総 説

殺虫剤抵抗性疾病媒介蚊に対する新しい防除法の試み

川 田 均

長崎大学熱帯医学研究所病害動物学分野（〒852-8523 長崎市坂本1-12-4）

（受領：2014年2月14日；登載決定：2014年4月4日）

Trials for the possible new controlling techniques as countermeasures against insecticide resistant vector mosquitoes

Hitoshi KAWADA

*Department of vector Ecology & Environment, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University,
Sakamoto 1-12-4, Nagasaki 852-8523, Japan
E-mail: vergiss@nagasaki-u.ac.jp*

(Received: 14 February 2014; Accepted: 4 April 2014)

Abstract: The dramatic success of ITNs and LLINs in African countries and excessive use of photo-stable pyrethroids in Southeast Asian countries have been countered by the rapid development of pyrethroid resistance in vector mosquitoes over the past decade. Use of excito-repellency of chemicals might be biorational, since such repellency will not induce any physiological resistance. However, little is known about the relationship between the mode of insecticide resistance and excito-repellency in pyrethroid-resistant mosquitoes.

Trials for some insecticide delivery systems using pyrethroids, metofluthrin and permethrin, and JHM, pyriproxyfen, are introduced in the present review and possible use of these systems as new biorational mosquito controlling measures which might be countermeasures against pyrethroid-resistant mosquito vectors is discussed. New self-protection measures using excito-repellent type I pyrethroids as substitutional or supplemental techniques for bio-rational vector control measures, as well as reconsideration of the use of photo-unstable knockdown agents as spatial repellents, which effectively interfere with disease transmission without causing any selection pressure to insect populations are also proposed.

Key words: pyrethroid, resistance, excito-repellency, spatial repellency, insecticide delivery system

緒 言

化学物質は、天然物であるか人工物であるかに関わらず、人間の生活にとって極めて重要な役割を果たしてきた。化学反応の産物である酸素や水、様々な栄養素の恩恵なしに人間の生活は成り立たない。多くの薬や食品、繊維、農薬などが人間生活の維持や進歩のために人工的に作られてきている。以上のような恩恵の一方で、化学物質は環境や生態系を乱すものとして問題視されてきてもいる。十分に吟味された環境毒性学や薬理学に根ざさない不適切な法制限や風評の流布が、しばしば謂われのない化学物質に対する非難に繋がっている。また化学物質に関する正しい情報や知識の欠如は、しばしば天然物に対する無根拠な過信や人工の化学物質に対する狂信的な反対運動をもたらす。したがって、正しい化学物質の使用による恩恵を受け続けるためには、化学物質の供給者だけでなく使用者の化学物質に対する生物合理的(biorational)で論理的なアプローチが必要不可欠となる。

天然物由来の農薬の開発は、化学物質の環境に対する影響を天然物質のレベルまで必要最低限に抑える上で極めてbiorationalなアプローチと考えられる。天然のジョチュウグ

ク成分の発見とそれに続く合成ピレスロイドの数々の成功は、農薬開発の歴史の中でも最もエポックメイキングな出来事であった。例えば、最も古典的な合成ピレスロイドであるアレスリンは(Schechter et al., 1948)、いまだに毒性や使用上の問題なしに蚊の吸血を防止する殺虫剤として使用され続けている。ピレスロイドによる蚊の刺咬被害の防止は、ピレスロイドの恒温動物に対する毒性の低さと蚊に対する高い忌避効果や致死効果の故に極めてbiorationalなアイデアである。

合成ピレスロイドを使用した最もポピュラーで歴史の長い製剤は蚊取り線香であり、蚊取りマット、リキッド製剤がこれに続く。いわゆるノックダウン剤(knockdown agent)と呼ばれるアレスリン、ピレトリン、プラレトリンなどのピレスロイドがこれらの蚊取り剤に使用されている。近年、これらのピレスロイドに比較して蒸気圧が高い新しいタイプのピレスロイドが蚊取り剤分野に新時代をもたらした。メトフルトリンはこの新しいタイプの代表的な化合物である(Ujihara et al., 2004)。メトフルトリンは上記のノックダウン剤のグループに属するが、従来のノックダウン剤には見られないユニークな特性を持っている。その最も主たる特徴は、アレスリンの2倍以上、ペルメトリンの100倍以上の高い蒸気圧で、

この高い蒸気圧によりメトフルトリンは大きな加熱エネルギーなしに蒸散させることができる。もう一つの特徴は、アレスリンの28–79倍にも達する高い殺虫効力である (Argueta et al., 2004)。メトフルトリンのこの2つの特徴は、低コストで長期間の効力を持続させることができ、しかも蒸散のための外部エネルギーを必要としない新しい蚊防除剤の開発を可能にした。

ノックダウン剤に属するピレスロイドは、いわゆる「空間忌避剤」として世界規模で長年にわたって成功を収めてきた。「空間忌避」による防虫効果は害虫の致死を目的としないために、害虫の個体群に対する選択圧が低く、ピレスロイドに対する抵抗性発達の速度が抑えられると考えられる。一方、フェノキシベンジルアルコール分子の発明は、光分解に対して安定なピレスロイド群の発達を促進させ、農業用途をはじめとするピレスロイドの屋外使用を可能にした。これらの「第2世代」ピレスロイドは、農業用途のみならずマラリア防除用の残留散布 (IRS)、ULV散布や長期残効型蚊帳 (LLIN) などのベクターコントロール用途に世界規模で使用されている。しかしながら、殺虫効力とともに光安定性の高いピレスロイドは、同時に対象害虫の高いピレスロイド抵抗性発達の原因となっている。光安定性の高い「第2世代」のピレスロイドは、 α -シアノ基の有無によってタイプI (α -シアノ基を含まない; ペルメトリン, エトフェンプロクスなど) とタイプII (α -シアノ基を含む; デルタメスリン, λ -サイハロスリン, サイパーメスリンなど) に分類される。

オリセツ®ネットは、タイプIのピレスロイドに属するペルメトリンがプラスチック樹脂繊維に練り込まれたマラリア防除用の蚊帳である。オリセツ®ネットは、タイプIIピレスロイドであるデルタメスリンを有効成分として含有するパーマネット® (PermaNet®) と並んで最もポピュラーで有効なLLINのひとつである。Siegert et al. (2009) は、オリセツ®ネットが蚊のランディングを (忌避によって) 阻害するために、結果的に致死効果が低いこと、一方パーマネット®は同条件において蚊のランディングを妨げないために高い致死効果を示すことを報告している。これは、致死効果と忌避効果の功罪を考える上で興味深い現象である。すなわち、高い致死効果と低い忌避性を有するピレスロイドは蚊の個体群を減少させるためには最も有効であるが、一方でこのような高い致死効果は高いピレスロイド抵抗性を急速に発達させる恐れがある。これに対しペルメトリンの蚊に対する忌避性は、ヒトと蚊の接触機会を低下させ、吸血の成功率を低下させることがあるかも知れない。さらに、致死力が低いことによって抵抗性の発達が遅れる可能性も考えられる。事実、オリセツ®ネットとパーマネット®は、実用場面においては同等の吸血阻止率を示すという結果が報告されている (Dabire et al., 2006)。フェノキシベンジルアルコール分子を有さない第1世代やタイプIに属するピレスロイドの忌避性をポジティブに活用することは、蚊を殺さずとも吸血させなければ十分であるという考え方と、できるだけ抵抗性の発達を遅くするという目的を達成する上で biorational であり、持続可能なベクターコントロールを実現させることが可能になるかも知れない。

天然の幼若ホルモンから発達した合成幼若ホルモンまたは幼若ホルモン様物質 (JHM) も、ユニークかつ有望な天然物由来の化合物群である。これらの化合物群は昆虫に特異

的な作用性を有し、発育ステージに対しても特異的で、遅効性かつ従来の殺虫剤とは異なり神経に作用しない点でユニークである (Miyamoto et al., 1992)。メトプレン (Henrick et al., 1973) とピリプロキシフェン (Hirano et al., 1998) が代表的なJHMである。JHMが抵抗性を発達させず、生態系にも無影響の第3の殺虫剤になるとWilliams (1967) が予見してから40年以上が経つが、メトプレンやハイドロプレンが世界で初めて世に出てから30年を経る間に、この予言は誤りだったことが明らかとなってきた。JHMに対する害虫の抵抗性は、農業害虫や非農業害虫に今やごく普通の現象として認識されているだけではなく (Zhang et al., 1998; Cornel et al., 2002; Ishaaya et al., 2005)、一般の殺虫剤と同様に必要以上の使用は生態系に影響を与えることが幾つか報告されている (Miyamoto et al., 1993; Traylor and Davis, 1996)。JHMの biorational な使用にあたっては、最大限の注意と高度の知識、熟練が不可欠である。必要最低限の量による最も効果的なJHMの施用が、生態系にも人間にも最大の利益をもたらすであろう。

この総説では、第1世代あるいはタイプIに属するピレスロイドの「空間忌避」効果や「接触忌避」効果を利用した新しいベクターコントロールの可能性につき、幾つかのトライアル結果を交えて論じる。加えて、JHMを利用した新しい生物合理的 (baiorational) な防除法の試みについても言及する。

1. メトフルトリン樹脂製剤の疾病媒介蚊に対する空間忌避効果

メトフルトリン (SumiOne®), 2,3,5,6-tetrafluoro-4-methoxymethylbenzyl (E:Z $\approx$ 1:8) (1R, 3R)-2,2-dimethyl-3-(prop-1-enyl) cyclopropanecarboxylate, は近年開発された新しいタイプのピレスロイドである。特長である高い殺虫効力と蒸気圧、この特長を生かした常温揮散製剤の可能性については緒言で述べたとおりである。メトフルトリンの特長を生かした常温揮散デバイスがこれまでに幾つか開発されてきた。著者らの初期段階の実験では、メトフルトリンをアセトンで溶かし多層構造の紙に処理しただけの簡単なデバイスを使用した。このデバイスは、インドネシア、ロンボク島の野外条件で *Anopheles* sp. および *Culex* sp. に対し良好な空間忌避効果を示した (Fig. 1, 2; Kawada et al., 2004a)。プルガ (beruga) と呼ばれる屋根と床だけの東屋がロンボク島の集落に多く存在し、夕食後の団欒や祈りの場となっているが、この半野

Fig. 1. Prototype multilayer paper strip device impregnated with 200 mg of metofluthrin and outdoor human-baited collection with a double net (Strips were hung in a space between the inside and outside nets) (Kawada et al., 2004a).

Fig. 2. Changes in total number of mosquitoes collected per hour at indoor human-baited collection (HBI) and outdoor human-baited collection (HBO) after the treatment with multilayer paper strip device impregnated with metofluthrin (Kawada et al., 2004a).

外的な場所がマラリア媒介の重要なポイントになっている。メトフルトリンの多層構造紙は、このブルガにおいても良好な効果を示し、*Anopheles sundaicus* (Rodenwaldt), *Anopheles balabacensis* (Baisas), ネットアイエカ *Culex quinquefasciatus* (Say) などの媒介蚊のブルガへの侵入を阻止することが明らかとなった (Kawada et al., 2004b)。

プロトタイプが多層構造紙は、湿気に弱く残効性も短いため、シリンダー状のプラスチックネットにメトフルトリンを練り込んだ樹脂製剤が開発された (以下デバイスNo. 1とす; 20gのネットに1000mgのメトフルトリンが練り込まれている)。上記のブルガにおいてこのデバイスNo. 1を使用した実験を行ったところ、1軒のブルガあたり4個のデバイスを仕掛けることによって14週間以上高い空間忌避効果を持続させることができた (Fig. 3, 4; Kawada et al., 2005a)。同じくデバイスNo. 1を使用した実地試験を、デング熱媒介蚊であるネットアイシマカ *Aedes aegypti* (L.) を対象としてベトナムのDo Son (Hai Phong city, Vietnam) で実施した。ベトナムでの試験は、室内にデバイスを吊す形で行われたが、1部屋に1個のデバイスNo. 1の設置で約6週間の効力持続が確認されたものの (Fig. 5; Kawada et al., 2005b)、実用場面を考えると更なる持続時間の延長が望まれた。

メトフルトリンのデバイスの効力持続期間を延ばすためには幾つかの方法が考えられる。(1) デバイスの形をより複雑に (あるいは逆に単純に) する, (2) 有効成分の放出をより抑えるような処方やプラスチック樹脂のポリマー密度にする, (3) 有効成分量を増やす, そして (4) 単純に1部屋あたりのデバイス数を増やすなどである。そこで次のステップとして、新しい形と処方のデバイスNo. 2を試作し効果確認を行った。デバイスNo. 2 (12.3gのプラスチックに600mgのメトフルトリンが練り込まれている) は、Fig. 6に示したよ

Fig. 3. Metofluthrin-impregnated plastic strip for the trial and the field test scene with the strips in a beruga where Lombok people spend every evening before going to bed. Arrows indicate the metofluthrin-impregnated strips (Kawada et al., 2005a).

Fig. 4. Changes in the total number of mosquitoes collected per h during the trial for metofluthrin-impregnated plastic strips. Bars indicate the standard deviations (Kawada et al., 2005a).

うな格子状の構造を持つ長方形のデバイスであり、有効成分の揮散率をデバイスNo. 1の約半分に減少させたものである。このデバイスを用いた試験をベトナムのMy Tho市 (Tien Giang province, Vietnam) の家屋で実施したところ、床面積2.6–5.5 m²あたり1個のデバイスNo. 2設置で、ネットアイシマカに対して約8週間の持続効果が確認された (Fig. 7; Kawada et al., 2006a)。

次に、デバイスNo. 2を使用したマラリア媒介蚊 *Anopheles gambiae* Giles complex に対する空間忌避効果試験をタンザニア (Kongo村, Bagamoyo district, Tanzania) で実施した (Fig. 8)。20軒の家屋を処理区と無処理区に分け、蚊の個体数の評価はピレスロイド含有エアゾールによるスプレーキャッチとCDCライトトラップの2方法で行った。アフリカの家屋の構造はベトナムの家屋に比べてより開放的で、空間忌避効果には不利な条件であるが、無処理家屋に比べて98.7%の個体数減少が見られた (Table 1; Kawada et al., 2008)。Table 2は、ベトナムのMy Tho市とタンザニアのKongo村の家屋におけるデバイスNo. 2の効果と環境要因をまとめたものであるが、Kongo村の家屋はMy Tho市の家屋に比べて平均気温は低く、逆に相対湿度は高いことが分かる。また、床面積と家屋の体積はMy Tho市の家屋がKongo村の家屋を上回るが、体積あたりの窓などの開口部の割合がKongo村の家屋ではMy Tho

Fig. 5. Treatment scene with a metofluthrin-impregnated plastic strip in a room, Do Son, Vietnam (Left photo) and changes in the number of mosquitoes collected in metofluthrin-treated and untreated houses (Right graphs). Upper graph shows the general density index based on the total number of mosquitoes collected (*Cx. quinquefasciatus* and *Ae. aegypti*) and lower graph for *Ae. aegypti* index (Kawada et al., 2005b).

Fig. 6. Metofluthrin-impregnated polyethylene latticework strip (left) and treatment scene of the strip in a room (right), My Tho city, Vietnam (Kawada et al., 2006a).

Fig. 7. Changes in the mosquito density index (female per house per day) of *Aedes aegypti* collected in metofluthrin-treated and untreated houses, My Tho city, Vietnam. Bars indicate 95% confidence limits (Kawada et al., 2006a).

Fig. 8. Treatment scene of metofluthrin-impregnated latticework plastic strips in a room, Bagamoyo, Tanzania. CDC light traps were put inside rooms for collection of mosquitoes (Kawada et al., 2008).

市家屋の2倍近くになり、Kongo村の家屋がより「開放的」であることが分かる。

メトフルトリンの常温揮散デバイスNo. 1, No. 2は、上記に述べたように幾つかの条件の異なる地域においてその実用性が見出された。空気中に蒸散したピレスロイドの蚊に対する効果には、ロックダウン効果とホストへの定位阻害による吸血阻止効果の2つの効果が考えられる。このうち後者の効果は、ピレスロイドによる効果が現れる初期段階に見られる sublethal (致死に至る前の) な効果と考えられる (MacIver,

Table 1. Changes in the mosquito density index¹⁾ by pyrethrum spray sheet catch collection in the metofluthrin-intervention and control houses in Bagamoyo, Tanzania (Kawada et al., 2008).

Days after Intervention	Mosquito Density Index (<i>Anopheles gambiae</i> s.l.)	
	Intervention-(95%CI)	Control-(95%CI)
20	0.2 (0.4)	2.0 (1.0)
34	0.2 (0.4)	11.4 (5.6)
61	0.0 (—)	8.0 (4.2)
89	0.0 (—)	7.2 (4.4)
124	0.0 (—)	2.4 (2.3)

¹⁾ Mosquito Density Index=No. of female mosquito/house/day

Table 2. Environmental factors of the intervention houses and effective duration of metofluthrin-impregnated plastic strips (Kawada et al., 2008).

Environmental Factors	Trial Sites (Trial Year)-Target Mosquito	
	My Tho (2005) ²⁾ <i>Ae. aegypti</i>	Bagamoyo (2006) ²⁾ <i>An. gambiae</i> s.l.
Average Temperature (°C) ¹⁾	29.1 (0.8)	24.8 (0.7)
Average Humidity (% RH) ¹⁾	70.1 (5.1)	75.3 (3.9)
Total Floor Area (m ²)/House	32.1 (10.5)	22.0 (14.1)
Total Volume (m ³)/House	129.3 (59.4)	58.7 (45.7)
Total Opening Area (m ²)/House	6.6 (5.0)	5.7 (4.3)
Corrected Opening Area/Volume	0.051	0.098
No. of metofluthrin Strips/m ²	0.31	0.52
Amount of metofluthrin (mg)/m ²	191	320
Effective Duration (Weeks)	8	> 18

¹⁾ June 20–August 3, 2006 in Bagamoyo; June 20–September 4, 2005 in My Tho

²⁾ Figures in parenthesis are standard deviations

1964; Winney, 1975; Birley et al., 1987; Kawada, 2009). Kawada et al. (2006a) は、家屋内の気温の上昇と体積あたりの開口部面積の減少がメトフルトリンの空間忌避効果の上昇をもたらすとしている。気温の上昇はメトフルトリンの揮散を高め、体積辺りの開口部面積の減少は有効成分を室内により多く留めることがこの主な原因である。大きな開口部面積は、同時に endophilic (屋内休息性) な媒介蚊の家屋内への侵入を容易にし、見かけ上空間忌避効果を低下させることに繋がる。アフリカの家屋によく見られる屋根と壁の間の開口部 (eaves) は、マラリア媒介蚊の主要な侵入経路になっている。Snow (1987) は、アフリカの家屋における *An. gambiae*, *Anopheles melas* Theobald, *Mansonia* sp. の家屋への侵入が壁の高さの違いによって若干の影響を受けることを報告している。また、Lindsay et al. (2003) は、*An. gambiae* の家屋内への侵入が eaves を塞ぐことによって 37% 阻止されるとしている。蚊の侵入における eaves の重要性は Pålsson et al. (2004) によっても報告されている。開放的なアフリカの家屋の構造は、メトフルトリンの空間忌避効果にとっては厳しい条件となるが、このような条件下でも十分な空間忌避効果を長期にわたって期待できるということは特筆すべきであろう。

これまでの種々のトライアルで考慮されていなかったのは、媒介蚊のピレスロイド抵抗性である。2008 年以降の調査により、ベトナム南部のネッタイシマカ (Kawada et al., 2009a; 2009b) や、ケニアの主要マラリア媒介蚊である *An. gambiae* s.s., *Anopheles arabiensis* Patton, *Anopheles funestus* s.s. Giles (Kawada et al., 2011a; 2011c) やネッタイイエカ (Itokawa

et al., 2013) はいずれも高いピレスロイド抵抗性を有していることが明らかとなり、東南アジアにおけるネッタイシマカやアフリカにおけるマラリア媒介蚊、および全世界の熱帯地域に生息するネッタイイエカのピレスロイド抵抗性は既に普遍化しているのが現状である。したがって、上記トライアルにおける対象媒介蚊の多くはピレスロイド抵抗性であったことが推察される。最近、電位依存性ナトリウムチャンネルのポイントミューテーション (*kdr*) をほぼ 100% 近く有するケニアの個体群に対してメトフルトリンのデバイス No. 3 の空間忌避効果を評価する機会を得たが、少なくとも処理後の 1 ヶ月間は有意な個体数減少効果が認められている (Kawada et al., unpublished). *Kdr* はピレスロイドの作用点における抵抗性であり、忌避効果にも影響を与えると思われるが (Kawada et al., 2014b), このような個体群に対してもメトフルトリンの空間忌避効果が認められたことは注目すべきであろう。ピレスロイド抵抗性因子の違い (代謝抵抗性、作用点の感受性低下、皮膚透過性の低下など) とピレスロイドの忌避効果との関係についてはまだ解明されていない点が多い。メトフルトリンの実用効果の評価と並行した上記の作用性解明が今後の課題である。

2. ペルメトリン徐放化ネット (オリセット® ネット) による新しい媒介蚊防除の試み

マラリア流行地域における殺虫剤含浸蚊帳 (ITNs) の使用は、マラリアによる 5 歳以下の子供の死亡率を大幅に減少させ、全世界の子供の死亡率を 20–30% 減少させた (Binka et

al., 1996; Lengeler et al., 1996; Nevil et al., 1996). 当初行われていた殺虫剤による無処理蚊帳の処理や効力低下に伴う再処理は、コストがかかり現実的ではなかった (Lines, 1996) ことから、近年では予めピレスロイドが練り込まれている長期残効型蚊帳 (LLINs) の使用が主流になっている (Guillet et al., 2001). ペルメトリンを2%含有するポリエチレン樹脂のネット (mesh 20holes/cm²) からなるオリセット®ネットと、デルタメスリンをポリエステル樹脂にコーティング (55 mg ai/m²) したネット (mesh 25holes/cm²) からなるパーマネット®がWHOが推奨するLLINの代表的な製品である。

LLINを他の媒介昆虫に応用しようとする幾つかの試みがネッタシマカ (Curtis et al., 1996; Igarashi, 1997; Kroeger et al., 2006; Jeyalakshmi et al., 2006) やサシチョウバエ *Phlebotomus* sp. (Dinesh et al., 2008; Faiman et al., 2009; Emani et al., 2009; Kasili et al., 2010; Das et al., 2010) において行われており、LLINをカーテン (Curtis et al., 1996; Igarashi, 1997; Kroeger et al., 2006; Vanlerberghe et al., 2011a; 2011b) や水瓶の蓋 (Kroeger et al., 2006; Vanlerberghe et al., 2011a; 2011b) など別の用途に応用しようとした報告もある。本章では、オリセット®ネットをデング媒介蚊の主要発生源である水瓶の蓋に応用する試み、および家屋の天井に処理して家屋内への媒介蚊侵入を防ぐ試みについて記述する。

2-1. オリセット®ネットを用いた水瓶の蓋によるベトナム南部におけるネッタシマカ個体群防除の試み

ベトナムは、ハノイ市およびハイフォン市において1959年にデング熱患者の発生が記録されてから、全国的にデング熱の流行地となっている (Nam et al., 2000). 水瓶、貯水タンク、貯水ドラムなどが媒介蚊であるネッタシマカの主な発生源で (Phong and Nam, 1999; Nam et al., 2000; Tsuzuki et al., 2009), これらの発生源が媒介蚊の幼虫を防除するためのターゲットとなっている。テメフォスやピリプロキシフェンはWHOによって飲料水への処理が認められており、これらの発生源処理に適した殺虫剤であるが、残念ながらベトナムにおいては家屋内外の発生源に対する殺虫剤処理が認められておらず、幼虫防除が最も有効な方法とされているデング熱媒介蚊コントロールを困難にしている。このような状況を踏まえ、殺虫剤が直接水に触れない殺虫剤含浸ネットによる水瓶やタンクのカバーが新たな防除法として考案された。この処理方法によって、抱卵した雌成虫の発生源への産卵を阻止する効果が期待できる。

Ho Chi Minh市から30kmほど南に位置するLong An provinceのTan Chanhをトライアル地として選定した。それぞれ約50軒の家屋を含む隣接した20の実験区を設け、10の実験区を処理区に、他の10の実験区を無処理区とした。処理区の全ての水瓶には、オリセット®ネットを製作するための材料となるネットロールを水瓶の蓋の周囲の長さに合わせた大きさに切り (30×150 cm), 水瓶の蓋と水瓶の間の隙間を覆うように設置した (Fig. 9). 処理区には水瓶のカバーの他に、ピリプロキシフェンを含有する火山性のポーラスな砂とセメントでできたブロック (EcoBio-Block® S; Kawada et al., 2006b) を細かく砕いたものを、水瓶以外の花瓶や蟻トラップの中に処理した。House index (ネッタシマカ幼虫が発見された家屋の割合) は、処理区において処理後1ヶ月で急速に低下し、2008年10月から2009年2月にかけて漸増す

Fig. 9. Olyset® Net was cut in small pieces (Left Photo) and tied along the circumference of jar covers (Right Photo) (Tsunoda et al., 2013).

Fig. 10. House index and Container index in Olyset® Net treated and untreated areas in Tan Chanh, Vietnam from August 2008 to February 2009 (Tsunoda et al., 2013).

る傾向にあったが、処理区と無処理区の差は有意であった。Container index (ネッタシマカ幼虫が存在する水瓶や花瓶などのコンテナの割合) も同様に処理区において減少を見せ、処理後約5ヶ月間にわたって有意な防除効果を維持した (Fig. 10; Tsunoda et al., 2013).

オリセット®ネットを使用した新しいデング熱媒介蚊防除の試みとして、これをカーテンとして使用し、家屋の窓やその他の開口部を塞いでネッタシマカ成虫の家屋内への侵入を防いだり、接触した成虫に対する殺虫効果を期待したトライアルも実施されているが、いずれにおいても有

Fig. 13. Changes in the number of mosquitoes collected in the ceiling net intervention houses (NYAND 8, 11) and control house (NYAND 6). Arrow indicates the day of intervention (Kawada et al., 2011b).

Fig. 14. Average number of mosquitos collected before intervention of permethrin-impregnated ceiling nets, after intervention, after removal of the permethrin-impregnated ceiling nets, after intervention of permethrin-untreated ceiling nets, and after re-intervention with new permethrin-impregnated ceiling nets. Bars indicate 95% confidential limits. The same letters indicate no significant difference when square root of the ratio of the number of mosquitoes collected in the intervention house versus that collected in the control house was converted into Arcsin and the multiple comparison of the ratio was performed by Tukey's HSD test ($P=0.05$) (Kawada et al., 2011b).

た。天井スクリーンは、天井部をネットで覆うとともに、eavesを塞ぐために天井から垂れ下がった部分は建築用のステーブラーで壁に密着させた (Fig. 12)。天井スクリーンによる蚊侵入防止効果は、バッテリー式アスピレーターによる明け方 (7:00–9:00) の屋内休止蚊の採集数によって評価した。天井スクリーンとして使用したオリセット® ネットは、非常に高い蚊 (*An. arabiensis* と *An. funestus* s.s. の混成個体群) 侵入防止効果を示し、明け方の休止蚊をほぼゼロに近いレベルにまで長期間低下させた (Fig. 13)。Lindsay et al. (2003) は、殺虫剤処理ネットと無処理ネットの蚊侵入防止効果には差がないことを報告しているが、我々の試験結果ではペルメトリンの存在が蚊の侵入防止に重要であることが示唆された。すなわち、オリセット® ネットの粗いメッシュサイズ (mesh 20 holes/cm²) は室内の換気効果を維持する役割を果たすが、無処理の同素材のネットだと蚊の侵入を防止する効果が低い

のに比べ、ペルメトリンを含浸することによって高い侵入防止効果を発揮することが明らかとなったのである (Fig. 14)。本試験における対象蚊は *An. arabiensis* と *An. funestus* s.s. であり、*kdr* を高い頻度で有する *An. gambiae* s.s. に比べてピレスロイドに対する忌避性が高いことも一因かも知れない。以上の有望な結果を踏まえ、2011年2月よりケニアの同地域において、1800軒ほどの家屋を対象としたオリセット® ネットによる天井スクリーニング+オリセット® ネット (蚊帳) と、オリセット® ネット (蚊帳のみ) の処理による侵入蚊個体数と幼児のマラリア陽性率の変化を指標とした大規模なフィールド試験を実施中である。天井スクリーン設置による蚊侵入防止効果は絶大で、処理3ヶ月の防止効果はオリセット® ネット (蚊帳) のみの区に比べ90%以上となった。さらに、処理4ヶ月後の幼児のマラリア陽性率の減少率は、オリセット® ネット (蚊帳) のみの区では20%程度だったのに対し、天井スクリーン+オリセット® ネット (蚊帳) の区では40%以上という高い値を示している (Minakawa et al., unpublished)。以上のように、天井スクリーンによる蚊侵入防止効果とマラリア陽性率の低下に対する寄与は明らかであるが、天井スクリーンの設置は蚊帳ほど容易ではなく、残留散布並みの組織的なマンパワーとコストが必要とされること、さらに天井スクリーンを長期間設置することによるネットの汚れや穴の補修をどのようにメンテナンスするかというようなアフターサービスの問題が、この技術の商品化の際の大きな課題となると思われる。

3. 昆虫幼若ホルモン様物質 (JHM) ピリプロキシフェンの新しい使用法の試み

3-1. ピリプロキシフェンによる成虫の不妊化の試み

蚊幼虫の発生源はしばしば限られた特定可能な場所に存在する。このような条件では、幼虫の発生源対策は蚊の個体群の成長を抑制するために有効な手段となる。幼若ホルモン様物質 (JHM) の殺虫剤としての効果は、主として終齢幼虫に処理した場合のサナギの羽化阻害による殺虫効果である (Hatakoshi et al., 1987; Kawada et al., 1988; Suzuki et al., 1989; Okazawa et al., 1991; Kawada et al., 1993b; Hirano et al., 1998)。ピリプロキシフェンは、蚊幼虫に対し成虫芽や細胞組織の分解を誘起する効果を持つ (Syafuruddin et al., 1990)。一方、終齢幼虫の後期に低濃度のピリプロキシフェンに晒された *An. balabacensis* 成虫には、精子や卵数の減少、吸血行動や交尾行動の低下が見られることが報告されている (Iwanaga and Kanda, 1988)。さらに、成虫に処理されたJHMは、雌成虫の不妊化をもたらすことが知られている (Kawada et al., 1992)。また、メトブレンはネッタイシマカの卵形成や成虫の寿命に影響することが報告されている (Judson and Lumen, 1976; Klownden and Chambers, 1989)。ピリプロキシフェンの雌成虫への処理は産卵数と孵化率の低下をネッタイシマカにもたらす (Kawada et al., 1993a; Itoh et al., 1994)。

ピリプロキシフェンの不妊化作用を実用化した例は、野菜や花弁の害虫であるコナジラミに代表されるが、衛生害虫分野における実用化の成功例はまだない。ピレスロイド抵抗性が普遍化し、十分な防除効果が危惧されつつある長期残効型蚊帳 (LLIN) にピリプロキシフェンを配合し、蚊帳に触れた雌成虫の不妊化と寿命の短縮を狙った考え方が近年提

唱され、室内実験で何種かのハマダラカに対する有効性が確認されている (Aiku et al., 2006; Ohashi et al., 2013; Harris et al., 2013). Ohashi et al. (2012) は、オリセツ® ネットと同じ材質のネットにピリプロキシフェンを処理し、*An. gambiae* s.s. 雌成虫をこれにコンタクトさせたところ、0.01% の濃度のアルコール液に漬けたネットによる接触が、吸血前であっても吸血後であってもこれを不妊化すること、さらに濃度依存的に雌成虫の寿命が短縮されることを報告している。ピレスロイド抵抗性の野外個体群に対する実用場面における効果も確認されつつある (Kawada et al., unpublished).

JHM による蚊の不妊化を狙った上記の考え方の最終的な目標は、周辺の蚊の個体群の減少であるが、これには幾つか考慮すべき問題点がある。ひとつは、これを LLIN に応用した場合、蚊帳の使用者にとっては直接のメリットがないことである。ピリプロキシフェンのみを含有する LLIN は忌避性も殺虫性も持たないために、殺虫剤無処理の蚊帳と同じ状況になり、使用者に対して蚊の吸血のリスクを増やすことになるかも知れない。かと言って、これにペルメトリン等の殺虫剤を含有させた場合、接触忌避性のために蚊が蚊帳に接触する機会が減り、ピリプロキシフェンの効果が十分発揮できなくなる可能性もある。また、不妊化によって個体群を減少させることは、殺虫剤による選択圧と同じ圧力を蚊の個体群に及ぼすことになり、抵抗性発達の危険性が伴う。したがって、製品開発には上記の問題点を十分に吟味する必要がある。前述した天井スクリーンや残留散布など、使用者にとっては間接的にメリットをもたらすデバイスや製剤への適用も一つの手段かも知れない。

3-2. ピリプロキシフェンによる autodissemination の試み

上記に述べた不妊作用とは別に、吸血後の雌成虫をピリプロキシフェンに接触させることにより、ピリプロキシフェンを産卵場所 (発生源) に運ぶキャリアにする考え方がある (Kawada et al., 1993a; Itoh et al., 1994). これは、ピリプロキシフェンの殺虫性の低さを利用したもので、成虫の活動場所と幼虫の発生源が比較的近傍に存在するネッタシマカやヒトスジシマカに有効な防除法と考えられる。Itoh (1994) は、ピリプロキシフェンで処理した resting trap を家屋内に置くことによって、これに接触したネッタシマカ雌成虫が近傍の発生源 (水瓶など) にこれを運び、発生源において高い羽化阻害効果が得られたことを報告している。JHM のこのような「水平運搬」は、「autodissemination」という造語で表現され、幾つかの実験結果あるいは実用効果に関する報告がなされている (Dell Chism and Apperson, 2003; Shihuinchu et al., 2005; Aiku et al., 2006; Devine et al., 2009; Gaugler et al., 2012; Ohba et al., 2013; Wang et al., 2013).

Ohba et al. (2013) は、ピリプロキシフェン 0.1% あるいは 1% のアルコール液に漬けたネットを作製、これに穴をあけて自由に蚊が入り出できるようにしたネットケージ内にマウスを入れて、ヒトスジシマカ成虫がこれに任意に接触するような半野外条件を作った (Fig. 15). この半野外条件にヒトスジシマカ成虫を放ち、近傍の産卵場所に産下された卵数、孵化数、次世代の成虫数を観察したところ、いずれも無処理区に比べ有意に低下した (Fig. 16). これは、ピリプロキシフェンに触れた雌成虫の不妊化による産卵数の減少と雌成虫によって水平運搬されたピリプロキシフェンが、産卵場所で孵化し

Fig. 15. Diagram and photographs of the semi-field experiment.

a, Overall view of the greenhouse where the tents (simulated microcosm) were located; b, diagram of the microcosm. Larval container, eight ovitraps were put for counting the number of eggs and pupae oviposited; Monitoring trap, two ovitraps were put for the observation of 1) egg hatchability, 2) larval bioassay for the emergence inhibition of pyriproxyfen transferred by adult females. Three microcosms were installed with pyriproxyfen-treated nets and the other three were for untreated nets (Ohba et al., 2013).

Fig. 16. Effect of pyriproxyfen on the number of females, number of eggs oviposited, and number of pupae in the microcosms in which *Ae. albopictus* females were allowed to contact pyriproxyfen-treated nets. Experiment I, pyriproxyfen 0.1% treatment; Experiment II, pyriproxyfen 1% treatment (* difference is significant at $P < 0.05$, one-way ANOVA) (Ohba et al., 2013).

た幼虫の羽化を阻害したことによる相乗的な結果である。

殺虫剤を害虫自身に生息場所等へ運搬させる防除法は決して新しい考え方ではない。古くは亜ヒ酸などのヒ素化合物がシロアリの駆除に使用されてきたが、これは遅効性のヒ素化合物が、社会性昆虫に見られる栄養交換 (trophallaxis) という行動によって、これに接触あるいは摂食したシロアリによって未接触の他個体に伝播されるという autodissemination 効果を利用した防除法である。この方法は、ヘキサフルモロンなどのキチン形成阻害剤を使用した現代の白アリ防除法に発展している (Su and Scheffrahn, 1993)。ゴキブリの糞食性 (coprophagy) によるヒドラメチルノンの伝播も autodissemination の一種であろう (Silverman et al., 1991)。Autodissemination による害虫防除に関しては、殺虫成分が施用場面とは異なる環境に伝播される可能性があるため、このような場面を想定した安全面や環境面での問題点排除が必要不可欠であろう。ネオニコチノイド系の殺虫剤が、ミツバチやマルハナバチによって巣に伝搬されて個体群に悪影響を及ぼしているという事実は、意図しない autodissemination が環境に対して及ぼした予期せぬ事例である (Henry et al., 2012; Whitehorn et al., 2012)。

4. おわりに

殺虫剤は、マラリアやデング熱その他の節足動物媒介性の疾病防除のツールとして、いまだに重要な役割を占めている。やや古い資料であるが、地球規模で見ると年間500トン以上のDDT、約40トンの有機リン剤、約20トンのカーバメイト、そして約40トンのピレスロイドがマラリア媒介蚊防除を目的とした残留散布用の有効成分として使用されている (Zaim and Jambulingam, 2007)。2003年から2005年の間に使用されたピレスロイドの1年あたり使用量は161トンであり、アフリカで例外的に使用されているDDTを除くと殺虫剤全体の36%を占める。また、ベクターコントロールに使用されているピレスロイドの内、98.7%がサイパーメスリン、ピフェンスリン、シフルスリン、デルタメスリン、サイハロスリン、エトフェンプロクス、ペルメトリンといったいわゆる「光安定型」のピレスロイドである (Zaim and Jambulingam, 2007)。ピレスロイドに代わる有望な殺虫剤が存在しない現在、ピレスロイド抵抗性はベクターコントロールプログラムにとって最も深刻な問題となっている。

Vu et al. (2004) は、ベトナム北中部のネッタイシマカ個体群はピレスロイドに対して感受性が高いのに対し、南部や高地のネッタイシマカ個体群は高いピレスロイド抵抗性を示すことを報告している。Kawada et al. (2009a) も、古タイヤから採集したベトナム各地のネッタイシマカ幼虫のピレスロイド感受性を調べた結果、上記と同様の傾向を得ており (Fig. 17)、電位依存性ナトリウムチャンネルのドメインIIIにおけるポイントミューテーション (F1534C) が、ピレスロイド抵抗性ネッタイシマカ幼虫の分布とほぼシンクロして分布していることを突き止めた (Fig. 18; Kawada et al., 2009b)。ベトナムにおけるこのようなピレスロイド抵抗性の南北の偏りの原因として、上記著者らはマラリアやデングコントロール用の殺虫剤や農薬の使用の頻度の違いを挙げている。実際、ベトナム南部や高地においては大量のピレスロイド残留散布やベットネット配布がNational Malaria Control Programの一環として実施されている。マラリア防除用のピ

レスロイドやDDTの使用がネッタイシマカのピレスロイド抵抗性をセレクトしたという仮説は、特にデング熱がさほど問題ではなく、デング媒介蚊防除のための殺虫剤散布を頻繁には実施していない高地のネッタイシマカにおいてもピレスロイド抵抗性が発達しているという事実がこれを強く裏付けていると言えるだろう。マラリア媒介蚊防除を目的とした殺虫剤の散布は、室内や家屋の近傍に集中すると考えられ、幼虫の発生源や成虫の休息場所がこれにオーバーラップするネッタイシマカに対しても強い選択圧になったことが容易に類推される。ベトナムにおいては、1994年までDDTがマラリア媒介蚊防除に使用されていた。1995年にDDTが使用禁止になってから、 λ -サイハロスリンや α -サイパーメスリンの残留散布とデルタメスリンやペルメトリンのベッドネットが使用されはじめ、他の東南アジア諸国に比較してもかなり大量にピレスロイドが使用されてきた (Nam et al., 2005; Zaim and Jambulingam, 2007)。デングコントロール用に使用された殺虫剤の記録の詳細については文献上は検索できなかったが、21000リットルの λ -サイハロスリン、デルタメスリン、ペルメトリンが南部の20省において2007年に使用されたことが報告されている (Epidemiological and virological vector surveillances for dengue control program in southern Vietnam, 2008, Pasteur Institute, Ho Chi Minh City)。ベトナム南部においては、上記のような光安定型のピレスロイド剤の使用が現在では一般化していると思われる。興味深いのは、ネッタイシマカに比べるとヒトスジシマカのピレスロイド抵抗性はさほど高くないことである (Fig. 17)。これは、両種の生態的な違い (生息場所や吸血場所が異なる) が原因かも知れない。シンガポールでは、世界で初めてヒトスジシマカに電位依存性ナトリウムチャンネルのポイントミューテーション (F1534C) が見つかっており (Kasai et al., 2011)、この地域では本種のピレスロイド抵抗性が問題となっている。日本国内でも、おそらく過去のDDT使用が原因と思われるヒトスジシマカのピレスロイド抵抗性が報告されている (Pujyati et al., 2013)。両種のピレスロイド抵抗性発達の動向は今後注目すべきであろう。

一方ケニアにおいては、電位依存性ナトリウムチャンネルのドメインIIにおけるポイントミューテーション (L1014S) が *An. gambiae* s.s. において極めて高頻度でベクトリア湖岸の地域やそれに近接する高地に分布しており、この地域におけるピレスロイド抵抗性が問題となっている。さらに、同じく重要なマラリア媒介蚊である *An. arabiensis* や *An. funestus* s.s. においても代謝酵素活性の増大による抵抗性が顕著である (Fig. 19, 20; Kawada et al., 2011a, 2011c)。これらの地域は、50%以上の人口がPPR₂₋₁₀ (2歳から10歳までの子供の熱帯熱マラリア陽性率) 40%以上の地域に居住しており (Noor et al., 2009)、このためにLLINやITNの普及率も他地域に比べ高くなっている (Kenya HDS Final Report, 2009)。高い人口密度と同時に、主要なマラリア媒介蚊である *An. gambiae* s.s., *An. arabiensis* の密度もこの地域においては非常に高く (Okara et al., 2010)、ピレスロイドの上記媒介蚊に対する選択圧が高くなっている。Mathias et al. (2011) は、東アフリカの *An. gambiae* s.s. に固有のナトリウムチャンネルのミューテーション (L1014S) がこの10年間でケニア西部に急激に増加しており、これは該地域におけるLLINやITNの普及率の増加と一致していると結論している。同様の現象は、我々

Fig. 17. Larval susceptibility indices of *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*, and *Culex quinquefasciatus* collected from discarded tires in Vietnam. Larval colonies with the susceptibility index 1 are most susceptible and colonies with indices 36 are most resistant to *d*-allethrin. Figures indicate the percentage of colonies with indices >20 (Kawada et al., 2009a).

Fig. 18. Distribution of F1534C point mutation of the voltage gated sodium channel in *Aedes aegypti* collected in Vietnam. The colors in circles correspond to the larval susceptibility indices in Fig. 17. Figures indicate the site No. of collection points. The longest bar indicates the highest frequency (87.5%) (Kawada et al., 2009b).

のフィールドであるNyanza州Mbita地区でも確認されている (Minakawa et al., unpublished). この地域では、過去にDDTの残留散布は実施されておらず、事実代謝によるピレスロイド抵抗性が確認されている *An. arabiensis* と *An. funestus* s.s. のDDTに対する交差抵抗性は存在しない. *Anopheles gambiae* s.s. では、DDTとピレスロイドの間に交差抵抗性が見られるが、これは両者の同一の作用点であるナトリウムチャンネルのポイントミューテーションがピレスロイドによってセレクトされたことが主原因と思われる。

ピレスロイド抵抗性発達の原因には幾つかの要因が関係していると思われるが、最も深刻なのは光安定型のピレスロイドの無計画な散布であろう。光安定型のピレスロイドは壁や床などの表面に残存し、長期にわたって高い選択圧を維持し続ける。かつては衛生害虫防除などに用途の限られていたピレスロイドも、高い光安定性や低魚毒性を実現した化合物群の開発により、水田において稲作の害虫防除に使用されるなど、より広範囲に使用されるようになった。そのため、本来は蚊の防除を目的としない薬剤によって蚊の抵抗性が選択される可能性も無視できない状況になっている。さらに深刻なのは、このような光安定型のピレスロイドに対する抵抗性は、環境中で容易に分解されて選択圧の低いアレスリンなどのピレスロイドにも影響を及ぼすことである。これは、70年にわたるピレスロイド剤の黄金時代に終止符を打つことにも繋がりがかねない。

ヒトは、自らの生活を限りなく快適にする一つ的手段として殺虫剤を開発してきた。したがって、できるだけ低コストで安全性が高く、かつ理想的な効力を発揮する殺虫剤が求められる。ピレスロイドは上記の要求を満たす数少ない殺虫剤の一つである。ピレスロイド抵抗性を回避するためには、十分吟味された害虫防除管理システムの構築とともに定期的な抵抗性モニタリングが不可欠である。必要最低限の使用によ

Fig. 19. Distribution of allelic L1014S point mutations in the voltage gated sodium channel in *Anopheles gambiae* s.s. and *An. arabiensis* in south western Kenya (Kawada et al., 2011c).

Fig. 20. Susceptibility of the three major malaria vectors against permethrin and DDT in western Kenya by WHO tube test (Kawada et al., 2011a).

り最大限の効力を発揮させることは、ピレスロイドの寿命を延ばすためにも重要なことであり、殺虫剤開発者の義務でもある。第1世代ピレスロイドの空間忌避効果やタイプIピレスロイドの接触忌避効果を見直すことによって、抵抗性の発達を極力抑える新しいセルフプロテクション技術を開発することもその手段のひとつであろう。

謝 辞

本稿を作成するにあたり多大の協力を賜った、ケニア共和国国際昆虫生理生態学研究所トーマス・オジアンボキャンパス (ICIPE), ケニア医学研究所 (KEMRI), ベトナム社会主義共和国国立衛生疫学研究所 (NIHE), ホーチミン・パスツール研究所, 日本国国立感染症研究所, 長崎大学熱帯医学研究所, そして住友化学株式会社のスタッフに深く感謝の意を表する。

文 献

- Aiku, A. O., Yates, A. and Rowland, M. 2006. Laboratory evaluation of pyriproxifen treated bednets on mosquito fertility and fecundity. A preliminary study. *West Afr. J. Med.*, 25: 22–26.
- Arugueta, T. B. O., Kawada, H., Sugano, M., Kubota, S., Shono, Y., Tsushima, K. and Takagi, M. 2004. Comparative insecticidal efficacy of a new pyrethroid, metofluthrin, against colonies of Asian *Culex quinquefasciatus* and *Culex pipiens pallens*. *Med. Entomol. Zool.*, 55: 289–294.
- Binka, F. N., Kubaje, A., Adjuik, M., Williams, L. A., Lengeler, C., Maude, G. H., Armah, G. E., Kajihira, B., Adiamah, J. H. and Smith, P. G. 1996. Impact of permethrin impregnated bednets on child mortality in Kassena-Nankana district, Ghana: a randomized controlled trial. *Trop. Med. Int. Health*, 1: 147–154.
- Birley, M. H., Mutero, C. M., Turner, I. F. and Chadwick, P. R. 1987. The effectiveness of mosquito coils containing esbiothrin under laboratory and field conditions. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 81: 163–171.
- Cornel, A. J., Stanich, M. A., McAbee, R. D. and Mulligan, F. S. III. 2002. High level methoprene resistance in the mosquito *Ochlerotatus nigromaculis* (Ludlow) in Central California. *Pest Manag. Sci.*, 58: 791–798.
- Curtis, C. F., Myamba, J. and Wilkes, T. J. 1996. Comparison of different insecticides and fabrics for anti-mosquito bednets and curtains. *Med. Vet. Entomol.*, 10: 1–11.
- Dabire, R. K., Diabate, A., Baldet, T., Paré-Toé, L., Guiguemde, R. T., Ouédraogo, J. B. and Skovmand, O. 2006. Personal protection of long lasting insecticide-treated nets in areas of *Anopheles gambiae* s.s. resistance to pyrethroids. *Malar. J.*, 5: 12.
- Das, M. L., Roy, L., Rijal, S., Paudel, I. S., Picado, A., Kroeger, A., Petzold, M., Davies, C. and Boelaert, M. 2010. Comparative study of kala-azar vector control measures in eastern Nepal. *Acta Trop.*, 113: 162–166.
- Dell Chism, B. and Apperson, C. S. 2003. Horizontal transfer of the insect growth regulator pyriproxifen to larval microcosms by gravid *Aedes albopictus* and *Ochlerotatus triseriatus* mosquitoes in the laboratory. *Med. Vet. Entomol.*, 17: 211–220.
- Devine, G. J., Perea, E. Z., Killeen, G. F., Stancil, J. D., Clark, S. J. and Morrison, A. C. 2009. Using adult mosquitoes to transfer insecticides to *Aedes aegypti* larval habitats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 106: 11530–11534.
- Dinesh, D. S., Das, P., Picado, A., Davies, C., Speybroeck, N., Ostyn, B., Boelaert, M. and Coosemans, M. 2008. Long-lasting insecticidal nets fail at household level to reduce abundance of sandfly vector *Phlebotomus argentipes* in treated houses in Bihar (India). *Trop. Med. Int. Health*, 13: 953–958.
- Emami, M. M., Yazdi, M. and Guillet, P. 2009. Efficacy of Olyset

- long-lasting bednets to control transmission of cutaneous leishmaniasis in Iran. *East. Mediterr. Health J.*, 15: 1075–1083.
- Faiman, R., Cuño, R. and Warburg, A. 2009. Control of phlebotomine sand flies with vertical fine-mesh nets. *J. Med. Entomol.*, 46: 820–831.
- Gaugler, R., Suman, D. and Wang, Y. 2012. An autodissemination station for the transfer of an insect growth regulator to mosquito oviposition sites. *Med. Vet. Entomol.*, 26: 37–45.
- Guillet, P., Alnwick, D., Cham, M. K., Neira, M., Zaim, M., Heymann, D. and Mukelabai, K. 2001. Long-lasting treated mosquito nets: a breakthrough in malaria prevention. *Bull. World Health Organ.*, 79: 998.
- Harris, C., Lwetoijera, D. W., Dongus, S., Matowo, N. S., Lorenz, L. M., Devine, G. J. and Majambere, S. 2013. Sterilising effects of pyriproxyfen on *Anopheles arabiensis* and its potential use in malaria control. *Parasit. Vect.*, 6: 144.
- Hatakoshi, M., Kawada, H., Nishida, S., Kishida, H. and Nakayama, I. 1987. Laboratory evaluation of 2-[1-methyl-2-(4-phenoxyphenoxy) ethoxy] pyridine against larvae of mosquitoes and housefly. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 38: 271–274.
- Henrick, C. A., Staal, G. B. and Siddall, J. B. 1973. Alkyl 3,7,11 trimethyl 2,4 dodecadienoates, a new class of potent insect growth regulators with juvenile hormone activity. *J. Agric. Food Chem.*, 21: 354–359.
- Henry, M., Béguin, M., Requier, F., Rollin, O., Odoux, J. F., Aupinel, P., Aptel, J., Tchamitchian, S. and Decourtye, A. 2012. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science*, 336: 348–350.
- Hirano, M., Hatakoshi, M., Kawada, H. and Takimoto, Y. 1998. Pyriproxyfen and other juvenile hormone analogues. *Rev. Toxicol.*, 2: 357–394.
- Igarashi, A. 1997. Impact of dengue virus infection and its control. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 18: 291–300.
- Ishaaya, I., Kontsedalov, S. and Horowitz, A. R. 2005. Biorational insecticides: Mechanism and Cross-resistance. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 58: 192–199.
- Itoh, T. 1993. Control of DF/DHF vector, *Aedes* mosquito, with insecticides. *Trop. Med.*, 35: 259–267.
- Itoh, T., Kawada, H., Abe, Y., Eshita, Y., Rongsriyam, Y. and Igarashi, A. 1994. Utilization of blood-fed females of *Aedes aegypti* as a vehicle for the transfer of the insect growth regulator pyriproxyfen to larval habitats. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 10: 344–347.
- Itokawa, K., Komagata, O., Kasai, S., Kawada, H., Mwatele, C., Dida, G. O., Njenga, S. M., Mwandawiro, C. and Tomita, T. 2013. Global spread and genetic variants of the two CYP9M10 haplotype forms associated with insecticide resistance in *Culex quinquefasciatus* Say. *Heredity*, 111: 216–226.
- Iwashita, H., Dida, G. O., Futami, K., Sonye, G., Kaneko, S., Horio, M., Kawada, H., Maekawa, Y., Aoki, Y. and Minakawa, N. 2010. Sleeping arrangement and house structure affect bed net use in villages along Lake Victoria. *Malar. J.*, 9: 176.
- Iwanaga, K. and Kanda, T. 1988. The effects of a juvenile hormone active oxime ether compound on the metamorphosis and reproduction of an Anopheline vector, *Anopheles balabacensis*. *Appl. Entomol. Zool. (Jpn.)*, 23: 186–193.
- Jeyalakshmi, T., Shanmugasundaram, R. and Murthy, P. B. 2006. Comparative efficacy and persistency of permethrin in Olyset net and conventionally treated net against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 22: 107–110.
- Judson, C. L. and Lumen, H. Z. 1976. Some effects of juvenile hormone and analogs on ovarian follicles of the mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, 13: 197–201.
- Kasai, S., Ng, L. C., Lam-Phua, S. G., Tang, C. S., Itokawa, K., Komagata, O., Kobayashi, M. and Tomita, T. 2011. First detection of a putative knockdown resistance gene in major mosquito vector, *Aedes albopictus*. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 64: 217–221.
- Kawada, H., Dohara, K. and Shinjo, G. 1988. Laboratory and field evaluation of an insect growth regulator, 4-phenoxyphenyl (RS)-2-(2-pyridyloxy) propyl ether, as a mosquito larvicide. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 39: 339–346.
- Kawada, H., Senbo, S. and Abe, Y. 1992. Effects of pyriproxyfen on the reproduction of the housefly, *Musca domestica*, and the German cockroach, *Blattella germanica*. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 43: 169–175.
- Kawada, H., Itoh, T., Abe, Y. and Horio, M. 1993a. Can mosquito be a carrier of larvicides? In: Proceedings of the 1st International Congress on Insect Pests in the Urban Environment, Cambridge, UK, pp. 497.
- Kawada, H., Shono, Y., Itoh, T. and Abe, Y. 1993b. Laboratory evaluation of an insect growth regulators against several species of Anopheline mosquitoes. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 44: 349–353.
- Kawada, H., Maekawa, Y., Tsuda, Y. and Takagi, M. 2004a. Laboratory and field evaluation of spatial repellency with metofluthrin-impregnated paper strip against mosquitoes in Lombok Island, Indonesia. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 20: 292–298.
- Kawada, H., Maekawa, Y., Tsuda, Y. and Takagi, M. 2004b. Trial of spatial repellency of metofluthrin-impregnated paper strip against *Anopheles* and *Culex* in shelters without walls in Lombok, Indonesia. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 20: 434–437.
- Kawada, H., Maekawa, Y. and Takagi, M. 2005a. Field trial of the spatial repellency of metofluthrin-impregnated plastic strip against mosquitoes in shelters without walls (Beruga) in Lombok, Indonesia. *J. Vector Ecol.*, 30: 181–185.
- Kawada, H., Yen, N. T., Hoa, N. T., Sang, T. M., Van Dan, N. and Takagi, M. 2005b. Field evaluation of spatial repellency of metofluthrin impregnated plastic strips against mosquitoes in Hai Phong city, Vietnam. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 73: 350–353.
- Kawada, H., Iwasaki, T., Loan, L. L., Tien, T. K., Mai, N. T. N., Shono, Y., Katayama, Y. and Takagi, M. 2006a. Field evaluation of spatial repellency of metofluthrin-impregnated latticework plastic strips against *Aedes aegypti* (L.) and analysis of environmental factors affecting its efficacy in My Tho city, Tien Giang, Vietnam. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 75: 1153–1157.
- Kawada, H., Saita, S., Shimabukuro, K., Hirano, M., Koga, M., Iwashita, T. and Takagi, M. 2006b. Effectiveness in controlling mosquitoes with EcoBio-Block® S-a novel integrated water purifying concrete block formulation combined with the insect growth regulator pyriproxyfen. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 22: 451–456.
- Kawada, H., Temu, E. A., Minjas, J. N., Matsumoto, O., Iwasaki, T. and Takagi, M. 2008. Field evaluation of spatial repellency of metofluthrin-impregnated plastic strips against *Anopheles gambiae* complex in Bagamoyo, coastal Tanzania. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 24: 404–409.
- Kawada, H., Higa, Y., Nguyen, T. Y., Tran, H. S., Nguyen, T. H. and Takagi, M. 2009a. Nationwide investigation on the pyrethroid susceptibility of mosquito larvae collected from used tires in Vietnam. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 3: e0000391.
- Kawada, H., Higa, Y., Komagata, O., Kasai, S., Tomita, T., Nguyen, T. H., Luu, L. L., Sánchez, R. A. P. and Takagi, M. 2009b. Widespread distribution of a newly found point mutation in voltage-gated sodium channel in pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* populations in Vietnam. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 3: e0000527.
- Kawada, H. 2009. An Inconvenient Truth of Pyrethroid—Does it have a promising future?— In: Clark, J., Bloomquist, J. R., Kawada, H. [ed.] Advances in Human Vector Control (ACS Symposium Book 1014) American Chemical Society, New York.
- Kawada, H., Dida, G. O., Ohashi, K., Komagata, O., Kasai, S., Tomita, T., Sonye, G., Maekawa, Y., Mwatele, C., Njenga, S. M., Mwandawiro, C., Minakawa, N. and Takagi, M. 2011a. Multimodal pyrethroid resistance in malaria vectors *Anopheles*

- gambiae* s.s., *Anopheles arabiensis*, and *Anopheles funestus* s.s. in western Kenya. *PLoS ONE*, 6: e24323.
- Kawada, H., Dida, G. O., Ohashi, K., Sonye, G., Maekawa, Y., Njenga, S. M., Mwandawiro, C., Minakawa, N. and Takagi, M. 2011b. Preliminary evaluation of the insecticide-impregnated ceiling nets with coarse mesh size as a barrier against the invasion of malaria vectors. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 65: 243–246.
- Kawada, H., Futami, K., Komagata, O., Kasai, S., Tomita, T., Sonye, G., Mwatele, C., Njenga, S. M., Mwandawiro, C., Minakawa, N. and Takagi, M. 2011c. Distribution of a knockdown resistance mutation (L1014S) in *Anopheles gambiae* s.s. and *Anopheles arabiensis* in Western and Southern Kenya. *PLoS ONE*, 6: e24323.
- Kawada, H., Dida, G. O., Sonye, G., Njenga, S. M., Mwandawiro, C. and Minakawa, N. 2012. Reconsideration of *Anopheles rivulorum* as a vector of *Plasmodium falciparum* in western Kenya: some evidence from biting time, blood preference, sporozoite positive rate, and pyrethroid resistance. *Parasit. Vect.*, 5: 230.
- Kawada, H., Ohashi, K., Dida, G. O., Sonye, G., Njenga, S. M., Mwandawiro, C. and Minakawa, N. 2014a. Preventive effect of permethrin-impregnated long-lasting insecticidal nets on the blood feeding of three major pyrethroid-resistant malaria vectors in western Kenya. *Parasit. Vect.*, in review.
- Kawada, H., Ohashi, K., Dida, G. O., Sonye, G., Njenga, S. M., Mwandawiro, C. and Minakawa, N. 2014b. Insecticidal and repellent activities of pyrethroids to the three major pyrethroid-resistant malaria vectors in western Kenya. *Parasit. Vect.*, 7: 208.
- Kasili, S., Kutima, H., Mwandawiro, C., Ngumbi, P. M., Anjili, C. O. and Enayati, A. A. 2010. Laboratory and semi-field evaluation of long-lasting insecticidal nets against leishmaniasis vector, *Phlebotomus (Phlebotomus) dubosqi* in Kenya. *J. Vector Borne Dis.*, 47: 1–10.
- Kirby, M. J., Ameh, D., Bottomley, C., Green, C., Jawara, M., Milligan, P. J., Snell, P. C., Conway, D. J. and Lindsay, S. W. 2009. Effect of two different house screening interventions on exposure to malaria vectors and on anaemia in children in The Gambia: a randomised controlled trial. *Lancet*, 374: 998–1009.
- Klowden, M. J. and Chambers, G. M. 1989. Ovarian development and adult mortality in *Aedes aegypti* treated with sucrose, juvenile hormone and methoprene. *J. Insect Physiol.*, 35: 513–517.
- Kroeger, A., Lenhart, A., Ochoa, M., Villegas, E., Levy, M., Alexander, N. and McCall, P. J. 2006. Effective control of dengue vectors with curtains and water container covers treated with insecticide in Mexico and Venezuela: cluster randomised trials. *BMJ*, 332: 1247–1252.
- Lengeler, C., Cattani, J. and De Savigny, D. 1996. Net gain. A new method for preventing malaria deaths. IDRC Ottawa/WHO, Geneva, pp. 189.
- Lindsay, S. W., Jawara, M., Paine, K., Pinder, M., Walraven, G. E. L. and Emerson, P. M. 2003. Changes in house design reduce exposure to malaria mosquitoes. *Trop. Med. Int. Health*, 8: 512–517.
- Lines, J. 1996. Mosquito nets and insecticides for nets treatment: a discussion of existing and potential distribution systems in Africa. *Trop. Med. Int. Health*, 1: 616–632.
- MacIver, D. R. 1964. Mosquito coils Part II. Studies on the action of mosquito coil smoke on mosquitoes. *Pyreth. Post*, 7: 7–14.
- Mathias, D. K., Ochomo, E., Atieli, F., Ombok, M., Bayoh, M. N., Olang, G., Muhia, D., Kamau, L., Vulule, J. M., Hamel, M. J., Hawley, W. A., Walker, E. D. and Gimnig, J. E. 2011. Spatial and temporal variation in the *kdr* allele L1014S in *Anopheles gambiae* s.s. and phenotypic variability in susceptibility to insecticides in Western Kenya. *Malar. J.*, 14: 10.
- Miyamoto, J., Hirano, M., Takimoto, Y. and Hatakoshi, M. 1993. Insect growth regulators for pest control, with emphasis on juvenile hormone analogs. Present status and future prospects, In: *Pest control with enhanced environmental safety* (ACS symposium series 524), Duke, S. O., Menn, J. J. and Plimmer, J. R., (Ed.), 144–168, American chemical society, Washington DC.
- Nam, N. V., de Vries, P. J., Toi, L. V. and Nagelkerke, N. 2005. Malaria control in Vietnam: the Binh Thuan experience. *Trop. Med. Int. Health*, 10: 357–365.
- Nam, V. S., Yen, N. T., Holyńska, M., Reid, J. W. and Kay, B. H. 2000. National progress in dengue vector control in Vietnam: survey for Mesocyclops (Copepoda), Micronecta (Corixidae), and fish as biological control agents. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 62: 5–10.
- Nevill, C. G., Some, E. S., Mung'ala, V. O., Mutemi, W., New, L., Marsh, K., Lengeler, C. and Snow, R. W. 1996. Insecticide-treated bed nets reduce mortality and severe morbidity from among children on the Kenyan Coast. *Trop. Med. Int. Health*, 1: 139–146.
- Njie, M., Dilger, E., Lindsay, S. W. and Kirby, M. J. 2009. Importance of eaves to house entry by anopheline, but not culicine, mosquitoes. *J. Med. Entomol.*, 46: 505–510.
- Noor, A. M., Gething, P. W., Alegana, V. A., Patil, A. P., Hay, S. I., Muchiri, E., Juma, E. and Snow, R. W. 2009. The risks of malaria infection in Kenya in 2009. *BMC Infect. Dis.*, 9: 180.
- Ohba, S., Ohashi, K., Pujiyati, E., Higa, Y., Kawada, H. and Takagi, M. 2013. The Effect of pyriproxyfen as a “population growth regulator” against *Aedes albopictus* under semi-field conditions. *PLoS ONE*, 8: e67045.
- Ohashi, K., Nakada, K., Ishiwatari, T., Miyaguchi, J., Shono, Y., Lucas, J. R. and Mito, N. 2012. Efficacy of pyriproxyfen-treated nets in sterilizing and shortening the longevity of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, 49: 1052–1058.
- Okara, R. M., Sinka, M. E., Minakawa, N., Mbogo, C. M., Hay, S. I. and Snow, R. W. 2010. Distribution of the main malaria vectors in Kenya. *Malar. J.*, 9: 69.
- Okazawa, T., Bakote'e, B., Suzuki, H., Kawada, H. and Kere, N. 1991. Field evaluation of an insect growth regulator, pyriproxyfen, against *Anopheles punctulatus* on north Guadalcanal, Solomon Islands. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 7: 604–607.
- Pålsson, K., Jaenson, T. G. T., Dias, F., Laugen, A. T. and Björkman, A. 2004. Endophilic *Anopheles* mosquitoes in Guinea Bissau, West Africa, in relation to human housing conditions. *J. Med. Entomol.*, 41: 746–752.
- Phong, T. V. and Nam, V. S. 1999. Key breeding sites of dengue vectors in Hanoi, Vietnam, 1994–1997. *Dengue Bull.*, 23: 67–72.
- Pujiyati, E., Kawada, H., Sunahara, T., Kasai, S. and Minakawa, N. 2013. Pyrethroid resistance status of *Aedes albopictus* (Skuse) collected in Nagasaki City, Japan. *Jpn J. Environ. Entomol. Zool.*, 24: 143–153.
- Schechter, M. S., Green, N. and Laforge, F. B. 1949. Constituents of pyrethrum flowers XXIII. Cynerolone and the synthesis of related cyclopentenolones. *J. Am. Chem. Soc.*, 71: 3165–3173.
- Siebert, P. Y., Walker, E. and Miller, J. R. 2009. Differential behavioral responses of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) modulate mortality caused by pyrethroid-treated bednets. *J. Econ. Entomol.*, 102: 2061–2071.
- Sihuinchu, M., Zamora-Perea, E., Orellana-Rios, W., Stancil, J. D., López-Sifuentes, V., Vidal-Oré, C. and Devine, G. J. 2005. Potential use of pyriproxyfen for control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Iquitos, Perú. *J. Med. Entomol.*, 42: 620–630.
- Silverman, J., Vitale, G. I. and Shapasi, T. J. 1991. Hydramethylnon uptake by *Blattella germanica* (Orthoptera: Blattellidae) by coprophagy. *J. Econ. Entomol.*, 84: 176–180.
- Snow, W. F. 1987. Studies of house-entering habits of mosquitoes in The Gambia, West Africa: experiments with prefabricated huts with varied wall apertures. *Med. Vet. Entomol.*, 1: 9–21.
- Su, N. Y. and Scherrahn, R. 1993. Laboratory evaluation of two chitin synthesis inhibitors, hexaflumuron and diflubenzuron, as bait toxicants against Formosan and Eastern subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae). *J. Econ. Entomol.*, 86: 1453–1457.
- Suzuki, H., Okazawa, T., Kere, N. and Kawada, H. 1989. Field evaluation of a new insect growth regulator, pyriproxyfen, against

- Anopheles farauti*, the main vector of malaria in the Solomon Islands. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 40: 253–257.
- Syafruddin, Arakawa, R., Kamimura, K. and Kawamoto, F. 1990. Histopathological effects of an insect growth regulator, 4-phenoxyphenyl (RS)-2-(2-pyridyloxy)propyl ether (pyriproxyfen), on the larvae of *Aedes aegypti*. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 41: 15–22.
- Trayler, K. M. and Davis, J. A. 1996. Sensitivity of *Daphnia carinata* sensu lato to the insect growth regulator, pyriproxyfen. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 33: 154–156.
- Tsunoda, T., Kawada, H., Trang, H. T. T., Loan, L. L., San, L. H., Huu, T. N., Huong, V. T. Q., Hasebe, F., Tsuzuki, A. and Takagi, M. 2013. Field trial on a novel control method for the dengue vector, *Aedes aegypti* by the systematic use of Olyset® Net and pyriproxyfen in Southern Vietnam. *Parasit. Vect.*, 6: 6.
- Tsuzuki, A., Huynh, T., Tsunoda, T., Luu, L. L., Kawada, H. and Takagi, M. 2009. Effect of existing practices on reducing *Aedes aegypti* pre-adults in key breeding containers in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 80: 752–757.
- Ujihara, K., Mori, T., Iwasaki, T., Sugano, M., Shono, Y. and Matsuo, N. 2004. Metofluthrin: A potent new synthetic pyrethroid with high vapor activity against mosquitoes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68: 170–174.
- Vanlerberghe, V., Villegas, E., Oviedo, M., Baly, A., Lenhart, A., McCall, P. J. and Van der Stuyft, P. 2011a. Evaluation of the effectiveness of insecticide treated materials for household level dengue vector control. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 5: e994.
- Vanlerberghe, V., Villegas, E., Jirarojwatana, S., Santana, N., Trongtorkit, Y., Jirarojwatana, R., Srisupap, W., Lefèvre, P. and Van der Stuyft, P. 2011b. Determinants of uptake, short-term and continued use of insecticide-treated curtains and jar covers for dengue control. *Trop. Med. Int. Health*, 16: 162–173.
- Vu, D. H., Nguyen, T. B. N., Do, T. H. and Nguyen, T. B. L. 2004. Susceptibility of *Aedes aegypti* to insecticides in Viet Nam. *Dengue Bull.*, 28: 179–183.
- Wang, Y., Suman, D. S., Bertrand, J., Dong, L. and Gaugler, R. 2013. Dual treatment autodissemination station with enhanced transfer of an insect growth regulator to mosquito oviposition sites. *Pest Manag. Sci.* 10.1002/ps.3702 [Epub ahead of print]
- Whitehorn, P. R., O'Connor, S., Wackers, F. L. and Goulson, D. 2012. Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. *Science*, 336: 351–352.
- Williams, C. M. 1967. Third-generation pesticides. *Sci. Am.*, 217: 13–17.
- Winney, R. 1975. Pyrethrins and pyrethroids in coils-a review. *Pyreth. Post*, 13: 17–22.
- Zaim, M. and Jambulingam, P. 2007. Global insecticide use for vector-borne disease control, World Health Organization.
- Zhang, L., Kasai, S. and Shono, T. 1998. In vitro metabolism of pyriproxyfen by microsomes from susceptible and resistant housefly larvae. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 37: 215–224.