

大阪府におけるウエストナイルウイルスに対するサーベイランス調査 (2008年度)

青山幾子^{*1} 弓指孝博^{*1} 中田恵子^{*1} 佐藤功^{*2} 佐藤良江^{*3}
倉持隆^{*4} 上澤行成^{*4} 加瀬哲男^{*1} 高橋和郎^{*5}

大阪府ではウエストナイルウイルス(WNV)の侵入を監視する目的で、2003年度より媒介蚊のサーベイランス事業を実施している。また、死亡原因の不明な鳥死骸が2羽以上同地点で見られた場合、その鳥についてもWNV検査を実施している。

2008年度は6月末から10月にかけて府内20カ所で蚊の捕集を行い、得られた雌の蚊についてWNV遺伝子の検出を試みた。捕集された蚊は5種3514匹で、そのうちアカイエカ群(50.5%)とヒトスジシマカ(48.7%)が大部分を占め、他にコガタアカイエカ(1.2%)、シナハマダラカ(0.3%)、イナトミシオカ(0.03%)が捕集された。定点及び種類別の蚊338プールについて遺伝子検査を実施したが、すべての検体においてフラビウイルスあるいはWNVの遺伝子は検出されなかった。また、2008年度当所に搬入された死亡カラス(6頭)についても同様に遺伝子検査を行ったが、すべての検体においてフラビウイルスあるいはWNVの遺伝子は検出されなかった。

キーワード:ウエストナイルウイルス、媒介蚊、サーベイランス、RT-PCR、カラス

Key words : West Nile Virus, vector mosquitoes, surveillance, RT-PCR, crow

ウエストナイル熱は蚊によって媒介されるウイルス性の熱性疾患である。その病原体であるウエストナイルウイルスは1937年にアフリカで発見されて以後、アフリカ、ヨーロッパ、西アジア、中東を中心に散発的に流行がみられていた¹⁾。しかし1999年夏にニューヨークで初めて流行が確認されて以後、米国においてウ

エストナイル熱の流行は毎年発生し、多くの患者や死者が報告されている²⁾。また、カナダやメキシコ、ハンガリー、イタリアでも患者が発生し、南米やオーストラリアにおいても鳥や馬の感染が報告されている³⁻⁹⁾。

このような国際的な感染症が、我が国にいつ侵入してくるかは予測できない。ウエストナイル熱の侵入・蔓延を防止するためにはWNVに対する継続的な監視を行い、早期発見、防疫対策を行うことが必要と考えられる。特に、関西国際空港や大阪港を擁する大阪府は、十分な警戒態勢をとっておくことが重要である。

大阪府ではベクターとなり得る蚊の種類や、蚊のウイルス保有について調べるため、2003年度より蚊のサーベイランス調査を実施している¹⁰⁻¹⁵⁾。また、死亡原因の不明なカラスの死骸が同地点で2羽以上見られた場合、その鳥についてもWNV検査を実施している。ここでは2008年度の調査結果について報告する。

調 査 方 法

^{*1}大阪府立公衆衛生研究所感染症部ウイルス課

^{*2}大阪府健康医療部保健医療室地域保健感染症課
(現所属 食の安全推進課)

^{*3}大阪府健康医療部保健医療室地域保健感染症課

^{*4}大阪府健康医療部環境衛生課

^{*5}大阪府立公衆衛生研究所感染症部

West Nile Virus Surveillance in Osaka Prefecture
(Fiscal 2008 Report)

by Ikuko AOYAMA, Takahiro YUMISASHI, Keiko NAKATA, Isao SATO, Yoshie SATO, Takashi KURAMOCHI, Yukinari UEZAWA, Tetsuo KASE, and Kazuo TAKAHASHI



	担当保健所	設置施設名	市	
北摂	A	池田	池田市業務センター	池田市
	B	豊中	新豊島川親水水路	豊中市
	C	吹田	吹田保健所	吹田市
	D	茨木	茨木保健所	茨木市
北河内	E	守口	守口保健所	守口市
	F	寝屋川	寝屋川保健所	寝屋川市
	G	枚方	枚方保健所	枚方市
	H	四條畷	大阪府立消防学校	大東市
中南河内	I	八尾	八尾保健所	八尾市
	J	藤井寺	藤井寺保健所	藤井寺市
	K	富田林	富田林保健所	富田林市
泉州	L	和泉	和泉市立教育研究所	和泉市
	M	和泉	泉大津市消防本部	泉大津市
	N	岸和田	岸和田保健所	岸和田市
	O	岸和田	貝塚市立善兵衛ランド	貝塚市
	P	泉佐野	泉佐野保健所	泉佐野市
高槻	Q	泉佐野	はんなん浄化センター	阪南市
	R	高槻	高槻市環境科学センター	高槻市
東大阪	S	東大阪	東大阪西部	東大阪市
	T	東大阪	東大阪東部	東大阪市

図1 蚊の捕集地点

1. 捕集地点および調査実施期間

図1に示したように大阪府管内、東大阪市及び高槻市に計20カ所の定点を設定し、2008年6月第4週から10月第2週（東大阪市及び高槻市は9月第3週）までの期間、隔週の火曜日から水曜日にかけてトラップを設置し、蚊の捕集調査を実施した。

2. 蚊の捕集方法

蚊の捕集にはCDCミニライトトラップ(John W.Hock Company)を使用し、蚊の誘引のためドライアイス(1~2kg)を併用した。トラップは調査実施日の夕刻16~17時から翌朝9~10時までの約17時間設置した。

3. 蚊の同定

捕集した蚊は、各保健所において種類を同定し、種類ごとに別容器に入れて当日中に公衆衛生研究所に搬入した¹⁶⁾。同定が困難な蚊等については公衆衛生研究所で再度チェックした。アカイエカとチカイエカは外見上の区別が困難であることから、すべてアカイエカ群として分別した。

4. 蚊からのウイルス検出

各定点で捕集された蚊のうち雌を検査の対象とし、定点毎、種類毎に乳剤を作成し、ウイルス検査に用いた。1定点1種類あたりの検体数が50匹を超える場合は、複数のプールに分割した。乳剤の作成は2mLのマイクロチューブに捕集蚊とステンレス製クラッシャーを入れ、0.2%ウシ血清アルブミン(BSA)加ハanks液を250μL加えた後、多検体細胞破碎装置(シェイクマスターVer1.2システム、バイオメディカルサイエンス)で約1分振とうして作成した。破碎後のマイクロチューブを軽く遠心してからクラッシャーを除去し、0.2%BSA加ハanks液を500μL追加して攪拌した。それを4℃10,000rpmで20分間遠心し、その上清を0.45μmMillexフィルター(ミリポア)で濾過したものを検査材料とした。なお、1プール中の蚊の数の多寡により加えるハanks液を適宜調節した。検査材料のうち150μLはE.Z.N.A.Viral RNA Kit (OMEGA bio-tek)を使用してRNAを抽出し、残りの材料を細胞培養(Vero細胞、C6/36細胞)によるウイルス培養に用いた。RT-PCRは、フラビウイルス共通プライマー(Fla-U5004/5457,YF-1/3)、ウエストナイルウイルス特異

結 果

1. 蚊の捕集結果について

捕集された雌の蚊は5種3514匹であった。その構成はアカイエカ群とヒトスジシマカで99%を占めた(図2)。その他の蚊として、コガタアカイエカ、シナハマダラカ、イナトミシオカが捕集された。また、昨年まで数は少ないが毎年捕集されていたオオクロヤブカ、トウゴウヤブカは捕集されなかった。

調査期間を通じた捕集数の推移では、アカイエカ群はサーベイランス開始時より捕集数が多く、8月初めにピークを示したが、その後急減した(図3)。この傾向は昨年と同様であった。ヒトスジシマカは7月後半と9月中旬に2峰性のピークを示し、その後急減した。またアカイエカ群、ヒトスジシマカ、コガタアカイエカ以外で2種捕集されたが、捕集数は少なく、捕集時期も限られていた。

定点別の捕集数では、定点により捕集数の大きな差はあるが、アカイエカ群とヒトスジシマカはすべての地点で捕集された。コガタアカイエカについては、昨年は泉州地域と東大阪でのみ捕集されたが、今年は北摂、北河内でも捕集された(図4)。シナハマダラカは富田林、貝塚、阪南の3カ所、イナトミシオカは東大阪の1カ所のみで捕集された。

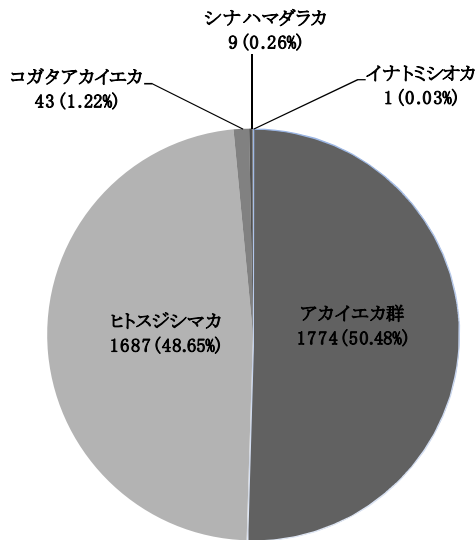


図2 捕集された蚊の種類と数及び構成比

的検出プライマー(WNNY 514/904)を用いた^{17,18)}。また、チクングニヤウイルス特異的検出プライマー(chik10294s/10573c)を用いて、チクングニヤウイルスについても遺伝子検出を試みた。

5. カラスからのウイルス検出

回収されたカラスは大阪府南部家畜保健衛生所病性鑑定室にて解剖された後、脳のみ当所にて検査を実施した。カラス毎に乳剤を作成し、蚊と同様にRNA抽出後遺伝子検査を実施した。

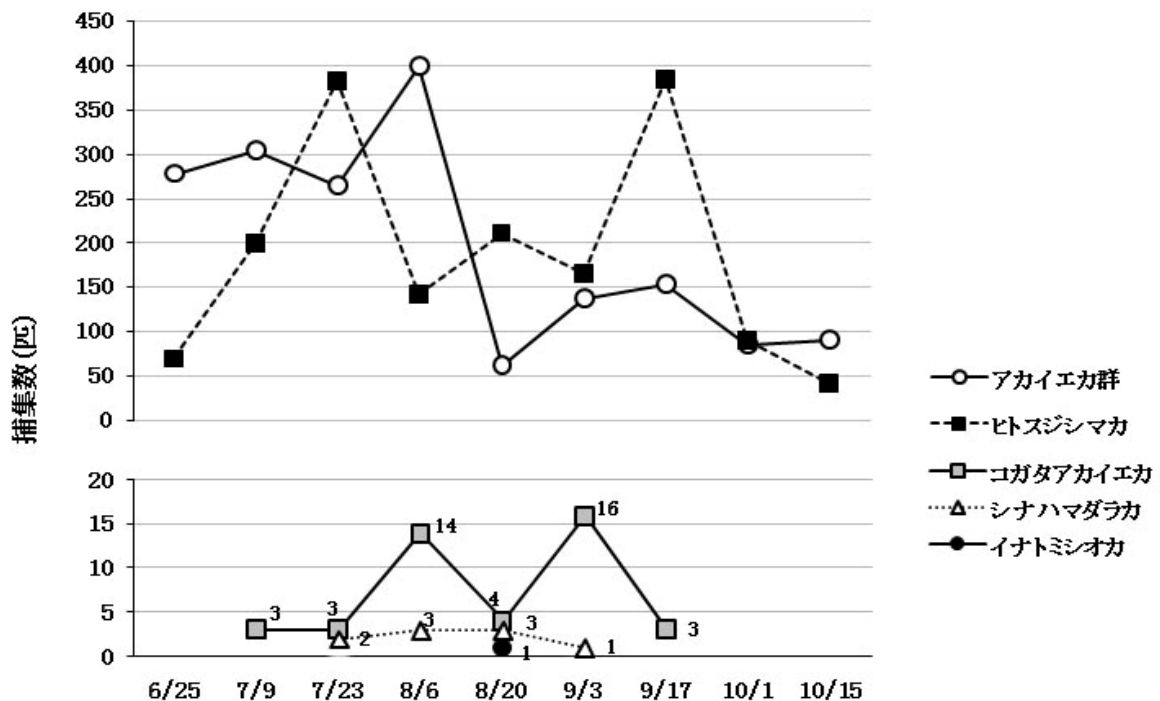


図3 蚊の捕集数の推移

考 察

2. 捕集蚊からのウイルス遺伝子検査結果

各定点で捕集された蚊を種類別に分け 338 プールの乳剤を作成して RT-PCR 法による遺伝子検査を実施したが、すべての検体においてフラビウイルス、WNV、チクングニヤウイルスの遺伝子は検出されなかった。またウイルス分離の結果も陰性であった。

3. 鳥死骸の回収数とウイルス遺伝子検査結果

今年度回収された鳥死骸 6 頭はすべてカラスで、すべての検体でフラビウイルス、WNV の遺伝子は検出されなかった。

今回の調査で捕集された蚊の種類は、アカイエカ群とヒトスジシマカが大半を占めた。昨年と比較すると、アカイエカ群とヒトスジシマカの捕集数の減少が見られたが、構成比は、昨年の結果とほぼ同様であった(図 5、6)。捕集数の推移を見るとコガタアカイエカの捕集数は昨年とほぼ同じで、大阪府全体ではこの種の生息域に変化がみられていないことが考えられた。また、今回イナトミシオカが東大阪で捕集された。イナトミシオカはこれまで大阪市や堺市におけるサーベイランスでは捕集されているが、大阪府のサーベイランスで捕集されたのは今回が初めてである。イナトミシオカ

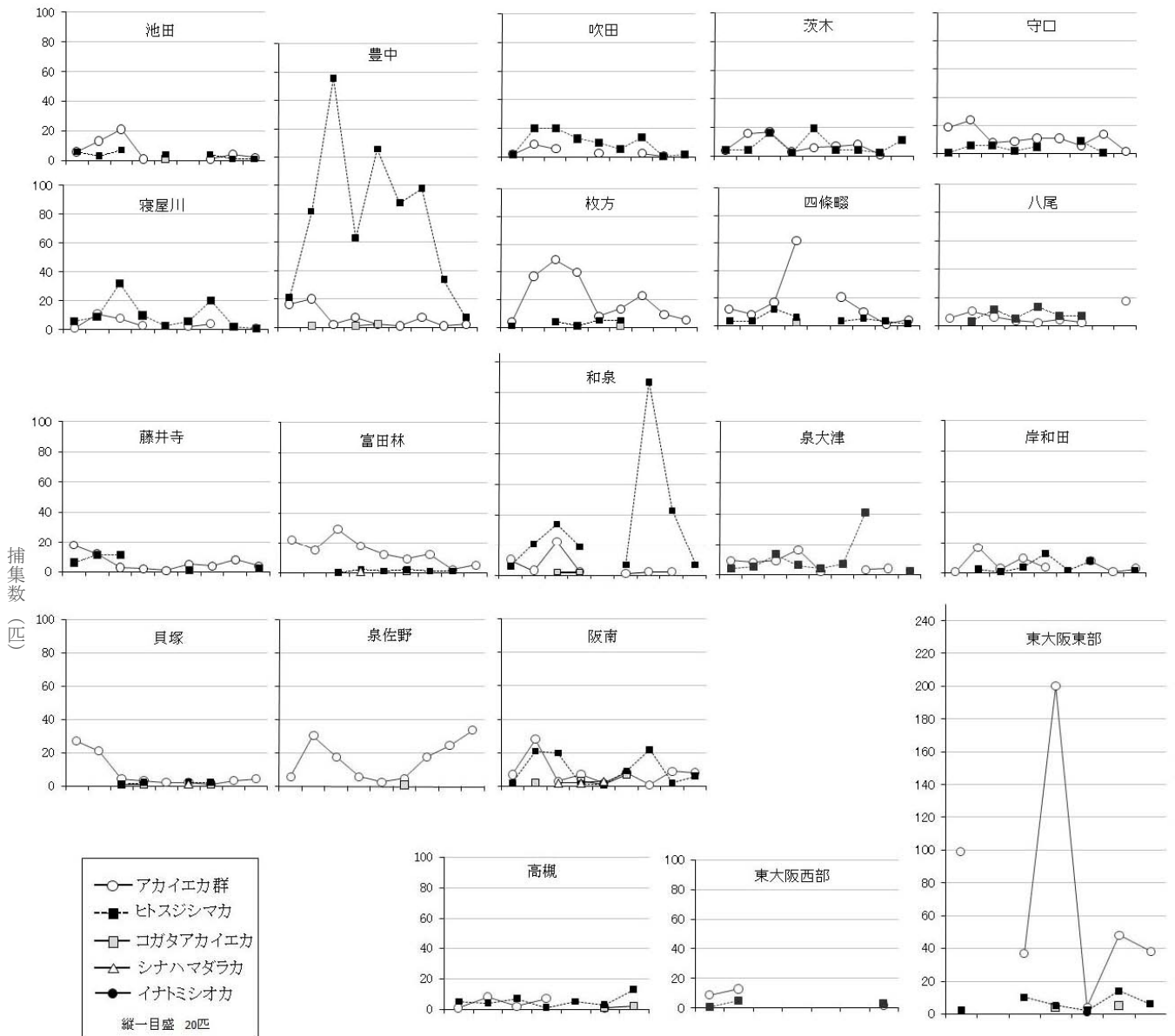


図4 定点別にみた蚊の捕集数の推移

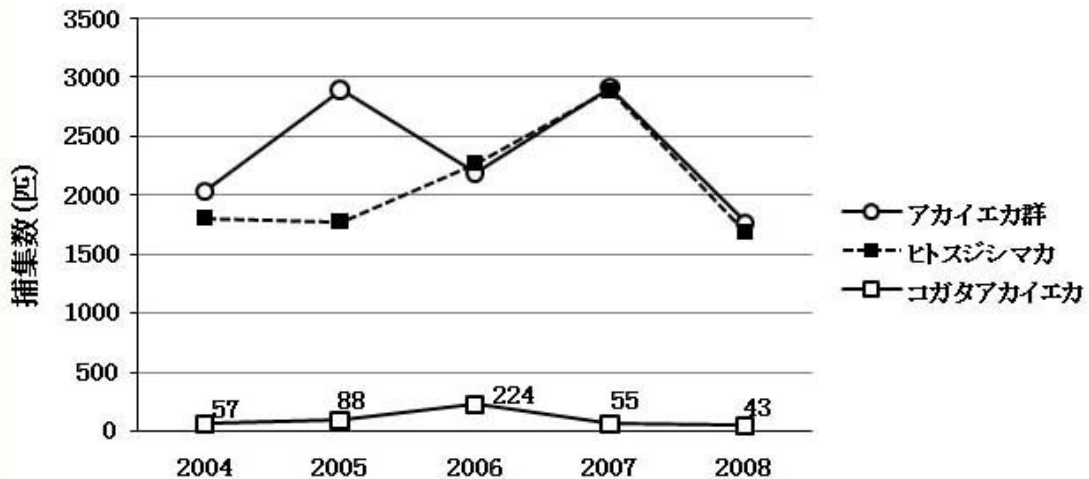


図5 蚊捕集数の5年間の推移

池田、門真・守口、阪南、東大阪西部、高槻は捕集場所の変更あり
2004,2005は門真のアカイエカ群データを除く

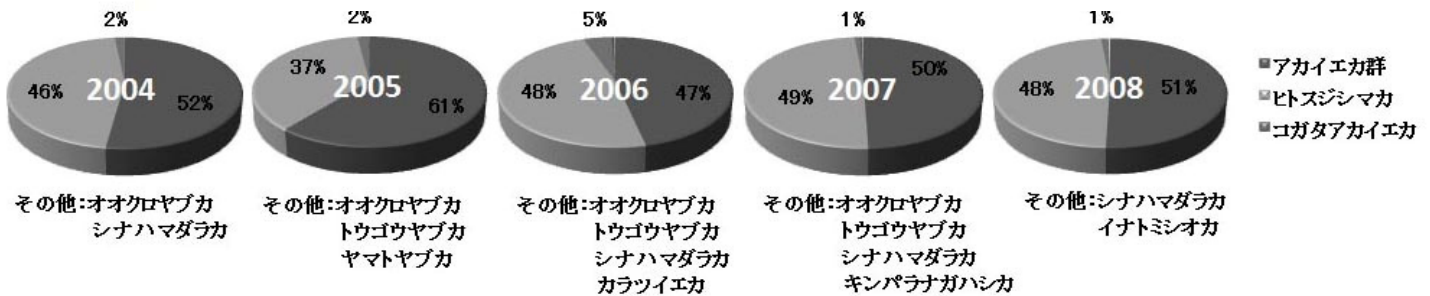


図6 捕集した蚊の種類構成

は汽水域に生息する蚊であるが、このような比較的内陸部でも捕集される場合があることが確認できた。この蚊はWNVを媒介できることが報告されており、アカイエカやヒトスジシマカ、コガタアカイエカなどと同じくWNV媒介蚊として注意すべき蚊である¹⁹⁾。

各調査地点で捕集される蚊の種類や数の変動には、気温、降水量などの気候変動と、調査実施日の天候、気温、風速などが大きく影響すると考えられる。今年度アカイエカ群もヒトスジシマカも7月後半から8月中旬にかけて捕集数が急減したが、その一因として7月末の大雨を伴う強風や、調査日の大雨など天候の影響があったことが考えられた。

定点別の捕集数では、昨年度と比較すると捕集数が増加したところは3カ所（豊中、枚方、貝塚）で、その他はほとんど減少しており、大阪府全域で捕集数が少なかったと考えられた¹⁵⁾。東大阪では、西部で4回、東部で1回捕集数が0のときがあり、昨年の捕集数から急減したが、この原因の一つとしてトラップの動作

不良が考えられた。

カラス検体については、2003年4月より2009年5月までに当所に持ち込まれた総数は66頭で、今のところWNVは検出されていない。カラスの回収について報告の多い地点はあるが、市街地、臨海、公園など様々な地点で発見され、捕集される環境に傾向はないと考えられた（図7）。

WNVについては、多くの自治体で蚊の調査が実施されている。現在のところ国内で蚊や鳥からWNVが検出されたという報告はなく、北米からの帰国者におけるウエストナイル熱輸入症例が報告されているのみである²⁰⁾。しかし、北米での流行は1999年以降毎年発生しており、終息する気配はなく、今後も輸入症例が発生する可能性が考えられる²¹⁾。

また、全地点で捕集されたヒトスジシマカはWNVだけではなく、デング熱やチクングニヤ熱のベクターとしても重要な蚊である。チクングニヤ熱は昨今大きな流行が相次いでインド洋諸島国、インド、スリランカ、

東南アジアで発生し、現在も流行は続いている。現在わが国では6例の輸入症例が報告されているが、すべて冬期から春期に起きた感染である²¹⁻²⁴。しかし、ヒトスジシマカの密度が高い夏期に、ウイルス血症をおこした有症者が帰国すれば、イタリアでインドから入国したチクングニヤ熱患者によってヒトスジシマカを介した300名前後の流行が起こったように、日本でも流行が起きる可能性はある²⁵。このような事例を考えると、今後も蚊媒介性疾患に対して監視を行っていくことが必要と考えられる。

謝 辞

本調査は、大阪府立公衆衛生研究所、大阪府健康福祉部環境衛生課(現 健康医療部環境衛生課)および各保健所の協力のもとに大阪府健康福祉部保健医療室地域保健感染症課(現 健康医療部保健医療室地域保健感染症課)の事業として実施されたものであり、調査に関係した多くの方々へ深謝致します。また、データをご提供頂いた東大阪市保健所、高槻市保健所の関係者の方々に深くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 高崎智彦: ウエストナイル熱・脳炎, ウイルス, 57(2), 199-206 (2007)
- 2) CDC: West Nile Virus Statistics, Surveillance, and Control
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/surv&control.htm>
- 3) Public Health Agency of Canada: West Nile Virus Monitor
<http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/index-eng.php>
- 4) West Nile virus -Mexico (Sonora) ProMed-mail, 20040905.2486 (2004)
- 5) Krisztalovics, K., Ferenczi, E., Molnar, Z., et al. : West Nile virus infections in Hungary, August - September 2008, Euro. Surveill.,13(45),pii:19030 (2008)
- 6) Rossini, G., Cavrini, F., Pierro, A., et al.: First human case of West Nile virus neuroinvasive infection in Italy, September 2008-case report., Euro. Surveill.,13(41),pii:19002 (2008)

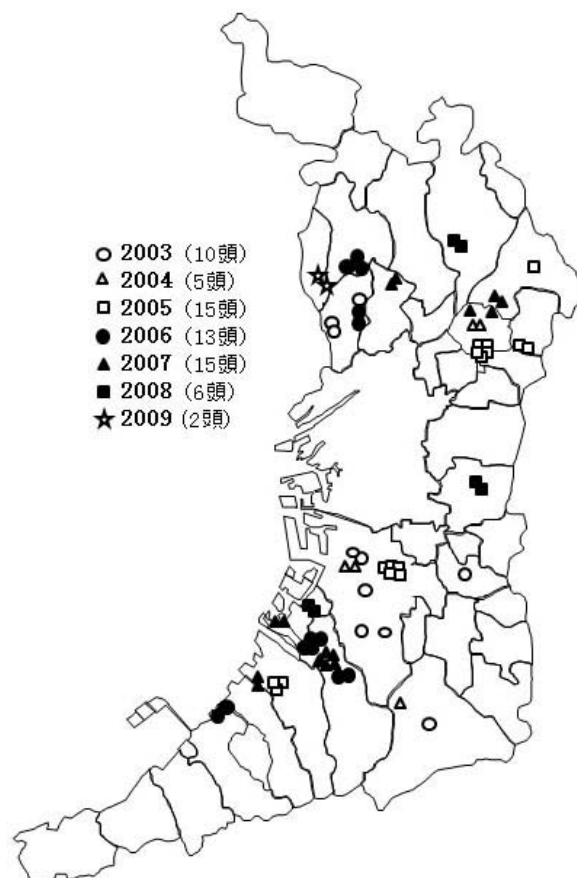


図7 カラスの回収地点 (2003年4月～2009年5月)

- 7) Morales, M.A., Barrandeguy, M., Fabbri, C., Garcia, G.B., et al.: West Nile virus isolation from equines in Argentina, 2006. Emerg Infect Dis., 12: 1559-61. (2007)
- 8) Bosch, I., Herrera, F., Navarro, C.J., et al. : West Nile Virus, Venezuela, Emerg Infect Dis., 13, 651-653. (2006)
- 9) West Nile virus - Austria, birds, ProMed-mail, 20090214.0640 (2009)
- 10) 瀧幾子, 弓指孝博, 吉田永祥ら: 大阪府の住宅地域における蚊の分布調査, 大阪府立公衛研所報, 42, 65-70 (2004)
- 11) 弓指孝博, 瀧幾子, 齋藤浩一ら: 大阪府におけるウエストナイル熱に関する蚊のサーベイランス, 大阪府立公衛研所報, 42, 57-63 (2004)
- 12) 青山幾子, 弓指孝博, 齋藤浩一ら: 大阪府におけるウエストナイル熱に関する蚊のサーベイランス調査(平成16年度報告), 大阪府立公衛研所報, 43, 77-84 (2005)

- 13) 青山幾子,弓指孝博,齋藤浩一ら：大阪府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調査（2005年度報告），大阪府立公衛研所報,44, 1-8 (2006)
- 14) 川淵貴子,弓指孝博,青山幾子ら：大阪府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調査（2006年度報告），大阪府立公衛研所報,45, 1-5 (2007)
- 15) 弓指孝博,廣井聡,青山幾子ら：大阪府におけるウエストナイルウイルスに対する蚊のサーベイランス調査（2007年度），大阪府立公衛研所報,46, 9-15 (2008)
- 16) 弓指孝博,青山幾子：ウエストナイル熱（脳炎），大阪府立公衆衛生研究所感染症プロジェクト委員会編 感染症検査マニュアル第Ⅲ集，1-13 (2004)
- 17) 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 Ver.4 (2006)
<http://www.nih.go.jp/vir1/NVL/WNVhomepage/WN.html>
- 18) 森田公一,田中真理子,五十嵐章：PCR法を用いたフラビウイルスの迅速診断法の開発に関する基礎的研究,臨床とウイルス,18(3), 322-325.(1990)
- 19) 江下優樹,上田泰史,水田英生ら：蚊類のアルボウイルス媒介能(9) 日本産イナトミシオカ *Culex modestus inatomii* のウエストナイルウイルス感受性, Med. Entmol. Zool.,56, 40 (2005)
- 20) 小泉加奈子,中島由紀子,松崎真和ら：本邦で初めて確認されたウエストナイル熱の輸入症例,感染症誌, 80, 56-57 (2006)
- 21) 水野泰孝,加藤康幸,工藤宏一郎ら：遷延する関節痛より確定診断に至ったチクングニヤ熱の本邦初症例,感染症誌, 81(5), 600-601 (2007)
- 22) 青山幾子,弓指孝博,宇野健司ら：チクングニヤ熱と確定診断されたインドからの輸入感染症症例,病原微生物検出情報 (IASR), 29,345-346.(2008)
- 23) 山本厚太,松本謙太郎,林昌宏ら：チクングニヤ熱の一症例報告,病原微生物検出情報(IASR),30,108-109 (2009)
- 24) Chikungunya : Japan ex Malaysia, ProMed-mail, 20090204.0494 (2009)
- 25) Liunbruno GM, Calteri D, Petropulacos K, et al. : The Chikungunya epidemic in Italy and its repercussion on the blood system. Blood Transfus., 6(4), 199-210. (2008)