

ウエストナイル熱媒介蚊調査 (平成18、19年度)

微生物課 平野敬之 増本久人 坂本晃子 真茅美樹 船津丸貞幸

キーワード：ウエストナイル熱 蚊 LAMP法 RT-PCR法

1 はじめに

ウエストナイルウイルス(以下、WNV)感染に起因するウエストナイル熱は、1937年にアフリカ、ウガンダのWest Nile地方で発見されて以来、主にアフリカ、ヨーロッパ、西アジアで患者発生報告があり、アメリカ大陸での患者発生はなかった。しかしながら、1999年アメリカ合衆国のニューヨーク市周辺での流行が報告されたことから大きな注目をあつめるようになった。その後も全米に拡大し、CDCの報告によるとアメリカ合衆国での感染者数(死者数)は、2006年が4,269名(177名)、2007年が3,598名(121名)と毎年多数の感染者と死亡者が報告されている。

WNVは、自然界において鳥と蚊の間で感染環が形成され維持されており、ヒトへの感染は蚊によって媒介されている。ヒトのほか、トリ、ウマなどの動物への感染が確認されている。

日本においては、ウイルスの侵入はまだ見られていないが、平成17年にはわが国で初めてウエストナイル熱流行地域からの入国者で輸入感染例が確認された。交通機関の発達や海外との物資交流が盛んな現在ウイルスの侵入が危惧され、全国各地で蚊のウイルス保有調査が実施されている。

佐賀県においても、平成17年度よりウエストナイル熱媒介蚊調査事業を行っており、平成18、19年度も引き続き媒介蚊のWNV保有調査を行ったので、その結果について報告する。

2 対象および方法

- 1) 調査地点：本調査は県内の各保健福祉事務所1ヶ所ずつ合計5ヶ所で行った(表1)。なお、唐津保健福祉事務所については、平成19年度の設置場所が変更となっている。
- 2) 調査時期および捕集方法：調査時期は平成18、19年のそれぞれ6月から10月までの5ヶ月間で月2回ずつ実施され、ドライアイストラップ方式にて捕集した。捕集器はABC TRAP(環境機器株式会社)を使用し、ドライアイス約2kg投入して高さ1.0~1.4mに24時間設置した。捕集した蚊は雌について各保健福祉事務所で分類同定後、衛生薬業センターへ搬入された。

表1 ウエストナイル熱媒介蚊調査地点

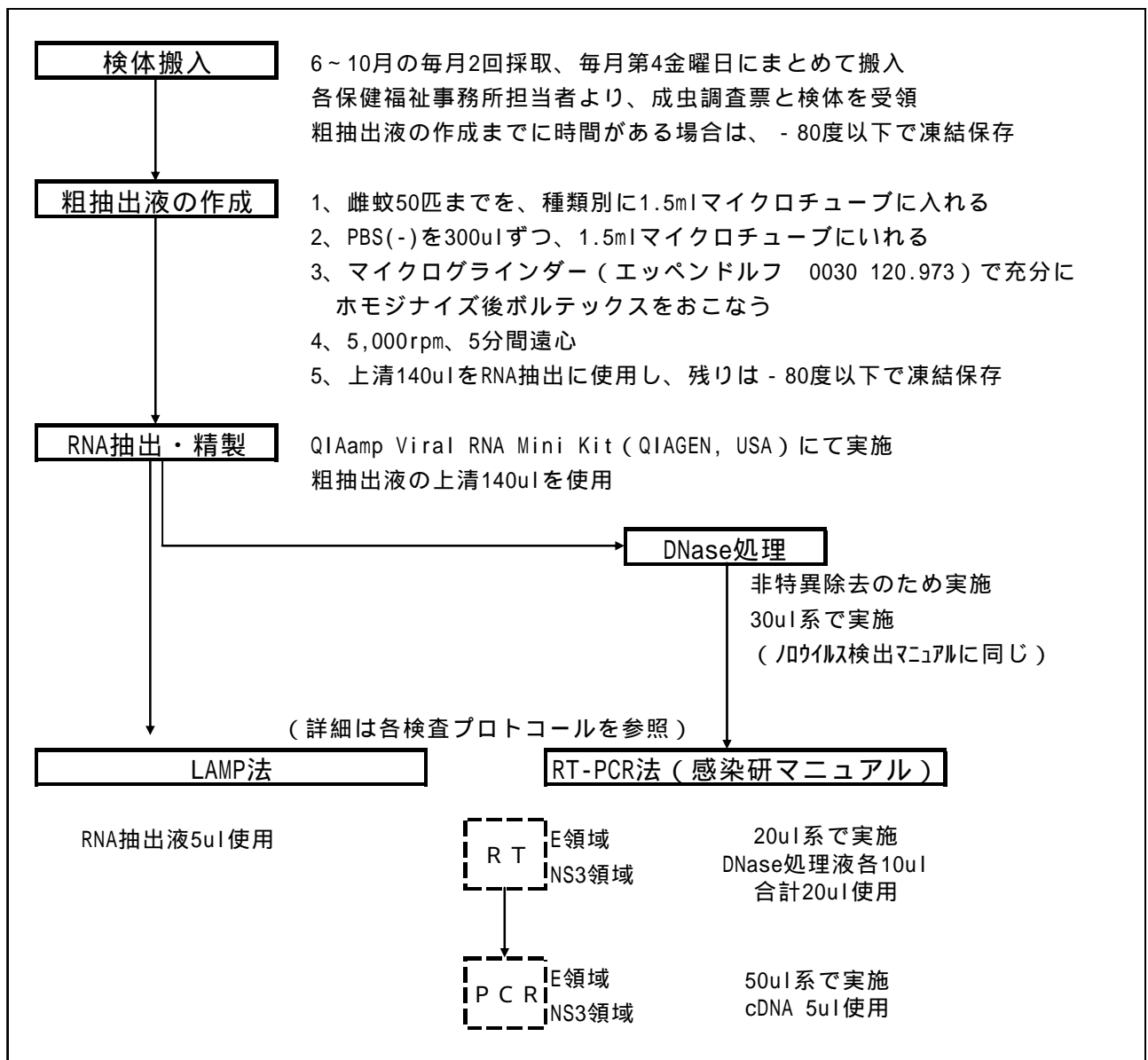
保健福祉事務所名	設置場所(平成18、19年度)	住所	設置環境	ドライアイストラップ設置高さ
佐賀中部	佐賀衛生合同庁舎敷地内	佐賀市八丁畷町1-20	住宅地(水田隣接)	1.2m
鳥栖	鳥栖保健福祉事務所畑	鳥栖市元町1234-1	住宅地	1.2m
唐津	唐津市大成公民館南側(平成18年度)	唐津市富士見町1-1	住宅地	1.4m
	唐津保健福祉事務所西側(平成19年度)	唐津市大名小路3-1	住宅地	1.3m
伊万里	伊万里総合庁舎敷地内	伊万里市新天町坂口122-4	高台	1.2m
杵藤	杵藤保健福祉事務所南倉庫前	武雄市武雄町大字昭和265	住宅地	1.0m

3) 検査方法(図1): 検査はLAMP法(栄研化学)により行い、並行してRT-PCR法(ウエストナイルウイルス病原体検査マニュアル¹⁾)により、WNV特異的なE領域と日本脳炎ウイルスを含むフラビウイルス属ウイルスを検出可能なNS3領域について遺伝子検出を試みた。

蚊は種類ごとに分け、各々50匹以下を1つのプールとした。1.5mlのマイクロチューブにPBS(-)を300ulずつ入れ、その中でマイクログラインダー(エッペンドルフ 0030 120.973)を使用し十分にホモジナイズ後ボルテックスを行った。5,000rpm、5分間遠心後、上清140ulからQIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN, USA)を使用してRNAを抽出した。

LAMP法はこのRNA抽出液から直接実施し、RT-PCR法はDNase処理後(ノロウイルス検出マニュアル²⁾に同じ)上記マニュアル¹⁾に準じ実施した。

図1 ウエストナイルウイルス遺伝子検査フロー図



3 結果

1) 平成18年度調査結果を表2-1に示す。県内5ヶ所の捕集場所にて捕集された蚊の総数は871匹で、各捕集時期における捕集数は最小20匹(6月下旬)~最多204匹(8月下旬)であった。月別の捕集数で見ると6月が最も少なく49匹で、7月が277匹と最も多く全捕集数の31.8%を占めていた。7、8、9月における捕集数が全体の捕集数の87.0%(758匹)を占めていた。

表2-1 ウエストナイル熱媒介蚊調査結果(平成18年度)

捕集場所 (保健福祉 事務所)	捕集時期 蚊の種類(捕集数:匹)	6月		7月		8月		9月		10月		総計
		上旬	下旬	上旬	下旬	上旬	下旬	上旬	下旬	上旬	下旬	
		第1回	第2回	第3回	第4回	第5回	第6回	第7回	第8回	第9回	第10回	
佐賀中部	イエカ属	18	14	14	56	12	64	106	9	20	22	335
	ヤブカ属				3	1	2	3				9
	ハマダラカ属						2	13	1		1	17
	その他											
	WNV検出	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	小計	18	14	14	59	13	68	122	10	20	23	361
鳥栖	イエカ属	7	3	79	45	22	106	7	3	3		275
	ヤブカ属	1	1	39	6		5	40	8			100
	ハマダラカ属											
	その他											
	WNV検出	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		
	小計	8	4	118	51	22	111	47	11	3		375
唐津	イエカ属	2										2
	ヤブカ属	1			9						1	11
	ハマダラカ属											
	その他									1		1
	WNV検出	(-)			(-)						(-)	
	小計	3			9					2		14
伊万里	イエカ属		2		4	3	7	1			1	18
	ヤブカ属				2			4	4	1	1	12
	ハマダラカ属											
	その他											
	WNV検出		(-)		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	小計		2		6	3	7	5	4	1	2	30
杵藤	イエカ属			9	9	1	18	26	12	6	6	87
	ヤブカ属			1	1	1					1	4
	ハマダラカ属											
	その他											
	WNV検出			(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	小計			10	10	2	18	26	12	6	7	91
佐賀県合計	イエカ属	27	19	102	114	38	195	140	24	29	29	717
	ヤブカ属	2	1	40	21	2	7	47	12	2	2	136
	ハマダラカ属						2	13	1		1	17
	その他									1		1
	WNV検出	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	総合計	29	20	142	135	40	204	200	37	32	32	871

2) 平成19年度調査結果を表2-2に示す。県内5ヶ所の捕集場所にて捕集された蚊の総数は624匹で、各捕集時期における捕集数は最小14匹(10月上旬)~最多183匹(9月上旬)であった。月別の捕集数でみると10月が最も少なく37匹で、9月が269匹と最も多く全捕集数の43.1%を占めていた。7、8、9月における捕集数が全体の捕集数の81.1%(506匹)を占めていた。

表2-2 ウエストナイル熱媒介蚊調査結果(平成19年度)

捕集場所 (保健福祉 事務所)	捕集時期 蚊の種類(捕集数:匹)	6月		7月		8月		9月		10月		総計
		上旬	下旬	上旬	下旬	上旬	下旬	上旬	下旬	上旬	下旬	
		第1回	第2回	第3回	第4回	第5回	第6回	第7回	第8回	第9回	第10回	
佐賀中部	イエカ属	16	17	33	8	27	15	142	57	3	3	321
	ヤブカ属			1	2		1	2	11	2	1	20
	ハマダラカ属								6			6
	その他											
	WNV検出	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	小計	16	17	34	10	27	16	144	74	5	4	347
鳥栖	イエカ属		7	15	18	3	12	18			2	75
	ヤブカ属			3	16	1	4	4	1	1	15	45
	ハマダラカ属											
	その他											
	WNV検出		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	小計		7	18	34	4	16	22	1	1	17	120
唐津	イエカ属	2		3	1	1		2	1			10
	ヤブカ属	3			2	2	2	1	4	2		16
	ハマダラカ属											
	その他											
	WNV検出	(-)		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		
	小計	5		3	3	3	2	3	5	2		26
伊万里	イエカ属	4	13	14	3	4	6	3	1	2		50
	ヤブカ属	2	1	8	4	1	2	4	2	1		25
	ハマダラカ属							1				1
	その他											
	WNV検出	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		
	小計	6	14	22	7	5	8	8	3	3		76
杵藤	イエカ属	7	7	6	3	4	3		1	2	2	35
	ヤブカ属				1				1			2
	ハマダラカ属		2	1		2	2	6	1	1		15
	その他			3								3
	WNV検出	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	小計	7	9	10	4	6	5	6	3	3	2	55
佐賀県合計	イエカ属	29	44	71	33	39	36	165	60	7	7	491
	ヤブカ属	5	1	12	25	4	9	11	19	6	16	108
	ハマダラカ属		2	1		2	2	7	7	1		22
	その他			3								3
	WNV検出	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	総合計	34	47	87	58	45	47	183	86	14	23	624

捕集場所で見ると、平成18年度は鳥栖保健福祉事務所(住宅地)が最も多く375匹(全捕集数の43.1%)で、唐津保健福祉事務所(住宅地)が最も少なく14匹(全捕集数の1.6%)であった。平成19年度は佐賀中部保健福祉事務所(住宅地:水田隣接)が最も多く347匹(全捕集数の55.6%)で、唐津保健福祉事務所(住宅地)が最も少なく26匹(全捕集数の4.2%)であった。

最も多く捕集された種類は、平成18年度はイエカ属の717匹で全体の82.3%を占め、次いでヤブカ属の136匹(全捕集数の15.6%)であった。捕集場所別では唐津保健福祉事務所を除く4箇所でイエカ属の占める割合が多く、その割合は60.0%から95.6%であった。平成19年度はイエカ属の491匹で全体の78.7%を占め、次いでヤブカ属の108匹(全捕集数の17.3%)であった。捕集場所別では唐津保健福祉事務所を除く4箇所でイエカ属の占める割合が多く、その割合は62.5%から92.5%であった。

イエカ属、ヤブカ属は平成18、19年度ともにすべての捕集場所・捕集時期で捕獲されたが、ハマダラカ属は、平成18年度が佐賀中部保健福祉事務所(住宅地:水田隣接)で8月下旬から10月下旬のみ捕集、捕集数はわずか17匹(全捕集数の2.0%)で、平成19年度が佐賀中部(住宅地:水田隣接)、伊万里(高台)、杵藤(住宅地)の各保健福祉事務所で捕集され、捕集数は22匹(全捕集数の3.5%)であった。特に杵藤保健福祉事務所(住宅地)での捕集数が15匹と、ハマダラカ属捕集数の68.2%を占めていた。

遺伝子検査は、平成18年度が871匹(総プール数69検体)、平成19年度が624匹(総プール数87検体)について実施し、WNVはすべて陰性であった。並行して行ったRT-PCR法においても、日本脳炎ウイルスを含むフラビウイルス属ウイルスも検出されなかった。

4 考察

平成17年度の調査結果³⁾と同様、平成18、19年度の調査でも捕集場所による蚊の捕集数にかなりの差が見られた。佐賀中部保健福祉事務所(住宅地:水田隣接)が多く、唐津保健福祉事務所(住宅地)が少ない結果となり、捕集器の設置場所による違いが明らかとなった。この設置場所については、蚊からのWNV検出や蚊の発生状況調査には、一ヶ所で多数の蚊を採集するよりも対象地域内にある住宅地や公園、神社、寺、遊園地など、人が蚊に刺される可能性の高い場所の複数ヶ所で採集することが望ましい⁴⁾とされている。唐津保健福祉事務所(住宅地)については、平成17、18年度の調査で捕集数が少なかったこともあり、平成19年度の調査では捕集場所の変更を行ったが、ほぼ例年通りの少ない結果となっており、調査地点等の再検討が必要と考えられる。

捕集された蚊の種類はイエカ属が最も多く、平成18年度は全体の82.3%、平成19年度は全体の78.7%を占めていた。次いで多く捕集された種類はヤブカ属であり、イエカ属とヤブカ属の2種類が全捕集数に占める割合は、平成18年度が98.0%、平成19年度が96.0%であり、平成17年度の調査結果(96.5%)とほぼ同様であった。捕集される蚊の種類については、調査地域等によりイエカ属が優位を占める報告^{5)、6)}やヤブカ属が優位を占める報告^{7)、8)}などさまざまであるが、佐賀県では3年間同様の結果となっている。

米国の調査によると30種類以上の蚊の体内からWNVが検出されている。その中で、日本で夏季に頻繁に刺されるヒトスジシマカ、アカイエカ等はWNVに対して高い感受性を持っている事が確認されており⁴⁾、国内にウイルスが侵入した場合には徹底した媒介蚊対策が必要となってくる。

遺伝子検査では、蚊からWNV遺伝子は検出されなかった。また、並行して他のフラビウイルス属ウイルスも検索したが、同様に陰性であった。しかしながら、今回の調査で佐賀県内5ヶ所の地区でWNVに

対して高い感受性を持っている蚊が確認されていることや、佐賀県内には空港や港もあることからフラビウイルス保有蚊が侵入する可能性もあり、今後もWNVなどのフラビウイルス侵入の早期探知、迅速な対応を目的として、調査地点、捕集方法等の検討をしながら、引き続き本調査を行うことが重要と考える。

謝辞

本調査にあたりご協力いただきました生活衛生課および各保健福祉事務所の担当者の方々に深謝いたします。

文献

- 1) 国立感染症研究所：ウエストナイルウイルス病原体検査マニュアル(第3版)、2005
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長：ノロウイルスの検出法について、2003
- 3) 平野敬之ほか：ウエストナイル熱媒介蚊調査(平成17年度)、佐賀県衛生薬業センター所報、29、47-50、2007
- 4) 厚生労働省厚生労働科学研究：ウエストナイル熱媒介蚊対策に関するガイドライン、2003
- 5) 横井寛昭ほか：名古屋市内における蚊のウエストナイルウイルス調査(2005)、Ann.Rep.Nagoya City Public Health Res.Inst.、52、19-21、2006
- 6) 平良勝也ほか：沖縄県におけるフラビウイルス媒介蚊に関する調査、沖縄県衛生環境研究所報、41、39-44、2007
- 7) 押部智宏ほか：兵庫県におけるウエストナイルウイルスに関する蚊のサーベイランス(2006年)、兵庫県立健康環境科学研究所紀要 第4号、26-29、2007
- 8) 野口有三ほか：横浜市におけるウエストナイルウイルスのサーベイランス(平成18年度集計)、Ann.Rep.Yokohama Inst. Health、46、81-84、2007