

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

(2011年度)

青山幾子^{*1} 弓指孝博^{*1} 熊井優子^{*2} 梯和代^{*3} 松井陽子^{*2}
倉持隆^{*4} 平田武志^{*5} 加瀬哲男^{*1} 高橋和郎^{*6}

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頭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。

2011年度は6月末から9月末にかけて府内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9種5605匹で、そのうちアカイエカ群(49.1%)とヒトスジシマカ(48.9%)が大部分を占め、他にコガタアカイエカ(1.9%)、シナハマダラカ(0.09%)、トウゴウヤブカ(0.04%)、キンパラナガハシカ(0.02%)、ヤマトヤブカ(0.02%)、カラツイエカ(0.02%)、キンイロヌマカ(0.02%)が捕集された。定点及び種類別の蚊369プールについてWNV遺伝子検査を実施したが、すべての検体においてWNVは検出されなかった。また、2011年度当所に搬入された死亡カラス(2頭)の脳を対象にWNV遺伝子検査を行ったが、WNV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

ウエストナイルウイルス(WNV)は、フラビウイルス科フラビウイルス属に属し、アルボウイルス(arthropod-borne virus: 節足動物によって媒介されるウイルス)の一つとされている。WNVは主に蚊を介してヒトに感染し、発熱疾患(ウエストナイル熱)や脳炎(ウエストナイル脳炎)を引き起こす原因となる。

このウイルスは自然界において蚊と鳥類の間で感染サイクルが維持されている。

ウエストナイル熱・脳炎は、従来アフリカ、ヨーロッパ、西アジア、中東を中心に散発的な流行がみられた感染症である¹⁾。しかし、1999年に米国で初めて発生して以来、北米での流行は毎年持続し、中南米へも拡大している²⁻⁵⁾。わが国では2005年に米国渡航者によるウエストナイル熱の輸入症例が初めて確認された⁶⁾。現在のところ、国内における感染報告事例はない。

わが国では、このウイルスが国内に侵入する可能性を考慮し、本感染症が国内で流行した場合に適切に対応できる体制づくりが必要とされている。また侵入経路として、航空機や船舶に紛れ込んだウイルス保有蚊や、WNVに感染した渡り鳥によるルートなどが考えられている。大阪府ではWNVの侵入を早期発見し、蔓延を防止するために、2003年度より蚊のサーベイランス調査を開始し、WNVに対する継続的な監視を実施している⁷⁻¹⁵⁾。また、2004年にウエストナイル熱対応指針を策定し、WNV侵入前のサーベイランス調査や、侵

^{*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

^{*3} 大阪府健康医療部保健医療室地域保健感染症課

(現 大阪府福祉部高齢介護室介護事業者課)

^{*4} 大阪府健康医療部環境衛生課 (現 大阪府守口保健所衛生課)

^{*5} 大阪府健康医療部環境衛生課

^{*6} 大阪府立公衆衛生研究所感染症部

West Nile Virus Surveillance in Osaka Prefecture

(Fiscal 2011 Report)

by Ikuko AOYAMA, Takahiro YUMISASHI, Yuko KUMAI, Kazuyo KAKEHASHI, Yoko MATSUI, Takashi KURAMOCHI, Takeshi HIRATA, Tetsuo KASE, and Kazuo TAKAHASHI

入後の対応が速やかに行える体制を整えている¹⁶⁾。また、蚊の調査以外にも、厚生労働省の通知に従い¹⁷⁾、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WNV検査を実施している。ここでは2011年度の調査結果について報告する。

調 査 方 法

1. 捕集定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、2011年6月第4週から9月第4週（東大阪市及び高槻市は9月第2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。ただし、7月第4週は台風の影響を避けるため、水曜日から木曜日にかけてトラップを設置した。

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。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、ヒトを吸血する雌のみを検査の対象とし、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。乳剤は2mLのマイクロチューブに捕集蚊と滅菌した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)加ハンクス液を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、パ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



	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
	Q 泉佐野	はんなん浄化センター	阪南市
高槻	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

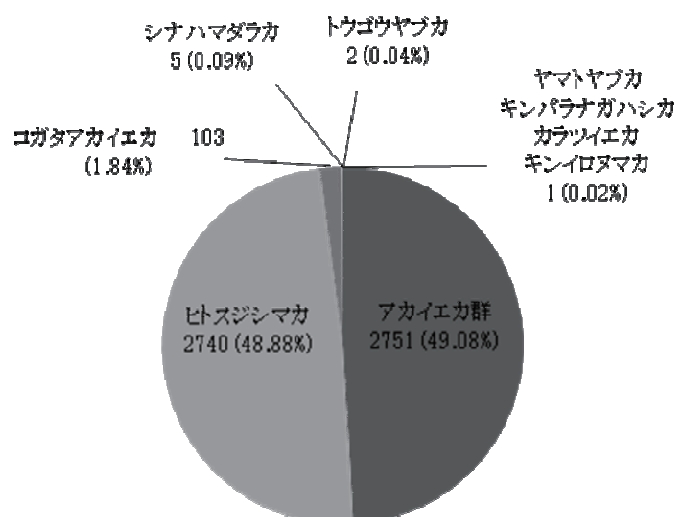


図2 捕集された蚊の種類と数及び構成比

ラッシャーを除去し、0.2%BSA 加ハンクス液を 500 μ L 追加して攪拌した。それを 4℃ 12,000rpm で 15 分間遠心し、その上清を 0.45 μ m Millex 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、加えるハンクス液を適宜調節した。検査材料のうち 150 μ L について E.Z.N.A.Viral RNA Kit (OMEGA bio-tek) を使用して RNA を抽出した。RT-PCR は、フラビウイルス共通プライマー(Fla-U5004/5457,YF-1/3)、および WNV 特異的検出プライマー(WN NY 514/904)を用いた^{18, 19)}。

また、同じく蚊媒介性のチクングニア熱についても

侵入が警戒されているため、病原体のチクングニアウイルス(CHIKV)の媒介蚊となるヒトスジシマカについて、CHIKV 特異的検出プライマー(chik10294s/ 10573c)を用いて、CHIKV の遺伝子検出を試みた²⁰⁾。

5. カラスからのウイルス検出

当所に搬入された死亡カラスを解剖し、脳についてウイルス検査を実施した。カラス毎に 0.2%BSA 加ハンクス液を用いて 10%乳剤を作成し、蚊と同様に RNA 抽出後、WNV 遺伝子検査を実施した。

結 果

1. 蚊の捕集結果について

捕集された雌の蚊は 9 種 5605 匹であった。その構成はアカイエカ群 (49.1%) とヒトスジシマカ (48.9%) が大半を占めた (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、トウゴウヤブカ、キンバラナガハシカ、ヤマトヤブカ、カラツイエカ、キンイロヌマカが捕集された。

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、その後半減し 8 月中旬に小さなピークがみられた。ヒトスジシマカは 7 月後半に捕集数が急増し、8 月には半数になり、その後緩やかに減少した。コガタアカイエカは、6 月から 9 月前半まで捕集された。その他の蚊は捕集数

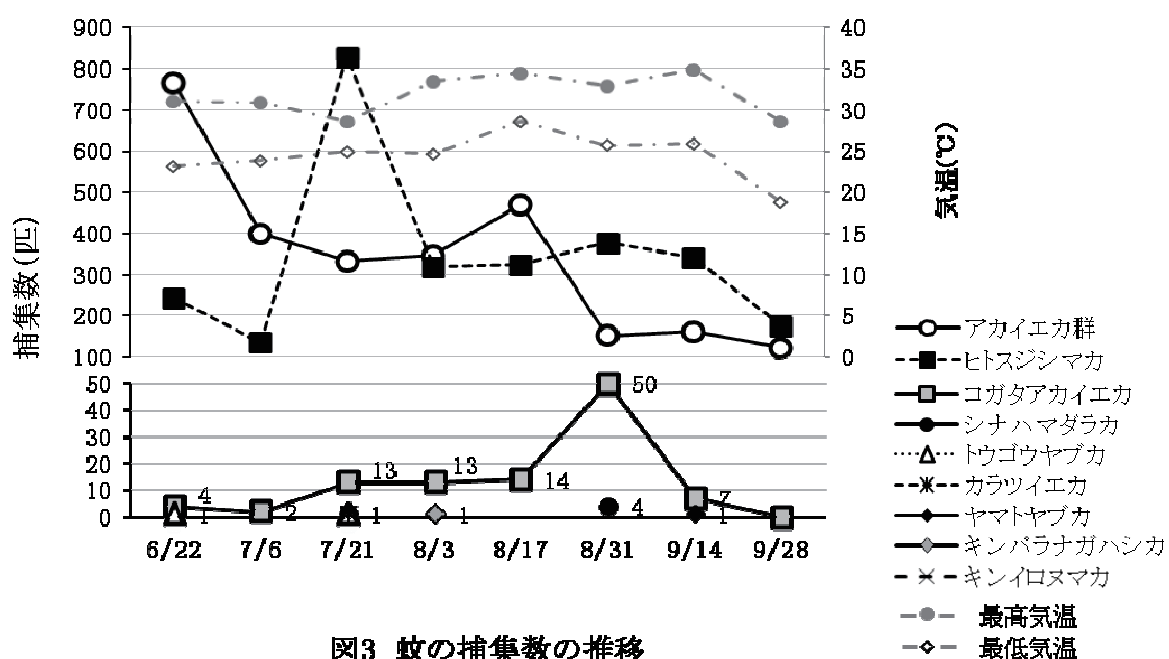


図3 蚊の捕集数の推移

が少なく、捕集場所も限られていた（図4）。

定点別の捕集数では、各地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。コガタアカイエカは10カ所で捕集され、富田林、貝塚、阪南で多く捕集された。シナハマダラカは富田林、和泉、貝塚、阪南、トウゴウヤブカは岸和田、東大阪東部、東大阪西部、キンバラナガハシカとヤマトヤブカは貝塚、カラツイエカは阪南、キンイロヌマカは寝屋川で捕集された。また、7/6の捕集について、東大阪市東部でトラップの作動異常が報告されており、捕集数が非常に少なかった。

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 369 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 WNV の遺伝子は検出さ

れなかった。またヒトスジシマカから CHIKV の遺伝子は検出されなかった。

3. 死亡カラスの回収数とウイルス遺伝子検査結果

今年度回収されたカラス2頭から、WNV の遺伝子は検出されなかった。

考 察

日本国内では、アカイエカ、チカイエカ、コガタアカイエカ、ヒトスジシマカ、ヤマトヤブカ、シナハマダラカなど複数の蚊が WNV 媒介蚊として注意すべき種類に挙げられている²¹⁾。今回の調査で捕集された蚊の種類は、ヒトスジシマカ、アカイエカ群、コガタアカイエカの3種類を合わせて99.8%を占め、大阪府において WNV 媒介蚊対策を行う際にはこれら3種の蚊

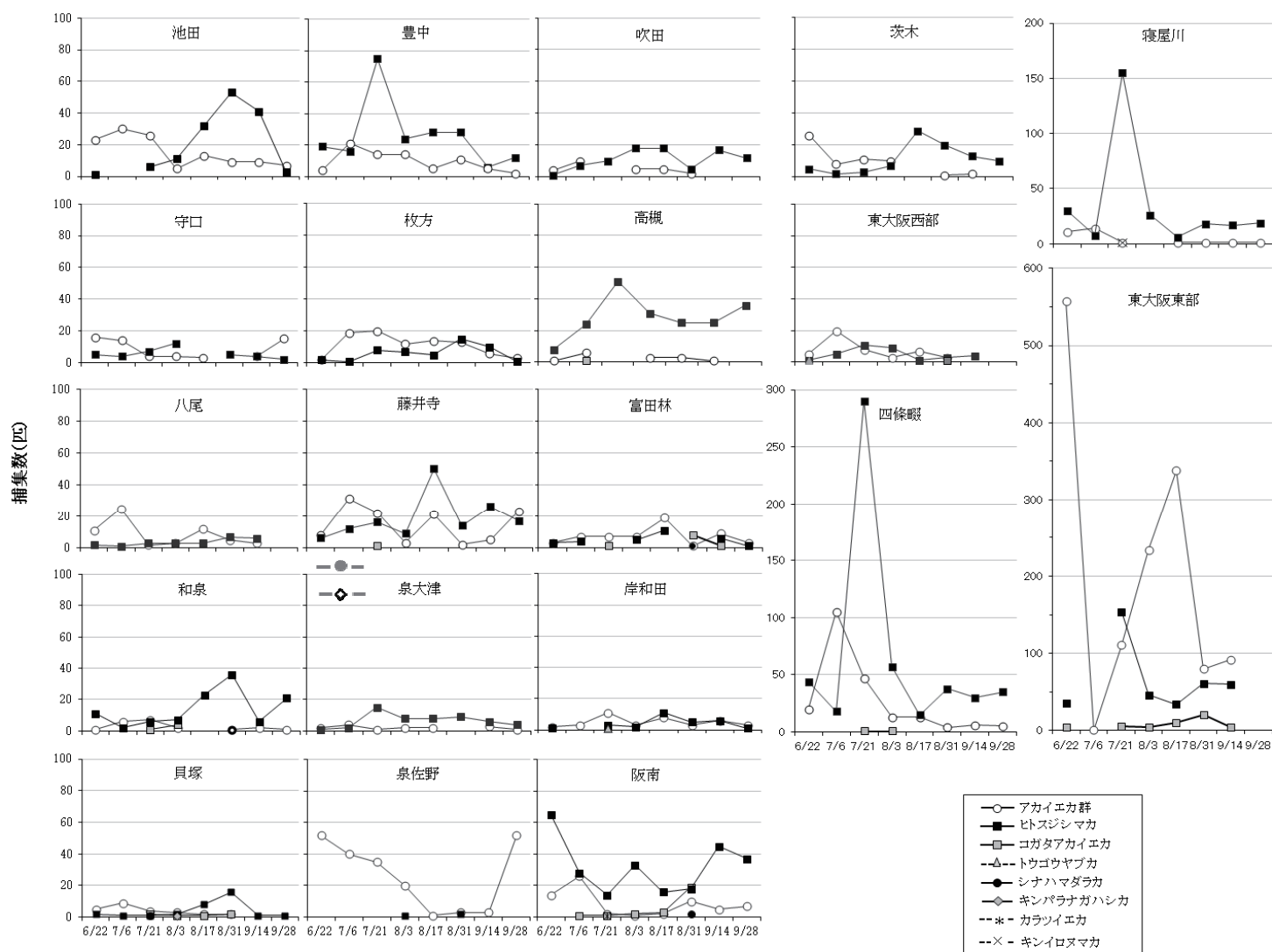


図4 定点別にみた蚊の捕集数の推移

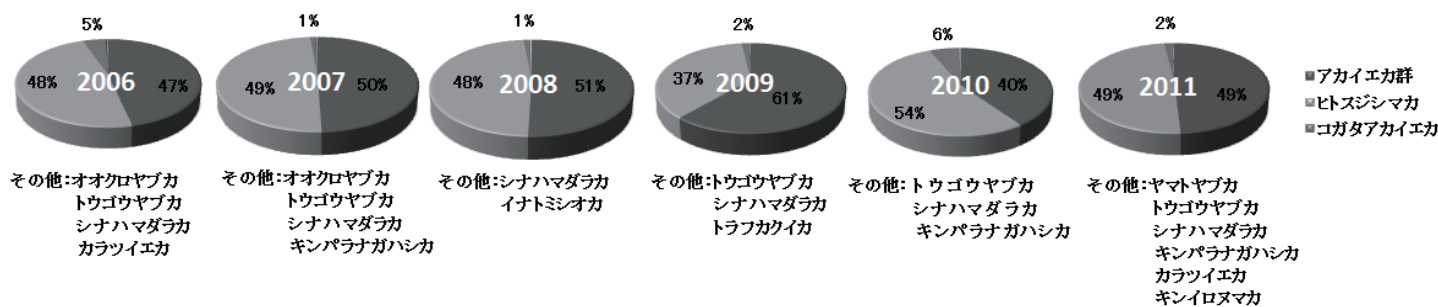


図5 捕集した蚊の種類構成

をターゲットとすれば、問題となる蚊の大半を網羅できると考えられた。ただし、阪南や貝塚など捕集される種類の多い地点もあり、このような蚊の種類の多い地点では、主要な3種以外にも注意が必要と考えられる。近年の捕集率を比較すると、昨年度はヒトスジシマカがアカイエカ群の1.3倍と、ヒトスジシマカの割合が多かったが、本年度はほぼ同じ割合であった。また、コガタアカイエカは昨年度の約1/3に減少したが、2007～2009年と同様の捕集率であり、本調査における捕集傾向は多少の増減はあるものの、ほぼ同等と考えられ、調査地点付近では大きな環境変化はないと考えられる（図5）。

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。7月21日の捕集については、7月19日、台風が近畿地方に上陸し、翌朝10時過ぎに暴風警報が解除された直後にトラップを設置することとなったが、捕集数は増加しており、調査に悪影響はみられなかったと考えられた。

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い。米国での患者発生数は2003年に9862人(死者264人)報告されたあと次第に減少したが、毎年ウエストナイル熱の流行は起きており、2008年頃からは700～1400人程度で推移している²⁾。また近年ロシアやヨーロッパでも感染者が報告され、どの国から我が国へWNVが持ち込まれるかは予測できない。

また、WNVは輸血や臓器移植でも感染することが知られており、米国における輸血のスクリーニング検査では2008年以降毎年100～200弱のWNV陽性ドナー血液が報告されている（2003年は714例）²⁾。今後、国内でWNVの流行が確認された場合は、これらについても警戒を行い、検査体制を整えなくてはならない。

また、地球温暖化で気温が上昇傾向にあるといわれる現代では、これまで熱帯・亜熱帯の感染症とされていたデング熱、チクングニア熱、マラリアなどの蚊が媒介するウエストナイル熱以外の疾患についても、今後注意が必要と考えられる。今回、全地点で捕集されたヒトスジシマカはデング熱やチクングニア熱のベクターとしても重要な蚊である²²⁾。これらのウイルスはWNVと異なり、ヒトー蚊ーヒトで感染サイクルが成立する。国内で蚊のウイルス保有が確認された場合、流行が起きる可能性があり、早期に対応が必要となる。また、マラリアの媒介蚊となるシナハマダラカも今年度は4地点で捕集され、数は少ないものの毎年捕集されている。蚊の生息地にマラリアが浸淫した場合、患者が発生する可能性がある。渡航歴のないマラリア患者が報告された場合は、WNV同様対策が必要になると考えられる。

蚊が媒介する他の感染症として、従来我が国では日本脳炎があげられる。大阪府内でも2009年度に患者が発生した²³⁾。本調査では、日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカは毎年捕集されている。大阪府の動物由来感染症サーベイランス結果報告では、平成19～22年にかけて府内の豚から毎年日本脳炎抗体が検出されており、大阪府においても日本脳炎に感染する可能性があると考えられる²⁴⁾。

ウエストナイル熱やデング熱、チクングニア熱、マラリアなどは、未だヒト用のワクチンは実用化されておらず、予防対策は蚊に刺されないことのみである。このような蚊媒介性感染症は、現在国内で患者が発生していなくても、世界中から感染症が無くなることはないと考えられ、今後とも侵入に対する警戒や対策は必要である。また、サーベイランスを継続することは、防疫に従事する環境衛生監視員等保健所職員のウエストナイル熱や蚊の捕集・同定に関する知識と技術の向上や維持、衛生研究所との連携活動につながっている

²⁵⁾。さらに、これらの知識や経験、データを活かして保健所から各市町村へ蚊など衛生動物に関する感染症についての講習会や防疫に関する対応策の検討などが実施されている。2005、2006年には大阪府南西部の3市町、PC0等と共同し、ウエストナイル熱媒介蚊防除シミュレーションが実施された²⁶⁾。現在大阪府内には、専任の蚊など衛生害虫の防除体制を持っていない自治体もあるため、事前にこれらの対策を検討し、防除対策の習熟をしておくことは重要である。

ウイルスの侵入が確認されたとき、媒介種となる蚊を根絶することは困難である。行政として行うべきことは、少しでも感染リスクを減らすべく、感染症の正確な情報や個人レベルでの対策法を伝えるとともに、蚊の発生源を抑制し、ウイルス保有蚊の存在する地点などの特定に努め、情報発信することである。流行の拡大に遅れを取らないよう、緊急時に即対応するためには、保健所と行政、自治体同士の連携が不可欠であり、本サーベイランスは危機管理対策の一つとして非常に重要だと考えられる。

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に深謝致します。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
<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/index.htm>
- 3) Public Health Agency of Canada: West Nile Virus Monitor
<http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/index-eng.php>
- 4) Elizondo D, Davis CT, Fernandez I., et al: West Nile virus isolation in human and mosquitoes, Mexico, Emerg Infect Dis., 11, 1449-52. (2005)

- 5) West Nile Virus Update 2006 - Western Hemisphere (23): Argentina: 1st case, ProMed-mail, 20061228.3642 (2006)
- 6) 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(1), 56-57 (2006)
- 7) 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)
- 8) 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)
- 9) 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)
- 10) 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)
- 11) 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)
- 12) 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)
- 13) 青山幾子, 弓指孝博, 中田恵子ら: 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), 大阪府立公衛研所報, 47, 1-8 (2009)
- 14) 青山幾子, 弓指孝博, 加藤友子ら: 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 (2009 年度), 大阪府立公衛研所報, 48, 1-7 (2010)
- 15) 青山幾子, 弓指孝博, 加藤友子ら: 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 (2010 年度), 大阪府立公衛研所報 49, 1-6, 2011
- 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) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知: ウエストナイル熱の流行予測のための死亡カラス情報の収集

等について(2003.12.13)

- 18)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://www0.nih.go.jp/
vir1/NVL/WNVhomepage/WNVLbotest.pdf](http://www0.nih.go.jp/vir1/NVL/WNVhomepage/WNVLbotest.pdf)
- 19)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)
- 20)小林睦生ら：チクングニヤ熱媒介蚊対策に関するガ
イ ド ラ イ ン (2009) [http://www0.nih.go.jp/niid/
entomology/document/chikungunya.pdf](http://www0.nih.go.jp/niid/entomology/document/chikungunya.pdf)
- 21)日本環境生活衛生センター：ウエストナイル熱媒介
蚊対策ガイドライン (2003)
- 22)水野泰孝：国際的な感染症～ウイルス感染を中心と
して～IV.デング熱・チクングニヤ熱,アレルギー・
免疫,15(11),40-44 (2008)
- 23)大阪府立公衆衛生研究所：日本脳炎 (2010)
<http://www.iph.pref.osaka.jp/kansen/nihonnouen.html>
- 24)大阪府：平成 22 年度動物由来感染症サーベランス
結果報告
[http://www.pref.osaka.jp/attach/2769/
00006805/dobutsuyurai22.pdf](http://www.pref.osaka.jp/attach/2769/00006805/dobutsuyurai22.pdf)
- 25)弓指孝博,瀧幾子,大竹徹ら：地方におけるウエスト
ナイル熱対策,臨床とウイルス,33(1), 33-40 (2005)
- 26)大阪府健康医療部環境衛生課：ウエストナイル熱媒
介蚊対策シミュレーション
[http://www.pref.osaka.jp/kankyoeisei/westnilevirus/inde
x.html#simyu](http://www.pref.osaka.jp/kankyoeisei/westnilevirus/index.html#simyu)