

フラビウイルス保有検査を実施し、外国からの侵入実態を明らかにするとともに、効果的な監視・調査方法を検討する。また、マラリア患者血液における PCR を用いたマラリア原虫遺伝子検出法は多くの方法があり、感度・特異性に優れていることが報告されているが、これらの手法を実際に蚊に応用した研究はあまりなされていないことから、蚊からのマラリア原虫遺伝子検出法を検討する。

B 調査・研究方法

(1) 調査場所

昨年と同様に、輸入コンテナを開梱し、他に移し替える場所である本牧 A 埠頭内及び大黒埠頭内のコンテナフレートステーション(CFS と略)2 定点の CFS 内部と 5 定点(山下埠頭、新山下、南部管理センター、出田町埠頭、星野町)の埠頭内建物の外部の計 7 定点を調査した。

(2) 採集方法

成虫の採集は、

①東京エーエス株式会社のライト捕虫器を用い、各定点の樹木等に概ね地上高 1.0 m に各 1 器設置し、ドライアイス 2 kg を入れた発泡スチロール製の穴あき箱をライトトラップ上部に付けた。CFS 内は壁部分につり下げた。なお、平成 12 年に関西空港において繁殖が認められたネッタイエカの調査を目的に、昨年アカイエカ類♂が多数採集された定点 3 カ所(山下埠頭、南部管理センター、出田町埠頭)については、4 月から捕虫器 1 器を追加し、各 2 器設置した。

②炭酸ガス粘着捕虫器(粘着剤はマルゼン化工:金竜スプレー)を用い、雨をしのげる定点 7 カ所の地上部分に各 1 個設置した。

幼虫の採集は、白色ポリ容器(直径 20cm、高さ 23cm、水量 1,500 ml)にさらしの木綿布を入れ、更にカルキ抜きの水を半分程度張った人工卵・幼虫用オビトラップを用い、各定点に 2 個設置した。また、オビトラップの形状等による採集比較のため褐色ポリ容器(直径 14 cm、高さ 16 cm、水量 650 ml、落ち葉入り)を 4 月から各定点に 2 個追加設置した。調査日に幼虫等の確認・採集を行い、水の取り替え等を実施後、継続して留置した。

(3) 調査期間等

平成 14 年 1 月から 12 月。調査時間は、調査日の午後に巡回、捕虫器を設置し、翌日午前に回収した。

調査頻度は原則 2 週間に 1 回各定点を調査した。採集した検体は、横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター微生物課に送付し、種の同定及びフラビウイルス保有検査を実施した。

(4) フラビウイルス保有検査法

蚊から全 RNA を抽出し、ウイルス特異的 primer pair を用いた RT-PCR 法によりウイルス特異的遺伝子部位の増殖を行った後、アガロース電気泳動及び核酸染色を行い、特異バンドの有無を確認する方法で実施した。即ち、採取した蚊をすり潰したものに蒸留水を 250 μ l 程度加え攪拌したものに ISOGEN-LS(ニッポンジーン)を 750 μ l 加え、添付マニュアルのとおり RNA を抽出した。抽出した RNA を 5 μ l 用いて AMV 逆転写酵素(Promega)、並びに Ex-taq ホリメラーゼ kit(Takara:Mg2+入り)、RNase inhibitor(Takara)を用いた One-step RT-PCR を行った。

検出 Primer には M.Tanaka ら(J.Viol.Method,41:311-322,1993)のフラビウイルス属共通部位を増幅する YF1 及び YF3 primer pair をスクリーニングに用い、特異バンドが確認され

た場合、蚊種を考慮して、同文献等の Dengue 熱、日本脳炎及び West Nile などの種特異 primer pair による特異バンドを確認する方法で行った。

(5) 蚊からのマラリア原虫遺伝子検出法
熱帯熱マラリア感染赤血球(感染率既知)の血液試料を用いて DNA 抽出法、並びに PCR 条件を比較検討し最適な手法を見だし、野外捕獲シナハマダラカへの添加回収試験及び実際にマラリア感染蚊を使って nested PCR を行い原虫遺伝子の確認に応用できるか否かを確認し評価するため、以下の材料及び方法を用いた。

<材料>

感染血球と蚊すり潰し混合液からの PCR の検討には、野外捕獲シナハマダラカを用いた。感染血液は、熱帯熱マラリア培養感染血液(ギムザ染色により赤血球感染率 2.55%; 感染血球数 6.78×10^3 個/ μ l の血液)を用いた。また、マラリア感染ハマダラカは、タイ国由来の熱帯熱マラリア、三日熱マラリア 210 型及び 247 型感染ハマダラカ(各 15 個体ずつ; 各 $10^3 \sim 10^4$ スポロゾイト/個体)を用いた。

<方法>

Oliveira らの方法(Am.J.Trop.Med.Hyg.,52:139-144,1995)を基に 1st-PCR を BIO1 及び AL553 primer pair で、Semi-nested PCR を BIO1 及び DIG1、DIG4、DIG7、DIG11 primer pair を用いて各種マラリア原虫遺伝子の確認を行った。即ち DNA 抽出を CTAB-フェノール-クロロホルム法で、PCR を Ready-to-go PCR-Beads(アマシャム・ファルマシア・バイオテック)を用い、前熱変成 94℃、10分、増幅は熱変成 94℃、1分、アニーリング 55℃、1分、伸長 72℃、1分30秒、30サイクル、最終伸長 72℃、5分で実施した。まず、感染赤血球液とその希釈液各 20 μ l

ずつを未感染蚊に 1 個体及び 10 個体に混ぜたすり潰し液から DNA を抽出し、Semi-nested PCR までを実施し、特異的遺伝子断片の検出条件を検討した。そしてこの条件で、感染蚊 1 個体のすり潰し液と 1 個体と未感染蚊 9 個体を混合し得たすり潰し液について DNA 抽出及び Semi-nested PCR を実施した。

(倫理面への配慮)

本調査・研究は、港湾区域内にて採集された蚊情報に基づく解析を行うこと、及び個人に影響を及ぼすおそれがないことから、倫理面への配慮要素はないものと考え

C 調査・研究結果

(1) 月別・採集方法別調査結果(成虫:表 1)

採集方法別調査結果は、

① ライトトラップ法(延 191 器設置)により、アカイエカ群 1,879 個体(♂ 72、♀ 1,807)、ヒトスジシマカ 124 個体(♂ 14、♀ 110)、コガタイエカ 45 個体(♂ 16、♀ 29)、クシヒゲカ亜属 3 個体(♂ 1、♀ 2)、トウゴウヤブカ 1 個体(♀)、カラツイエカ 1 個体(♀)及びキンイロヤブカ 1 個体(♀)の合計 2,054 個体(♂ 103、♀ 1,951)が採集された。

② 炭酸ガス粘着トラップ法(延 140 器設置)により、アカイエカ群 1,855 個体(♂ 2、♀ 1,853)及びヒトスジシマカ 130 個体(♂ 1、♀ 129)の合計 1,985 個体(♂ 3、♀ 1,982)が採集された。

月別調査結果は、

① ライトトラップ法では 2 月を除き通年採集された。また、設置トラップ 1 器当たりの採集数は、通年平均値 10.8 (2,054 個体/191 器)を超えて採集された月は 5 月の 12.9

(258 個体 / 20 器、平均気温 17.7℃、降水量 141.0mm)、6月の 21.3 (213 個体 / 10 器、平均気温 20.7℃、降水量 242.0mm)、7月の 23.5 (470 個体 / 20 器、平均気温 26.9℃、降水量 185.0mm) 及び 10月の 21.2 (423 個体 / 20 器、平均気温 18.4℃、降水量 207.5mm) であり、最高値は 7月の 23.5、最低値は 2月の 0.0 であった。

②粘着トラップ法では、ライトトラップ法と同様 2月を除き通年採集された。設置トラップ 1 器当たりの採集数は、通年平均値 14.2 (1,985 個体 / 140 器) を超えて採集された月は、11月の 40.1 (843 個体 / 21 器) を筆頭に 9月の 20.6 (288 個体 / 14 器) 及び 5月の 17.9 (250 個体 / 14 器) であった。

(2) 月別調査結果 (幼虫 : 表 2)

①オビトラップを合計 518 器設置し幼虫調査を通年実施した結果、7月～10月の間のみヒトスジシマカ及びアカイエカ群が採集され、その間のトラップ内平均水温は 20.1℃～27.3℃であった。

②オビトラップの形状等差による採集比較の結果は、落ち葉入り褐色ポリ容器の方が蚊種類、採集数、採集期間において白色ポリ容器より若干優れていた。

(3) 各定点別調査結果 (表 3)

①成虫の調査の結果、採集総数では出田町埠頭 (1,419 個体)、星野町 (761 個体)、山下埠頭 (717 個体) の 3 定点が多く採集され、CFS2 定点 (171 個体、92 個体) は少なかった。アカイエカ群は全定点で採集され、出田町埠頭、山下埠頭、星野町の順位で採集数が多く、ヒトスジシマカも同様に全定点で採集され、新山下、星野町、出田町埠頭の順位で多かった。コガタイエカも少数ながら全定点から採集され、クシヒゲカ亜

属は山下埠頭、本牧 A-8 (CFS) 及び南部管理センター (本牧埠頭) の 3 定点から 1 個体採集され、トウゴウヤブカは本牧 A-8 (CFS) のみから 1 個体採集され、カラツイエカ及びキンイロヤブカは山下埠頭のみで各 1 個体採集された。

採取蚊の種類数は、山下埠頭が 6 種、本牧 A-8 (CFS) が 5 種、新山下及び南部管理センター (本牧埠頭) が共に 4 種、その他 3 定点は 3 種であった。

②幼虫の調査結果は、CFS の 2 定点を除く 5 定点からヒトスジシマカが採集され、アカイエカ群が出田町埠頭のみで採集された。

(4) アカイエカ群オスの種の同定結果 (表 4)

アカイエカ群 70 個体について、外部生殖器により種を同定した結果 (大黒 T-8CFS を除く 6 定点分)、アカイエカ 29 個体とチカイエカ 41 個体であり、ネッタイエカは採集されなかった。

(5) フラビウイルス保有検査結果 (表 5)

各種の採集方法により採集されたアカイエカ群 3,565 個体、ヒトスジシマカ 240 個体、コガタイエカ 49 個体、キンイロヤブカ 1 個体及びトウゴウヤブカ 1 個体の合計 3,856 個体について実施したフラビウイルス遺伝子の検査結果は全て陰性であった。

(6) 蚊からのマラリア原虫遺伝子検出法の検討結果

DNA 抽出は CTAB-フェノール・クロホルム法が有効であった。また、感染血液と未感染蚊すり潰し液の DNA 抽出希釈液では、蚊 1 個体では抽出原液から遺伝子確認できたが、10 個体では抽出原液を 10～100 倍希釈する必要があった。感染蚊に応用した場合も同様に 1 個体からは希釈せずに検出できた

(図 1) が、感染蚊 1 個体が 9 個体の未感染蚊に混ざった場合は、原液を 10 ～ 100 倍に希釈することで検出できた (図 2)。

D 考察

成虫蚊の採取方法に関しては、ドライアイス加ライトトラップ法と炭酸ガス粘着トラップ法とも採集総数においては差異は見られなかったが、1 器当たりの採集効果は粘着トラップ法が若干優れていた。しかし、採集蚊の種類は、ライトトラップ法の 7 種に比べ粘着トラップ法は 2 種と劣っていたことから今後も両採集方法の併用が望ましい。

月別採集結果から、平均気温が 10℃以下の月においても採集されていることから通年調査・監視の必要性があると思われる。また、アカイエカ群オスの種の同定結果から、ネッタイエカの確認は出来なかったが、オスによるアカイエカ群の活動を推察するとチカイエカの方が早い時期に活動が認められること及び一般にアカイエカは、冬季に成虫において休眠するため冬場の活動はチカイエカと推察される。今後 1 月以降の調査を継続する必要がある。

幼虫調査結果は、7 月から 10 月の間のみ採集され、オビトラップの形状等の差による結果から、今後は白色よりも褐色等の着色トラップで中に落ち葉等を投入したオビトラップが適切であると思われる。

定点別調査結果から見ると、CFS 内は他の定点に比較し採取数が少ないが、外国から輸入されたコンテナを直接開梱・積み替えしている場所であることから、今後とも調査継続が必要である。

採集蚊の種別経年推移 (過去 5 年との比較) を表 6 に示した。平成 14 年に採集され

た種は例年採集されているアカイエカ群、ヒトスジシマカ及びコガタイエカのほか、クシヒゲカ亜属、トウゴウヤブカ、カラツイエカ及びキンイロヤブカの 7 種であり、外国種の侵入定着は伺えなかったが、採集蚊の種類が増加しており継続調査による経年変化を把握することも重要である。

アカイエカ群、ヒトスジシマカ、コガタイエカ、キンイロヤブカ及びトウゴウヤブカの合計 3,856 個体のフラビウイルス検査結果は、全て陰性であったが、今後ともヒトスジシマカにおけるデングウイルスの保有状況をサーベイすると共に、検疫感染症に準ずる感染症であるウエストナイル熱、日本脳炎及びマラリアについても保有病原体検査を実施することが必要と考える。

蚊からのマラリア原虫遺伝子検出法の検討において、10 個体以上の蚊を用いて PCR を行う場合は、蚊の PCR 阻害物質の存在が認められたことから、抽出 DNA 液を 10 倍及び 100 倍に希釈することで、Semi-nested PCR によるマラリア原虫遺伝子の確認が可能であると考えられた。しかし、抽出法に関しては、個体数が増えると阻害物質の量も増えると予想されるので阻害物質の効果的な除去法の再検討が必要である。

E 結論

- ① 現在、横浜港港湾区域においては蚊科の外国種の侵入定着は確認できなかった。
- ② 調査方法としては、成虫調査では採集効率の面からドライアイスを用いた方法及び電源確保が困難な場所での粘着トラップ法の活用が有用である。
- ③ 幼虫調査に用いるオビトラップは、白色に比べ褐色等の有色トラップで中に落ち葉等を投入したものが採集効果が高い。
- ④ 今後も平時の監視活動として、蚊科の

採集・同定を継続実施するほか、保有病原体調査とともに検査法の検討が必要と考える。

F 健康危険情報

特になし。

G 研究発表

特になし。

H 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表1. 平成14年月別蚊族調査結果一覧表(成虫)

採集法	月別 種類別	1月		2月		3月		4月		5月		6月		7月		8月		9月		10月		11月		12月		計				
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
ライトトラップ	アカイ幼群		17					26	11	245	6	205	8	427	8	83	11	158	15	374	13	264	6				72	1,807		
	ヒトスジシマカ									2		1	2	26	5	40	6	27	1	13		1					14	110		
	クシキガ亜族											1											1	2			1	2		
	トリゴウガアブカ												1																1	
	コガタイカ													2	5	1	2	3	3	9	10	1	9					16	29	
	カラサイエカ																		1										1	
キンロアブカ																												1		
設置数(1器当り)			7(2.4)		7(0.0)		7(0.3)		20(1.3)		20(12.9)		10(2.1.3)		20(23.5)		20(7.0)		20(10.5)		20(21.2)		30(9.7)		10(0.6)		191(10.8)			
粘着トラップ	アカイ幼群		23				8		83		250		88	1	79		84		227		169	1	841				1	2	1,853	
	ヒトスジシマカ											1		11	1	35		61		20		1					1	129		
	クシキガ亜族																													
	トリゴウガアブカ																													
	コガタイカ																													
	カラサイエカ																													
キンロアブカ																														
設置数(1器当り)			7(3.3)		7(0.0)		7(1.1)		14(5.9)		14(17.9)		7(12.7)		14(6.5)		14(8.6)		14(20.6)		14(13.5)		21(40.1)		7(0.1)		140(14.2)			
計	アカイ幼群		40				10		109		495		293	9	506	8	167	11	385	15	543	14	1,105		7	74	3,660			
	ヒトスジシマカ										2		2	2	37	6	75	6	88	1	33		2				15	239		
	クシキガ亜族																										1	2		
	トリゴウガアブカ											1																1		
	コガタイカ													2	5	1	2	3	3	9	10	1	9				16	29		
	カラサイエカ																		1									1		
キンロアブカ																											1			
平均気温(℃)			7.2		7.4		11.8		15.6		17.7		20.7		26.9		27.3		22.5		18.4		11.2		7.0		16.1			
降水量(mm)			104.5		33.5		101.0		66.5		141.0		242.0		185.0		154.5		283.0		207.5		28.0		91.5		136.5			

表2. 平成14年月別蚊族調査結果一覧表(幼虫)

採集法	月別	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
	調査回数	1	1	1	2	2	1	2	2	2	2	2	3	1
北トラップ (白)	アカイ幼群													
	ヒメジマカ							45	32	85				162
北トラップ (茶)	アカイ幼群										2			2
	ヒメジマカ							21	80	84	41			226
平均水温(℃)		10.3	10.9	9.5	15.1	19.6	23.5	26.7	27.3	24.3	20.1	11.2	6.9	17.1
設置トラップ数		14	14	14	56	56	28	56	56	56	56	84	28	518

表3. 平成14年 定点別蚊族調査結果一覽表

(成虫)

採集法	調査場所 種類別	山下埠頭		新山下		本牧A-8		南部管理センター		大黒T-8		出田町埠頭		星野町		計	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
ライトトラップ	アカイカ群	18	354	3	86	3	94	20	135	1	51	24	732	3	355	72	1,807
	ヒトスジシマカ		2	4	45	1	8	2	8	3	4	3	33	1	10	14	110
	クシバカ亜属		1			1			1							1	2
	トリコウヤブカ						1										1
	コガタイカ	9	5	2	4		9	1	1		1	2	5	2	4	16	29
	カワヅイカ		1														1
キノロヤブカ		1														1	
粘着トラップ	アカイカ群		325		289		53		204		32		617	2	333	2	1,853
	ヒトスジシマカ		1		72	1			2			3			51	1	129
	クシバカ亜属																
	トリコウヤブカ																
	コガタイカ																
	カワヅイカ																
計	アカイカ群	18	679	3	375	3	147	20	339	1	83	24	1,349	5	688	74	3,660
	ヒトスジシマカ		3	4	117	2	8	2	10	3	4	3	36	1	61	15	239
	クシバカ亜属		1			1			1							1	2
	トリコウヤブカ						1										1
	コガタイカ	9	5	2	4		9	1	1		1	2	5	2	4	16	29
	カワヅイカ		1														1
キノロヤブカ		1														1	

(幼虫)

採集法	調査場所	山下埠頭		新山下		本牧A-8		南部管理センター		大黒T-8		出田町埠頭		星野町		計	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
ライトトラップ (白)	アカイカ群																
	ヒトスジシマカ	5		39			4					114					162
ライトトラップ (茶)	アカイカ群																2
	ヒトスジシマカ	33		35			13					90		55			226

表4. アカイエカ群オスによる種の同定結果

調査地点	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
山下埠頭	0	0	1	0	2	1	4	0	0	8
本牧A-8	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2
南部管理センター	0	0	0	2	2	1	1	2	0	8
大黒T-8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
出田町埠頭	0	0	1	2	0	3	1	1	0	8
星野町	0	0	0	0	2	0	1	0	0	2
新山下	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
合 計	0	0	2	4	7	6	7	3	0	29

チカイエカ

調査地点	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
山下埠頭	0	1	3	0	0	2	2	1	0	9
本牧A-8	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
南部管理センター	0	5	1	1	0	0	0	5	0	12
大黒T-8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
出田町埠頭	0	4	0	3	0	3	5	1	0	16
星野町	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
新山下	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
合 計	0	10	4	4	0	5	8	10	0	41

表5 フラビウイルス検査実施数（平成14年1月～12月）

	ドライアイス加 ライトトラップ法	炭酸ガス 粘着トラップ法	オビトラップ法	計
アカイエカ群	1,880	1,642	43	3,565
ヒトスジシマカ	111	129		240
コガタイエカ	45	4		49
キンイロヤブカ	1			1
トウゴウヤブカ	1			1
合 計	2,038	1,775	43	3,856

表6：採集蚊の種類別経年推移（過去5年との比較）

	平成9年	平成10年	平成11年	平成12年	平成13年	平成14年
成虫						
調査トラップ数	29	65	82	193	259	314
アカイエカ群	323	188	127	1,579	3,464	3,734
ヒトスジシカ	10	13	6	692	369	254
クシビゲカ亜属						3
トウゴウヤブカ						1
コガタイエカ	3	42	2	187	35	45
カテツイエカ						1
シオハダラカ				3		
キンイロヤブカ	1				2	1
オオクロヤブカ		1				
幼虫						
アカイエカ群	166	59				2
ヒトスジシカ	87	32	12	214	225	388
ハダラカ属		138				
コガタイエカ			6			
オオクロヤブカ			7			

図1. マラリア感染蚊のPCR及びSemi-nested PCR

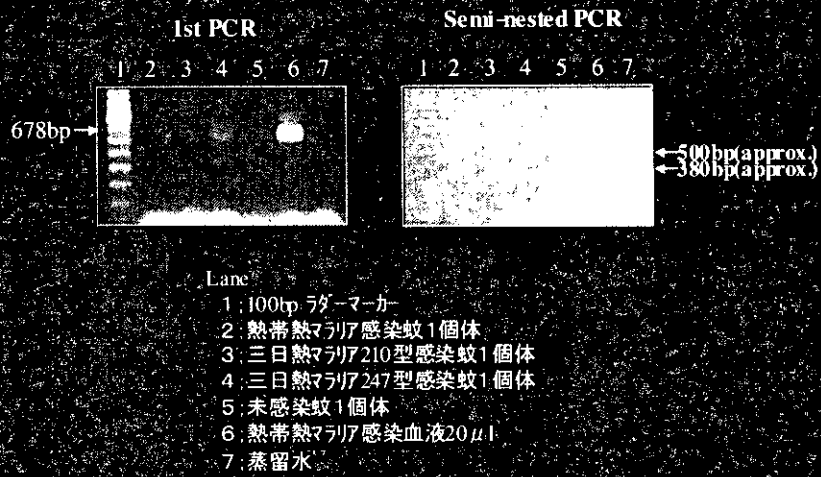
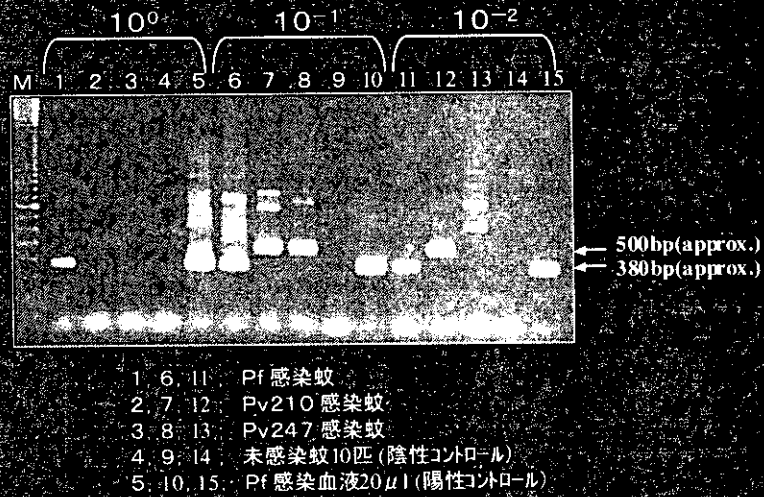


図2. マラリア感染蚊1匹・未感染蚊9匹のSemi-nested PCR



厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

港湾由来の侵入昆虫類の実態調査に関する研究（第3報）

分担研究者： 平田 堅司（大阪検疫所）

研究協力者： 楠井 善久（横浜検疫所）

： 田野田 長喜（大阪検疫所）

研究要旨

海外から侵入して来る虫類の侵入経路として海港における問題点を調査研究した。国際間を航行する船舶に、或いはコンテナ貨物の中に潜み虫類が侵入する可能性については本研究の第1報、第2報において報告した。即報から得た知見をさらに進めるため、外航船舶内、コンテナ内の調査及び港湾地域周辺の蚊族の生息状況調査を継続すると共に、近畿地方に散在する小規模の国際港（大阪港以外の港で大阪検疫所が管轄している検疫指定港）及び、亜熱帯に位置する国際港として那覇港を選び、港湾環境の衛生状況及びコンテナの流通状況の調査を行った。

船舶内の調査では43種、コンテナ内の調査ではノミやイエカを含め33種の何らかの虫類が採集された。大阪港の港湾地域の調査においては侵入種と思われるネッタイエカを含め2属6種の蚊が採集された。

大阪港以外の国際港として調査した和歌山下津港、阪南港、敦賀港、舞鶴港、那覇港の港湾地域における衛生環境の調査及びコンテナの流通調査では、船舶或いはコンテナにより衛生害虫を含む虫類が侵入した場合、各港の周囲の環境が侵入した虫類等の生息、定着を許す可能性があることが示唆された。

また港湾地域のみならず、コンテナが分散して搬送される内陸部においては、コンテナと共に運ばれた虫類が直接住居地区に飛散することになる。このような状況から港湾由来の衛生害虫の侵入防止に向けた問題点と対策について考察した。

A. 研究目的

近年、ウエストナイル熱、ライム病を初めとする新興感染症、黄熱、デング熱、マラリアに代表される再興感染症が世界的に広がりを見せている。その主な原因の一つとして国際間の人や貨物の流通の活発化、高速化に伴う輸入感染症及び病原体保有動物の侵入の機会の増加によることが指摘されている。さらに地球の温暖化に伴って侵入した虫類の定着の可能性の問題が指摘される。

わが国は周囲を海に囲まれていることから各種病原体及びこれらを媒介する小動物の侵入が阻止され、生物地理上生物相が安定していた。しかし近年の交通、交易事情は、虫類を含め様々な小動物の侵入を許し、この安定した状況の攪乱と感染症の侵入が危惧されている。その経路として航空機とともに船舶やコンテナ貨物による侵入が想定されている。近年の人や貨物の流通の増大や高速化による、さらなる侵入の増加の可能性を考えれば、

積極的に侵入の防止対策を講じ、また、港湾地域の環境を整備することによる侵入後の定着の阻止を図ることが求められる。

しかしながら現状においては、虫類の侵入に対し関心が薄く、何ら対策がとられていない。十分な調査に基づいた侵入防御体制の構築が必要であり、その対策に資するものである。

B. 研究方法

B-1. 船舶における虫類の調査

調査対象：大阪港及び堺泉北港に入港した外航船舶を対象とした。

調査期間：2002年1月から12月まで実施した。

採集区域：船内全域を対象とし、主に乗組員の居住区域である居室、調理室、配膳室、食料庫、及び船首倉庫、船尾倉庫を調査した。

採集方法：目視により生息を確認し、生体は捕虫網、吸虫管を用い、死体はピンセットを用いて採集した。暗所及び狭い所の調査では照明に懐中電灯を用い、またスーピング法により採集を行った。

調査船舶内で見つけた虫類は侵入状況の全容を見るために全て収集した。採集した個体は実体顕微鏡で観察し、形質分類により同定した。標本は全て乾燥標本とし、今後の資料とした。

B-2. 輸入コンテナの虫類の調査

調査対象：大阪港に輸入されたコンテナのうち、大阪南港のコンテナヤードで開梱されたコンテナを対象とした。

調査期間：2002年1月から12月まで実施した。

調査方法：調査に当ってはコンテナの入庫情報を輸入者又は船舶代理店より入手し、無作為に抽出した。入庫現場において作業員と打ち合わせ、扉の開放と同時に飛び出してく

る虫体があれば捕虫網で捕獲した。

貨物の搬出後、直ちにコンテナ内に入り、目視による採集を行い、やや薄暗い場合には懐中電灯の照明による目視及び壁面のスーピングにより捕虫網で捕獲した。更に、床面、壁面の飛翔しない個体や死体をピンセットで採集した。またハンディクリーナーで集塵し、採集した塵埃を厚手のビニール袋に入れて検査室に搬入した。

捕虫網で生体として捕獲された虫類は毒瓶に収容し、塵埃中の虫類はビニール袋の中で生死を確認し、酢酸エチルを含ませた脱脂綿を入れて虫体を殺した。目視できる虫体を採集後、5mm、3mmの篩に順次かけて大型の塵埃を除去し、篩上の虫体を採集し、篩をかけられた塵埃は実体顕微鏡下で鏡検して微細種を採集した。採集した虫体は形質分類により同定した。標本は今後の資料として昆虫類は乾燥標本、その他は液浸標本として保存した。

B-3. 大阪港の港湾地域における蚊の調査

①成虫調査

ライトトラップを用いて調査を行った。

設置場所：南港北3丁目野鳥園。野鳥園は大阪港のほぼ中央部南港地区に位置する人口の干潟とそれを取り囲む広い緑地公園である。緑地は樹木が繁茂し、野鳥用に小さな用水等も設置されている。近隣に大型コンテナ船の岸壁、コンテナ野積場、倉庫等がある。設置地点はこれらの港湾施設に面した園内である。

調査期間：2002年4月から11月までである。

②幼虫調査

大阪港、堺泉北港地区を巡回し、水溜り、側溝、古タイヤ、放置容器等の幼虫の発生状況を調査し、柄杓、ピペットを用いて採集した。

③オビトラップによる調査

設置場所：南港北3丁目野鳥園、南港北2緑地、及び南港東9港大橋臨港緑地の3地区に20個を設置した。(第1, 第2報と同じ地点)

調査期間：2002年5月から11月(11月に産卵が確認されなくなったため12月は実施せず)

トラップは褐色ポリエチレン試薬瓶(1,400ml)を使用した。中に採水後1昼夜静置して脱塩素した水道水を約500ml注ぎ、濾紙(約2.5×15cm)を壁面に貼り付け、更に水面上に大型の広葉樹の落ち葉を浮かべた。直射日光の当たらない場所を選んで設置した。毎月月初めに設置し、14日後に回収をして、濾紙上の産卵状況、水中の幼虫の確認、採集をした。回収時に濾紙上の虫卵、水中の幼虫が確認されない場合においても、回収後7日間室温に静置し、産卵の有無を確認した。

B-4. 近畿地方の小規模国際港及び那覇港における衛生状況とコンテナの流通調査

今まで調査されていない小規模な国際港及び那覇港において港湾地域の衛生環境の調査とコンテナの流通調査を行った。

調査港：和歌山下津港(和歌山県)、阪南港(岸和田市、貝塚市)、敦賀港(福井県)、舞鶴港(京都府)、那覇港(沖縄県)である。

調査項目：

①コンテナ船の入港状況

定期配船(航路、予定入港隻数、取り扱いコンテナ数)

②コンテナ取り扱い業者へ聞き取り調査

主なコンテナ内容、主な輸送先地名、取り扱い形態、取扱者の虫刺され等の被害の有無。

③港湾地区及びコンテナパースを中心として、その周辺及び住宅密集地等への距離と環境調査。

(倫理面への配慮)

この研究は海外より侵入してくる虫類に関して調査したもので、倫理上の配慮の必要はないものとする。

C. 研究結果

C-1 外航船舶内における虫類の実態調査
調査した船舶は、貨物船26隻、タンカー7隻、貨客船1隻の計34隻であった。その結果27隻から何らかの虫類が採集された。採集された虫類の種、個体数、大阪港に到着前約3ヶ月の寄港地及び通常積載貨物は表1に示した。

調査した船舶の通常積載貨物は鉄鉱石、鋼材、自動車、コンテナ、大豆、砂糖、果物、原油、LPG、LNG等多岐にわたる貨物を積載していた。また大阪港に到着前3ヶ月間の寄港地についても日本と近距離に位置する東アジア、東南アジアからの来航する船舶が15隻(44%)、その他の船舶は東アジアからオーストラリア、中近東、北アフリカ、ヨーロッパ、南北アメリカと全世界のあらゆる港を経由し大阪に来航していた。

34隻の船舶の内27隻(79.4%)から何らかの虫類が採集された。

採集された虫類の総個体数は6目33科126個体であった。一隻あたりの個体数は1種1個体から6種9個体まで様々である。種類別ではゴキブリ目、3科3種39個体とも多く、半翅目3科5個体、双翅目13科39個体、膜翅目4科27個体、鱗翅目6科6個体、鞘翅目4科10個体であった。

生体で採集されたものは71個体(56.3%)で、チャバネゴキブリ16個体、アブラムシ科の1種1個体、ミギワバエ科の1種3個体、キモグリバエ科の1種1個体、トゲバネバエ科の1種1個体、ニセケバエ科の1種4個体、ハナバエ科の1種2個体、イエバエ7個体、ツマグロキンバエ1個体、アリ科の1種25

個体、トガリバの1種1個体、ノコギリヒラタムシ5個体、ヒメマルカツオブシムシ1個体、ヨツモンマメゾウムシ2個体、ココクゾウムシ1個体であった。

衛生害虫とされるゴキブリ目について、チャバネゴキブリは15隻から36個体（生体16個体）採集され、幾つかの港を経由した船舶から採集、チャオビゴキブリは世界一周をしているコンテナ船の船員居住区から2個体採集された。ワモンゴキブリはミクロネシア諸島を航行している貨客船が修理と検査のために大阪の造船所に入渠した際、調理室から採集された。イエバエは13個体（生体6個体）が採集され、その内生体で採集された6個体は、台湾からの貨物船の調理室、中国、韓国からの貨物船の調理室、インドネシア、シンガポールから来航した調理室と食堂、中国、台湾より来航した貨物船の調理室、中国、韓国より来航した貨物船の船員食堂等のいずれも食堂や調理室で採集されている。オオイエバエ、オオクロバエ、ツマグロキンバエ等は船内各所で採集されるが、殆ど死体で採集されている。

スジコナマダラメイガ、セスジノメイガ等のメイガ類、ノコギリヒラタムシ、ヒメマルカツオブシムシ、ヨツモンマメゾウムシ、ココクゾウムシ等の食品害虫は大部分の個体が食料庫や居室から生きたままで採集された。

C-2 輸入コンテナの昆虫調査

輸入コンテナより採集された虫類と積込地、積み込まれた貨物の品目は表2に示した。調査したコンテナ数は56個でその積込国及び個数は中国39個（上海港18、青島港9、香港6、寧波港3、新港2、厦門港1）で大部分を占め、続いて韓国15個（釜山港14、仁川港1）シンガポール1個、英国1個（サウサンプトン港）であった。

コンテナの積載貨物は中国の上海港、青島港等から衣類、雑貨が中心で、他に機械部品、

薬品、石材等の混載、香港から電気部品、機械部品と雑貨の混載が見られた。韓国から自動車部品、機械部品、金属製品と雑貨の混載、シンガポールからは雑貨、種子、サウサンプトンからは機械部品、衣類、雑貨が積み込まれていた。

調査により何らかの虫類が採集されたコンテナは26個（46.4%）であり、国別では中国17個（上海港7、青島港5、香港3、寧波港2）、韓国8個（釜山港8）、英国1個（サウサンプトン港）であった。採集された虫類は昆虫網、7目29科58個体、蛛形網、1目4科6個体で合計64個体である。

衛生昆虫ではイエカが上海港（中国）から、ノミの一種が寧波港（中国）のコンテナで各1個体採集された。感染症を媒介する可能性がある吸血性の2種が採集されたのは注目される。ショウジョウバエの蛹、クロバエが青島港（中国）から、ニクバエが香港からの衣類、雑貨類等が積み込まれていたコンテナ内から採集された。

カツオブシムシの一種、ゴミムシダマシ科の一種、クビレヒメマキムシ、ノコギリヒラタムシは食品害虫であるが食品の積載されていない中国からのコンテナから採集した。

クモ類は韓国から輸入されたコンテナからイエユウレイグモ、ミナミユウレイグモ、コガネグモの一種（2個体）が、また中国からのコンテナ内からアシヨレグモの一種がいずれも生体の状態で採集された。

C-3 大阪港の港湾区域における蚊の調査
港湾区域における成虫と幼虫の調査場所は地図1、調査結果は表3に示した。

① ライトトラップ。

種類別にはアカイエカが55、ネッタイエカ1、コガタイエカ14、ヒトスジシマカ9個体で、合計4種、79個体であった

月別にみると4月は採集数0、5月はアカイエカ1、ヒトスジシマカ2、6月はアカイ

エカ9、ネッタイエカ1、7月はアカイエカ21、コガタイエカ1、ヒトスジシマカ9、8月アカイエカ8、コガタイエカ9、9月アカイエカ1、コガタイエカ4、10月アカイエカ15、11月は0であった。

①幼虫調査

月別、調査地域別に見ると4月は大阪港地区南港北、中埠頭の調査を実施したが、発生源は0であった。5月は堺泉北港地区助松・小松・松之浜埠頭において発生源1箇所からヒトスジシマカ6個体を、6月は大阪港地区第一突堤～第三突堤において発生源3箇所からアカイエカ1、ヒトスジシマカ6、7月は中央突堤において発生源5箇所からヒトスジシマカ16、トウゴウヤブカ18で、合計34、8月は南港南地区において発生源2箇所からヒトスジシマカ11、トウゴウヤブカ20で、合計31、9月は安治川地区において発生源2箇所からヒトスジシマカ21、10月は堺泉北港地区汐見・大浜埠頭において発生源2箇所からアカイエカ17個体を採集した。11月は大阪港、桜島・梅町地区の調査を実施したが、発生源は0であった。

合計で発生源15箇所から116個体が採集され、種類別ではヒトスジシマカ39個体(33.6%)、トウゴウヤブカ38個体(32.8%)、アカイエカ39個体(33.6%)であった。

②オビトラップによる調査

設置場所は地図2に、調査結果は表4に示した。5月14日より11月19日まで住之江区南港北3野鳥園10箇所、南港北2-3緑地2箇所、南港東9-1港大橋臨港緑地8箇所、計20箇所に第2報と同じ場所を選定し設置した。

南港北3の野鳥園においては、5月～10月までアカイエカが採集された場所は6箇所、ヒトスジシマカ42箇所、アカイエカとヒトスジシマカの混在1箇所、産卵なし11箇所、計1,616個体が採集された。11月は

産卵は認められなかった。

南港北2-3緑地は第2報でイナトミシオカが採集された場所であるが、5月～9月までアカイエカ1箇所、ヒトスジシマカ6箇所、産卵なし4箇所、計309個体が採集された。10月11月は産卵は認められなかった。

南港東9-1港大橋臨港緑地においては5月～10月間でアカイエカ1箇所、ヒトスジシマカ42箇所、アカイエカ、トラフカクイカ混在1箇所、産卵なし5箇所、計1,967個体が採集され、11月は産卵は認められなかった。全期間を通じ、ヒトスジシマカが優勢で、7月までアカイエカが限局的に認められたが、8月以降(1箇所を除き)全てヒトスジシマカであった。

C-4 近畿地方の小規模国際港と那覇港の港湾地域の衛生状況とコンテナの流通状況

大阪港を含めた各調査港の港湾地域とコンテナの流通状況について表5に示した。

(1) 和歌山下津港

韓国(釜山港)と日本(各港)間に3海運会社が3航路を設定し、1週間に3便が就航している。1年間の輸入コンテナ取り扱い数は約3,300個である。

コンテナで輸送される貨物については、工業原料、家庭用雑貨、食品、潤滑油、その他となっており、主に韓国内からの貨物であるが、一部は中国、台湾、タイ、ベトナム産で釜山で積み替えられて輸入されていた。コンテナの一部はコンテナヤードに隣接する倉庫で開梱され、貨物は保管又はトラック輸送されていたが、大半は和歌山港周辺の輸入者に引き取られ、市内、近隣の工場内において開梱されている。

港湾区域の周辺状況については、コンテナヤード及び公共埠頭は西浜地区に位置し、コンテナ、材木、一般貨物の陸揚げに利用されていた。埠頭地区の背後に防潮堤があり、これより約900mの位置する水軒川までの間に

は冷凍倉庫、魚市場、化学工場、運送会社が立ち並んでいる。水軒川は一部水面貯木場となっていて両岸は製材工場が並び、それより東側は一般民家が密集して市街地の中心まで続いている。

環境状況は、防潮堤の周辺の側溝や空き地等に廃タイヤ、発泡スチロールの空き箱、空き缶等が散見され、また、空き地や手入れのされていない公園も見られた。

(2) 阪南港

コンテナ船の配船は無い。本来木材の輸入港として発展した港であり、現在も北米から原木、チップ、南アジアからの製材、椰子油、その他から砂等が輸入されている。

港湾区域と一般住宅地とは府道臨海線より区分され、海側は陸上貯木場と水面貯木場、製材工場、倉庫等が立ち並び、府道より山側は中小の町工場及び民家が混在し、さらに市街地、田園地帯へと続いている。

環境状況については広い地域が埋め立て造成中で、整備されていない場所、放置された家庭ゴミ、廃車、廃タイヤ、空き缶の放置が多く見られた。

(3) 敦賀港

コンテナ船の定期配船は①釜山港（韓国）と敦賀港間、週2便 ②新港（中国）・釜山港・舞鶴港、敦賀港他間、週1便 ③丹東港、大連港（中国）・敦賀港、直江津港間、週1便の3航路、毎週4便が就航している。その他として石炭、木材の輸送船等が入港している。1年間の輸入コンテナの取り扱い数は約9,200個であり、その内容は韓国からの薬品、薬品原料、陶器製品、プラスチック製品、スチールワイヤーその他、中国から衣類、石材、食品、工業製品等が輸入されている。

コンテナの陸揚げは逆L字上に約400m程突き出た川崎松栄C岸壁において行われ、陸揚げコンテナの約1割が隣接するコンテナフレートステーション（CFS）で開梱後、貨物はトラックで輸入者に輸送される。残りの

9割はコンテナのままトレーラーにより福井県内、滋賀、岐阜、愛知等各県及び兵庫県内の輸入業者が引き取っている。

港湾地区には上屋、倉庫が岸壁に沿って並び、海岸線に並行して走る臨港道路により陸側が一般民家の密集地として区分されている。

環境状況としては比較的良好に保たれているが、野積み貨物を被うカバーの重しとして古タイヤが利用され、また空き地には廃タイヤ、空き缶等の放置が見られた。

(4) 舞鶴港

コンテナ船の定期配船は①新港（中国）・釜山港・日本各地（境港、舞鶴港、敦賀港、等）②釜山港・日本各地（舞鶴港、秋田港、敦賀港）の2航路、週3便が就航している。その他、北朝鮮から衣類、食品等、ロシア、北米から材木等の輸入しており、年間570隻入港している。

コンテナの年間取り扱い数は約6,000個となっている。輸入品目の内容は機械、ガラス、衣類、布地、合成樹脂、プラスチック製品、墓石、鉄線、その他雑貨が輸入され、舞鶴市内、京都府内、兵庫県内の業者に引き取られている。CFSでの開梱は約40%で残りの60%は輸入者の工場等で開梱されている。

舞鶴港のコンテナヤードは西港第2埠頭に設けられており、コンテナ貨物の開梱を行うCFSも設けられている。

港湾区域と民家の密集地とは国道175号線により分断され、海側に埠頭があり、上屋倉庫、材木の野積み場、関係会社の事務所、官庁等の建物が並んでいる。山側には国道に沿って民家が密集し、一部は市街地近くまで山林が隣接している。

環境状況としては、整備途上の空き地、野積み場等に雑草が多く、また空き缶、廃タイヤ等の放置も見られる。

(5) 那覇港

コンテナ船の定期配船は①台湾・那覇港・

日本本土、②北米・日本本土・韓国・那覇港・中国、③北米・グアム・那覇港・韓国・日本本土、④台湾・那覇港・日本本土の4航路で年間200隻、取り扱いコンテナ数は約40,000個である。その他に、日本本土からの国内貨物輸送においてもコンテナ化が進んでいる。

主なコンテナの内容は、日用雑貨、食料品(缶詰、牛肉等)木工家具、牧草、米軍関係者の引越し家財等様々なものが輸送されている。陸揚げされたコンテナは殆ど沖縄県内の輸入者の元に輸送されている。輸送先としては①港に隣接する荷主の倉庫、②那覇、糸満、泡瀬等の工業団地、③浦添市の米軍倉庫、④牧草について農水省の検査後石垣島等の牧場に輸送される。

港湾地区の環境状況としては亜熱帯に位置することから、年間を通じて未利用地には草木が茂り、一般的に生物の生息に適した場所といえる。那覇新港の港湾地区と住宅地の間はコンテナバースより直線距離にして約1,500mの距離にある臨海道路8号線が通じており、港湾地区には倉庫、上屋、関係会社の事務等が並び街路樹も茂っている。道路沿いには商店、倉庫、民家及び空き地等が混在している。また港湾地区の整備が進行中であることから、未整備の側溝、水溜り、廃タイヤ、空き缶等が散見された。

D. 考察

D-1 船舶における昆虫類の調査

今回の調査においても34隻中27隻(79.4%)から何らかの昆虫類が採集された。第1、第2報においても、それぞれ85.0%、77.8%と高率に採集されている。またこの調査は主として乗組員の船内居住区を中心に行っていることから、船舶全体を調査した場合、採集率は更に高くなるものと予測され、来航する殆どの船舶は何らかの虫類を乗せている

ものと推定される。

衛生害虫はチャバネゴキブリが15隻(27.8%)の船舶から36個体が採集された。採集された船舶は長期間の航海をして来航した船舶が多く、この事からも成虫が船舶内への侵入した後、船内で世代交代を繰り返しているものと推測される。また、日本では小笠原のみに生息しているチャオビゴキブリ、本州南西部以南に分布するワモンゴキブリも採集されている。これらのゴキブリ類は船内の住居環境に生息出来る生態を持っている種と言える。

イエバエについては10隻(29.4%)から13個体が採集され、その内7個体は生体であった。生体で採集された6隻の航路について見ると韓国から直接来航している船舶が2隻、中国、台湾、韓国及び日本の他の港から来航している船舶が4隻見られた。いずれもこれらの国、あるいは日本の港において侵入した可能性も考えられるが、採集した個体はいずれも腹部の黄色斑が大きく、日本本土の個体群とは異なる形質を示していた。このことから外国の港からの侵入個体であることが想定された。

オオイエバエ、オオクロバエ、ツマグロキンバエの一種が採集されている。これらの侵入していた船舶はアジア地域の幾つかの港を経由しているためいずれの港で侵入したのか特定出来ない。

また、衛生害虫には含まれないが、生体で採集されたものにはアリの一種が3隻から25個体、中でも北米から材木を積んで来航した船舶から19個体が採集され、侵入港はアメリカで、材木に付着したものと推測された。鞘翅目のノコギリヒラタムシ、ヒメマルカツオブシムシ、ヨツモンマメゾウムシ、コクゾウムシ等の食品の害虫の個体が多いのは、輸入された貨物が食品であったことも考えられるが、採集場所が船内の住居区域であることを考えると、乗り組み員の食品に由来

するものと考えらるべきであろう。

D-2 輸入コンテナの虫類の調査

大阪港で陸揚げ開梱され、調査の協力が得られたコンテナ数は56個で、中国、韓国からの輸入されたものが主体となり、その他の地区からは2個であった。また内容は衣類を中心に機械部品、雑貨等が積み込まれており、第1、第2報と大きな差はなかった。

昆虫については7目29科58個体が採集されているが、全て死体であった。またクモ類の5個体は生体で採集されている。

衛生昆虫としてはイエカの一種が上海港（中国）で積み込まれたコンテナ内から採集された。標本の状態が悪いため種類までの特定は出来なかったが、蚊の侵入は媒介される感染症が直接持込まれる可能性を示すもので、防疫上重要な問題である。

ノミが採集されたことは過去2年間の調査においても例がなく注目されるが、標本の破損のため種の特定は出来なかった。可能性としてはネズミ等の宿主が侵入していたことも考えられ、感染症の侵入を考える上で極めて重要な事例である。

食品由来のショウジョウバエの蛹が青島港（中国）から輸入された雑貨、金属製品が積み込まれたコンテナから採集された。積み込み貨物の種類からの発生は考え難いことから、過去に積み込まれた食品から蛹になったものが残存していたことが想定される。クロバエ科の一種とニクバエ科の一種が中国から輸入された衣類、雑貨、及び機械部品が積み込まれたコンテナ内から採集された。特定の貨物に関係なく侵入したものであろう。

食品害虫として、カツオブシムシ、ゴミムシダマシ、クビレヒメマキムシ、ノコギリヒラタムシ等が採集された。採集した貨物の内容が衣類、機械部品、電気部品、雑貨等でこれらの種の食性とは関わりのないコンテナ内から採集されたことになる。これは当該コン

テナが過去において穀類等を積載していたことが想定されるものである。

クモ類はイエユレイグモ、ミナミユレイグモ、コガネグモが韓国から、アシヨレグモが中国から輸入されたコンテナから、いずれもコンテナ内に営巣中の個体が採集された。これらの種は家屋内に生息する種で、コンテナ内が生息環境としての条件を満たしていることを示している。コンテナ内で営巣していることはこの環境が人家に類似していること、餌となる生きた小昆虫の侵入個体数が少ないことを示している。

D-3 港湾区域における蚊の調査

大阪港の定点、南港北3丁目野鳥園におけるライトトラップによる成虫調査において、4月（実績0）より開始し、11月（実績0）までの9ヶ月間のにイエカ属3種（アカ、ネッタイ、コガタ）、ヤブカ属（ヒトスジシマカ）の2属4種、81個体を採集した。

今年の調査期間中の大阪地方の天候は5～6月中、平年並みの気温雨量であったが、盛夏から秋にかけては高温少雨の傾向であり、環境水系の調査において、昨年と同様定点の発生源が昨年40箇所から今年15箇所へと減少し、採集された幼虫数も4種619個体から3種116個体へと激減をしていた。

ネッタイエカの採集は、1999年に関西空港で報告されて以来の記録である。大阪港で得られたことは外航船舶により侵入した可能性を示すものである。関西空港の例では夏期1シーズンのみでの発生で定着は見られなかった。今回の採集は1例にすぎないことから、定着はさらに難しいものと考えられる。

オビトラップによる調査においては2属3科3,891個体が採集された。トラップの設置場所は昨年同様の場所と、期間を設定したものである。この場所は周囲がコンテナヤードや倉庫等に囲まれた、極めて人工的な場所