

地域のうち(表 1)、戦後の発生が特徴的であった滋賀県琵琶湖東岸地域(表 2)と、戦前の発生が顕著であった石川県河北潟(表 3)において、現時点での蚊の発生状況、とくにマラリアを媒介するシナハマダラカ群の発生状況を把握することを目的とした。

これらの結果は、現在侵入が危惧されている蚊媒介性感染症の伝播拡大を阻止する際の、蚊対策の基礎資料を提供すると期待される。

B. 研究方法

滋賀県琵琶湖東岸地域(彦根市、東近江市、安土町、近江八幡市)、とくにマラリアの流行地であった彦根市郊外の牛舎、その対照として近江八幡市の山際の牛舎、さらには街中の牛舎、計 3 軒に東京エーエス社製のライトトラップを吊りして蚊の捕集を行った。さらに、これらの周辺の河川や葦原、内湖など 12 地域 50 箇所ドライアイス 1kg を誘引源にして CDC トラップを設置して蚊の捕集を行った。調査は 8 月 1 日から 10 月 12 日まで、3 週間おきの 2 晩ずつ計 8 夜行った。

石川県の河北潟は、現在残存している河北潟周囲には畜舎は無く、干拓された地域内に酪農家などが集約されている。牛舎の周囲は広大な牧草地で、蚊の調査には不向きと思われたので、今回の調査は干拓地と水路を挟んで隣接する豚舎にライトトラップ(東京エーエス社製)を設置して蚊の捕集を行った。期間は 6 月から 10 月までの毎週水曜日にトラップを点灯した。さらに、8 月 9 日に 10 台、30 日に 5 台の CDC トラップを周辺の水路葦原や干拓地内の牛舎周辺に設

置して蚊の捕集を行った。

(倫理面への配慮)

実験協力者の氏名などが特定されないように配慮した。

C. 研究結果

a) 琵琶湖東岸地域における蚊の捕集成績

表 4 に、畜舎における成績を示した。彦根市郊外水田地帯の牛舎では総数 204,192 個体の蚊が捕集され、その 94.2% がコガタアカイエカであったが、シナハマダラカも 5.7% 捕集された。近江八幡市郊外の山際の牛舎においては、28,045 個体の捕集数の内、89.9% がコガタアカイエカ、10% がシナハマダラカであった。近江八幡市の市街地の牛舎では、8 月の 2 回の調査がトラップの故障などで捕集が出来なかったが、9 月と 10 月の調査で 1,367 個体の蚊が捕集され、90.9% がコガタアカイエカ、3.7% がシナハマダラカであった。この牛舎では、8 月 2 日の朝に牛舎内壁などに残留する多数のシナハマダラカを観察しており、トラップが正常に作動しておれば、シナハマダラカの構成率はもっと高かったと推察される。

CDC トラップは延 103 台設置し、それらで得られた蚊は総数 7,907 個体であった(表 5)。そのうち、92.7% がコガタアカイエカで、シナハマダラカは僅かに 1.6% であった。

しかし、地域別にみると西の湖南岸(2.6%; 26/1032)や、その近くの蛇砂川の最も下流の日暮れ橋の川原(6.5%; 62/956)では、シナハマダラカの構成率が高かった。全くシナハマダラカが捕集

されなかったのは、彦根市内の芹川・平田川の3地点と犬上川河口点および野田沼の4地点であった。しかし、それらのトラップの設置点近くで幼虫調査を行ったところ、芹川上流点ではチョウセンハマダラカ2個体、野田沼ではシナハマダラカ幼虫が9,10月に少数採集された。

b) 石川県河北潟干拓地の東端かほく市の豚舎における蚊の捕集成績

表6に捕集成績を示した。対照に、直線距離で16km離れた富山県小矢部市の牛舎定点の成績も加えた。この定点は2003年から調査を行っている富山県の感染症媒介蚊の発生モニター点である。

かほくの豚舎では総数13,344個体の蚊が捕集され、その大部分がコガタアカイエカであり、シナハマダラカは僅かに10個体の捕集であった。一方、小矢部の牛舎では16,708個体の蚊が捕集されたが、シナハマダラカはかほくの豚舎よりも少ない9個体のみであった。なお、この牛舎では2003年以来シナハマダラカの捕集数は、今回と同様に極めて少ない。

CDCトラップの捕集成績を表7に示したが、シナハマダラカは全く捕集されなかった。捕集された766個体の内、73.4%がコガタアカイエカ、25.9%がアカイエカであった。地域別では、干拓地内の牛舎周辺ではアカイエカ(88個体)の方が、コガタアカイエカ(23個体)よりも多数捕集された。

D. 考 察

琵琶湖東岸における蚊の調査は戦後に行われており、白熱灯を誘引源にした

ニュージャシー型ライトトラップによる彦根市の調査では(正垣, 1952), 総捕集数15,852個体の14%がシナハマダラカで、80.4%がコガタアカイエカであった。また、同様の近江八幡市の調査では(正垣, 1952), 総捕集数10,924個体の35%がシナハマダラカで、49.3%がコガタアカイエカであり、今回の調査よりもシナハマダラカの構成率が明らかに高い。当時は、琵琶湖の内湖が干拓されずに残っていたことや、多くの田が湿田でしかも区画整理がされていなかったこともあり、今以上に蚊の発生に適していた環境と推察される。また、今回はコガタアカイエカの捕集実数が多いことを考えると、シナハマダラカの捕集実数も決して少ないとは言えない。その点を考えれば、現在でも3.7%~10%のシナハマダラカが捕集される環境は、石川のかほく市の成績と比べても特筆されると思われる。さらに、富山県における40年に亘る調査でも(渡辺ら, 2,003), 1980年以降シナハマダラカの捕集数が極めて少数で推移しており、滋賀県琵琶湖東岸地域のシナハマダラカ発生状況は多いと言える。今後の課題としては、なぜこの地域でシナハマダラカの発生が多く維持されるかを明らかにすることと思われる。

E. 結 論

戦前戦後にマラリアが流行した琵琶湖東岸地域と石川県河北潟で蚊の発生状況を調査したところ、前者では現在もシナハマダラカの発生がみられ、その量は単純に比較すると後者の100倍に相当し、現在も多数が発生していることが明らかになった。

今後の課題としては、シナハマダラカの発生を維持している要因を明らかにすることと思われ、他の戦前戦後にマラリアが流行した地域との比較調査も必要と考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

表1 戦前のマラリア患者発生数

年次		全国		多発生上位5県						計
西暦	和暦	患者数	死者数	愛知県	滋賀県	福井県	石川県	富山県		
1934	昭9年	20,018	53	2,098	7,536	7,898	-	1,448	18,980	
1935	昭10年	20,447	51	2,237	7,517	8,265	-	1,386	19,405	
1936	昭11年	18,531	76	2,243	5,758	7,961	-	1,486	17,448	
1937	昭12年	20,240	65	2,343	4,788	7,760	2,473	1,535	18,899	
1938	昭13年	21,616	207	2,240	4,816	6,745	3,510	1,349	18,660	
	計	100,852	452	11,161	30,415	38,629	5,983	7,204	93,392	

小林弘(1960)「彦根市におけるマラリア防遏」から引用作成した。

表2 戦後のマラリア患者発生数

年次		全国		戦前の多発生上位5県						計
西暦	和暦	患者数	死者数	愛知県	滋賀県	彦根市	福井県	石川県	富山県	
1946	昭21年	28,210	-	1,006	2,036	311	104	340	200	3,686
1947	昭22年	11,825	456	264	1,881	451	73	60	167	2,445
1948	昭23年	4,953	224	49	2,258	873	25	32	50	2,414
1949	昭24年	3,716	120	68	2,223	464	32	18	23	2,364
1950	昭25年	1,016	73	53	291	111	21	15	13	393
	計	49,720	873	1,440	8,689	2,210	255	465	453	11,302

彦根市の患者数は滋賀県に含まれている。

小林弘(1960)「彦根市におけるマラリア防遏」から引用作成した。

表3 石川県における昭和初期の郡市別マラリア患者発生数

年次		石川県の郡市								計	
西暦	和暦	江沼郡	能美郡	石川郡	金沢市	河北郡	羽咋郡	鹿島郡	鳳至郡		珠洲郡
1928	昭和3年	359	410	344	134	822	50	54	0	1	2,174
1929	昭和4年	289	283	272	133	1,019	37	45	4	0	2,082
1930	昭和5年	348	183	276	161	1,005	41	55	2	2	2,073
	計	996	876	892	428	2,846	128	154	6	3	6,329

石川県において戦前の郡市別発生数が判明したのは現時点ではこの表に示した年度のみである。

上表は「石川県衛生状態一斑」昭和10年5月、p32-33から作成した。但し書には、「本病患者発生地域は相当広範囲にわたるも年々特に多数の発生を見るは河北潟沿岸の低湿湛水の地にしてその他加賀方面にも可なり患者発生を見る。」とある。

表4 牛舎定点のライトトラップで捕集された蚊種

蚊種	トラップ設置牛舎地点			計
	彦根市郊外	近江八幡山際	近江八幡市街	
シナハマダラカ	11,688	2,805	50	14,543
コガタアカイエカ	192,465	25,209	1,243	218,917
アカイエカ	19	23	72	114
キンイロヤブカ	2	7	0	9
ヒトスジシマカ	2	0	0	2
ヤマトヤブカ	13	0	0	13
オオクロヤブカ	3	1	2	6
計	204,192	28,045	1,367	233,604

彦根市郊外と近江八幡山際の牛舎では、8/1-2、8/22-23、9/12-13、10/10-11の8晩の捕集、近江八幡市街の牛舎は9/12-13、10/10-11の4晩の捕集である。

表5 CDCトラップで捕集された蚊数(設置地域別)

地域名	調査月	設置トラップ 延べ台数	蚊の種類と幼虫採集の有無						計
			コガタアカイエカ	幼虫	シナハマダラカ	幼虫	その他	幼虫	
芹川	9月,10月	6	0	×	0	×	39	○	39
犬上川	9月,10月	4	1	—	0	—	11	—	12
野田沼	8月~10月	8	183	○	0	○	29	×	212
曾根沼	8月,10月	7	228	○	1	○	3	○	232
神上沼	8月~10月	13	1,119	○	7	○	145	○	1,271
伊庭沼	8月後~10月	10	1,660	○	6	×	55	×	1,721
西の湖北	8月~10月	17	1,589	×	18	×	58	×	1,685
円山周辺	8月	7	246	—	1	—	28	—	275
東焼田橋	8月~10月	8	402	○	3	○	17	×	422
日暮れ橋	8月後~10月	8	888	○	62	○	6	○	956
西の湖南	8月~10月	9	997	×	26	×	9	×	1,032
北沢沼	9月,10月	6	15	○	0	×	35	×	50
計		103	7,328		124		435		7,907

調査月日は表4と同じであるが、1晩目の捕集数が少ない場合はトラップを移動した。
8月後は8月22-23日を指す。CDCトラップは上表の他に牛舎内にも延べ21台設置した。

表6 かほく市の豚舎定点と富山県小矢部市の牛舎で捕集された蚊種

調査地	蚊の種名						計	
	シナハマダラカ	コガタアカイエカ	アカイエカ	ハマダライエカ	ヒトスジシマカ	オオクロヤブカ		その他
かほく市	10	13,140	181	3	3	6	1	13,344
小矢部市	9	16,464	225	9	0	0	1	16,708
計	19	29,604	406	12	3	6	2	30,052

かほく市の豚舎と小矢部市の牛舎は、標高200～300mの山を挟んで直線距離で16km離れている。

捕集は6月～10月の毎週水曜日のほぼ18時～翌朝5時にライトトラップを稼働させた。

表7 豚舎の近くおよび河北潟干拓地に設置したCDCトラップで捕集された蚊種

調査地点	設置日	台数	蚊の種名					計
			シナハマダラカ	コガタアカイエカ	アカイエカ	ヒトスジシマカ	その他	
豚舎向い水路岸	8/9, 30	2	0	156	2	0	0	158
豚舎側水路門岸	8/9, 30	2	0	130	6	0	ヌマカ 1	137
野鳥公園	8/9	2	0	0	0	0	0	0
干拓地牛舎周辺	8/9	5	0	23	88	0	0	111
放水路北岸	8/30	1	0	24	35	0	カラツ 1	60
放水路南岸	8/30	1	0	111	19	0	0	130
湖北橋西岸	8/30	1	0	109	42	1	0	152
湖北橋東岸	8/30	1	0	9	6	3	0	18
計		15	0	562	198	4	2	766

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

コロモジラミの生存条件および防除に関する研究

研究分担者 小林睦生（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）
皆川恵子（財団法人日本環境衛生センター・環境生物部）
三原 實（財団法人日本環境衛生センター・環境生物部）

研究要旨 コロモジラミを20℃の温度下に置いた場合、9日間生存した個体が見られた。また、一定温度の水または洗濯洗剤水に一定時間浸漬した場合、水道水の場合では、25℃以上の中水中に20時間浸漬することにより、ほぼ100%の致死率であったが、20℃の中水中では若干の生存虫が見られ、15℃では全てが生存した。洗濯用洗剤水の場合はいずれの水温でも、20時間以上の浸漬でほぼ100%の致死率が得られたが、6時間の浸漬では、ほとんど致死しなかった。また、浸漬後の回収時点では全ての浸漬条件において、活動が認められなかった。しかし、数分から、遅くとも数時間以内に、歩行が可能な状態に回復する個体が見られ、回収直後は仮死状態であることが考えられた。

A.研究目的

発疹チフスや回帰熱、塹壕熱などコロモジラミが媒介する疾病は数多く知られている。近年わが国のコロモジラミから、塹壕熱の遺伝子が検出され、媒介への関与が疑われている。また、わが国の路上生活者の約10%がコロモジラミを保有しているとする報告もある。しかし、コロモジラミが路上生活者等から落下した場合の生存日数等についての報告は少なく、感染拡大の可能性を模索するために種々の条件下での生存状況について検討した。

B.研究方法

1) 乾燥条件下での生存日数の検討

直径9cmのガラス製平シャーレに直径9cmのろ紙(5A)を敷き、そこに吸血後24時間以内のコロモジラミ *Pediculus*

humanus の成虫1匹または10匹を置いた。それぞれ、20℃（平均相対湿度：29%）、30℃（平均相対湿度：18%）、35℃（平均相対湿度：13%）の温度下に保存した。24時間経過後に回収し、処理後4, 5, 6, 7, 8, 9, 12日後に生死を観察した。なお、1匹区の個体は24時間経過後に3匹（1匹×3区）まとめてろ紙上で保存した。2) 浸漬条件による生存期間の検討—1 3ml容の管ピンにコロモジラミ雌雄成虫を1匹ずつ入れ、水道水を2ml加え、20℃、30℃、35℃の温度下に保存した。なお、温度設定は温度勾配器で行ったので浸漬終了時の水温の実測値はそれぞれ18℃、24.5℃、26.5℃であった。24時間経過後にコロモジラミを回収し、清潔なろ紙を敷いた直径9cmのガラス製平シャーレに10匹ずつまとめて、上記の温度下

に保存した。なお、回収直後、3日後に生死を観察した。

3) 浸漬条件による生存期間の検討-2

9ml容の管ビンにコロモジラミ雌雄成虫を1匹ずつ入れ、15、20および25℃に調整した水道水または0.1%の洗濯洗剤液(界面活性剤34%含有)を5ml加えてよく攪拌し、コロモジラミを沈めた後、それぞれ室温10~15℃の室内、サーモスタットとヒータを用いて20℃または25℃に調温した水を入れたバット内で保存した。6または20時間経過後にコロモジラミを回収し、清潔なる紙を敷いた直径9cmのガラス製平シャーレに10匹ずつまとめて、約25℃の室温下で保存した。なお、回収直後、4時間後、1日後、3日後に生死を観察した。また、15℃に関しては浸漬1時間の条件下についても検討した。

C. 研究結果

表1に乾燥条件で保存した場合のコロモジラミの生存状況について示した。その結果、コロモジラミは30℃および35℃の温度下では1日目の観察時点ではほとんど生存していたが、4日目の観察時には全て致死していた。また、20℃の温度下では24時間1匹ずつ個別に保存し、24時間後にまとめた場合には8日後まで全ての個体で生存が認められたが、10匹まとめて保存した場合には9日後には全ての個体が致死した。

一定温度下の水中に24時間コロモジラミを浸漬した結果を表2に示した。水温が18℃、24.5℃、26.5℃の水道水に1匹ずつ浸漬した場合には回収直後には全て致死(仮死)状態であり、その後、3日間それぞれの温度下(平均庫内温度:

21.5℃、30.1℃、34.5℃)で保存した場合には全て致死していた。また、10匹をまとめて浸漬した場合も、回収直後は全て致死(仮死)状態であり、ほとんどの個体が4日後に致死していたが、20℃で保存した雌の2個体が微動状態であった。

水道水および0.1%の洗剤水を10~15℃の水温に調整して、1時間浸漬した場合のコロモジラミの生存状況を表3に示した。その結果、水道水および0.1%液体洗濯洗剤水区ともにコロモジラミは全て生存していた。また、回収直後に不動でありかつ体液循環のなかった個体が5分程度経過すると活動を始める状況が確認された。

水道水および0.1%の洗濯洗剤水を15℃、20℃、25℃の水温に調整して、6時間浸漬した場合のコロモジラミの生存状況を表4に示した。その結果、回収直後から30分以内にほぼ全ての個体が活動している状態が確認され、3日後の観察でも致死虫はほとんど認められなかった。

20時間浸漬した場合のコロモジラミの生存状況を表5に示した。その結果、15℃で水道水に浸漬した場合には、回収直後から30分経過後ではほとんど不動であったが、4時間経過時点には活動が確認され、24時間後にも生存していた。しかし、0.1%の洗濯洗剤水では、回収後4時間経過しても活動はほとんど見られず、24時間後の致死率は雄では100%、雌では90%であり、残りは微動虫であった。

20℃では、水道水および0.1%洗濯洗剤水に浸漬した場合ともに、回収直後はほとんど不動であった。水道水に浸漬した場合には、4時間経過後には雌雄合わせて5%の活動個体が見られたが、65%が致死・仮死状態であり、24時間後には15%

が生存, 80%が致死状態であった。また, 0.1%洗濯洗剤水では4時間後に活動個体は見られず, 80%が致死・仮死状態であり, 24時間後には95%が致死状態であった。

25℃では, 水道水および0.1%洗濯洗剤水に浸漬した場合ともに回収直後には全ての個体が不動であった。水道水に浸漬した場合には, 4時間経過後にも活動は認められず, 24時間経過後の致死率は85%, 15%は微動虫であった。また, 0.1%洗濯洗剤水では4時間後に5%が脚をわずかに動かしていたが, 95%は致死または仮死状態であり, 24時間後も同じ結果であった。

D. 考察

コロモジラミ成虫を乾燥状態(相対湿度: 13~29%)で保存すると20℃の温度下では最長で9日間の生存が確認され, 寄主から離れた場合でも, 1週間程度は再感染できる可能性が示唆された。

水中に落下した場合, その生存は水温, 水没時間, 洗剤成分の有無などに左右されるが, 25℃以上の温度で24時間浸漬することにより, ほぼ完全な致死が得られるものと思われた。また, 0.1%洗濯洗剤水の場合は, 15℃以上20時間浸漬することにより, 致死させることができると考えられた。しかし, 6時間浸漬した場合は, 回収後3日後でも, ほとんどの個体が生存しており, コロモジラミは水中や洗濯洗剤中でも, かなり長時間に渡り生存する可能性が示唆された。

なお, 水中のコロモジラミを回収した直後の観察では, ほとんどの場合, 動かず, 致死と見間違えるケースが多かった。しかし, 短いもので数分, 長いもので数

時間経過すると回復し, 再び活動を始め, 個体によっては歩行した。このことから, 水中に投入された時点で活動を止め仮死状態に陥ったために, 長時間の水没に耐えることができた可能性が考えられた。なお, 回復した個体の吸血活性については今後の検討課題である。

投与による効果を図3Cに示す。すなわち, 同時投与により得られた中和抗体価を, 4価DNAワクチン単独投与により得られた中和抗体価で除した値を各型に対して求めた。JEVAXと同時投与したマウスのDENV3に対する18週目のデータ以外は2倍以上を示し, 多くの場合4~16倍であった。4価DNAワクチンの産生する抗原と交差性の高いD2EPを蛋白ワクチンとして用いた方が, 血清グループの異なる日本脳炎ウイルス抗原(JEVAX)を用いた場合より高い上昇効果を, 全ての型に対して示した。また, D2EPを用いた場合, 初回免疫後は同種のDENV2に対して大きな増強効果が認められたが, 追加免疫後は異種のDENV3やDENV4に対しても認められた。

E. 結論

コロモジラミ成虫の生存条件を乾燥および水没条件下において検討した。その結果, 乾燥状態では20℃で1週間程度生存することが確認された。また, 水中や洗剤水中でも6時間以上生存すること, 洗剤水に6時間浸漬した個体でも, その後72時間以上生存することが明らかとなり, コロモジラミの対策を考える上での基礎的な情報が得られた。

G.研究発表

なし

H.知的財産の出願・登録状況

なし

表 1 乾燥条件での生存状況

庫内 温度	経過日数	1d		4d		5d		6d		7d		8d		9d		12d									
		A	BC	D	A	BC	D	A	BC	D	A	BC	D	A	BC	D	A	BC	D						
20°C	1匹×3区	3	0	0	3	0	0	3	0	0	3	0	0	2	1	0	0	1	2	0	0	3			
	10匹×1区	11	0	0	10	0	1	9	0	2	7	1	3	6	1	4	0	2	9	0	0	11	0	0	11
30°C	1匹×3区	3	0	0	0	0	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10匹×1区	9	0	1	0	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35°C	1匹×3区	3	0	0	0	0	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10匹×1区	10	0	0	0	0	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*判定基準

A ; 生存 (歩行可)

BC ; ノックダウン・微動 (生きてはいるが歩行不可, 刺激を与えれば脚を動かす)

D ; 不動 (致死または仮死状態)

表 2 18℃, 24.5℃, 26.5℃, 24 時間浸漬 (水道水)

水温 (庫内温度)	経過時間 判定基準*	直後			回収後 3 日目		
		A	BC	D	A	BC	D
18℃ (20℃)	♂1 匹×10 区	0	0	11	0	0	11
	♀1 匹×10 区	0	0	10	0	0	10
	♀10 匹×5 区	0	0	59	0	2	57
	♀10 匹×5 区	0	0	50	0	0	50
24.5℃ (30℃)	♂1 匹×10 区	0	0	10	0	0	10
	♀1 匹×10 区	0	0	10	0	0	10
	♀10 匹×5 区	0	0	51	0	0	51
	♀10 匹×5 区	0	0	50	0	0	50
26.5℃ (35℃)	♂1 匹×10 区	0	0	10	0	0	10
	♀1 匹×10 区	0	0	10	0	0	10
	♀10 匹×5 区	0	0	50	0	0	50
	♀10 匹×3 区	0	0	30	0	0	30

*判定基準

A ; 生存 (歩行可)

BC : ノックダウン・微動 (生きてはいるが歩行不可, 刺激を与えれば脚を動かす)

D : 不動 (致死または仮死状態)

表 3 15℃, 1 時間浸漬

水温	経過時間 判定基準*	直後			1d			3d			
		A	BC	D	A	BC	D	A	BC	D	
15℃	水道水	♂	10	0	0	10	0	0	9	0	1
		♀	10	0	0	10	0	0	10	0	0
	洗濯洗剤水	♂	10	0	0	10	0	0	10	0	0
		♀	10	0	0	10	0	0	9	0	1
	水無し (対照)	♂	10	0	0	10	0	0	10	0	0
		♀	10	0	0	10	0	0	10	0	0

*判定基準

A ; 生存 (歩行可)

BC : ノックダウン・微動 (生きてはいるが歩行不可, 刺激を与えれば脚を動かす)

D : 不動 (致死または仮死状態)

表 4 15℃, 20℃, 25℃, 6時間浸漬

水温	経過時間 判定基準*		直後			1d			3d		
			A	BC	D	A	BC	D	A	BC	D
15℃	水道水	♂	10	0	0	10	0	0	10	0	0
		♀	9	0	1	10	0	0	9	0	1
	洗濯洗剤水	♂	9	0	1	10	0	0	10	0	0
		♀	9	0	1	9	0	1	9	0	1
	水無し (対照)	♂	10	0	0	10	0	0	10	0	0
		♀	7	0	0	7	0	0	7	0	0
20℃	水道水	♂	10	0	0	10	0	0	10	0	0
		♀	9	0	1	10	0	0	10	0	0
	洗濯洗剤水	♂	10	0	0	10	0	0	10	0	0
		♀	10	0	0	9	0	1	8	0	2
	水無し (対照)	♂	10	0	0	10	0	0	10	0	0
		♀	10	0	0	10	0	0	10	0	0
25℃	水道水	♂	10	0	0	10	0	0	10	0	0
		♀	10	0	0	10	0	0	9	0	1
	洗濯洗剤水	♂	3	0	8	9	0	2	8	1	2
		♀	10	0	0	10	0	0	10	0	0
	水無し (対照)	♂	10	0	0	10	0	0	10	0	0
		♀	11	0	0	11	0	0	10	0	1

*判定基準

A ; 生存 (歩行可)

BC : ノックダウン・微動 (生きてはいるが歩行不可, 刺激を与えれば脚を動かす)

D : 不動 (致死または仮死状態)

表 5 15°C, 20°C, 25°C, 20 時間浸漬

水温	経過時間 判定基準*	直後				4h				1d				
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	
15°C	水道水	♂	0	0	0	10	10	0	0	0	10	0	0	0
		♀	0	0	0	10	10	0	0	0	10	0	0	0
	洗濯洗剤水	♂	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
		♀	0	0	0	10	0	0	1	9	0	0	1	9
	水無し (対照)	♂	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
		♀	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
20°C	水道水	♂	0	0	1	9	0	0	3	7	2	0	1	7
		♀	0	0	0	10	1	0	3	6	1	0	0	9
	洗濯洗剤水	♂	0	0	1	9	0	1	1	8	0	0	1	9
		♀	0	0	0	10	0	0	2	8	0	0	0	10
	水無し (対照)	♂	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
		♀	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
25°C	水道水	♂	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
		♀	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	3	7
	洗濯洗剤水	♂	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0	10
		♀	0	0	0	10	0	0	1	9	0	0	1	9
	水無し (対照)	♂	10	0	0	0	10	0	0	0	10	0	0	0
		♀	9	0	1	0	10	0	0	0	10	0	0	0

判定基準*

A: 生存 (歩行可)

B: ノックダウン (生きてはいるが, 歩行不可)

C: 微動 (刺激を与えれば脚を動かす)

D: 不動 (致死または仮死状態),

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

食塩水のアカイエカおよびヒトスジシマカに対する殺幼虫効果および産卵抑制効果

研究分担者 小林睦生 (国立感染症研究所・昆虫医科学部)
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)
橋本知幸 (財団法人日本環境衛生センター・環境生物部)

研究要旨 食塩水のカ類幼虫に対する殺虫効果ならびに産卵抑制について、アカイエカおよびヒトスジシマカの飼育系統を用いて評価した。幼虫浸漬試験では、1日後のLC₅₀値はアカイエカおよびヒトスジシマカのいずれも、約1.25% (W/V)、3日後は約1.0%であった。0.75%では時間が経過しても、幼虫に対する致死効果は低かったが、1.5%では2日後までに100%の致死率が得られた。また、飼育ケージ内に、脱塩素水と食塩水を併置して吸血雌に任意に産卵させた場合、アカイエカは1.0%食塩水に対する産卵を完全に回避し、脱塩素水にのみ産卵した。0.5%食塩水に対しては脱塩素水と同じように産卵し、健全な幼虫孵化が確認された。一方、ヒトスジシマカでは1.0%食塩水でも産卵が認められたが、その数は相対的に少ない上、壁面(ろ紙)への固着が弱く、大部分の卵が水面に流出したり、食塩水中に沈降した。

A. 研究目的

カ類の幼虫駆除において、殺虫剤が入手困難であったり、殺虫剤を散布処理ににくい、といった状況は、発展途上国ばかりでなく、わが国の住環境周辺でも数多く存在する。このため、身近な材料による暫定的な蚊発生源対策の一つの可能性として、食塩を使った殺幼虫効果ならびに産卵抑制効果等を、室内試験によって検討した。水中の塩分は海岸付近、浄化槽、雨水樹など、海水、汚水、調理廃液等の混入が考えられる状況での、ポウフラの生息状況にも影響を与えるものと考えられ、ポウフラの生息を阻害する一要因と捉えることもできるので、ポウフラの塩分感受性を明らかにしておくことは重要であると考えられる。このため、我が国の住宅地周辺でもっとも普通に見られるアカイエカとヒトスジシマカに

ついて実験を行った。

B. 研究方法

浸漬法による殺幼虫効果の評価

供試虫：

- ①アカイエカ終齢幼虫 御所コロニー (有機リン, ビレスロイド感受性)
- ②ヒトスジシマカ終齢幼虫 医科研コロニー (同上)
- ③チカイエカ終齢幼虫 戸塚コロニー (有機リン, ビレスロイド感受性)
- ④チカイエカ終齢幼虫 横浜コロニー (ビレスロイド抵抗性)

試験方法：

- ①150mL容のプラスチック容器に、食塩を脱塩素水で所定濃度(0.75~1.75% (w/v))に希釈し、その120mLを準備した後、供

試虫 1 群 25 匹を放した。

- ②微量の固形飼料（オリエンタル酵母工業製 MF）を与え、プラスチックの蓋をして、蒸散による塩分濃度の変化が起こらないようにし、室温 25°C で保存し、日数経過に伴う幼虫の死亡状況を観察した。対照区として食塩無添加の脱塩素水のみをの区を設けた。なお、死亡状況の観察は刺激しても動かない個体を死亡とし、わずかも動く個体は生存個体と見なした。また蛹化している個体もその死亡状況を観察したが、幼虫の致死率は観察日ごとに蛹化数を除いて算出した。
- ③試験は各濃度について 2 反復で実施し、その合計から、プロビット法（Litchfield-Wilcoxon 法）により、50%致死濃度を算出した。
- ④アカイエカ幼虫については、参考として、エタノール、台所用洗剤（花王製ファミリーフレッシュ：界面活性剤 18% 含有）、ザラメ（飼育時に成虫の栄養源として、3~5% (w/v) で水に希釈して与えているもの）についても、種々の濃度に希釈したときの殺幼虫効果を検討した。さらに、ピレスロイド剤に対する感受性の異なるチカイエカ 2 系統について、食塩濃度 1.5% のみで、殺幼虫効果を確認した。

食塩水に対する成虫産卵抑制効果の評価

供試虫：

- ①アカイエカ成虫 御所コロニー（有機リン、ピレスロイド感受性）
- ②ヒトスジシマカ成虫 医科研コロニー（同上）

試験方法：

- ①通常飼育と同様に、各供試虫を飼育ケージ内でマウスを与えて吸血させ、その後 4 日間、砂糖水を与えて、吸血成虫を飼

育した。

- ②アカイエカの飼育ケージでは 150mL 容のプラスチック容器に、食塩を脱塩素水で所定濃度（0, 0.5, 1.0% (w/v)）に希釈し、その 100mL を注ぎ、合計 3 容器を同時に、ケージ内底面に配置した。ヒトスジシマカの飼育ケージでは、直径 5 cm × 高さ 1.5cm のガラスシャーレに、上記食塩水約 10mL を注ぎ、その内周にろ紙を貼り付け、ケージ内底面同時に配置した。いずれのケージも産卵容器配置後、一昼夜、飼育室内（25°C, 16L:8D）で保存した。
- ③各ケージから産卵容器を取り出し、アカイエカについては、水面に浮かんでいる卵舟の数（塊のみをカウントし、砕けた個卵はカウントしなかった）を、ヒトスジシマカについては、ろ紙を取り出して、そこに付着した卵数をカウントした。
- ④試験は各濃度について 2 反復で実施し、0%（対照区）と各濃度区における産卵数から、下式により産卵抑制率を算出した。

産卵抑制率(%)

$$= \{1 - (\text{処理区産卵(舟)数} / \text{対照区産卵(舟)数})\} \times 100$$

C. 研究結果

1) 浸漬法による殺幼虫効果の評価

アカイエカおよびヒトスジシマカに対する食塩水の殺幼虫効果の経日変化を図 1 に、処理後日数の経過に伴う LC₅₀ 値の変化を表 1 に示した。処理 1 日後のアカイエカ幼虫およびヒトスジシマカ幼虫の LC₅₀ 値は、それぞれ、1.25% (0.214M) および 1.24% (0.212M) を示し、以後、日数経過に従って、その値は徐々に小さくなる傾向にあり、処理 3 日後の値はそれぞれ、0.993% (0.170M) および 0.939% (0.161M) を示した。各種幼虫

に対する食塩水の致死効果は、食塩濃度 0.5%よりも高い濃度では、わずかな変化で急激に高まり、0.75%では補正致死率が概ね 10%未満であるのに、その 2 倍濃度では 2 日後までに致死率 100%が得られた。なお、2 種の間では食塩水に対する感受性差はほとんど認められなかった。

また、参考材料として供試したエタノール、台所用洗剤、ザラメの希釈水によるアカイエカ幼虫の致死効果を表 2 に示した。エタノールでは濃度 1%で、1 日後致死率は 13.3%、2%で 79.6%、4%で 100%、3 日後では 1%区で 38.1%、2%区で 100%であった。台所用洗剤水では濃度 0.0313%で、1 日後に 89.1%、0.0625%では 100%、3 日後では 0.0313%区でも 100%の致死率であった。成虫の餌として与えているザラメでは濃度 20%(0.585M)で、1 日後に 100%の高い致死率が得られたが、成虫に与えている濃度とほぼ同等の 5%(0.146M)では、3 日後の観察でも致死率は 38.2%であった。

さらに、チカイエカの 2 系統について、食塩濃度 1.5%の殺幼虫効果を表 3 に示した。いずれの系統も 1 日後致死率はやや低かったが、3 日後には上記アカイエカと同様に 100%致死率が得られ、塩分に対する感受性に種間および系統間で差は認められなかった。

2) 食塩水に対する成虫産卵抑制効果の評価

アカイエカ成虫の各食塩水に対する産卵(舟)数を表 4 に示した。食塩濃度 1.0%では 2 反復とも、産卵は全く見られなかった。一方、0.5%では合計 66 卵舟が産卵され、対照区への産卵(52 卵舟)と差はなかった。

一方、ヒトスジシマカでは対照区での産卵数が 2,324 個であったのに対して、0.5%

では 1,503 個、1.0%でも 453 個の産卵が確認された。ヒトスジシマカの産卵は通常、水面付近の水際でなされるため、通常の飼育条件でも、ろ紙に付着していることが多い。しかし、水の代わりに食塩水を入れた容器内での産卵は、一見、ろ紙に産み付けられているように見えるが、容器を軽く振とうすると、ろ紙上の卵が食塩水によって流れ出し、大部分が食塩水面に浮上したり、沈降した。このような卵の流出は対照区でも見られたが、その割合は食塩水よりも明らかに少なかった。なお、流出した卵の一部は孵化に至ったが、濃度 1%では孵化幼虫はすべて死亡した。

D. 考察

1) 浸漬法による殺幼虫効果の評価

今回の幼虫の致死状況の経日的な変化から見ると、2 日後以降で致死率は概ね安定し、両種に対して、食塩で 100%の致死率が得られるのは、濃度 1.5%以上であると判断された。この成績は中田(1956)の報告しているネッタイシマカ幼虫の感受性とほぼ同等であった。

一般的なボウフラの発生源で、塩を投入できるケースはごくわずかであると考えられるが、塩の処理が可能な状況で、緊急的・一時的であれば、幼虫駆除は可能であろう。また海水の塩分濃度は約 3.5%であることから、食塩そのものではなく、海水の投入によっても幼虫駆除ができる可能性はある。野外におけるボウフラの生息環境では、こうした高い濃度の塩水が混入する状況は、海岸付近を除けば、少ないものと予想されるが、今後、一般的に蚊の発生源となっている浄化槽、雨水槽などの塩分濃度と、ボウフラの生息との関係を補足的に調査することが課題となろう。さらに、今回の実験

では蛹化以降の死亡は致死率算出から除外したが、高濃度区での蛹の死亡も見られ、幼虫期に致死に至らない場合でも、塩水への暴露によって、蛹化後に死亡したり、脱皮や蛹化が遅延する可能性があるため、発育阻害効果を検証することも課題である。

また、今回補足的に実施した材料のうち、台所用洗剤は比較的低濃度で高い致死率が得られたが、幼虫の状況から、致死の直接的な原因は界面活性剤による水没と考えられた。界面活性剤には種々の物質が利用されており、Tween20 などの実験用界面活性剤では 0.4%でも幼虫致死はほとんど見られず、メーカーによって界面活性剤の種類が異なっていると思われるので、今回のデータが他の洗剤でも同様であるとは言えない。

なお、今回供試した食塩は 84 円/kg (2,100 円/25kg) で、漬物塩、精製塩などの一般的に日本の家庭で用いられている食塩の小売価格も 60~180 円/kg である。今回用いた食塩で 1 t の水域に対して 1.5%となるように処理した場合、1,260 円となる。この費用をボウフラ用で適用されている主要な殺虫剤のメーカー希望小売価格と比較した場合、ウエストナイル熱媒介蚊対策ガイドライン (2003) に掲載されている処理薬量で算出すると、フェントロチオン 10%乳剤 (希望卸売価格 18L 缶 26,400~36,800 円、用量 20mL/t) が 29~41 円、プロペタンホス 3%乳剤 (18L 28,000~33,600 円、用量 30~50mL/t) 47~93 円、エトフェンプロックス 5%乳剤 (含 S421) (18L 105,000 円、用量 10~20mL/t) 58~116 円、ピリプロキシフェン 0.5%粒剤 (10kg 70,000~78,200 円、用量 10g/t) 70~78 円となり、明らかに食塩処理のほうが薬剤コストは高くなる。

2) 食塩水に対する成虫産卵抑制効果の評価

アカイエカ成虫は産卵の際に、産卵水域の水を雌成虫が飲み込んだり、附節先端で触れることによって確認し、産卵に適さないと判断した場合には、その水域での産卵を回避するとされている。今回の実験の結果でも、たまたま食塩濃度が高い区での産卵が行われなかったのではなく、成虫が水質の確認後に産卵を回避し、同時配置している他の産卵容器で産卵したものと判断された。産卵を回避した濃度と、前記、殺幼虫試験における 50%~100%致死率が得られる濃度は近似しており、幼虫生存の限界濃度と成虫の産卵回避濃度は概ね一致するものと思われた。

一方、ヒトスジシマカでは食塩濃度 1%でも、若干の産卵が認められた。ヒトスジシマカの場合、成虫の水質確認がアカイエカのように行われているのか、明らかではないが、産卵数が食塩濃度増加に伴って減少することから、産卵行動に対して食塩濃度はある程度、影響しているものと思われた。また、ヒトスジシマカでは壁面 (ろ紙) に産卵された卵は、振動によってほとんどが流出してしまうことから、卵の壁面への固着が塩水によって阻害されている可能性が示唆された。このように流出した卵でも一部は孵化に至ったが、濃度 1%では孵化幼虫はすべて死亡してしまい、産卵しても幼虫が発育していくことは困難であると判断された。

E. 結論

アカイエカならびにヒトスジシマカ幼虫は、食塩水濃度に依存して、感受性が高まり、濃度 0.75%ではほとんど殺虫効果は得られないが、1.5%では高い殺幼虫効果が得

られ、成虫の産卵に対しても1.0%で産卵を回避する傾向が見られた。また、台所用洗剤も防除に利用できる可能性が示唆された。アカイエカおよびヒトスジシマカが生息する水域に塩を処理する場合には、一般的な殺幼虫剤処理よりもコストはかかるが、殺虫剤が入手しにくい状況では、緊急的・一時的には駆除効果が得られるものと判断された。

G.研究発表

なし

H.知的財産の出願・登録状況

なし

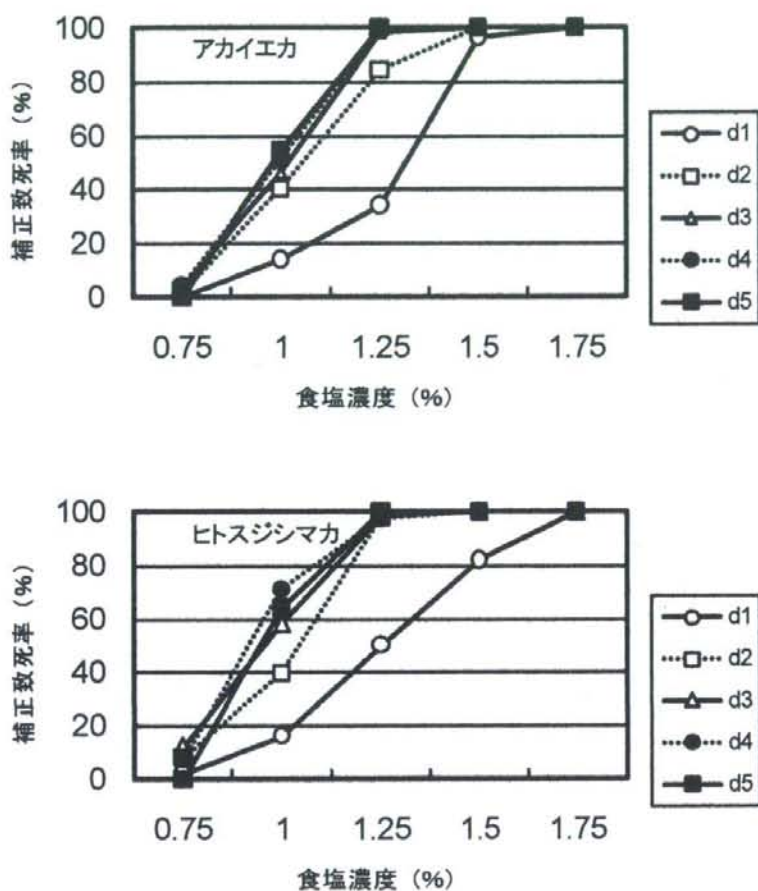


図1 アカイエカ、ヒトスジシマカ終齢幼虫に食塩水感受性

表1 処理後日数経過に伴う LC₅₀ 値の変化

	処理後日数経過に伴うLC ₅₀ 値(%)の変化				
	1	2	3	4	5(日後)
アカイエカ	1.25	1.05	0.993	0.996	-
ヒトスジシマカ	1.24	0.999	0.939	0.925	-

5日後は算出できなかった