

ウエストナイル熱媒介蚊調査 （平成17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り、その後も全米に拡大し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、蚊のWNV保有の有無を調べることを目的として媒介蚊調査を行ったので、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所1ヶ所ずつ合計5ヶ所で行った（表1）。
- 2) 調査時期および捕集方法：平成17年7月から10月までの4ヶ月間で月2回ずつ実施され、ドライイラ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。

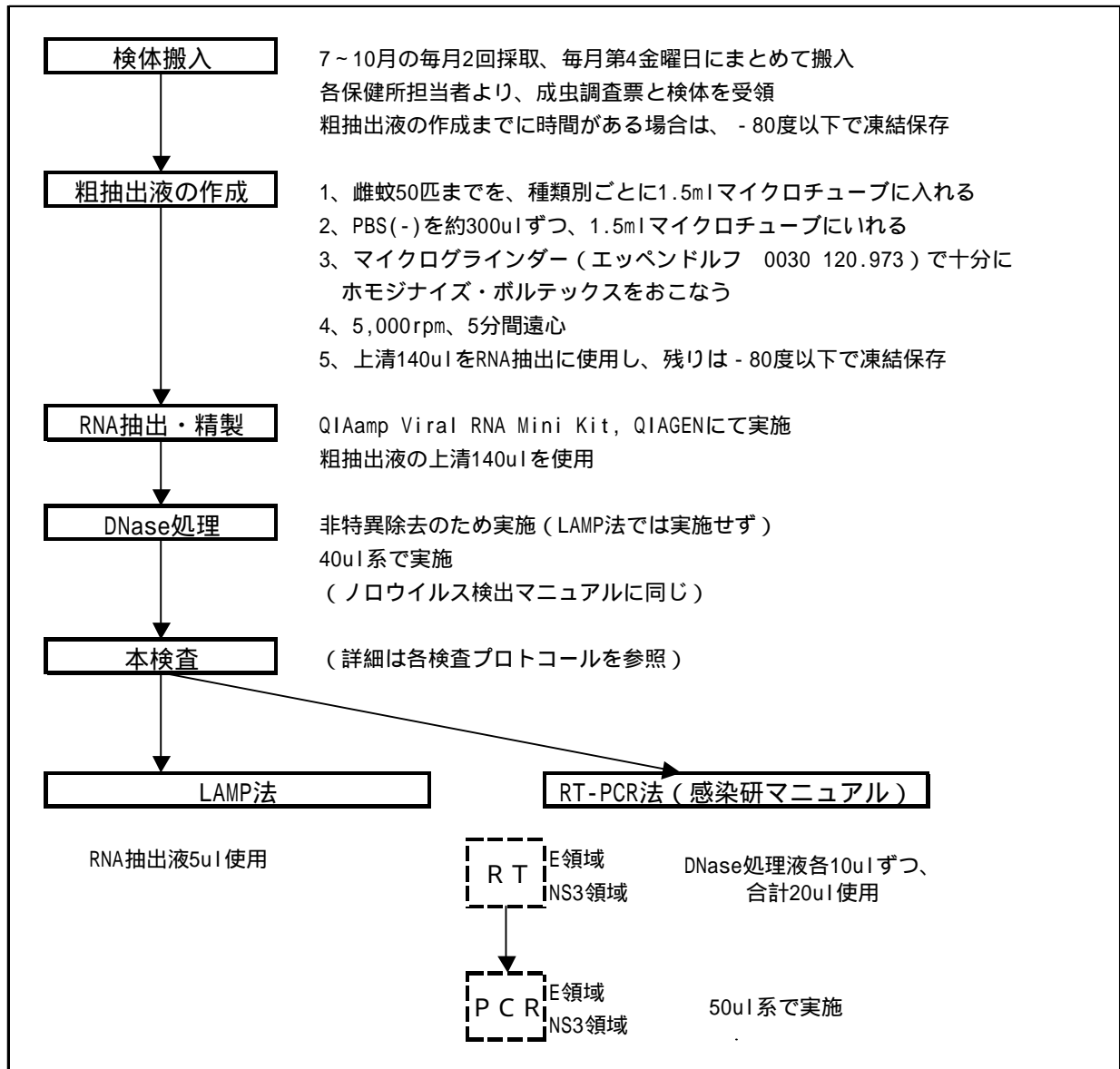
表1 ウエストナイル熱媒介蚊調査地点

保健所名	設置場所	住所	設置環境	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	水田隣接	1.2m
鳥栖	鳥栖保健所敷地内	鳥栖市元町1234-1	住宅地	1.2m
唐津	唐津市大成公民館南側	唐津市富士見町1-1	住宅地	1.4m
伊万里	伊万里保健所敷地内	伊万里市新天町坂口122-4	高台	1.2m
杵藤	天神崎公園南東隅	武雄市武雄町昭和221番地	公園	1.0m

3) 検査方法(図1): 検査はLAMP法(栄研化学)により行ったが、一部の株はこの方法で検出されないことが確認されていたため並行して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

調査結果を表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461匹で、各捕集時期における捕集数は最小27匹(10月下旬)～最多118匹(8月上旬)であった。8、9月における捕集数が全体の捕集数の70%を占めていた。

表2 ウエストナイル熱媒介蚊調査結果

捕集場所 (保健所)	捕集時期 蚊の種類(捕集数:匹)	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	
		第1回	第2回	第3回	第4回	第5回	第6回	第7回	第8回	
佐賀中部	イエカ属	12	10	27	12	29	14	26	21	151
	ヤブカ属		6	3	4	4	2	1	2	22
	ハマダラカ属					2				2
	その他									
	WNV検出	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	小計	12	16	30	16	35	16	27	23	175
鳥栖	イエカ属	10	3	16		34	22			85
	ヤブカ属	1	2	4	2	2	1	4	4	20
	ハマダラカ属					3				3
	その他									
	WNV検出	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	小計	11	5	20	2	39	23	4	4	108
唐津	イエカ属		4		7	3				14
	ヤブカ属				4	6				10
	ハマダラカ属									
	その他		4							4
	WNV検出	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	小計	0	8	0	11	9	0	0	0	28
伊万里	イエカ属	4		8	17	7	3	1		40
	ヤブカ属		1			3	2	3		9
	ハマダラカ属				2		1			3
	その他									
	WNV検出	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	小計	4	1	8	19	10	6	4	0	52
杵藤	イエカ属	13	4	55		3	14			89
	ヤブカ属			1	2		2			5
	ハマダラカ属			4						4
	その他									
	WNV検出	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	小計	13	4	60	2	3	16	0	0	98
佐賀県合計	イエカ属	39	21	106	36	76	53	27	21	379
	ヤブカ属	1	9	8	12	15	7	8	6	66
	ハマダラカ属	0	0	4	2	5	1	0	0	12
	その他	0	4	0	0	0	0	0	0	4
	WNV検出	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	総合計	40	34	118	50	96	61	35	27	461

捕集場所で見ると、佐賀中部保健所(水田隣接)が最も多く175匹で、唐津保健所(住宅地)が最も少なく28匹であった。

最も多く捕集された種類は、イエカ属の379匹で全体の82.2%を占め、次いでヤブカ属の66匹(全体の14.3%)であった。捕集場所別に見てもイエカ属の占める割合が最も多く、50%(唐津保健所:住宅地)~90.8%(杵藤保健所:公園)であった。

イエカ属、ヤブカ属はすべての捕集場所・捕集時期で捕獲されたが、ハマダラカ属は伊万里保健所(高台)と杵藤保健所(公園)で8、9月のみ捕集された。

遺伝子検査は461匹について行い、総プール数は59検体となり、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

今回の調査では、捕集場所による蚊の捕集数にかなりの差が見られた。佐賀中部保健所(水田隣接)が最も多く、唐津保健所(住宅地)や伊万里保健所(高台)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³⁾とされている。しかし、この場合設置等に係る費用、労力の増大、ドライアイスによる事故や盗難防止等に対する配慮が必要となり⁴⁾、今後の課題と考える。その他、今回使用した捕集器は蚊の吸い込み口が小さいため、思ったほど捕集数が伸びなかったようである。この点については、捕集担当者が吸い込み口を広げるなどして対応した。

捕集された蚊の種類はイエカ属が最も多く全体の82.2%を占め、次いでヤブカ属であり、この2種類で全捕集数の96.5%を占めており、他の報告^{4), 5)}と同様であった。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³⁾、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おり、今後もWNV侵入の早期探知、迅速な対応を目的として、引き続き本調査を行うことが重要と考える。

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) 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
- 4) 小曾根恵子ほか：横浜市における蚊成虫捕獲調査(2003年度)、ペストロギー学会誌、19(2)、103-108、2004
- 5) 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16年度集計)、Ann.Rep.Yokohama Inst. Health、44、75-78、2005