

1995-1996 年の札幌市におけるインフルエンザの流行について

吉田 靖宏 布目 博子 本間 真紀 川口 美奈子 原田 良*
大木 忠士 佐藤 泰昌 菊地 由生子

要 旨

今季の札幌市におけるインフルエンザの初分離は 1995 年 11 月のインフルエンザ A ソ連型であった。1996 年 1 月から 2 月にかけて A ソ連型が分離されるなか少ないながら A 香港型が分離された。3 月下旬以降は分離数のうえから A 香港型が A ソ連型を上まわった。さらに 4 月末以降、B 型 2 株が分離された。最終的な分離数は A ソ連型 66 株、A 香港型 68 株、B 型 2 株の合計 136 株となった。今季のインフルエンザウイルスについて特記すべきことは A ソ連型、A 香港型は従来 HA・HI 試験に使用してきたニワトリ赤血球を全く凝集しないことであった。

1. 緒 言

札幌市におけるインフルエンザの流行状況を把握する目的でインフルエンザ様疾患の患者の咽頭拭い液を検査材料としてウイルス分離を実施した。ウイルス分離の検査材料は、内科 1 定点、サーベイランス小児科 9 定点の合計 10 定点で採取した。今季は A ソ連型、A 香港型、B 型の 3 種のインフルエンザウイルスが分離されたので、その分離状況について報告する。また、インフルエンザウイルスの赤血球凝集能の変異が観察されたので併せて報告する。

2. 方 法

2-1 ウイルス分離

インフルエンザ様疾患患者の咽頭拭い液を MDCK 細胞に接種し、33℃ で培養した。継代は 3 代まで実施した。同時に全ての咽頭拭い液についてアデノウイルス等の呼吸器疾患原因ウイルスの分離を目的として KB 細胞を併用した。

インフルエンザウイルスの同定には日本インフルエンザセンター分与のフェレット感染抗血清お

よび一部デンカ生研製抗血清を使用した。分離ウイルスの HA 試験・HI 試験は、ガチョウ赤血球を用いマイクロタイター法により実施した。

アデノウイルスは KB 細胞で CPE を確認後、培養上清をアデノレックス・ドライ（糞便中アデノウイルス検出用試薬、ORION DIAGNOSTICA）に対する凝集によりアデノウイルスであることを確認し、中和法により血清型別した。血清型別には、国立予防衛生研究所分与の抗血清およびデンカ生研製アデノウイルス抗血清を使用した。

エンテロウイルスは KB 細胞で CPE を確認後、デンカ生研製エンテロウイルス抗血清を使用して中和法により同定した。

単純ヘルペスウイルスは KB 細胞で CPE 確認後、感染細胞をスライドグラスにアセトン固定し、マイクロトラック ヘルペスダイレクトテスト (Syva MicroTrack) を用いて型別した。

2-2 インフルエンザウイルスの同定に使用した抗原・抗血清

* 原田医院

A/Yamagata/32/89 (H1N1)
A/Kitakyushu/159/93 (H3N2)
A/Akita/1/94 (H3N2)
B/Mie/1/93

3. 結 果

3-1 市内医療機関におけるインフルエンザ様疾患患者からのウイルス分離状況

調査開始の平成7年10月1日から平成8年5月31日までの間に445検体の咽頭拭い液を採取しMDCK細胞によるインフルエンザウイルスの分離を試みた。

今季のインフルエンザウイルスの初分離は、平成7年11月25日検体採取のAソ連型であった。その後しばらくの間インフルエンザウイルスは分離されず、2株目が検出されたのは1ヵ月後の12月25日採取の検体材料からであった。平成8年1月16日採取の検体からはA香港型1株が検出された。1月下旬から3月中旬にかけてAソ連型ウイルスが多数検出されるなかA香港型ウイルスが少数分離されたが、3月下旬からはA香港型ウイルスが優勢となり5月下旬の調査終了まで検出された。4月末、5月上旬には2株ながらB型株が分離された。最終的なインフルエンザウイルス分離数はAソ連型66株、A香港型68株、B型2株の合計136株であった。

インフルエンザ様疾患患者から分離されたインフルエンザ以外のウイルスは全てKB細胞により分離された。その内訳は、アデノウイルス2型3株、3型5株、5型3株、7型9株、コクサッキーウイルスB群2型2株、単純ヘルペスウイルス1型1株合計23株であった。例年アデノウイルスはインフルエンザ様の患者から比較的良好に分離されるが、従来国内では検出が極めて稀であったアデノウイルス7型が9株分離された。¹⁾²⁾

全国的には、今季はAソ連型が主流であったが³⁾、札幌市では4月-5月の流行末期になってA香港型が多数検出され、シーズン全体をとおしてみ

ると、分離数ではA香港型がAソ連型を超えた(表1)。

3-2 分離ウイルスの性状

分離ウイルスの性状ではAソ連型、B型についてはほぼワクチン株の類似株であり、A香港型についてはワクチン株であるA/北九州/159/93から変異した標準株のA/秋田/1/94類似株であった(表2)。

今季分離されたインフルエンザウイルスAソ連型およびA香港型については従来HA・HI試験に用いてきたニワトリ赤血球をほとんど凝集することが出来なかった。

信沢らの報告⁴⁾で近年A型インフルエンザウイルスのニワトリ赤血球に対する血球凝集能が低下していることが指摘されていたため、シーズン当初ニワトリ、モルモット、ガチョウの3種の赤血球を準備してインフルエンザウイルスの流行期に備えたところ、従来HA・HI試験に使用してきたニワトリ赤血球はAソ連型およびA香港型のインフルエンザウイルスとHA反応を示さなかった。モルモット、ガチョウ赤血球は両A型インフルエンザウイルスを凝集した。HAにより比較するとモルモット赤血球はガチョウ赤血球より約4倍(マイクロタイター法により2穴相当)A型インフルエンザウイルスをよく凝集したが、HA・HI試験時の凝集像はガチョウ赤血球を用いたほうがエンドポイントが判断しやすく、血球の保存性、安定性(モルモット赤血球はガチョウ赤血球にくらべ溶血しやすい)もモルモット赤血球に優ることからシーズンを通してB型を含めたインフルエンザウイルスのHA・HI試験にはガチョウ赤血球を使用した。

4. 考 察

分離されたAソ連型ウイルス、A香港型ウイルスはともに従来HA・HI試験に常用されてきたニワトリ赤血球を凝集する能力をもたなかった。このたびのHAの異常はインフルエンザウイルスの動向をMDCK細胞によるウイルス分離、HA・HI

試験といった手段によって監視してきた立場にとっては手技的に重大な変異であったと考えられる。今後さらに大きな HA の異常が起こった場合には、新型ウイルスの出現⁹⁾を待たずに流行ウイルスを検出できなくなったり、一時的に流行ウイルスを見失う可能性がある。また北海道・東北・新潟地区の地方衛生研究所の病原体検出速報から得られた範囲でも、今季のインフルエンザの HA・HI 試験に用いた赤血球はモルモット、ヒト、ガチョウと少なくとも 3 種にわたっており、今後他の地方衛生研究所との抗原分析結果の直接比較が難しくなる可能性がある。

5. 結 語

今季の札幌市におけるインフルエンザの流行は

1995 年 11 月に最初の A ソ連型が検出されたものの、本格的に A ソ連型ウイルスが分離されたのは 1996 年 1 月下旬から 3 月にかけてであった。1996 年 1 月、2 月に少数ながら分離されていた A 香港型ウイルスは 3 月下旬以降多数分離され調査終了の 5 月まで分離された。1996 年 4 月、5 月にはそれぞれ 1 株の B 型ウイルスが分離された。今季分離の A ソ連型ウイルス、A 香港型ウイルスは従来 HA・HI 試験に一般に用いられてきたニワトリ赤血球をほとんど、あるいは全く凝集しなかった。今後さらにインフルエンザ流行株に HA・HI 試験に影響する様な変異がみられる可能性があり、新型ウイルスの出現も予想されることからインフルエンザウイルスの動向にはよりいっそうの注意を払う必要がある。

表 1 1995-1996 インフルエンザ様疾患患者からのウイルス分離状況

| 検体採取月 | 1995/10 | 11 | 12 | 1996/1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 合計 |
|-----------------|---------|----|----|--------|----|-----|----|----|-----|
| 検体数 | 10 | 31 | 52 | 45 | 99 | 110 | 70 | 28 | 445 |
| 分離ウイルス | | | | | | | | | |
| Influenza A(H1) | 0 | 1 | 1 | 8 | 34 | 22 | 0 | 0 | 66 |
| Influenza A(H3) | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 21 | 38 | 6 | 68 |
| Influenza B | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| Adeno-2 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| Adeno-3 | 0 | 0 | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| Adeno-5 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 |
| Adeno-7 | 1 | 1 | 3 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 9 |
| Coxsackie B-3 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| HSV-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |

表2 1995-1996 分離インフルエンザウイルス代表株の抗原分析結果

| Antigen / Antiserum | A/山形 | A/北九州 | A/秋田 | B/三重 |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| A/山形/32/89(H1N1) | <u>4096</u> | <16 | <16 | <16 |
| A/北九州/159/93(H3N2) | <16 | <u>2048</u> | 256 | <16 |
| A/秋田/1/94(H3N2) | <16 | 256 | <u>4096</u> | <16 |
| B/三重/1/93 | <16 | <16 | <16 | <u>2048</u> |
| 分離ウイルス株 | | | | |
| A/札幌/101/95(H1) | 2048 | <32 | <32 | <32 |
| A/札幌/301/96(H3) | <32 | 1024 | 2048 | <32 |
| B/札幌/1/96 | <32 | <32 | <32 | 1024 |

6. 文 献

- 1) 病原微生物検出情報 (月報) 16, No.11 (No.189), 3, 1995
- 2) 病原微生物検出情報 (月報) 17, No.5 (No.195), 1-6, 1996.
- 3) インフルエンザ流行情報 (速報) 1995-1996
- 4) 信沢枝里ら, 第43回日本ウイルス学会演説抄録 1009, 73, 1995.
- 5) 田代真人, 病原微生物検出情報 (月報) 17, No.1 (No.191), 7-8 (1996)

Epidemiological Studies on Influenza in Sapporo 1995-1996

Yasuhiro Yoshida, Hiroko Nunome, Maki Homma, Minako Kawaguchi,
Masaru Harada,* Tadashi Ooki, Yasumasa Sato, and Yuko Kikuchi

The influenza virus isolated first in Sapporo this season was the A(H1)-type virus which was isolated in November 1995 and detected until March 1996. By March 1996, the A(H3)-type became the dominant virus, and only 2 strains of B-type virus could be found. The A(H1)-type and A(H3)-type influenza virus isolated this season, could not agglutinate chicken RBC.

* Harada Doctor's Office