

## 資料

## 蚊の捕集及び分類・同定の技術習得と

## 蚊からのウイルス遺伝子検出の検討

Study on Technology Acquisition of Mosquitoes and Classification  
Identification and Detection of Viral Genes from Mosquitoes岩元由佳<sup>1</sup>浦元千織<sup>2</sup>

山本真実

穂積和佳<sup>3</sup>

中山浩一郎

御供田睦代

## 1 はじめに

国際的な人の移動に伴い、国内での感染があまり見られない感染症が、海外から持ち込まれる事例が増加している。デング熱等の蚊媒介感染症についても、海外で感染した患者からの国内での感染拡大事例が継続的に報告されている<sup>1)</sup>。日本では、2014年にデング熱の国内感染例が報告された。蚊媒介感染症の予防対策として、平常時からの媒介蚊の生息調査が求められている<sup>2)</sup>。

平常時からの生息調査体制の整備として、当センターにおいて蚊の捕集及び分類・同定の技術習得と蚊からのウイルス遺伝子検出を目的に調査を実施したので報告する。

## 2 調査方法

## 2. 1 調査期間及び調査地

蚊の捕集を月に1回実施した。調査期間及び調査地について、表1に示す。

表1 調査期間及び調査地

期間	調査地及び地点数
2017年 4～6月	環境保健センター（城南庁舎） 1か所 環境保健センター（錦江庁舎） 1か所
2017年 7～10月	鹿児島県立鴨池陸上競技場 1か所

## 2. 2 蚊の捕集及び分類・同定

当センターでは、人囮法により2名で8分間、吸血のた

めに飛来する蚊を捕虫網で捕集した。捕集した蚊は、実体顕微鏡下で分離・同定後、月ごとに個体数を集計した。

また、2017年7月から10月まで月1回、鹿児島市保健所職員が中央公園（鹿児島市）で捕集した蚊についても、鹿児島市保健所にて分類・同定後、当センターに搬入された。

## 2. 3 ウイルス遺伝子検出

捕集した蚊は雄雌に分け、1か所につき最大20匹を1検体とし、検査を実施した。

蚊の破碎はビーズビーター（TOMY社）で行い、ウイルスRNAの抽出はQIAamp viral RNA Mini kit（QIAGEN社）を用いた。抽出したRNAは、SuperScript III RT-PCR Kit（Invitrogen社）でコンベンショナルRT-PCRを行い、デングウイルス、チクングニアウイルス、ジカウイルス及びフラビウイルス共通遺伝子の検出を行った。プライマーは国立感染症研究所の診断マニュアルを参考とした（表2）。

## 3 結果

## 3. 1 蚊の捕集

当センター（城南庁舎及び錦江庁舎）で蚊の捕集を予定していたが、4月から6月まで全く捕集できなかったこと、センター内には蚊の生息に適した場所が少なかったこと等の理由から、7月から鴨池陸上競技場に調査地を変更した。その結果、1属1種18匹の蚊が捕集された（表3）。

1 熊毛支庁屋久島事務所

2 退職

3 県立大島病院

〒891-4311 熊毛郡屋久島町安房650

〒894-0015 奄美市名瀬真名津町18-1

表2 プライマー<sup>2)~4)</sup>

プライマー	配列 (5'-3')
デングウイルス	
Dus	TCAATATGCTGAAACGCGAGAAACCG
Duc	TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGGTTTC
チクングニアウイルス	
Chik10294s	ACGCAATTGAGCGAAGCACAT
Chik10573c	AAATTGTVCCCTGGTCTTCCTG
ジカウイルス	
ZIKVENVF	GCTGGDGCRGACACHGGRAC
ZIKVENVR	RTCYACYGCCATYTGGRCTG
フラビウイルス共通	
cFD2	GTGTCCCAGCCGGCGGTGTCATCAGC
MA	ATGATGGRAARAGAGAGARRAG

捕集された蚊は全てヒトスジシマカで、雄4匹、雌14匹であった。蚊は7月から9月に捕集され、9月に最も多く捕集された。

また、鹿児島市保健所捕集蚊は1属1種41匹であった(表3)。捕集された蚊は全てヒトスジシマカで、雄15匹、雌26匹であった。蚊は7月から10月まで捕集され、9月の捕集数が最も多かった。

### 3. 2 蚊からのウイルス遺伝子検出

当センター捕集蚊5検体及び鹿児島市保健所捕集蚊6検体の検査を実施したが、全て陰性であった(表3)。

## 4 考察及びまとめ

本調査は、技術習得を目的としたものであり、月に1回、調査地1地点で蚊の捕集を行った。そのため、蚊の捕集数は少なかった。

実際に定点モニタリングを実施する場合は、「蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針」<sup>1)</sup>に基づき、訪問者数が多く、かつ、蚊の生息に適した場所が存在する大規模公園など、リスク評価の結果、注意が必要とされた

地点について、施設等の協力を得て、定点を定めた媒介蚊の発生状況の継続的な観測を行う必要がある。蚊の活動が活発になる5月中旬から10月下旬まで、約2週間おきに、対象施設の敷地で行う必要があると考える。

また、本調査で行ったウイルス遺伝子検出結果は全て陰性であった。今後、県内でデング熱等の蚊媒介感染症が発生した場合、積極的疫学調査において蚊を捕集し、ウイルス検出まで行うことになる。このことから、蚊からのウイルス遺伝子検出マニュアルを作成した。今回作成したマニュアルを活用し、今後の対応に備えたい。

蚊媒介感染症の予防対策のためには、蚊を捕集する技術や詳細な分類・同定法を習得する必要があるため、データ等の蓄積を行うとともに、今後も調査を継続し、技術を継承していくことが重要である。

## 謝辞

蚊の分類・同定にあたり、御指導と御協力いただいた鹿児島大学国際島嶼教育研究センター大塚靖先生に深謝いたします。

## 参考文献

- 1) 厚生労働省；蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針（平成27年厚生労働省告示第260号）
- 2) 国立感染症研究所；蚊媒介感染症の診断ガイドライン（第4版）
- 3) 国立感染症研究所；デングウイルス感染症診断マニュアル
- 4) 国立感染症研究所；チクングニアウイルス検査マニュアル Ver.1.1
- 5) 国立感染症研究所；ジカウイルス感染症診断マニュアル

表3 ウイルス遺伝子検出結果

調査地	鹿児島県立鴨池陸上競技場				中央公園				
	環境保健センター				鹿児島市保健所				
実施主体	環境保健センター				鹿児島市保健所				
捕集日	7/31	8/31	9/26	10/31	7/20	8/21	9/19	10/25	
ヒトスジシマカ捕集数	雄	1	0	3	0	0	1	14	0
	雌	4	6	4	0	5	9	11	1
	合計	5	6	7	0	5	10	25	1
検体数	2	1	2	0	1	2	2	1	
ウイルス検査(デングウイルス・チクングニアウイルス・ジカウイルス)	陰性	陰性	陰性	—	陰性	陰性	陰性	陰性	