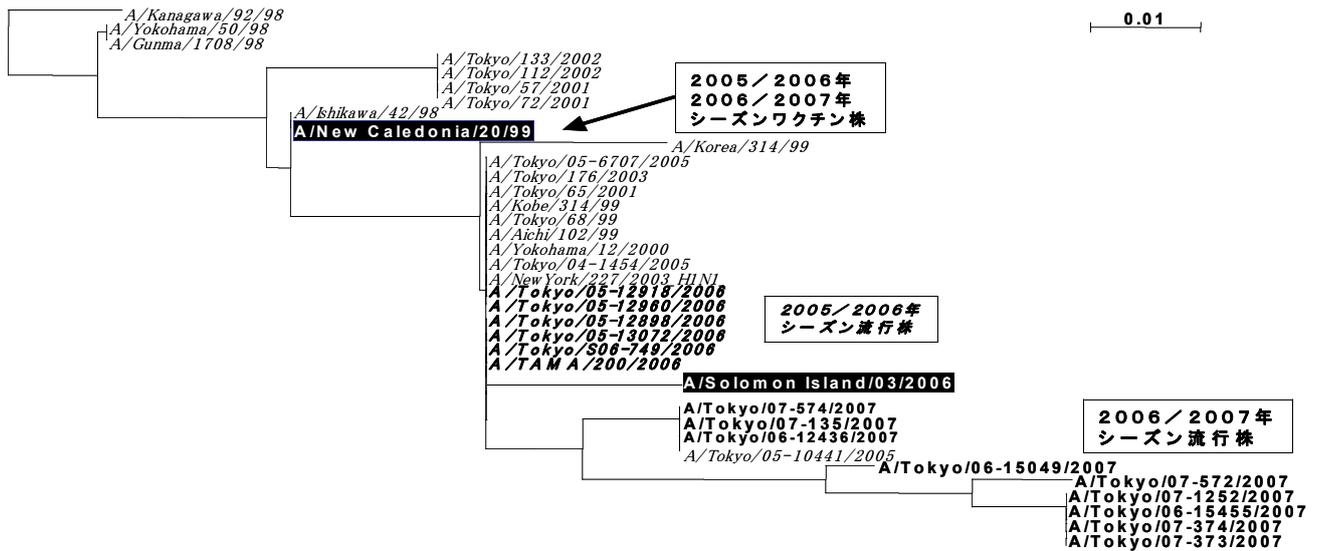


図4. 東京都におけるAH1型インフルエンザウイルスのHA遺伝子系統樹

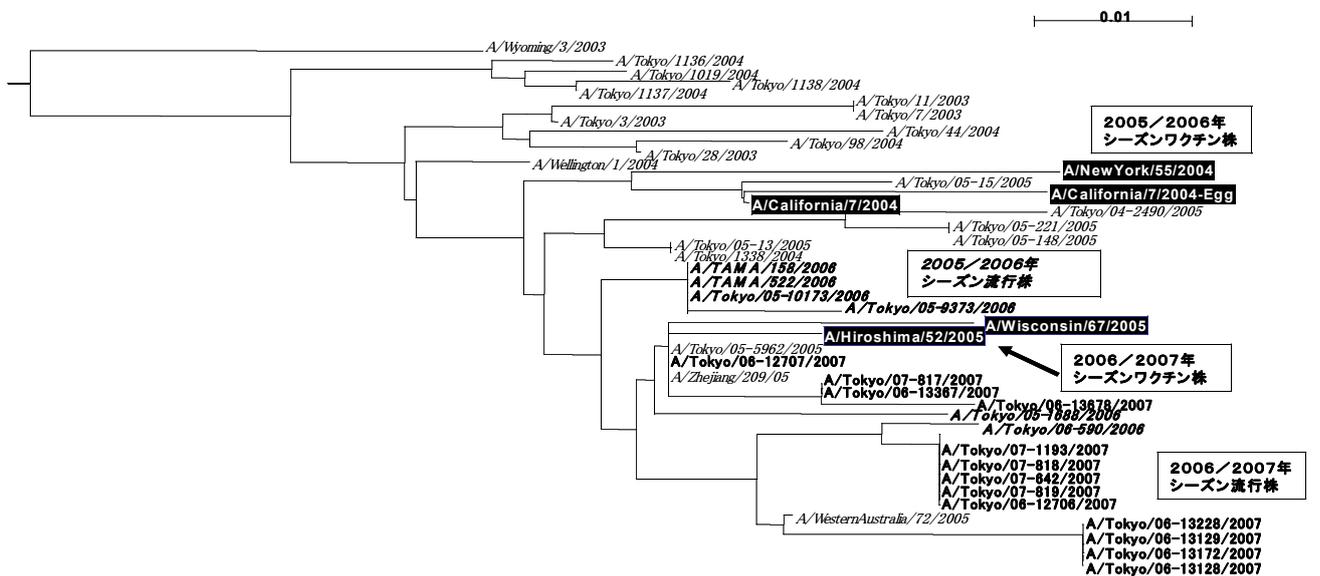


図5. 東京都におけるAH3型インフルエンザウイルスのHA遺伝子系統樹

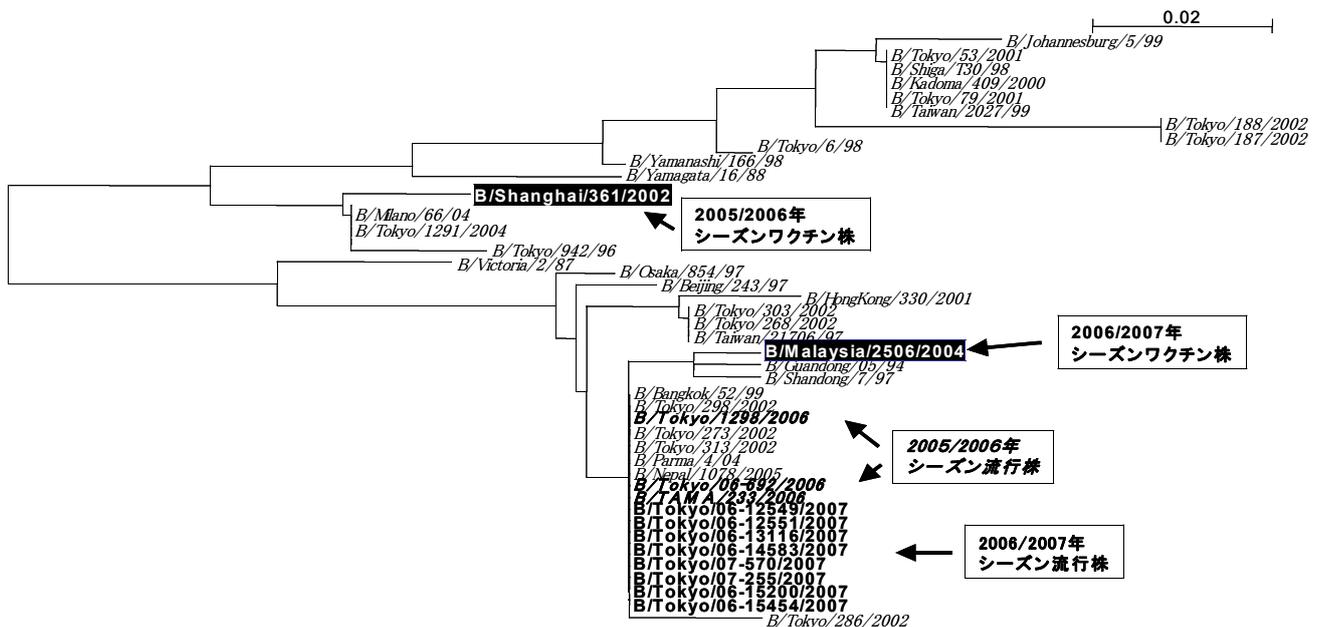


図6. 東京都におけるB型インフルエンザウイルスのHA遺伝子系統樹

A/Hiroshima/52/2005	FNNESFNWTVGTQNGTSSACKRRSNNSSFFSRLNWLTRLKFKYPALNVTMPNNEKFDKLYIGWVHHPGTDNDQIFLYAQASGRITVSTKRSQQTVPNI GSRPR
A/California/7/2004 H..... N.....
A/NewYork/55/2004 S..... H..... V..... Y.....
A/Tokyo/04-2490/2005 H..... S..... K.....
A/Tokyo/05-13/2005 H..... S..... W.....
A/Wisconsin/67/2005 D..... H..... H.....
A/Tokyo/06-590/2006 D..... H..... W.....
A/TAMA/142/2006 H..... W.....
A/Tokyo/06-13128/2007 HS.....
A/Tokyo/06-13172/2007 G..... HS..... E.....
A/Tokyo/06-12706/2007 G..... H.....
A/Tokyo/06-12707/2007 H.....
A/Tokyo/06-13228/2007 G..... HS.....
A/Tokyo/06-13367/2007 I..... H.....
A/Tokyo/07-1193/2007 G. D..... H.....
A/Tokyo/07-2999/2007 I..... H..... A.....

図7. 遺伝子増幅領域のアミノ酸配置図 (AH3型ウイルス)

一方、AH3 型 109 件の HA 解析領域におけるアミノ酸配列は、ワクチン株(A/Hiroshima/52/2005(H3N2))と 96.1 ~ 98.1 %の相同性であった。2006/2007 シーズン流行株のアミノ酸配列は、ワクチン株および 2004 年以降に流行した各株と比較すると (図7に代表株を表示)、2004 年以降継続してみられる変異 (156 番目の R → H)、2006/2007 シーズンの流行株にのみ多くみられる変異 (140 番目の K → I: 142 番目の R → G: 144 番目の N → D: 157 番目の L → S:) および 1 つの流行株のみにみられた変異 (173 番目の F → E, 213 番目の V → A) が確認された。さらに、系統樹上におけるワクチン株と 2006/2007 シーズン流行株の位置は、ワクチン株を含む大きな群に属していたがワクチン株から分枝したところに位置していた (図5)。

2006/2007 シーズンに流行した Victoria 系統の B 型株 45 件の HA 解析領域におけるアミノ酸配列は、ワクチン株 (B/Malaysia/2506/2004) とは 98.5 %の相同性であり、2005/2006 シーズンの流行株と同一であった (図8)。ワクチン株を含めた Victoria 系統の各株とアミノ酸配列を比較するとワクチン株の 210 番目のアミノ酸が歴代の株と異なっている (A → T, I, N) ことが判明したが、2002 年以降の流行株は全て同じアミノ酸配列であった。また、系統樹上の位置も 2005/2006 シーズン株と同位置にあった (図6)。

図8. 遺伝子増幅領域のアミノ酸配置図 (B型ウイルス)

B/Malaysia/2506/2004	TMAWAVPKNDNKATATNSLTIEVPIYICTEGEDQITVWGFHSDNEAQMALYKYGDSKPKFTSSANGVT
B/Victoria/2/87 P. V..... S. T. V.....
B/Guandong/05/94 I.....
B/Shandong/7/97 N.....
B/Bangkok/52/99 T.....
B/HongKong/330/2001 S. T.....
B/Tokyo/273/2002 T.....
B/Tokyo/125/2002 T.....
B/Parma/4/04 T.....
B/Nepal/1078/2005 T.....
B/Ohio/1/2005 I..... T.....
B/Tokyo/1298/2006 T.....
B/Tokyo/06-692/2006 T.....
B/TAMA/233/2006 T.....
B/Tokyo/06-12549/2007 T.....
B/Tokyo/06-15200/2007 T.....
B/Tokyo/07-255/2007 T.....
B/Tokyo/07-570/2007 T.....
	(Victoria lineage)
B/Shanghai/361/2002 N. P. V..... DKT. KN..... N.....
B/Yamagata/16/88 R..... P. V..... K..... KN..... N.....
B/Tokyo/1424/2005 N. P. V..... KT. KN..... N.....
	(Yamagata lineage)

3. ウイルス分離試験

細胞培養：ウイルス分離陽性例は、249 件の検体から AH1 型ウイルスが 8 株、AH3 型ウイルスが 62 株、B 型ウイルスが 25 株の計 95 株であり、分離率は 38.2 %であった。

ふ化鶏卵培養：ふ化鶏卵培養を行った検体は、AH1 型株については 7 件、AH3 型株については 4 件、B 型株については 6 件あり、そのうち分離したウイルス株は、AH1 型株 3 株、AH3 型株 1 株、B 型株 2 株の計 6 株であり分離率は 35.3 %であった。これらの分離株のうち、AH1 型株 2 株と AH3 型株 1 株をインフルエンザワクチン候補株として国立感染症研究所へ分与した。

4. 抗原解析

ウイルス分離試験ならびにふ化鶏卵培養にて分離されたウイルス株は、ワクチン株抗血清を用いた抗原同定HI試験 (0.7 %のモルモット赤血球液を使用) を行った。その結果、AH1 型分離株は A/New Caledonia/20/99 株抗血清 (ホモ HI 価 640 倍) に対して 20 ~ 40 倍の HI 価であった。

一方、AH3 型分離株は、A/Hiroshima/52/2005(H3N2)株抗血清 (ホモ HI 価 640 倍) に対して 320 ~ 640 倍の HI 価を有しており、B 型分離株も B/Malaysia/2506/2004 株抗血清 (ホモ HI 価 640 倍) に対して 160 ~ 640 倍の HI 価を有していた⁷⁾。

考 察

2006/2007 シーズンのインフルエンザ流行は、例年に比べて始まりが遅く、流行型は AH3 型を中心とした AH1 型および B 型の混合流行であった。流行の形態は、1 つの型が先行して流行するのではなく、2 種類または 3 種類の異なった型のウイルスによるインフルエンザが流行した (図2)。流行期間は約 5 ヶ月間であり、例年並みであった。しかし、昨シーズンに比べて流行の開始が 1 ~ 2 ヶ月程遅れたことで、例年には流行が終息する 3 月に定点医療機関からの患者報告数がピークに達するなど⁸⁾、気候的に暖かい時期を迎えても流行の終息とはならなかった。流行の開始時期は、これまで気候的な影響がその一因であると推察されてきたが、流行の持続および終息に関しては近年の沖縄県等において 7 月および 8 月にインフルエンザ流行が報

告されるなど、気候条件が必ずしも流行を左右する条件ではないことが明らかとなってきた。

2006/2007 シーズンに検出されたインフルエンザウイルス流行株の抗原性状は、系統樹解析により AH1 型流行株のクラスター位置がワクチン株の位置から大きく離れていたこと、解析した 57 アミノ酸中 2～4 個のアミノ酸がワクチン株と異なっていたこと、ワクチン株抗血清を用いた HI 試験による抗原解析によりワクチン株との交差反応性が低かったことから、ワクチン株とは異なった株であることが明らかとなった。過去 7 シーズンにわたって抗原性状が維持されてきたウイルスが変異したことは、これまでに獲得された感染防御抗体等による予防措置が十分ではなくなる可能性が高まったと推察される。しかしながら、WHO において 2007/2008 シーズン用に選定された新たな AH1 型ワクチン推奨株 (A/Solomon Islands/03/2006) は、今回の遺伝子解析に用いた系統樹上では今シーズンの流行株に近縁である事が判明している (図 4)。また、新たなワクチン推奨株は、WHO の抗原同定 HI 試験結果においても、今シーズンに流行した株との交差反応性が高かったことが報告されていることから⁹⁾、2007/2008 シーズンのワクチン株近縁の AH1 型ウイルスが流行した場合にはワクチン接種による感染予防効果が期待できるものと思われる¹⁰⁾。

一方、AH3 型は系統樹解析においてワクチン株を含むクラスターに大別されたものの、解析した 103 アミノ酸中 2～4 個のアミノ酸がワクチン株と異なっていた。また、既存のプライマー接合配列部分に変異が生じた株が多数出現したことから、さらに変異した株へと変わっていく可能性が示唆された。しかしながら、ワクチン株抗血清を用いた HI 試験による抗原解析では、ワクチン株と高い交差反応性 (ホモ HI 価に対して 4 倍以内) を示していたことが判っている。これにより今シーズンの流行株は、遺伝子の変異が増加傾向にあるものの、ワクチン接種によって誘導される抗体との反応性は高く、同様のウイルスが 2007/2008 シーズンにも流行した場合には、ワクチン接種による感染予防効果は今シーズンより増大することが推測される。

B 型は、系統樹解析およびワクチン株抗血清を用いた HI 試験による抗原解析で今シーズンのワクチン株と同様の性状を示したことから、ワクチン接種による B 型ウイルスへの予防対策は、効果があつたと思われる。しかしながら、ワクチン接種による B 型ウイルスに対する抗体誘導は、A 型ウイルスに比べて鈍く、高力価の抗体を獲得しにくいことが、これまで無作為に抽出した都民を対象とした抗体調査結果からも判明している^{11), 12)}。ワクチン接種量ならびに B 型ウイルスの抗原量等については、厚生労働省および関係機関の専門官で構成される「予防接種に関する検討会」で討議がなされているところである。したがって、2007/2008 シーズンに流行するウイルスが、今シーズンの流行株と近縁株であった場合、ワクチン接種によって

今シーズン以上の感染予防対策の構築が可能になると推察できるが、感染予防効果の期待度については未知数である。

ワクチン接種による感染予防効果を最大限に活用するには、ワクチン候補株となるウイルスの分離が必須である。現在のワクチンは、ふ化鶏卵を用いて製造されており、次代の流行株と反応性が高く、ふ化鶏卵で増殖性の高いウイルス株が求められている。当センターでふ化鶏卵を用いて分離した 2006/2007 シーズンのウイルス株は、AH1 型株 3 株、AH3 型株 1 株、B 型株 2 株の計 6 株であった。そのうち国立感染症研究所からの依頼により、AH1 型株 2 株と AH3 型株 1 株を分与し、ワクチン候補株として、さらに詳細な検討がなされている。

我が国におけるインフルエンザは、これまで冬季に発生する疾患として考えられてきたが、流行時期の遅延化や初夏までの温暖な気候下でも流行が頻繁に起こるようになり流行期の特定が困難となつてきている¹³⁻¹⁵⁾。これは徐々にではあるが年間を通じて発生する感染症へと変遷する可能性を含んでおり、その動向が危惧されている。また、近年の流行形態は、2 種類または 3 種類の型のウイルスによる混合流行が多くなつており、ウイルス型によっては抗原の連続変異の速度が増加していると考えられる。

インフルエンザウイルスの予防対策には、都内定点医療機関における患者の把握ならびに病原体の採取が必須であり、その病原体の遺伝子および抗原解析を通して流行しているウイルスの情報を医療機関へと還元することで大いに機能すると考えられる。

まとめ

2006/2007 シーズンのインフルエンザ流行は、2007 年 1 月中旬に始まり 6 月中旬までの 5 ヶ月間続いた。流行型は AH1 型株、AH3 型株および B 型株の 3 種類のウイルスであり、AH1 型は発生件数が少なかった。しかし、同時に 2 種類または 3 種類の混合流行が都内全域で発生した。流行したウイルス株の内、AH1 型流行株は、遺伝子解析ならびにワクチン株抗血清を用いた HI 試験による抗原解析で、ワクチン株と異なった株であったことが判明したが AH3 型流行株ならびに B 型流行株は、ワクチン近縁株であったことが判明した。

文 献

- 1) 感染症発生動向調査事業報告書 (平成 18 年), 2006.
- 2) 灘岡陽子, 原綾子, 池田一夫, 他: 東京健安研七年报, **58**, 336-339, 2007.
- 3) 新開敬行, 貞升健志, 長谷川道弥, 他: 東京健安研七年报, **55**, 25-29, 2004.
- 4) Kumar, S., Tamura, K. and Nei, M.: *Briefings In Bioinformatics*, **5**, 150-163, 2004.
- 5) 国立予防衛生研究所学友会編: ウイルス実験学総論, 98-169, 1964, 丸善, 東京

- 6) 厚生省監修 微生物検査必携：ウイルス，リケッチア，クラミジア検査 第3版，2-24，1987，財団法人日本公衆衛生協会，東京
- 7) 2006/07 シーズン前インフルエンザ HI 抗体保有状況調査速報，<http://idsc.nih.go.jp/yosoku/2006Flu/Flu06-4.html>
- 8) 東京都のインフルエンザ流行状況，<http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/flu/2006-07/tokyo06-07.html>
- 9) Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2007-2008 northern hemisphere influenza season. ， <http://www.who.int/csr/disease/influenza/recommendations2007north/en/index.html>
- 10) Suzanne Ot., John V., Judy R., Esther T., *et al.* : *New Engl. J. Med.*, **355**, 2513-2522, 2006.
- 11) 平成 17 年度感染症流行予測調査結果報告書
- 12) 感染症流行予測調査インフルエンザ（流行シーズン前 HI 抗体保有状況），<http://idsc.nih.go.jp/yosoku/index.html>
- 13) 新開敬行，貞升健志，長谷川道弥，他：病原微生物検出情報，**26**(4)，96-97，2005 .
- 14) 新開敬行：東京都微生物検査情報，**27**(1)，1-14,2006.
- 15) 長島真美：東京都微生物検査情報，**28**(4)，1-2，2007.

上記文献中の URL は，2007 年 8 月 30 日現在のものであり，更新または抹消の可能性がある。