

図1 衛生動物に関する住民からの相談件数(平成18年度)

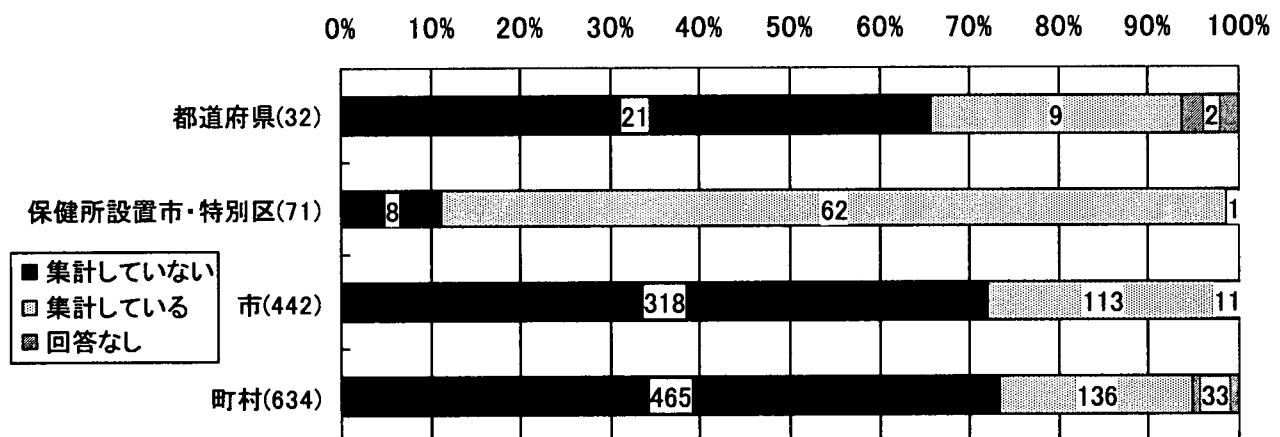


図2 住民相談の種類別集計状況(平成18年度)

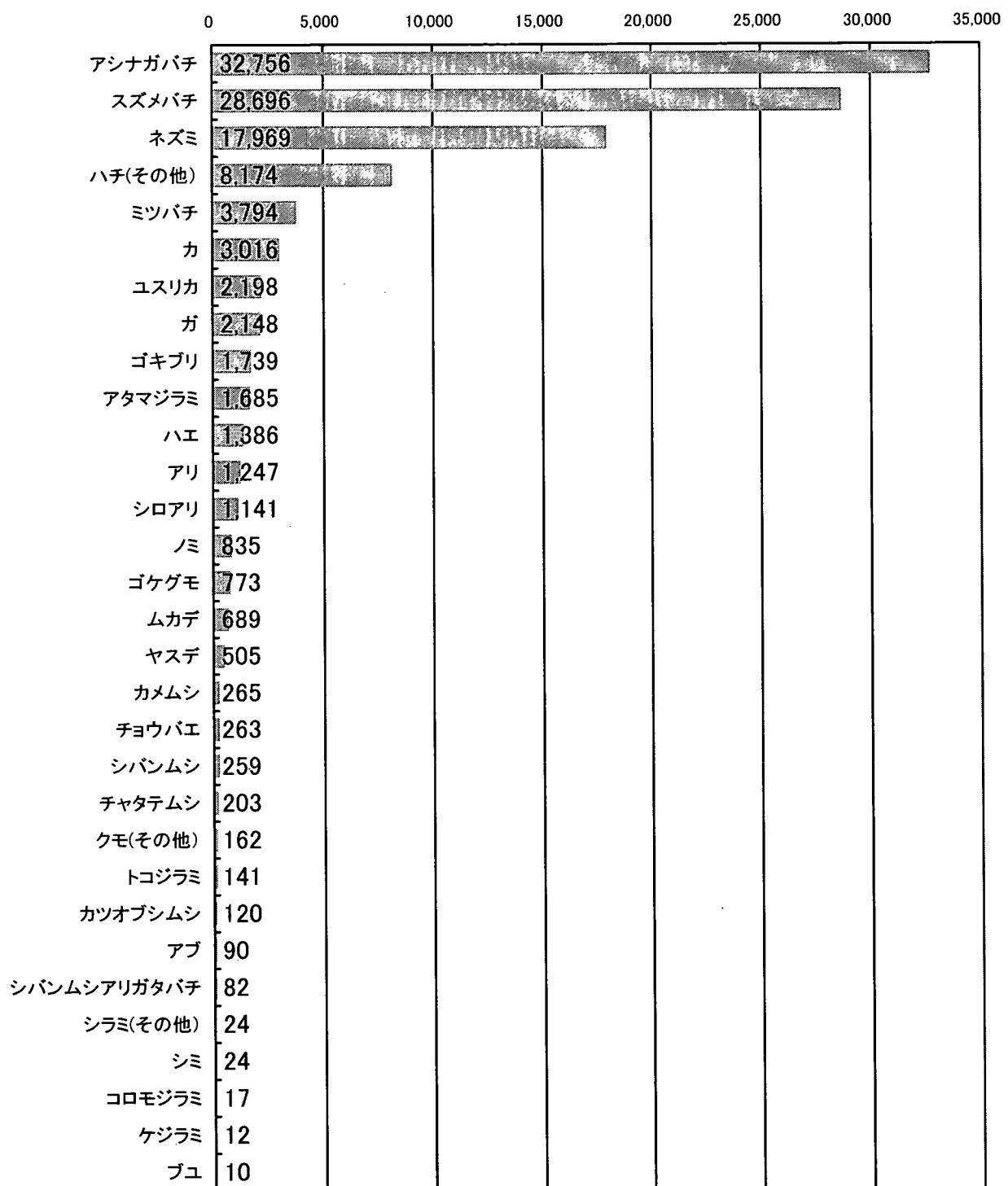


図3 平成18年度の住民からの種類別相談件数  
(都道府県を除く市町村の数値の合計)

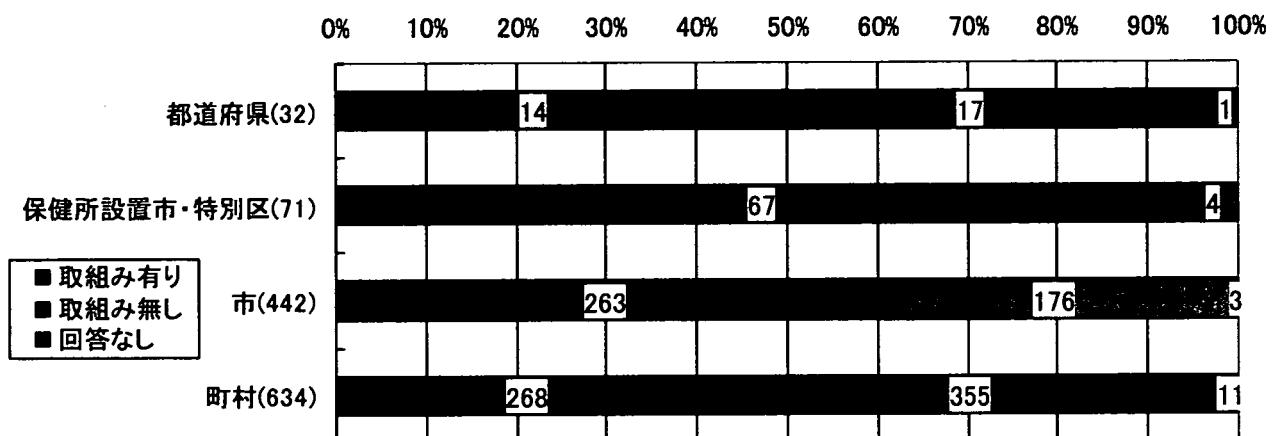


図4 衛生動物に対する取り組み状況

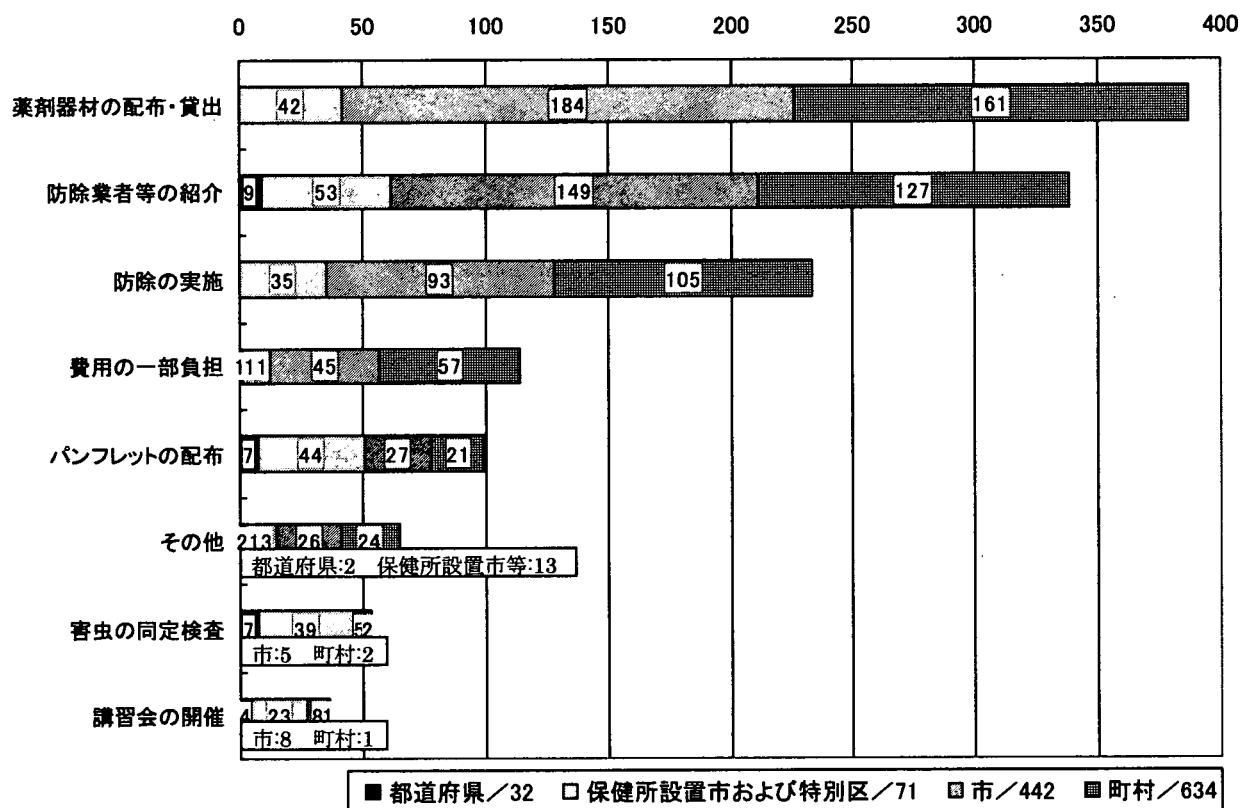


図5 衛生動物関連の取り組み(対住民)

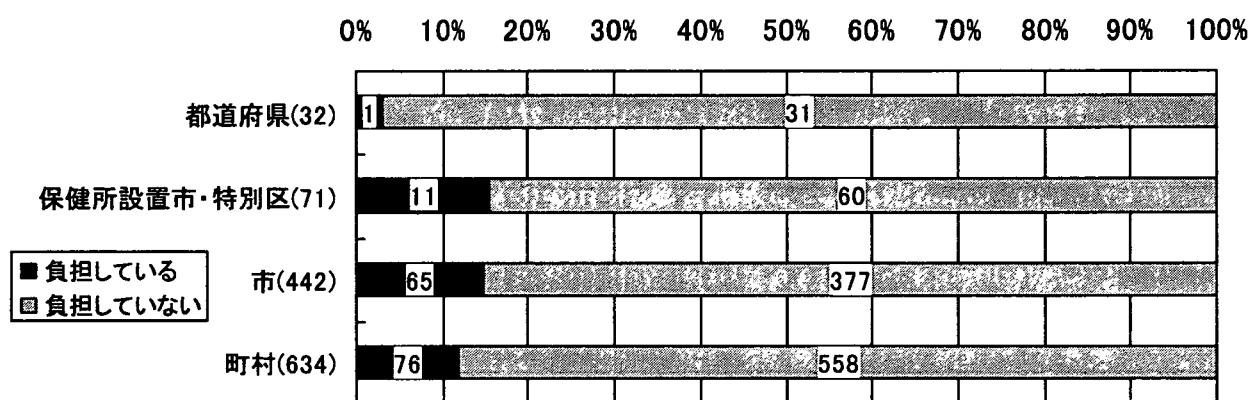


図6 住民の防除に対する費用負担状況

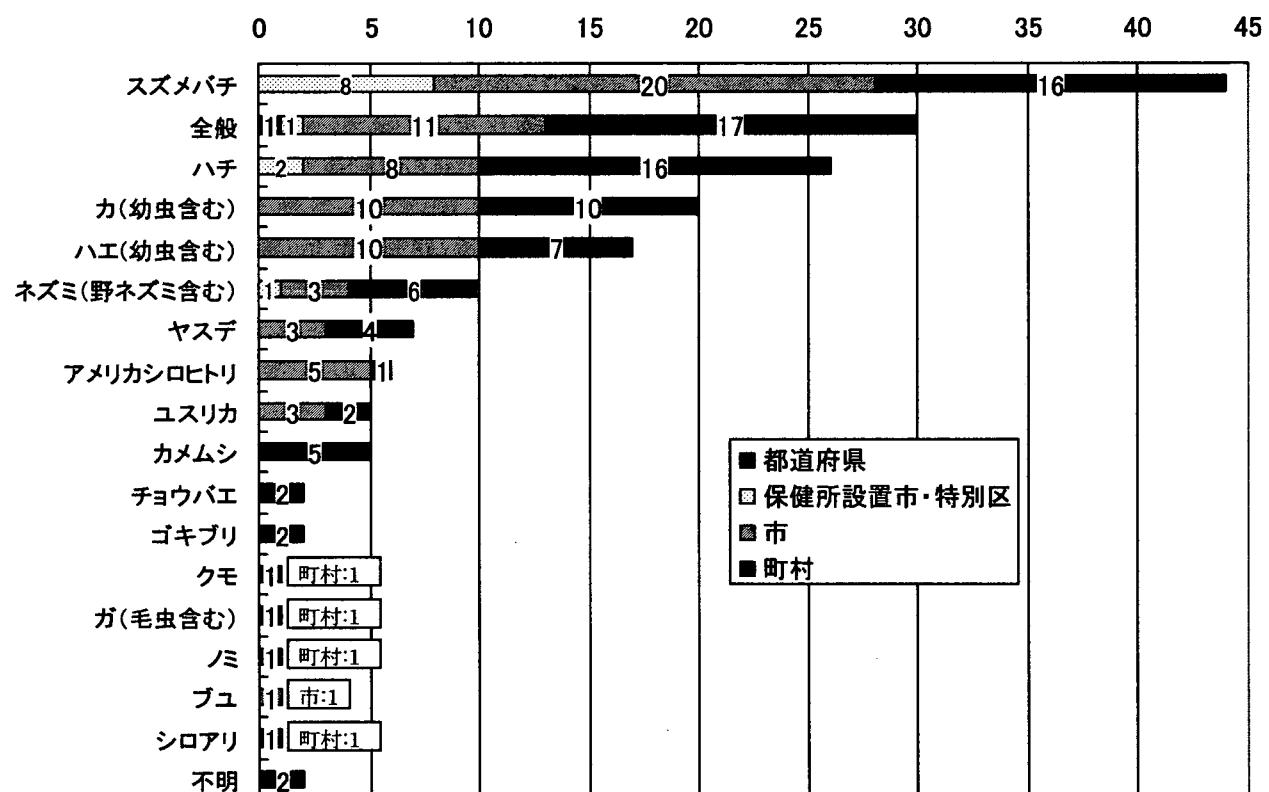


図7 住民の防除に対して補助を行っている自治体数

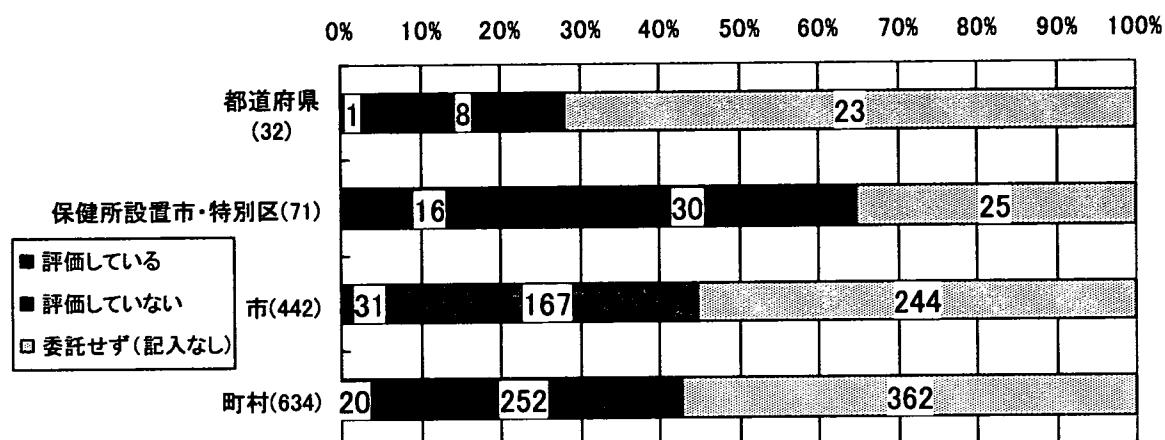


図8 PCO等への防除委託状況とその方法や結果の評価状況

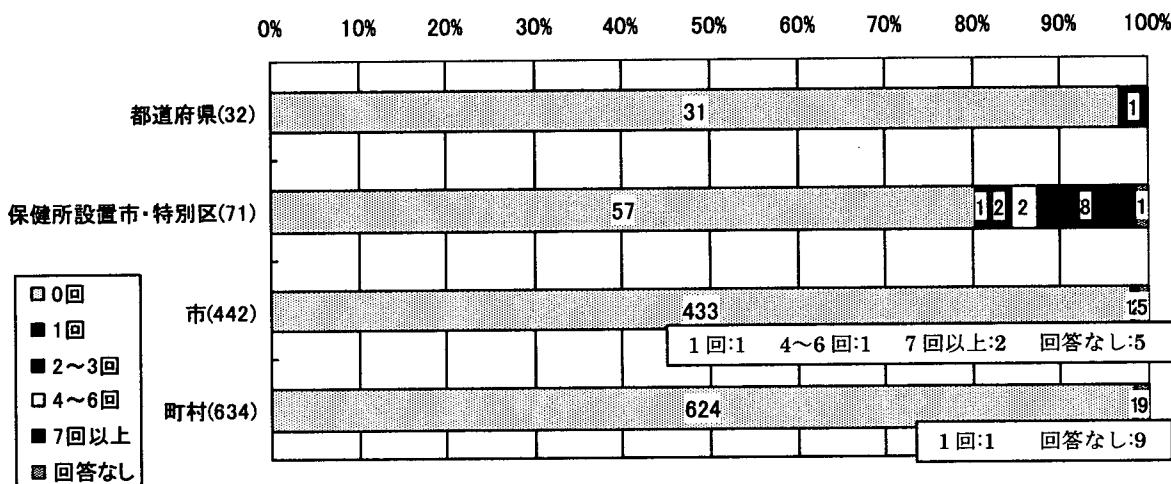


図9 防除のための蚊幼虫調査の実施状況(平成18年度)

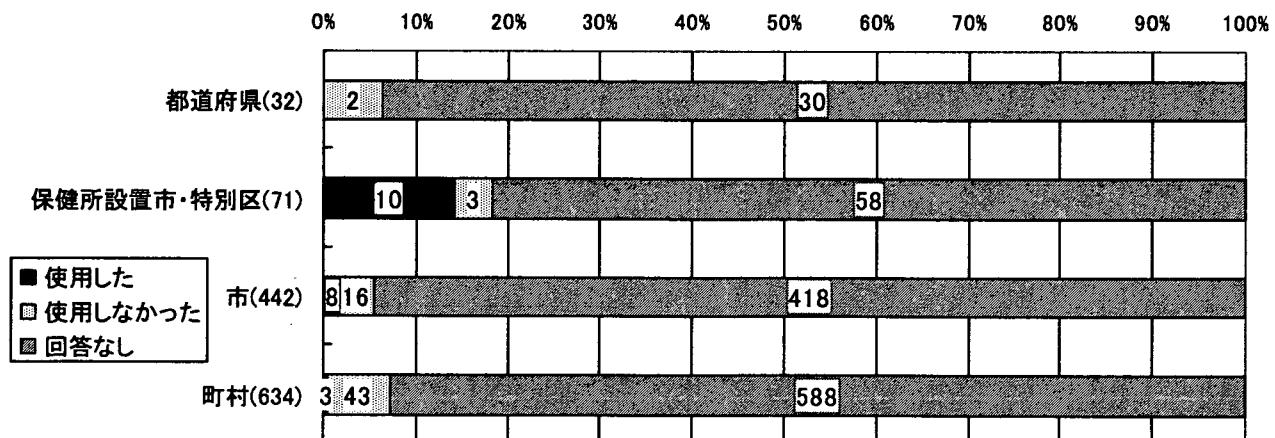


図10 蚊幼虫調査後の殺虫剤の使用状況

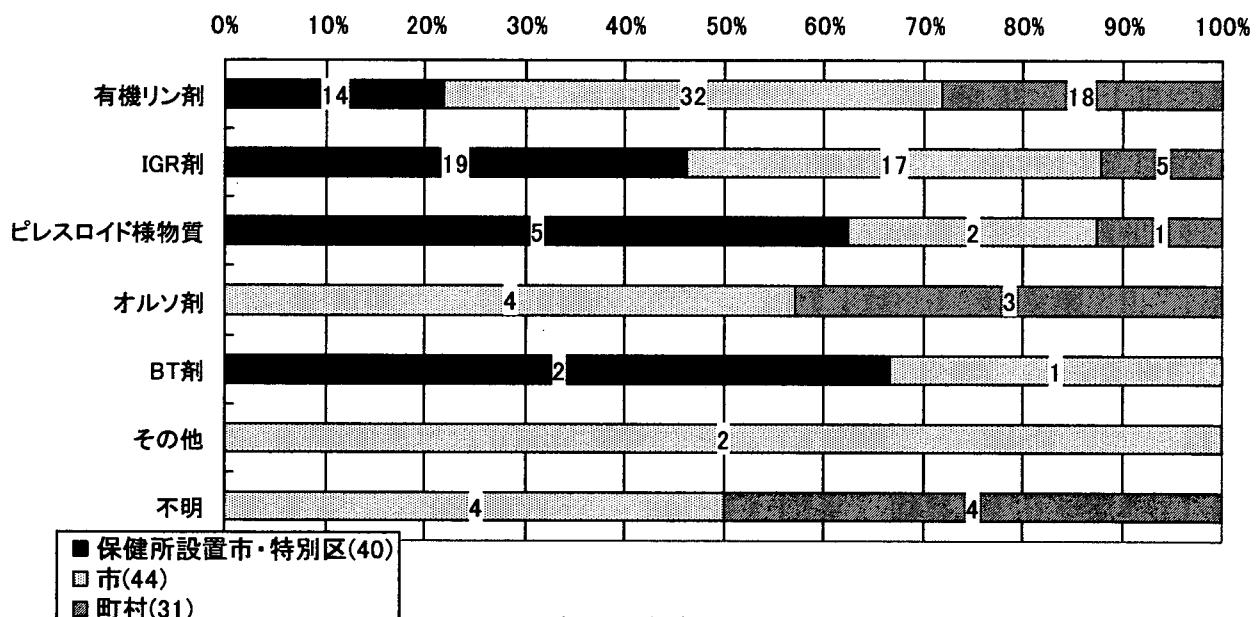


図11 蚊幼虫防除時に使用された製剤(殺虫剤)数

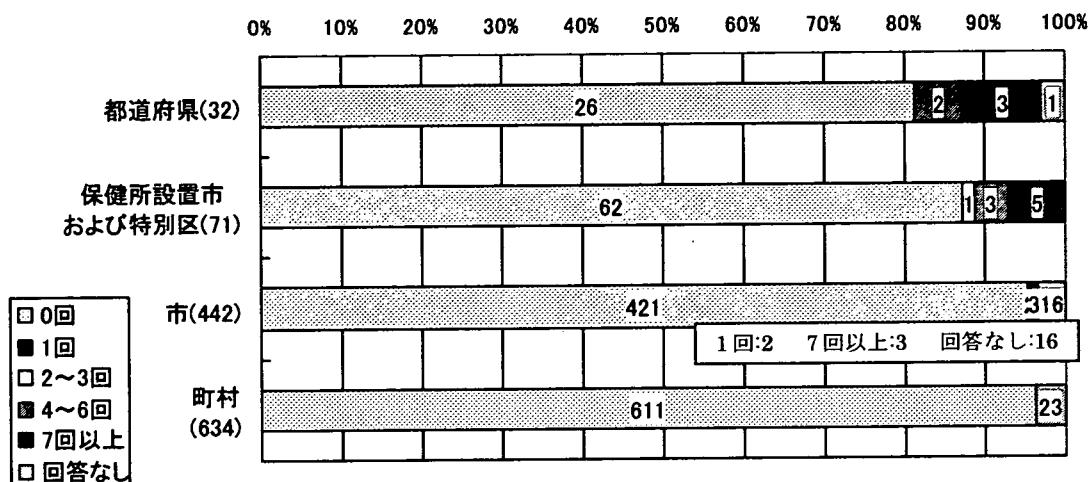


図12 防除のための蚊成虫調査の実施状況(平成18年度)

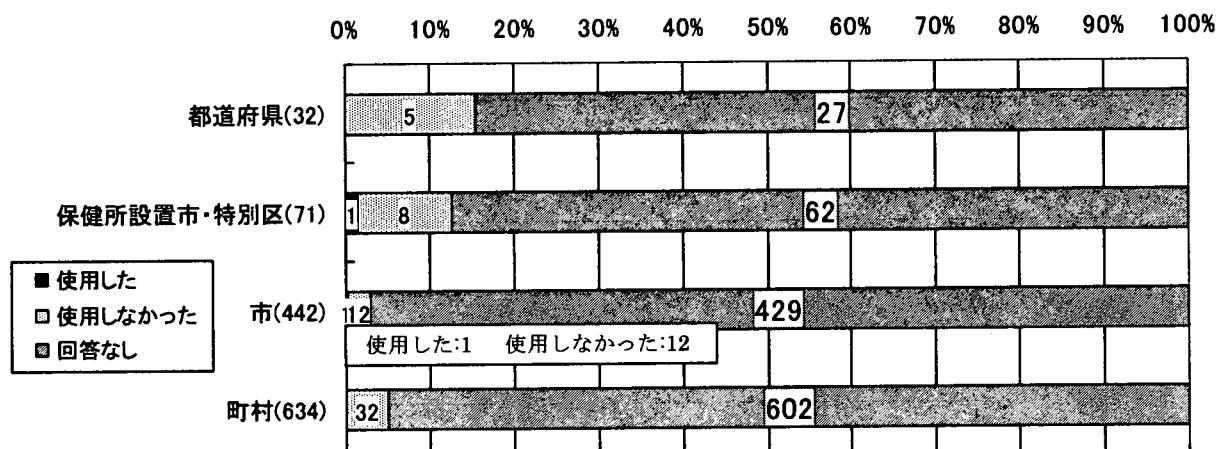


図13 蚊成虫調査後の殺虫剤の使用状況

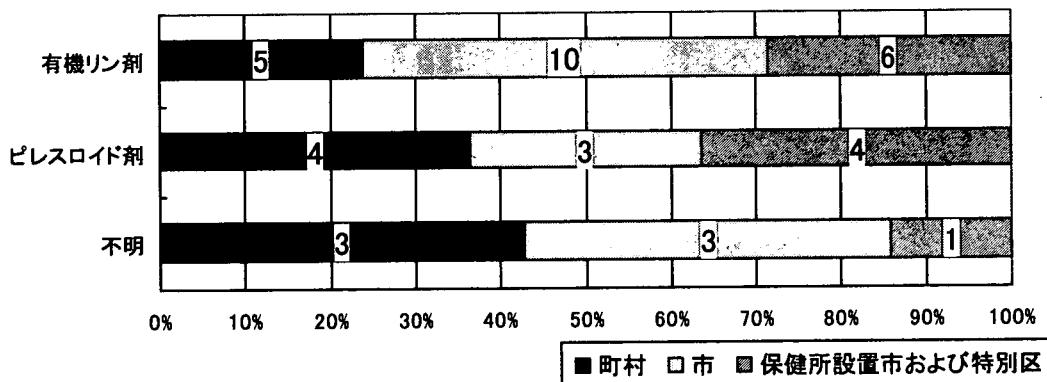


図14 蚊成虫防除時に使用された製剤(殺虫剤)数

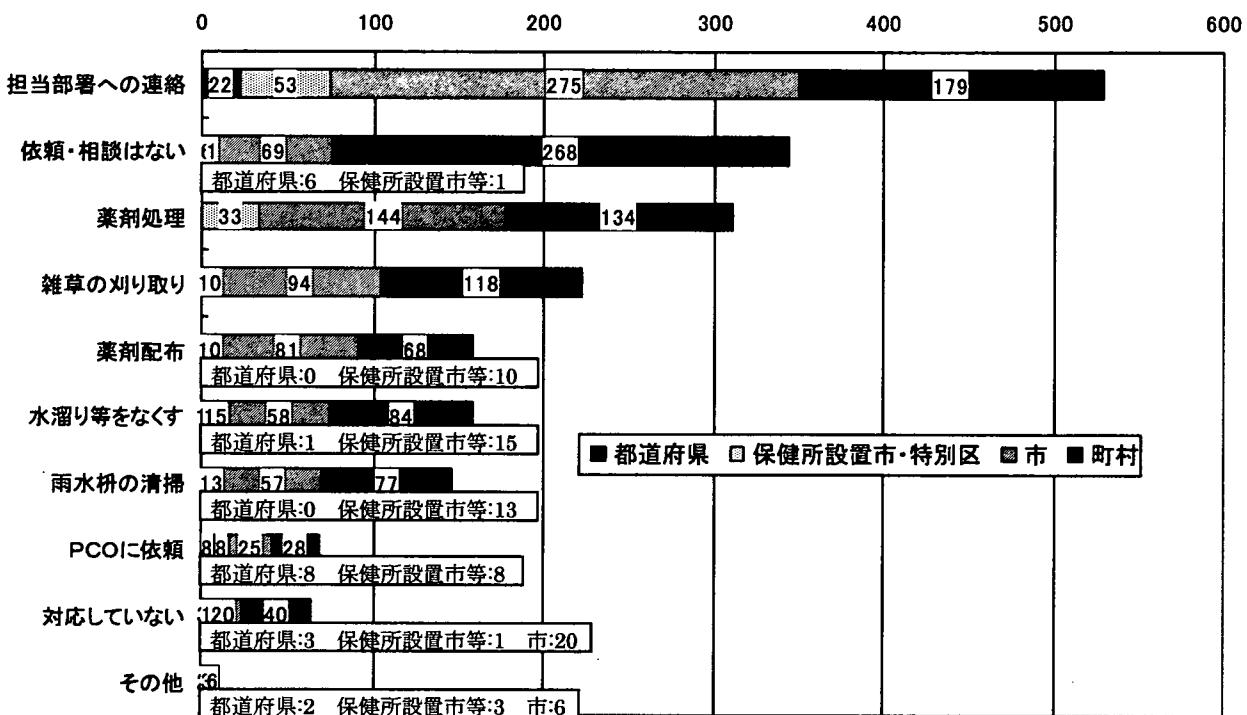


図15 公共領域の蚊防除に関して住民から依頼された場合の対応状況

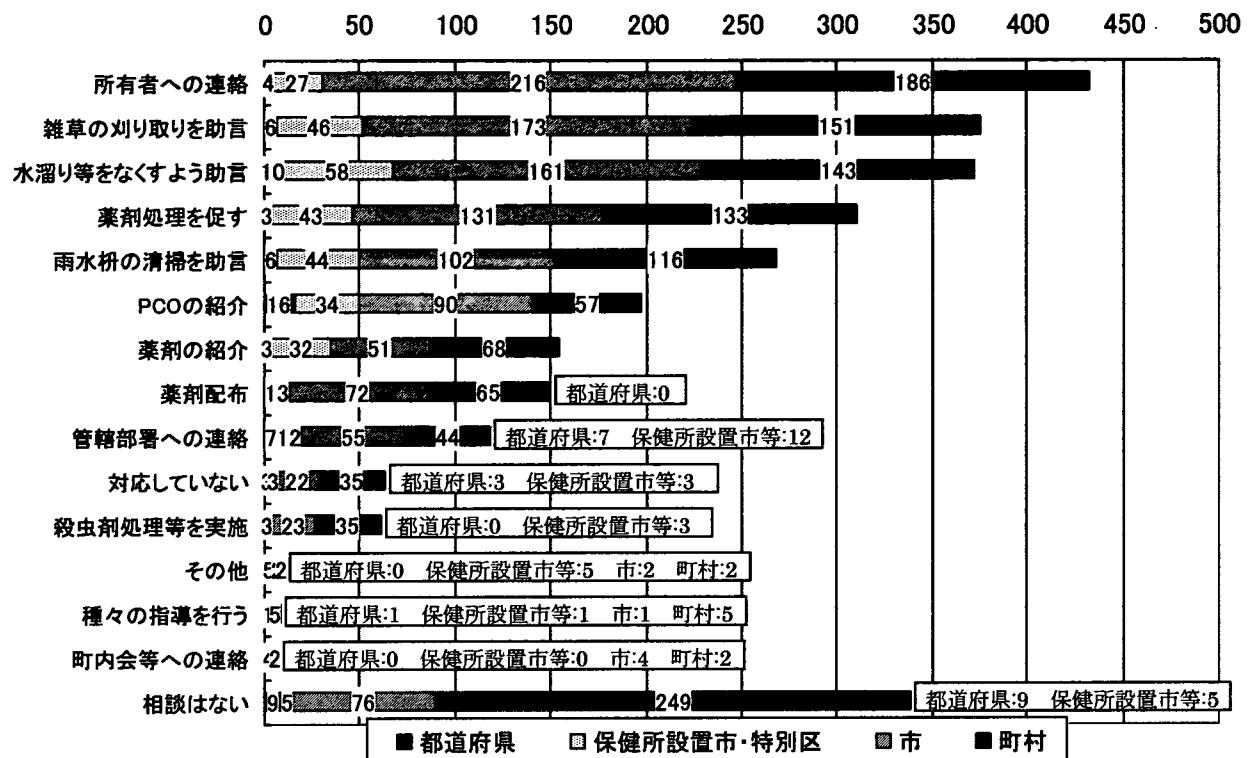


図16 個人領域の蚊防除に関して住民から相談があった場合の対応状況

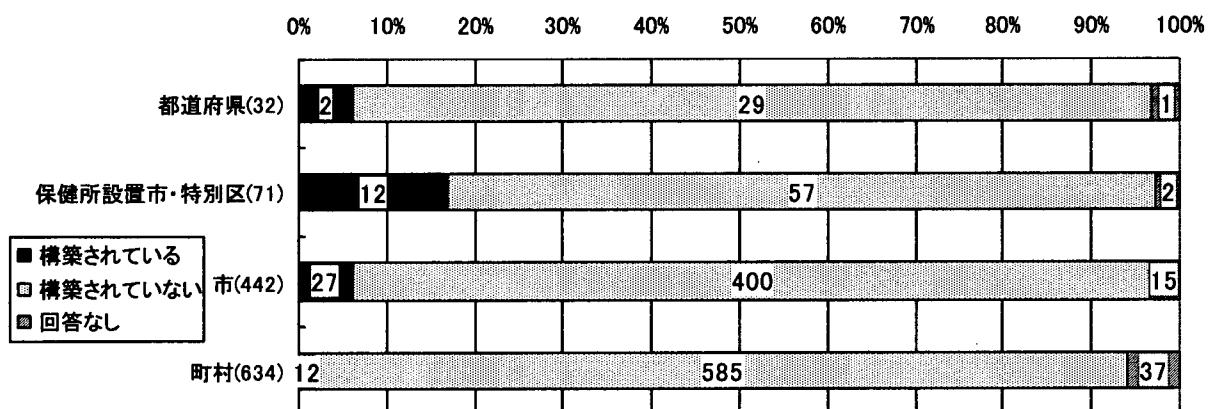


図17 ウエストナイル熱等発生時の蚊防除に対応するための体制の構築状況

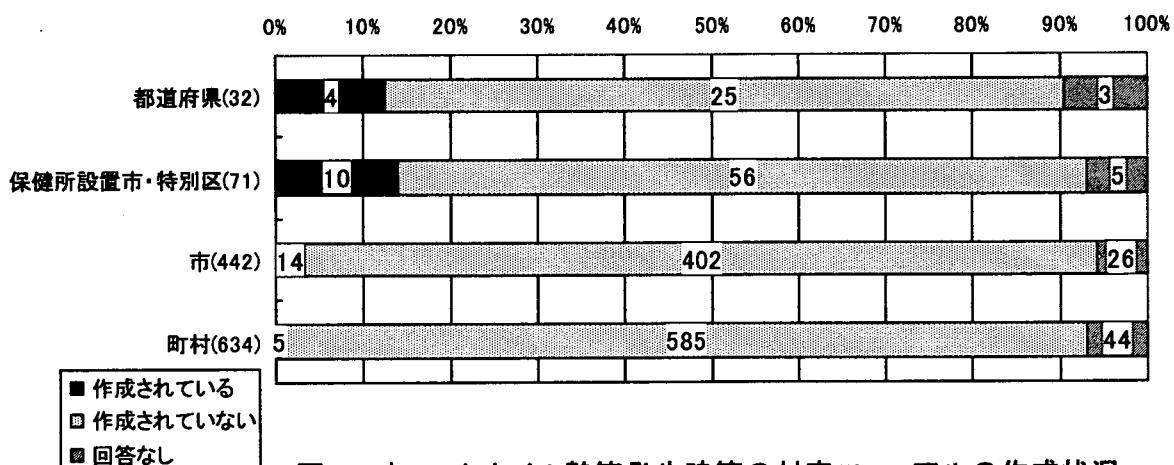


図18 ウエストナイル熱等発生時等の対応マニュアルの作成状況

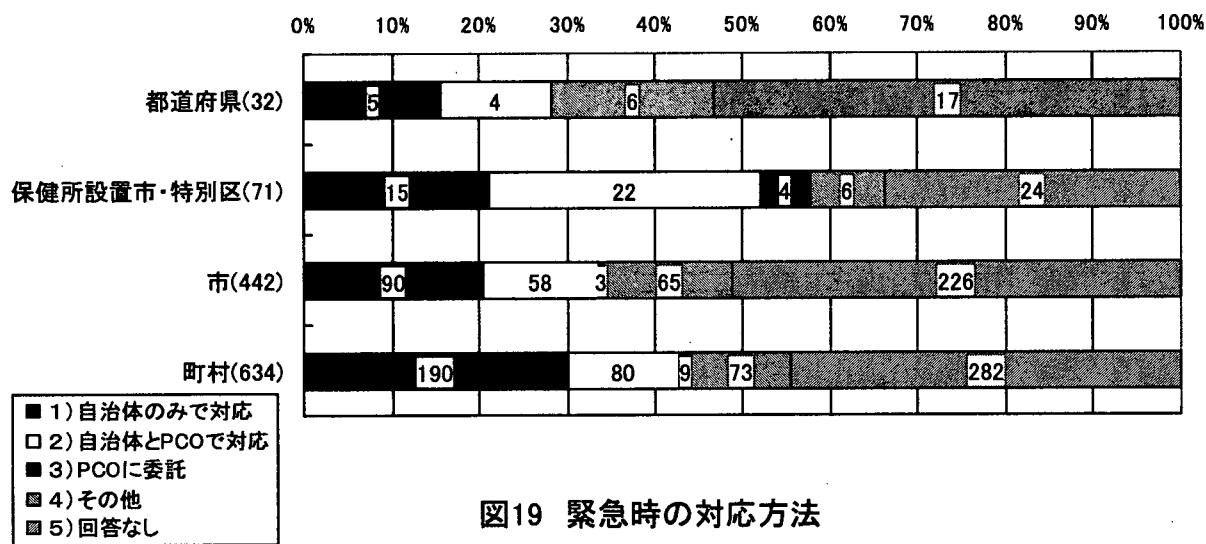


図19 緊急時の対応方法

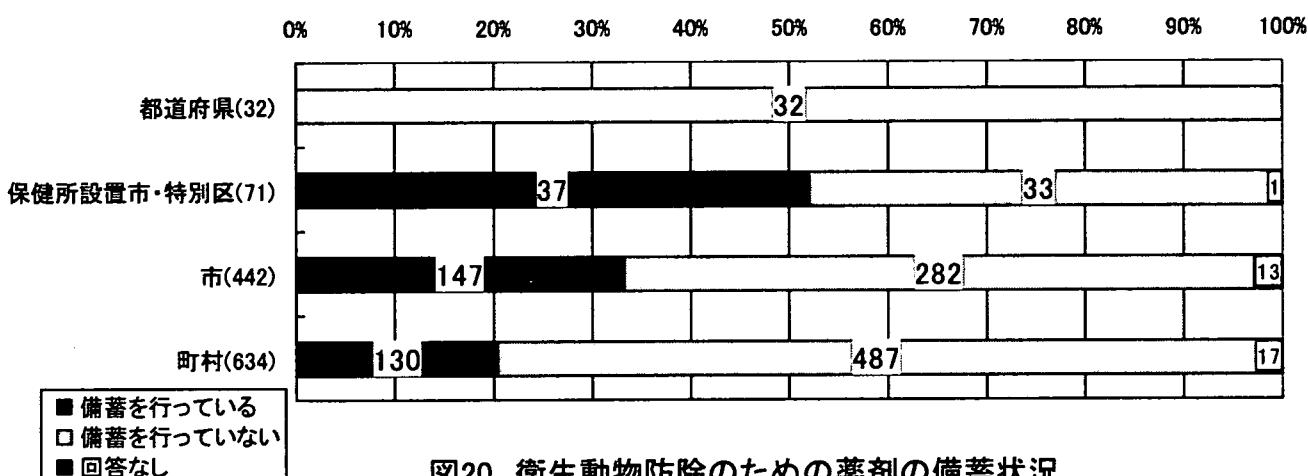


図20 衛生動物防除のための薬剤の備蓄状況

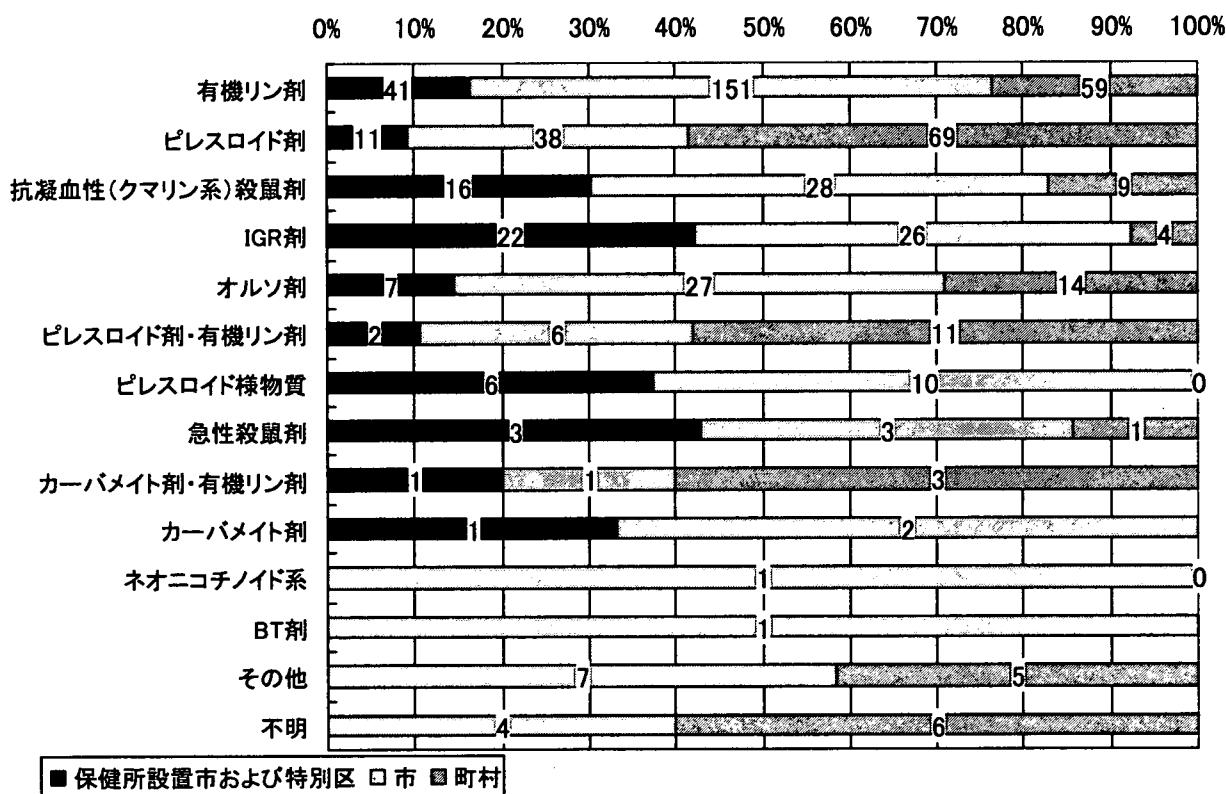


図21 衛生動物防除のために備蓄されている製剤数

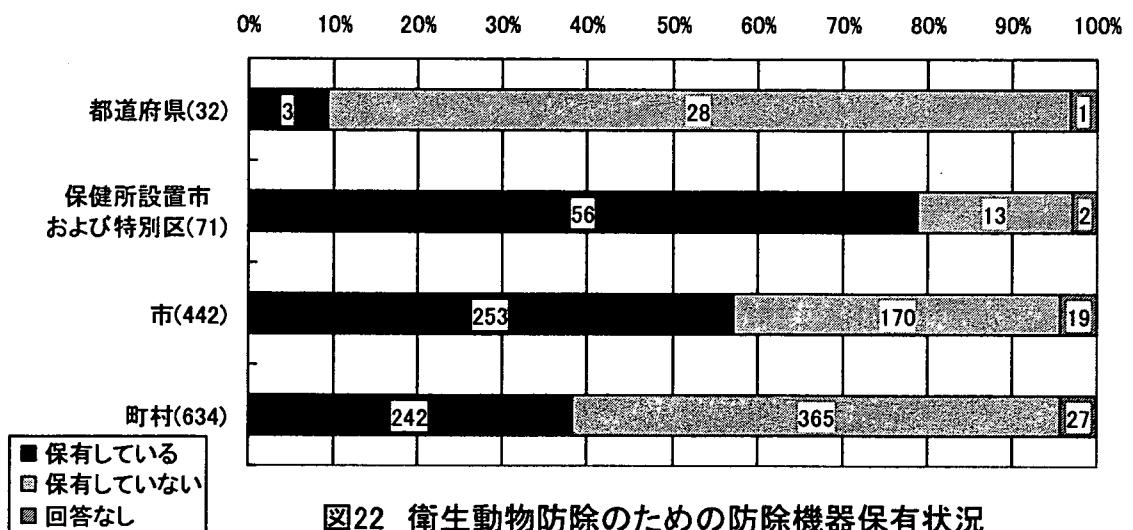


図22 衛生動物防除のための防除機器保有状況

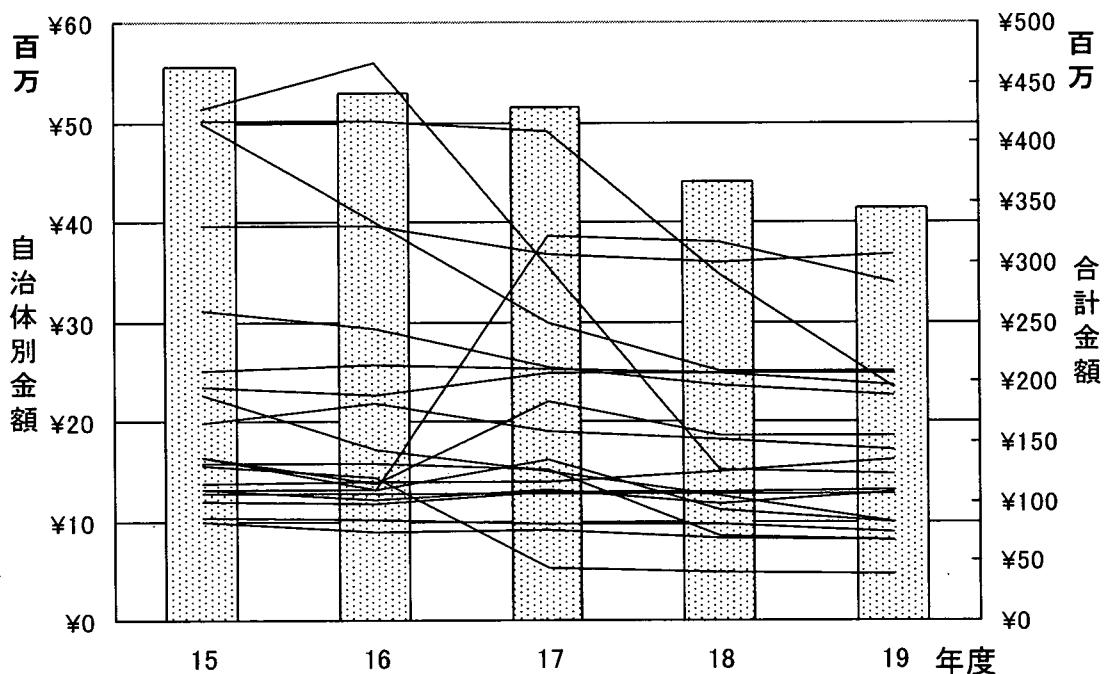


図23 衛生動物関連予算の推移

(折れ線グラフは15年度予算額が20位までの自治体別の金額、棒グラフは合計金額)

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

銅ファイバーを用いた蚊幼虫駆除に関する研究（第2報）

分担研究者 小林 瞳生 国立感染症研究所 昆虫医科学部 部長

研究協力者 武藤 敦彦 財団法人日本環境衛生センター 環境生物部 次長

小泉 智子 財団法人日本環境衛生センター 環境生物部

數間 亨 財団法人日本環境衛生センター 環境生物部

佐藤 英毅 財団法人日本環境衛生センター 環境生物部

長島 孝行 東京農業大学昆虫機能開発研究室 准教授

杉田 純 東京農業大学昆虫機能開発研究室

**研究要旨** 雨水樹の蚊幼虫対策の省力化を図る手段として、銅ファイバーの蚊幼虫駆除への利用の可能性について、平成18年度に基礎効力試験および実地試験を行った。しかしながら、基礎効力試験においては高い効果が得られたにも関わらず、実地試験においては、明確な駆除効果を得ることができなかつたため、本年度は銅による蚊幼虫対策の実用化をめざすため、これらの原因を明らかにすること、また、銅の蚊幼虫に対する作用機序を明らかにすることを目的とした研究を行った。その結果、実地試験においては、基礎効力試験で得られた蚊幼虫の致死濃度まで銅イオン濃度が上昇していないことが明らかになった。また、銅ファイバーによる蚊幼虫の致死効果がどのような機序であるのかを明らかにするための基礎試験を行った結果、銅ファイバー由来と疑われる物質が供試虫の中腸内に認められた。このことから、銅ファイバーを処理することによって、蚊幼虫の中腸に何らかの影響を与えている可能性が示唆された。

A. 研究目的

市街地に存在する蚊の重要な発生源として雨水樹が挙げられる。これらの雨水樹は市街地における蚊の発生源として蚊媒介疾患の国内発生時には、重要な防除対象となることが考えられる。

しかし、これらの雨水樹は数が多く、発生源対策、また、発生予防対策にはかなりの労力および費用が必要となるが、これら

を確保していくことは非常に難しいと考えられる。

平成18年度厚生労働科学研究費補助金にて、以前より蚊幼虫に対する致死効果が認められている銅（銅ファイバー）を用い、雨水樹での蚊幼虫発生抑制効果について評価し、雨水樹での蚊幼虫対策での労力低減の可能性を探ることを目的として実地試験を行ったが、明確な駆除効果を得ることが

できなかった。

そこで、基礎効力試験で確実に効果が得られる量の銅もしくは黄銅ファイバーを投入し、効果の有意を再確認すること、効果が認められなかつた場合には、その原因を探るため、昨年度よりも調査頻度を多くして実地調査をおこなつた。

次に、実地試験の結果に基づいて、雨水枠での銅イオン濃度の動向を探るために、実験室において雨水枠を想定した試験を行つた。

また、銅ファイバーによる蚊幼虫駆除の実用化のためには、銅の蚊幼虫に対する作用機序の解明が不可欠である。そのため、銅そのものが影響を与えているのか、銅によっておきた光触媒効果によって間接的に致死したのか（実地試験を行つた雨水枠内は暗黒であることが多い）を明らかにするため、以下のような実験を行つた。まず、基礎効力試験では昼間は光が十分に当たつてゐるのに対し、実地試験では蓋があるために水面まで届く光の量は少なく、これらの大きな違いの一つが光の有無であることから、光触媒効果による致死の可能性を考え、蚊幼虫の致死に明暗条件がおよぼす影響について検討した。その後、光触媒効果のある金属（チタン）で銅ファイバーと同様の効果が得られるかどうかを検討し、さらに、銅そのものが昆虫の組織に及ぼす影響について明らかにするため、細胞レベルでの観察を行つた。

## B. 研究方法

### 1) 実地試験

- (1) 神奈川県川崎市川崎区内にある公園内の遊歩道脇にある雨水枠（45×45 cm, 滞留水量7～50L）の水量を測定し、その水量に対し、ビニール紐でくくった銅ファイバー（銅イオンワールCW100）を4.5

g/Lになるように投入した。

- (2) 以後、1週間ごとに、ひしゃく（柄杓）掬い取り法によって、幼虫密度について調査を行つた。なお、対象とした雨水枠にはイエカ群とヒトスジシマカが発生していたが、生息密度の判定は両種を分けずに行つた。
- (3) 生息密度の判定は以下の通りとし、一つの雨水枠について3回の掬い取りを行い、最も多く掬い取られた場合の評価を、その雨水枠の密度とした。

密度判定 0 匹：-

1～9 匹：+

10～99 匹：++

100 匹以上：+++

- (4) 生息密度の判定が終わった後、滞留水の一部を実験室に持ち帰り、ろ紙（No. 5 A）でろ過して不純物を取り除いた後に、銅イオンメーター（日本イオン㈱）によって銅イオン濃度を測定した。

### 2) 雨水枠採取水中における銅イオン濃度の変化

- (1) 1) の実地試験を実施した公園内の雨水枠から滞留水および底土を採取して持ち帰り、持ち帰った採取水1Lおよび底土200gをガラス容器に入れ、その中に銅ファイバー4.5gを投入した。
- (2) 同様に、脱塩素水をガラス容器に1Lずつ入れ、その中に銅ファイバー4.5gを投入した。
- (3) 所定時間経過ごとに銅イオンメーター（日本イオン㈱）によって銅イオン濃度を測定した。なお、一部の試験区は野外の雨水枠中での雨水の流入・流出を想定し、銅イオン濃度測

定後に 100mL または 500mL の水を廃棄し、同量の採取水を新たに投入した後、銅イオンメーターによって銅イオン濃度を測定した。

(4) (3) と同様の操作を、脱塩素水を入れた試験区においても行った。

3) -1-1 銅の作用機序の解明—光触媒の可能性について（明暗条件の違いによる影響について）—

- (1) 銅ファイバーによる致死効果の原因として「光触媒」を考え、以下の試験を明条件および暗条件において行った。
- (2) 1) の実地試験を行った川崎市川崎区内にある公園の雨水樹のうち、銅ファイバー処理区および対照区のうちそれぞれ 1 カ所の雨水樹から滞留水および蚊幼虫を採取した。
- (3) 直径 8.5cm × 深さ 6 cm のガラス製腰高シャーレに水 200mL および餌を少量入れ、雨水樹から採取したイエカ類老齢幼虫のみを選別して 20 匹投入した。
- (4) 滞留水と脱塩素水とを比較するため、脱塩素水を用いて (3) と同様の試験区を設けた。
- (5) 用意したそれぞれの試験区の腰高シャーレの半分を明条件におき、もう一方を暗条件においた。また、それぞれの条件において各試験区の腰高シャーレの半分に銅ファイバー 0.9 g (4.5 g/L 相当) を入れ、一方は無処理とした。
- (6) 以降、適宜餌を追加して飼育し、幼虫が羽化までに要する日数、羽化数、死亡数等を観察した。
- (7) 各区における供試虫全てが死亡もししくは羽化した時点で銅イオンメーター（日本イオン㈱）等によって測定

した。

3) -1-2 銅の作用機序の解明—光触媒の可能性について（光触媒効果のある金属（チタン）が蚊幼虫に及ぼす影響について）—

- (1) 脱塩素水 1 L を入れたガラス容器に 4.5 g/L, 1.5 g/L になるようにチタンを投入した。
- (2) (1) に供試虫、餌を入れ、約 25°C の室温下に置いた。また、供試虫および餌のみを入れた区を設け、対照区とした。
- (3) 供試虫は、当センターで累代飼育しているアカイエカ *Culex pipiens pallens* (御所コロニー) 老齢幼虫とし、1 区 25 匹前後で実施した。
- (4) 以降、適宜餌を追加して飼育し、幼虫が羽化までに要する日数、羽化数、死亡数などを記録した。

3) -2 銅の作用機序の解明—銅が蚊幼虫の組織に及ぼす影響について—

- (1) ガラス容器に脱塩素水 1 L および銅ファイバー 4.5 g を入れ、アカイエカ (御所コロニー) の若齢幼虫および少量の餌を投入した。
- (2) 72 時間経過時点で目視にて観察した後、Karnovsky 氏液 (2.0 % paraformaldehyde + 2.5 % glutaraldehyde) に投入して固定した。
- (3) 間欠吸引法を用い、Karnovsky 氏液で一次固定、1.5% OsO<sub>4</sub> 溶液で二次固定した。その後、エタノールで 70~100% まで脱水し、Supper Resin に包埋した。
- (4) 包埋したサンプルはウルトラミクローム (Reichert OmU3) により、背脈管に対して垂直の方向で 0.75 μ

mの切片を作成し、メチレンブルーで染色後、光学顕微鏡（OLYMPUS AX-70TRF）にて観察を行った。

### C. 研究結果

#### 1) 実地試験

実地試験の結果を表1に、密度調査終了後に測定した雨水樹の滞留水の銅イオン濃度を表2に示した。

実地試験を実施した雨水樹では、銅ファイバー処理1週後から5週後までの結果でみると、幼虫密度の明確な減少は認められなかった。

なお、

処理区の銅イオン濃度は、銅4.5g/L区および黄銅4.5g/L区ともに0.00～0.22ppmであった。一方、対照（無処理）区の銅イオン濃度は0.00～0.53ppmであり、処理区と対照区に大きな差は見られなかった。

#### 2) 雨水樹採取水の銅イオン濃度の変化

室内において、雨水樹を想定した実験によって、銅イオン濃度の変化を検証した結果を表3に示した。

その結果、脱塩素水を使用した試験区では、銅ファイバー投入3時間後では銅イオン濃度は0.31～1.11ppmまで上昇していたのに対し、雨水樹採取水を使用した区では2区で銅イオン濃度の上昇がみられたが、その他の区では銅イオンは測定されなかった。

また、雨水樹の流入水を想定して、水を入れ替えた場合では、脱塩素水を使用した試験区では入れ替え後、一時的に銅イオン濃度が低下するものの、24時間後には再び銅イオン濃度の上昇がみられた。それに対し、雨水樹からの採取水を使用した区では、水を入れ替えた後銅イオン濃度が低下しそのまま上昇しなかった区と、入れ替えたこ

とにより逆に銅イオン濃度が上昇した区とがあった。

#### 3) - 1 - 1 銅の作用機序の解明—光触媒の可能性について（明暗条件の違いによる影響について）—

表4に、明暗条件が異なる場合の致死率、羽化率および銅イオン濃度について示した。

明条件においていた区および暗条件においていた区の致死率を比較すると、若干、明条件の方が、致死率が高い傾向がみられたが、どちらの試験区も処理区の致死率のほうが対照区の致死率よりも高く、それらの間に明確な差は見られなかった。

しかしながら、同じように雨水樹からの採取水を使用した2)の試験では銅イオンが上昇しなかったのに対し、この試験においては雨水樹の水を使った試験区において、銅イオン濃度は2.42～2.87ppmに上昇していた。

#### 3) - 1 - 2 銅の作用機序の解明—光触媒の可能性について（光触媒効果のある金属（チタン）が蚊幼虫に及ぼす影響について）—

表5に、光触媒効果がある金属（チタン）を使用して行った基礎効力試験（方法は、平成18年度と同じ）の結果を示した。

その結果、羽化率は4.5g/L区で96.0%、対照区で84.6%であり、チタンを投入しても、銅と同じような致死効果は得られないものと思われた。従って、銅ファイバーを入れた際に、蚊幼虫が致死する原因是光触媒効果によるものではないと思われた。

#### 3) - 2 銅の作用機序の解明—銅が蚊幼虫の組織に及ぼす影響について—

基礎効力試験において、銅ファイバー投入後に目視にて観察をしたところ、蚊幼虫の体色が透明に透けたようになり、また、

体の中心線付近が黒く変色していた。このことから、銅ファイバーを投入することによって、体の中心線付近に変化が生じる可能性が高いと考えられたため、蚊幼虫の中腸を重点的に観察した。

銅ファイバー投入後 72 時間の蚊幼虫中腸断面図（図 1）、脱塩素水に投入後 72 時間後（対照）の蚊幼虫断面図（図 2）を比較すると、図 2 では、囮食膜と中腸皮膜細胞の間の囮食膜外部の部分に、図 1 には見られない異物が観察された。

#### D. 考 察

今回の実地試験での銅イオン濃度は 0～0.22ppm であったのに対し、同様に脱塩素水に銅ファイバーを 4.5 g/L で処理したチカイエカを使用した基礎試験においては、銅イオン濃度は 0.72～1.07ppm であった。このとき、若齢では戸塚コロニー（有機リン剤およびピレスロイド剤に対して感受性コロニー）、横浜コロニー（ペルメトリンに対して約 40 倍、フェニトロチオンに対して約 10 倍の抵抗性コロニー）ともに 100%、老齢では戸塚コロニーで 98%、横浜コロニーで 96% の致死率が得られた。これらのことから、実地試験においては、基礎効力試験で有効な量の銅ファイバーを入れても、何らかの原因によって、銅イオン濃度が致死濃度まで達しておらず、このことが、実地試験において効果が得られなかった原因の一つと考えられた。また、銅イオン濃度が上がらなかった原因として、観察日と観察日の間に必ず降雨があり、特に 3 週後および 5 週後の観察の前に降水量が多かったことや、底土の存在や水質の違うことなどが考えられ、雨水樹を想定した実験においても、雨水樹のように底土がある、または水に様々な物質が存在している条件においては、銅イオン濃度が上昇しない可能性が示唆された。特に、試験 2) と 3) では、

どちらも雨水樹からの採取水を使用して実験したにも関わらず、一方は銅イオン濃度がほとんど上がりず、一方は銅イオン濃度が上昇した。使用した容器や水量、水を採取した時期などの条件は異なっているが、最も大きく異なるのは、銅イオン濃度が上がった場合には底土を使用していなかったことである。

のことから、実地試験において銅イオン濃度が上がらない原因として、底土の存在により、銅ファイバーが底土にうまる、銅ファイバーの表面に被膜ができる、銅イオンが吸着されるなどの影響が生じている可能性が考えられた。

このように、様々な原因によって実地試験においては、銅イオン濃度が上がらない可能性が考えられたため、実用化のために、銅による作用機序を解明することが不可欠と考えられた。このため、銅によっておきた光触媒効果による致死効果についての検討を行ったが、一連の実験から、この効果によって蚊が死亡している可能性は低いものと考えられた。

そこで、銅イオンそのものが蚊幼虫に何らかの影響を与えてるものと考え、蚊幼虫の細胞組織を観察したところ、銅ファイバーを投入した場合には、蚊幼虫中腸の囮食膜外部に異物が観察された。中腸皮膜は、円筒細胞、杯状細胞、新生細胞からなり、円筒細胞および杯状細胞は消化・吸収に関与し、新生細胞は脱皮・変態時に分化して円筒細胞や杯状細胞になる。この異物が何であるかは明らかではないが、銅ファイバーを投入することによって、このような異物が囮食膜外部に蓄積し、中腸での消化・吸収が阻害されたり、脱皮・変態が阻害されたりすることにより致死に至るのではないかと考えられた。

#### E. 結 論

実地試験では、基礎効力試験で効果が認められた銅処理方法では銅イオン濃度を致死濃度まであげることは不可能であることが明らかになった。今後の課題としては、実地試験で効果が得られない原因についてさらなる検討を行い、底土の存在による銅イオン濃度の上昇への影響などについて検討したい。また、底土があっても、底土とふれていなければ効果が得られるのかどうかなどについて検討したいと考える。また、銅ファイバーの処理方法についても、今回は銅ファイバーをもちいたが、それ以外の形状の銅を使用するなど処理方法を検討する必要があると考えられた。さらに、銅ファイバーによる効果を効率よく得るためにも、銅の作用機序を解明していくことが重要であると考える。従って、銅を処理することによって蚊幼虫の細胞にみられた異物について明らかにする必要がある。方法としては、銅のみを特異的に染色する染色剤の使用や、TEM（透過型電子顕微鏡）を使用した詳細な細胞変化の観察を行いたいと考える。

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録

なし

表1 銅ファイバー処理雨水樹における蚊幼虫生息状況

試験区	雨水樹 NO.	処理前	1週後 6/20	2週後 6/27	3週後 7/5	4週後 7/11	5週後 7/18
		6/13	6/20	6/27	7/5	7/11	7/18
銅	I	++	++	++	+++	++	++
	II	+++	++	++	++	++	++
	III	+++	++	++	++	++	+
黄銅	I	++	++	++	++	++	++
	II	++	++	++	++	++	++
	III	+	++	++	++	++	+++
対照	I	+	+++	++	+++	++	++
	II	++	++	++	++	++	++
	III	++	++	++	++	++	++

密度判定基準 - : 0 + : 1~9 ++ : 10~99 +++ : 100以上

表2 銅ファイバー処理雨水樹滞留水の銅イオン濃度 (ppm)

試験区	雨水樹 NO.	1週後 6/20	2週後 6/27	3週後 7/5	4週後 7/11	5週後 7/18
		6/20	6/27	7/5	7/11	7/18
銅	I	0.14	0.02	0.05	0.01	0.22
	II	0.05	0.02	0.00	0.00	0.13
	III	0.13	0.03	0.07	0.00	0.03
黄銅	I	0.00	0.02	0.02	0.00	0.00
	II	0.06	0.15	0.05	0.00	0.04
	III	0.07	0.22	0.06	0.00	0.09
対照	I	0.03	0.03	0.00	0.04	0.53
	II	0.03	0.00	0.01	0.00	0.01

表3 銅イオン濃度の変化について (ppm)

試験区	反復	経過時間に伴う銅イオン濃度			
		3時間		24時間	
使用した水	水入れ替え量	水入れ替え前	水入れ替え後	水入れ替え前	水入れ替え後
雨水樹採取水	0 mL	I 0.1	-	<0.00	-
		II <0.00	-	<0.00	-
	100m L	I <0.00	0.04	2.27	1.86
		II 0.35	<0.00	<0.00	<0.00
	500m L	I <0.00	<0.00	<0.00	<0.00
		II <0.00	<0.00	<0.00	<0.00
脱塩素水	0 mL	I 0.64	-	0.67	-
		II 0.31	-	0.91	-
	100m L	I 0.31	0.29	0.89	0.91
		II 1.11	0.27	1.13	0.84
	500m L	I 0.34	0.32	0.83	0.57
		II 0.26	0.18	0.62	0.32

表4 明暗条件が異なる場合の経過日数に伴う致死状況

試験条件		試験区	死亡率	羽化率	銅イオン濃度
明暗条件	使用した水				
明条件	A	処理	80.0(2.9)	20.0	2.42
		無処理	27.8(2.8)	72.2	0.13
	B	処理	62.5(5.0)	37.5	2.87
		無処理	25.0(12.5)	75.0	0.19
	C	処理	68.3(2.4)	31.7	0.99
		無処理	24.4(2.4)	75.6	0.02
暗条件	A	処理	53.7(4.9)	46.3	2.54
		無処理	34.3(5.7)	65.7	0.16
	B	処理	46.2(2.6)	53.8	2.42
		無処理	46.2(17.9)	53.8	0.19
	C	処理	69.2(7.7)	30.8	2.24
		無処理	24.4(9.8)	75.6	0.25

表5 チタン投入時の蚊幼虫の致死状況

試験区	供試虫数	経過日数に伴う死亡数または羽化数									
		1	2	3	6	7	8	9	10	14	
4.5 g / L	25	死亡数	0	0	0	0	0	0	0	0	1(1)
		死亡率 (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	4.0(4.0)
		羽化数	0	0	0	13	13	16	17	20	24
		羽化率 (%)	0	0	0	52.0	52.0	64.0	68.0	80.0	96.0
無処理	26	死亡数	0	1	2	2	3	3	3	3	4(1)
		死亡率 (%)	0	3.8	7.7	7.7	11.5	11.5	11.5	11.5	15.4
		羽化数	0	0	0	10	15	17	18	18	22
		羽化率 (%)	0	0	0	38.5	57.7	65.4	69.2	69.2	84.6

( ) : 蜕死亡数