

[資 料]

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
(2005年～2007年)

押部 智宏* 稲元 哲朗 山岡 政興** 近平 雅嗣

Field Survey of Mosquitoes Associated with Control Measures
to West Nile Fever in Hyogo Prefecture (2005 ~ 2007)

Tomohiro OSHIBE*, Tetsuro INAMOTO, Masaoki YAMAOKA** and Masatsugu CHIKAHIRA

*Infectious Disease Research Division, Hyogo Prefectural Institute of Public Health and
Environmental Sciences, 2-1-29, Arata-cho, Hyogo-ku, Kobe 652-0032, Japan*

Surveillance for West Nile Virus (WNV) in mosquitoes was carried out during summer 2005-2007 in Hyogo prefecture. The mosquitoes were collected by the dry ice trapping method using CDC light traps in the fixed trapping points. 9037 mosquitoes from all fixed trapping points were sampled. These mosquitoes samples have tested negative for WNV. The species of the collected mosquitoes were *Culex pipiens*, *Aedes albopictus*, *Cx. tritaeniorhynchus*, *Anopheles sinensis*, *Armigeres subalbatus*, and *Aedes togoi*. From this result, we supposed that *Cx. pipiens* and *Ae. albopictus* were dominant species in urban area, and *Cx. tritaeniorhynchus* was dominant species in the area near the fields of rice and storage reservoir. *Cx. pipiens*, *Ae. Albopictus* and *Cx. tritaeniorhynchus* were important as WNV vector in Hyogo prefecture.

I はじめに

ウエストナイル熱は、39℃以上の発熱、頭痛、筋肉痛などの感冒様の症状となり、重症化すると方向感覚の欠如、麻痺、昏睡、痙攣などの髄膜炎・脳炎症状を呈する感染症である。北米大陸で1999年から流行が急速に拡大し、2003年にはアラスカを除くほぼ全域に広がった^{1, 2)}。米国では、2007年の患者数が3,623人、死者は121人に達し³⁾、カナダでも2,351人の患者が発生し深刻な状況となっている。

この病原体であるウエストナイルウイルス (WNV) の侵入や発生動向を知る上で、ウイルスの感染環を形成する鳥類や媒介蚊の感染状況を調査することが

有効とされている⁴⁾。ウイルスの流行地域である米国やカナダでは患者の発生状況、死亡した鳥類や媒介蚊あるいは高感受性で終宿主となっている馬のサーベイランスを継続して実施している。

日本では、今のところ WNV の報告はないがその侵入時に備えるために、鳥類及び蚊のサーベイランスのための技術に習熟することは、防疫対策の備えとして重要である。

今回我々は、これらのことを踏まえて兵庫県における WNV の侵入監視および県内市街地に生息する蚊の分布状況を把握するため、2005年～2007年の3シーズンにわたり蚊の捕集調査を実施したので報告する。

II 材料と方法

1. 実施期間および捕集地点
 - 1.1 研究センター定点の捕集調査
県立健康環境科学研究所センター (神戸市兵庫区)

感染症部

* 別刷請求先: 〒652-0032 神戸市兵庫区荒田町 2-1-29

兵庫県立健康環境科学研究所センター

感染症部 押部 智宏

** 現 神戸大学医学部

敷地内 (Fig.1) の2ヶ所を定点に、2005年6月1日から11月9日までの92回、2006年6月1日から10月30日までの71回、2007年6月12日から9月21日までの45回、3シーズンの合計208回蚊を捕集した。

1.2 健康福祉事務所及び食肉衛生検査センターでの捕集調査

2005年は7月25日～28日及び9月23日の2回、健康福祉事務所敷地内の13定点 (Fig.1) で、2006年は宝塚、社及び福崎健康福祉事務所敷地内の3定点で合計10回 (7月4, 10, 24日, 8月1, 7, 21日, 9月4, 11, 25日, 10月2日) 蚊を捕集した。2007年は福崎健康福祉事務所、食肉衛生検査センター (加古川市) 及び西播磨食肉衛生検査所 (たつの市) の3定点で6回 (7月9, 23日, 8月6, 21日, 9月3, 18日) 蚊を捕集した。



Fig.1 Map of the fixed trapping points of mosquitoes

Kobe:Kobe city (Hyogo ward) (This reserch center),
 Kakogawa-1:South of Kakogawa city (Kakogawa Health and Welfare office),
 Kakogawa-2:North of Kakogawa city (Hyogo Prefectural Meat Inspection Center),
 Tatsuno-1:Center of Tatsuno city (Tatsuno Health and Welfare office),
 Tatsuno-2:North of Tatsuno city (Nishi-Harima Meat Inspection Center).

Table 1 Number of collected mosquitoes at the fixed trapping points of this reserch center (Kobe)

Species	2005				2006				2007				Total			
	Mosquitoes	(%)	Collection number of times	Mosquitoes /Collection number of times	mosquitoes	(%)	Collection number of times	Mosquitoes /Collection number of times	mosquitoes	(%)	Collection number of times	Mosquitoes /Collection number of times	mosquitoes	(%)	Collection number of times	Mosquitoes /Collection number of times
<i>Cx. pipiens</i>	990	(57.1)	92	10.8	493	(36.9)	71	6.9	306	(32.3)	45	6.8	1,789	(44.5)	208	8.2
<i>Ae. albopictus</i>	740	(42.7)	92	8.0	844	(63.0)	71	11.8	642	(67.7)	45	14.3	2,226	(55.4)	208	11.4
<i>Cx. tritaeniorhynchus</i>	4	(0.2)	92	0.004	1	(0.1)	71	0.01	0	(0)	45	0	5	(0.1)	208	0
Total	1,734	(100)	92	18.8	1,338	(100)	71	18.7	948	(100)	45	21.1	4,020	(100)	208	19.6

2. 蚊の捕集方法

蚊の捕集には、ドライアイス誘引剤としてCDC ライトトラップ (John. W. Hock Company) を用いた。1回当たりの捕集時間は、研究センター定点では約24時間とし、研究センター以外の定点調査では約48時間とした。

3. 蚊の種の同定

捕集した蚊は弓指ら⁵⁾の簡易同定表に基づいて動物を吸血する雌蚊のみを対象に分類した。この中で、アカイエカ (*Culex pipiens pallens*) とチカイエカ (*Cx. pipiens molestus*) は外見上区別できないため、これらはアカイエカ (*Cx. pipiens*) と分類した。

4. ウイルス検査

定点毎の捕集蚊を分類後、同一種50匹を1プール (1検体) としてマイクロチューブに入れ、0.2%ウシ血清アルブミン加里ン酸緩衝液を750 μ l加えマルチビーズショッカー (安井器械) で破碎した。この乳剤の遠心上清からQIAamp Viral RNA Mini kit (QIAGEN) を用いて抽出したRNAについて、RT-PCR法でWNVのE領域およびWNVと日本脳炎ウイルスで共通するNS3領域を増幅した。使用したプライマーや反応条件等は、ウエストナイルウイルス病原体検査マニュアル (国立感染症研究所)⁶⁾ に準じた。

III 結果

1. 蚊の捕集成績

1.1 研究センター定点の捕集調査

研究センター定点での捕集調査の結果を Table 1 に示した。

2005年～2007年の3シーズンにわたる調査では3種類4,020匹の蚊が捕集された。調査日数の最も多かった2005年は92回で合計1,734匹が捕集され、最も少ない2007年は45回で948匹が捕集された。しかし、シーズン毎に1調査日当たりの平均捕集数を比較すると、各々18.8匹、18.7匹、21.1匹 (平

均 19.6 匹) となり, シーズン毎の大きな差は見られなかった。

捕集蚊は, ヒトスジシマカ (*Aedes albopictus*) が 2,226 匹 (55.4%), アカイエカ 1,789 匹 (44.5%) の順に多く, コガタアカイエカ (*Cx. tritaeniorhynchus*) 5 匹 (0.1%) と他の 2 種類に比較して極めて少なかった。

その構成を比較すると, 2005 年はアカイエカがヒトスジシマカよりも多かったのに対して, 2006 年と 2007 年は逆にヒトスジシマカが多く捕集された。

捕集数の推移を月別に見ると (Fig. 2), 2005 年はヒトスジシマカが 9 月, アカイエカが 6 月にピークを示した。2006 年はヒトスジシマカが 7 月にピークを示したが, アカイエカは平均して少なく明確なピークはなかった。2007 年はヒトスジシマカが 6 月から 9 月にかけて漸増した。アカイエカは調査開始の 6 月から 8 月まで多く捕集され 9 月には減少しており, 明確なピークは見られなかった。ヒトスジシマカ及びアカイエカの捕集数の推移は調査シーズンによって大きく異なっていたが, 3 シーズンを併せた

月別の捕集数の推移では, ヒトスジシマカが 7 月, アカイエカが 6 月にピークを示した。

1.2 健康福祉事務所及び食肉衛生検査センターでの捕集調査

県内の定点で捕集された蚊は 3 シーズン分を合わせると 6 種類 5,017 匹であった (Table 2)。その種類は多い順にコガタアカイエカ 3,445 匹 (69%), ヒトスジシマカ 754 匹 (15%), アカイエカ 472 匹 (9.4%), シナハマダラカ (*Anopheles sinensis*) 330 匹 (6.6%), オオクロヤブカ (*Armigeres subalbatus*) 14 匹 (0.28%), トウゴウヤブカ 2 匹 (0.04%) であった。

アカイエカ, ヒトスジシマカは全ての定点で捕集された。コガタアカイエカが捕集されたのは 6 定点, シナハマダラカは 5 定点であった。

1 調査日当たりの平均捕集数では, 最も多く捕集されたのは福崎定点の 271 匹で, 次いでたつの-2 定点で 87.5 匹, 加古川-2 定点で 61.8 匹の順であった。

最も少なかったのは, 柏原定点の 2.0 匹で, 次に

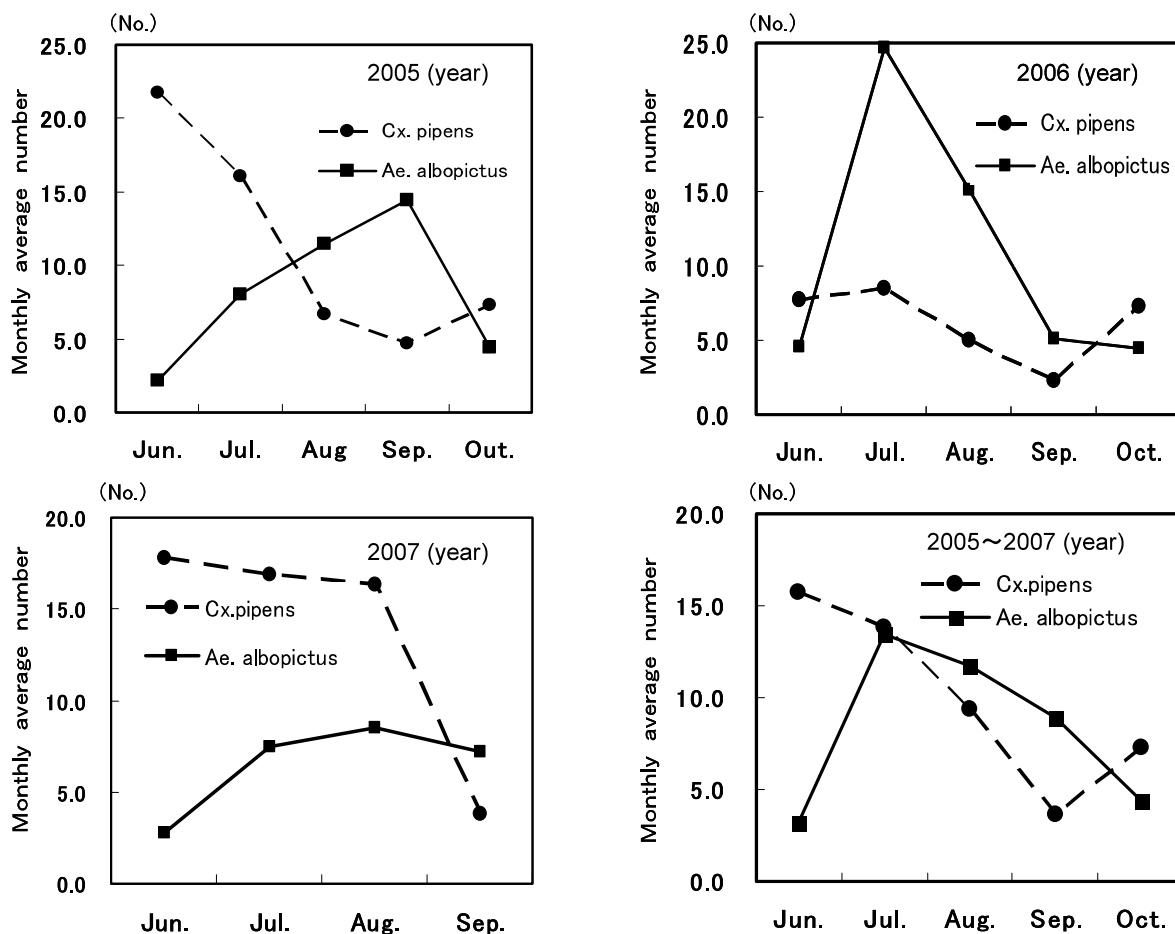


Fig.2 Monthly average number of collected mosquitoes per day in the fixed point of this research center (Kobe)

Table 2 Number of collected mosquitoes at the fixed trapping points in Hyogo prefecture

Regions	Trapping Points [※]	Year	Collection number of times	Mosquitoes Species										Total	(*)		
				<i>Ae. albopictus</i> (*)	<i>Cx. pipiens</i> (*)	<i>Cx. tritaeniorhynchus</i> (*)	<i>An. sinensis</i> (*)	<i>Ar. subalbatus</i> (*)	<i>Ae. togoi</i> (*)								
Hanshin	Ashiya	2005	2	6	(3)	4	(2)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	10	(5)
	Takarazuka	2005	2	40	(20)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	40	(20)
		2006	10	69	(6.9)	27	(2.7)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	96	(9.6)
	Itami	2005	2	11	(5.5)	1	(0.5)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	12	(6)
East-Harima	Kakogawa-1	2005	2	73	(36.5)	2	(1)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	75	(35)
		2007	6	127	(21.2)	95	(15.8)	146	(24.3)	3	(0.5)	0	(0)	0	(0)	371	(61.8)
	Akashi	2005	2	3	(1.5)	8	(4)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	11	(5.5)
North-Harima	Yashiro	2005	2	3	(1.5)	5	(2.5)	31	(15.5)	1	(0.5)	0	(0)	0	(0)	40	(20)
		2006	10	117	(11.7)	23	(2.3)	329	(32.9)	18	(1.8)	0	(0)	0	(0)	487	(48.7)
Center-Harima	Fukusaki	2005	2	3	(1.5)	25	(12.5)	29	(14.5)	20	(10)	0	(0)	0	(0)	77	(38.5)
		2006	10	125	(12.5)	109	(10.9)	1,153	(115)	163	(16.3)	6	(0.6)	0	(0)	1,556	(156)
		2007	6	124	(20.7)	118	(19.7)	1,301	(217)	78	(13)	5	(0.83)	0	(0)	1,626	(271)
West-Harima	Tatsuno-1	2005	2	2	(1)	3	(1.5)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	5	(2.5)
	Tatsuno-2	2007	6	10	(1.6)	24	(4)	446	(74.3)	42	(7)	3	(0.5)	0	(0)	525	(87.5)
	Ako	2005	2	2	(1)	5	(2.5)	3	(1.5)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	10	(5)
Tajima/Tanba	Toyooka	2005	2	14	(7)	3	(1.5)	7	(3.5)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	24	(12)
	Wadayama	2005	2	16	(8)	3	(1.5)	0	(0)	5	(2.5)	0	(0)	1	(0.5)	25	(12.5)
	Kaibara	2005	2	2	(1)	1	(0.5)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	1	(0.5)	4	(2)
Awaji	Sumoto	2005	2	7	(3.5)	16	(8)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	23	(11.5)
Total				754		472		3,445		330		14		2		5,017	

* Mosquitoes / Collection number of times

※ Kakogawa-1;South of Kakogawa city (Kakogawa Health and Welfare office), Kakogawa-2;North of Kakogawa city (Hyogo Prefectural Meat Inspection Center), Tatsuno-1;Center of Tatsuno city (Tatsuno Health and Welfare office), Tatsuno-2;North of Tatsuno city (Nishi-Harima Meat Inspection Center).

芦屋及び赤穂定点でどちらも 5.0 匹, 明石定点の 5.5 匹であった。

捕集された蚊の種類がアカイエカとヒトスジシマカの 2 種類と最も少なかったのは阪神地域の 3 定点, 加古川-1 定点, 明石定点, たつの-1, 洲本定点の 7 定点であった。また, 福崎及びたつの-2 の 2 定点では捕集された蚊が 5 種類で最も種類が多かった。

同じ市内である加古川-1 と加古川-2 定点及びたつの-1 とたつの-2 定点を比較すると, 加古川-1 やたつの-1 定点ではアカイエカ及びヒトスジシマカの 2 種類のみが捕集され 1 調査日当たりの平均捕集数はそれぞれ 35 匹, 2.5 匹であった。これに対して, 加古川-2 やたつの-2 定点では, それぞれ 4 種類と 5 種類の蚊が捕集され, 平均捕集数は 61.8 匹及び 87.5 匹で, その主体はコガタアカイエカであった。このように同じ市内の定点であっても捕集される蚊の種類や数に大きな違いが見られた。

2. 蚊からの WNV 検出

捕集されたすべての蚊について WNV 遺伝子およびフラビウイルス遺伝子の検出を行ったが全て陰性で

あった。

IV 考察

研究センター定点の 3 シーズンの定期捕集調査 (Table 1) では, ヒトスジシマカとアカイエカとコガタアカイエカの 3 種類が捕集されたものの, コガタアカイエカは 3 シーズン合わせて 5 匹にとどまり, ヒトスジシマカとアカイエカの 2 種類が主体を占めていた。このヒトスジシマカとアカイエカの構成を 3 シーズンの合計で比較するとほぼ 1:1 となり, これは近隣の大阪府の市街地における調査と同様の結果であった⁵⁾。また, 捕集数の推移を月別にみると (Fig. 2) シーズンによって変動が見られたものの, 3 シーズンを合わせるとアカイエカが 6 月に, ヒトスジシマカは 7 月にピークを示した。アカイエカの捕集が 6 月にピークとなったのは, その活動が春季の比較的早い時期から活発となり, 盛夏になって最高気温が 32℃を超えると成虫の生存期間が著しく減少すること⁷⁾によるものであると考えられる。一方, ヒトスジシマカは他の種類の蚊と比較して春季の出

現や活動時期が遅いため⁷⁾, 7月が捕集のピークとなったと考えられた。

県内定点の捕集調査 (Table 2) では, 全ての定点からアカイエカ, ヒトスジシマカが捕集された。このうちで, アカイエカ, ヒトスジシマカのみが捕集されたのは7定点で, 特にこれら7定点の周辺はいずれも研究センター定点と同様にビルや住宅などの建物, 道路の側溝, 雨水マスなどの人工物が比較的多い地域であった。アカイエカ, ヒトスジシマカが雨水マス, 人工容器, 汚水溜, 下水溝などで多く発生する生態を考慮すると, これらはビル, 住宅, 道路の側溝等の人工物がある市街地を中心としたヒトの生活圏で生息していることが考えられた。

今回の調査ではコガタアカイエカが3,445匹と最も多く捕集され, 捕集された6定点は, すべて近隣に水田や畑がある市街地で, 都市部等で近隣に水田や畑が少ない定点では捕集されなかった。また, 1調査日あたりのコガタアカイエカの捕集数が多かったのは福崎定点やたつの-2定点で, トラップの設置場所は水田や畑の隣接地であった。これらの現象から県内の水田やため池を発生源として, その周辺に分布しているものと思われる。

近隣に水田のない都市部の研究センター定点でも僅かながらコガタアカイエカが捕集されたが, これはコガタアカイエカを含むイエカ類は数kmの飛翔能力をもち, 獲物を求めて探索行動を行うことから⁴⁾, 遠くの発生源から僅かながら飛翔してきたものとも考えられた。

捕集された蚊の種類が最も多く, 1調査日あたりの平均捕集数も最も多かった福崎及びたつの-2は, トラップを水田や畑の隣に設置した定点であった。蚊の種類による生態学的特徴を考慮すると, 水田発生性であるといわれるコガタアカイエカ, シナハマダラカ⁴⁾は定点周辺の水田から発生し, たい肥等の有機物を好むオオクロヤブカ⁴⁾は畑やその周囲の茂みが発生源であると考えられた。

これらのことから水田, 畑やその周囲の茂み等では, 多様な種類の蚊が発生しており, その分布密度も比較的高くなっていることが考えられ, このことは今回の調査でも確認された。

同じ市内である加古川-1及び加古川-2定点, あるいはたつの-1, たつの-2定点では捕集される蚊の種類や数に違いが見られた。これは加古川-1, たつの-1定点はビルや住宅などが多く, 加古川-2, たつの-2の定点は田畑が多い地域であるためと考えられるが, このように比較的狭い地域でも蚊の生

息状況が大きく異なることがあるため, 蚊の種類や生息数や分布状況をより正確に把握するには, より狭い範囲での成虫の捕集調査に加えて幼虫の種類と発生量を把握することが必要と思われる。

今回の調査で捕集されたすべての蚊からWNVは検出されなかったが, 捕集された6種類の蚊はいずれもWNVを媒介する可能性があり⁴⁾, 特にすべての定点から捕集されたアカイエカ, ヒトスジシマカ及びコガタアカイエカについては県内におけるWNVのベクターとして重要であると考えられた。また, 今回最も多く捕集されたコガタアカイエカは日本脳炎ウイルスの媒介蚊でもあり, 県内飼育のブタで毎年日本脳炎ウイルスに対する抗体が確認されていることから⁸⁾, 日本脳炎の感染リスクは依然として存在することが明らかとなった。

また, シナハマダラカ等のハマダラカ類はマラリアを媒介するとされている⁹⁾。国内では1947年に約12,000例の患者が報告されたが, 近年はすべてが輸入例であり国内発生は報告されていない⁹⁾。しかし, 今回の調査で少なからず捕集されておりマラリアの国内発生についても注目する必要がある。

蚊および野鳥のWNVのサーベイランスは, 全国の自治体で行われている。今のところWNVが国内に侵入したとの報告はないが, 北米を中心に流行が続いていることから, 今後も引き続きウイルスサーベイランスを行う必要があると考えられた。

V まとめ

兵庫県におけるWNVの保有監視および県内市街地に生息する蚊の分布の把握を目的として, 3シーズンにわたり蚊のサーベイランスを行った。その結果, 6種類9,037匹の蚊が捕集され, WNV検査を行ったがすべて陰性であった。6種類の蚊はいずれもWNVを媒介する可能性があるが, 特に, すべての定点から捕集されたアカイエカ, ヒトスジシマカや最も多く捕集されたコガタアカイエカが重要であると考えられた。

謝辞

本調査の遂行に当たり蚊の捕集, 同定法, ウイルス検査法等の技術的な研修, 指導をしていただきました大阪府立公衆衛生研究所ウイルス課の弓指孝博先生, 青山幾子先生, 本調査の企画調整, 総括をしていただきました県疾病対策課, 県生活衛生課の関

係者の方々，本調査にご協力いただきました健康福祉事務所の健康増進課および薬務・生活衛生課の関係者の方々に深謝いたします。

文 献

- 1) 倉根一郎：ウエストナイル熱．日本ウイルス学会誌, **53**, 1-6 (2003)
- 2) 今井長兵衛：ウエストナイルウイルスの米国侵入と流行実態．生活衛生, **48**, 252-260 (2004)
- 3) CDC：2007 West Nile Virus Activity in the United States.
http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/surv&controlCaseCount07_detailed.htm
- 4) 小林睦生他：ウエストナイル熱媒介蚊に関するガイドライン, p1-15, 国立感染症研究所, 東京 (2003)
- 5) 弓指孝博, 瀧幾子, 斎藤浩一, 西村平和, 石田誠良, 大竹徹, 奥野良信：大阪府におけるウエストナイル対策に関する蚊のサーベイランス (平成 15 年度報告)．大阪府公衛研所報, **42**, 57-63 (2004)
- 6) 高崎智彦, 倉根一郎：ウエストナイルウイルス病原体検査マニュアル Ver.4, p. 7, 国立感染症研究所, 東京 (2005)
- 7) 素木得一：衛生昆虫, p543-552, 北隆館, 東京 (1958)
- 8) 山岡政興, 押部智宏：1992 年～2006 年の兵庫県における日本脳炎ウイルスの自然生態．兵庫県立健康環境科学研究センター紀要, **4**, 49-53 (2007)
- 9) 感染症週報, p11-14 国立感染症研究所, 東京 (2002)