

海南省部分地区传疟媒介按蚊对 4 种常用杀虫剂的抗药性测定

曾林海, 王善青*, 孙定炜, 赵伟, 李善干, 杨霞

【摘要】 目的 了解海南省部分地区传疟媒介按蚊对 4 种常用杀虫剂的抗药性。方法 于 2008–2010 年在多年使用杀虫剂防治疟疾的高疟区昌江县王下乡和东方市江边乡采集媒介按蚊, 在昌江县王下乡以人诱法采集大劣按蚊, 在东方市江边乡采用牛诱法采集中华按蚊和微小按蚊。取 F_0 代中华按蚊雌蚊、 F_1 代微小按蚊和大劣按蚊雌蚊为测试蚊虫, 采用 WHO 成蚊滤纸接触筒法测定上述测试蚊虫接触 4% DDT (1.428 g/m²)、0.05% 溴氰菊酯 (0.017 8 g/m²)、0.15% 氟氯氰菊酯 (0.053 4 g/m²) 和 5% 马拉硫磷 (1.78 g/m²) 等 4 种杀虫剂的区分剂量 60 min 内的击倒率, 同时设空白对照组。计算半数击倒时间 (KT_{50}) 和 24 h 后死亡率, 以区分剂量判定抗性级别。结果 DDT、溴氰菊酯和马拉硫磷对大劣按蚊的死亡率均为 100%; DDT 和溴氰菊酯对大劣按蚊的击倒率分别为 82.0% 和 100%, KT_{50} 值分别为 46.9 min 和 18.4 min。DDT、溴氰菊酯、氟氯氰菊酯和马拉硫磷对微小按蚊的死亡率分别为 98.1%、99.0%、100% 和 100%; DDT、溴氰菊酯、氟氯氰菊酯对微小按蚊的击倒率分别为 96.3%、99.0% 和 100%, KT_{50} 值分别为 31.3 min、16.8 min 和 7.4 min。DDT、溴氰菊酯和马拉硫磷对中华按蚊的死亡率分别为 19.8%、22.9% 和 43.8%; DDT 和溴氰菊酯对中华按蚊的击倒率仅为 2.0%, 不能测定其 KT_{50} 。结论 本次测试的海南省部分地区的主要传疟媒介大劣按蚊和微小按蚊对常用杀虫剂 DDT、溴氰菊酯、马拉硫磷和氟氯氰菊酯等未产生抗药性, 而次要媒介中华按蚊对 DDT、溴氰菊酯和马拉硫磷有抗药性。

【关键词】 疟疾; 媒介按蚊; 杀虫剂; 抗药性

中图分类号: R384.111 文献标识码: A

Resistance Assay of Malaria Vectors to Four Kinds of Common Insecticides in Some Endemic Areas of Hainan Province

ZENG Lin-hai, WANG Shan-qing*, SUN Ding-wei, ZHAO Wei, LI Shan-gan, YANG Xia

(Department of Vector Control, Hainan Center for Disease Control and Prevention, Haikou 570203, China)

【Abstract】 **Objective** To determine the resistance of malaria vectors to four kinds of common insecticides in some endemic areas of Hainan Province. **Methods** Anopheline mosquitoes were collected between 2008 and 2010 from malaria endemic areas where insecticides were used for years. *Anopheles dirus* were collected from human-baited trap in Wangxia Town of Changjiang County. *An. minimus* and *An. sinensis* were collected by cow-baited trap in Jiangbian Town of Dongfang City. F_0 generation female *An. sinensis*, F_1 generation of female *An. dirus* and *An. minimus* were selected and exposed to insecticide impregnated papers with discriminating concentrations of DDT (4%), deltamethrin (0.05%), cyfluthrin (0.15%), and malathion (5%) using WHO standard assays. Knockdown rate was recorded at 10, 15, 20, 30, 40, 50, and 60 min, and KT_{50} values were calculated. Mortality was recorded after 24 hours of exposure. **Results** Mortality in *An. dirus* was 100% to DDT, deltamethrin and malathion. Knockdown rate of *An. dirus* exposed to DDT and deltamethrin was 82.0% and 100%, with a KT_{50} value of 46.9 and 18.4 min, respectively. Mortality of *An. minimus* to DDT, deltamethrin, cyfluthrin and malathion was 98.1%, 99.0%, 100%, and 100%, respectively. The knockdown rate of *An. minimus* to DDT, deltamethrin, and cyfluthrin was 96.3%, 99.0%, and 100%, respectively, and the KT_{50} value was 31.3, 16.8, and 7.4 min, respectively. Mortality of *An. sinensis* to DDT, deltamethrin, and malathion was 19.8%, 22.9%, and 43.8%, respectively. Knockdown rate of *An. sinensis* to DDT and deltamethrin was 2.0%, the KT_{50} can not be calculated. **Conclusion** *An. dirus* and *An. minimus*, the main malaria vectors in the survey sites of Hainan Province, are susceptible to the four insecticides, while secondary malaria vector *An. sinensis* showed resistance to DDT, deltamethrin, and malathion.

【Key words】 Malaria; Vector; Insecticide; Resistance

Supported by Natural Science Fund of Hainan Province (No. 30873) and Hainan Provincial Discipline Construction Projects for Medicine and Health (No. 2007-23)

* Corresponding author, E-mail: wangsqkevin@163.com

基金项目: 海南省自然科学基金 (No. 30873), 海南省医药卫生重点学科建设项目 (No. 2007-23)

作者单位: 海南省疾病预防控制中心病媒生物控制科, 海口 570203

* 通讯作者, E-mail: wangsqkevin@163.com

海南省应用杀虫剂防制疟疾媒介、控制疟疾流行已有较长历史,自 20 世纪 50 年代中后期以来,在疟疾流行区先后应用 DDT 和溴氰菊酯等杀虫剂作滞留喷洒和浸泡蚊帐防制媒介按蚊。但杀虫剂的长期使用可能导致蚊虫产生抗药性,已报道致倦库蚊、白纹伊蚊和埃及伊蚊对 DDT、溴氰菊酯、氟氯氰菊酯和敌敌畏等常用杀虫剂敏感性下降或产生抗药性^[1,2]。然而媒介按蚊抗药性方面的调查报道较少。因此,2008-2010 年先后对海南省疟疾流行区的重要疟疾媒介大劣按蚊、微小按蚊和中华按蚊对 3 类 4 种常用杀虫剂敏感性水平进行测定,现将结果报道如下。

材料与方 法

1 杀虫剂药膜滤纸

4%DDT(1.428 g/m²)、0.05%溴氰菊酯(0.017 8 g/m²)、0.15%氟氯氰菊酯(0.053 4 g/m²)和 5%马拉硫磷(1.78 g/m²)等 4 种标准药膜滤纸,由中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所疟疾室提供。上述供试杀虫剂浓度均为 WHO 推荐的区分剂量^[3]。

2 供试蚊虫

选择海南省疟疾流行区连续使用 DDT 作滞留喷洒,20 世纪 80 年代中后期改用溴氰菊酯(或氟氯氰菊酯)浸泡蚊帐等方法控制疟疾流行的高疟区昌江县王下乡和东方市江边乡作为调查点。2008 年 8 月在昌江县王下乡夜间以人诱法采集大劣按蚊,现场让其吸饱小鼠血,带回实验室按照按蚊的饲养方法^[4],饲养至 F₁ 代成虫,取羽化后 24~48 h F₁ 代雌蚊为测试蚊虫。2009 年 11 月和 2010 年 5 月在东方市江边乡,晚上用牛帐诱捕法采集饱血的中华按蚊和微小按蚊。中华按蚊带回实验室饲养至次日上午,经逐个鉴定后,取胃血消化至谢拉氏 III~IV 期的 F₀ 代中华按蚊为测试蚊虫;微小按蚊次日经鉴定后带回实验室饲养,饲养方法同大劣按蚊,以 F₁ 代雌蚊进行测试。

3 区分剂量法

采用 WHO 推荐的成蚊滤纸接触筒法^[4]和上述 WHO 推荐的杀虫剂区分剂量,将待测蚊虫移入装有上述杀虫剂药膜滤纸的接触筒中,接触筒直立,观察蚊虫击倒情况。每筒测定试虫 20~25 只,每蚊种测定 4~5 筒,蚊虫总量≥100 只。蚊虫接触供试杀虫剂 60 min,计算接触 10、15、20、30、40、50 和 60 min 时的击倒率(马拉硫磷不观察击倒率),用 polo-pc 系统统计,计算半数击倒时间(KT₅₀)。将接触过杀虫剂的蚊虫放入恢复筒内,恢复筒置于室温(26±1)℃,

相对湿度 75%~85%的环境中,且恢复筒中放置浸有 10%葡萄糖水的棉花,24 h 后记录蚊虫死亡数,计算死亡率。同时设空白对照,实验组死亡率以 Abbott 公式校正,校正死亡率=(实验组死亡率-对照组死亡率)/(1-对照组死亡率)×100%。

4 WHO 抗药性评价指标

按 WHO 抗药性评价标准确定抗性级别^[3],死亡率≥98.0%为敏感群体(S),死亡率 80.0%~97.9%为初步抗性群体(M),死亡率<80.0%为抗性群体(R)。

结 果

1 大劣按蚊对常用杀虫剂的敏感性

结果表明,DDT 和溴氰菊酯对大劣按蚊的击倒率分别为 82.0%和 100%,死亡率均为 100%。马拉硫磷对大劣按蚊的死亡率为 100%。溴氰菊酯对大劣按蚊的 KT₅₀ 值较低(18.4 min),DDT 对大劣按蚊的 KT₅₀ 值最高,为 46.9 min(表 1)。

2 微小按蚊对常用杀虫剂的敏感性

DDT、溴氰菊酯和氟氯氰菊酯对微小按蚊的击倒率分别为 96.3%、99.0%和 100%,死亡率分别为 98.1%、99.0%和 100%。马拉硫磷对微小按蚊的死亡率均为 100%。溴氰菊酯对微小按蚊的 KT₅₀ 值较低,为 16.8 min,DDT 的 KT₅₀ 值为 31.3 min。氟氯氰菊酯对微小按蚊的 KT₅₀ 值最小,为 7.4 min(表 1)。

3 中华按蚊对常用杀虫剂的敏感性

DDT 和溴氰菊酯对中华按蚊击倒率为 2.0%,死亡率分别为 19.8%和 22.9%。马拉硫磷对中华按蚊的死亡率为 43.8%。供试拟除虫菊酯类杀虫剂和 DDT 对华按蚊作用在 60 min 后的击倒率仅为 2.0%,不能测定其 KT₅₀(表 1)。

讨 论

20 世纪中期,使用 DDT 等杀虫剂防制媒介按蚊,是国内外控制和消除疟疾的主要措施之一,曾取得显著的成效。随后由于其在防制农业害虫中的广泛应用,使环境遭受严重污染而禁止使用。20 世纪 80 年代以后,拟除虫菊酯类杀虫剂浸泡蚊帐成为防制蚊媒的重要措施。在对 DDT 的健康风险进行重新评估后,2006 年 WHO 正式批准 DDT 用于室内滞留喷洒,并提倡和长效杀虫蚊帐及以青蒿素为基础的联合治疗方法作为全球抗击疟疾的 3 种主要干预措施^[5]。可见,加强媒介按蚊对常用杀虫剂抗药性监测的重要性的必

表 1 海南省传疟按蚊对 4 种常用杀虫剂的抗药性测定结果
Table 1 Susceptibility of anopheline mosquitoes to common insecticides in Hainan Province

供试蚊种 Species	采集时间 Collection time	采集地点 Collection area	杀虫剂 Insecticides	供蚊数 No. mosquitoes	击倒数 No. knockdown	击倒率/% Knockdown rate/%	KT ₅₀ /min	死亡数 No. death	校正死亡率/% Adjusted mortality/%	抗性级别 Resistance level
大劣按蚊 <i>Anopheles dirus</i>	2008 年 8 月	昌江县王下乡 Wangxia Town of Changjiang County	DDT	100	82	82.0	46.9	100	100	S
			溴氰菊酯 Deltamethrin	100	100	100	18.4	100	100	S
			马拉硫磷 Malathion	100	-	-	-	100	100	S
微小按蚊 <i>Anopheles minimus</i>	2009 年 11 月	东方市江边乡 Jiangbian Town of Dongfang City	DDT	107	103	96.3	31.3	105	98.1	S
			溴氰菊酯 Deltamethrin	102	101	99.0	16.8	101	99.0	S
			氟氯氰菊酯 Cyfluthrin	104	104	100	7.4	104	100	S
			马拉硫磷 Malathion	101	-	-	-	101	100	S
中华按蚊 <i>Anopheles sinensis</i>	2010 年 5 月	东方市江边乡 Jiangbian Town of Dongfang City	DDT	100	2	2	-	23	19.8	R
			溴氰菊酯 Deltamethrin	100	2	2	-	26	22.9	R
			马拉硫磷 Malathion	100	-	-	-	46	43.8	R

要性。

海南省抗疟前 (1953-1957 年) 调查研究表明, 微小按蚊分布在全岛的山区、丘陵区 and 滨海平原区, 喜家栖, 嗜人血, 是人房夜间优势蚊种, 为疟疾流行的重要媒介。1958-1959 年开始在全岛连续 4~5 年用 DDT 或六六六进行室内滞留喷洒后, 20 世纪 60 年代中期基本消灭微小按蚊, 但 70 年代以后又陆续在山区、丘陵区 and 个别滨海平原区发现微小按蚊, 孳生于溪流和灌溉沟两旁杂草缓流处, 具外栖性, 偏吸牛血, 生态习性与原来已被基本消灭的微小按蚊不同, 起着中低度的传疟作用, 可能属于另一个种群。使用杀虫剂滞留喷洒或浸泡蚊帐, 可有效控制疟疾流行。虽 1978 年在儋州市和 1981 年在东方市疟区该蚊种对 DDT 的抗性调查结果表明其仍属敏感^[6], 但难于达到消灭该蚊种的目的^[5,7]。本研究结果表明, 微小按蚊对供试杀虫剂均未产生抗药性, 可继续用于疟疾流行区。

大劣按蚊是当前海南高疟区的主要传播媒介, 虽在疟区居民中广泛使用溴氰菊酯等浸泡蚊帐近 20 年, 但测定结果表明其属敏感, 与前几年用幼虫浸渍法测定的结果相似^[1], 这可能与大劣按蚊具外栖性、嗜吸人血和幼虫孳生于山溪旁边半遮荫积水等生态习性有关。在防制上采用低毒、高效、安全和无刺激性的拟除虫菊酯类药物浸泡或喷洒蚊帐的方法, 既能阻隔人蚊接触, 又可杀死入侵室内接触蚊帐的蚊虫, 从而达到有效控制疟疾流行的目的。

以往在海南省疟区的东方市、儋州市和非疟区琼山市测定中华按蚊对 DDT 已有抗药性^[6]。另有研究表明, 虽 DDT 已停用 20 多年, 但中华按蚊对其仍有很高抗药性, 且对马拉硫磷和溴氰菊酯也具抗性, 与湖

北、江苏等省报道结果相似^[8-10]。这可能与长期使用溴氰菊酯浸泡蚊帐, 其在农业上也大量使用, 中华按蚊幼虫主要孳生在水稻田及其有联系的水塘、沟渠等处, 使中华按蚊成蚊和幼虫接触同一种杀虫剂的机会增多, 以及 DDT 与拟除虫菊酯类杀虫剂有交互抗性等因素有关。

本研究结果显示, 同一蚊种对供试杀虫剂敏感性差别不大, 如大劣按蚊和微小按蚊对供试药剂均敏感, 而中华按蚊对供试杀虫剂均具抗性, 这可能是由于供试杀虫剂具有同样的作用机制或(和)试虫对供试杀虫剂具有相同的解毒机制^[11]。

采用室内喷洒 DDT 和溴氰菊酯浸泡蚊帐在海南省防治疟疾工作上取得了显著成绩, 特别是近年来使用“全球基金中国疟疾项目”发放的长效杀虫剂浸泡蚊帐后, 疟疾防治成绩更加突出。但未能完全有效控制上山者感染疟疾, 这是海南省控制和消除疟疾亟待解决的问题^[5]。DDT 为非接触性驱避剂兼有接触性刺激作用的杀虫剂^[12], 具有驱避和毒杀作用, 可根据上山人群活动频繁的特点, 在进行调查研究和试验的基础上, 用于山寨和流动人口居住地的工棚作滞留喷洒防制大劣按蚊和微小按蚊, 不失为控制上山人群感染疟疾的可行方法。

本研究明确了海南省疟疾流行区重要传疟媒介对常用杀虫剂的抗药性水平, 其结果对今后科学合理使用杀虫剂, 制订抗药性治理对策具有现实的意义。尽管海南省疟区目前尚未发现主要媒介大劣按蚊和微小按蚊对常用杀虫剂产生抗药性, 但还应引起注意, 并在今后应加强对其抗药性的监测工作。由于在农业上使用拟除虫菊酯类杀虫剂比较广泛, 而采用杀虫剂防

制疟疾传播媒介仍是重要手段, 因此, 在采用拟除虫菊酯类杀虫剂浸泡蚊帐或 DDT 作滞留喷洒控制疟疾媒介时, 由于交互抗性的存在, 应避免同时使用, 应多结合农业生产, 采用开发种植和破坏蚊虫孳生地等非化学方法为基础的综合治理, 可以避免媒介按蚊产生抗性或延缓抗性的发展速度。

参 考 文 献

[1] Zeng LH, Sun DW, Zhao W, *et al.* Resistance of *Culex pipiens quinquefasciatus* and *Anopheles dirus* to pyrethroid in Hainan Province[J]. Chin J Vect Bio Control, 2008, 19(6): 505-506. (in Chinese)
(曾林海, 孙定炜, 赵伟, 等. 致倦库蚊及大劣按蚊对拟除虫菊酯类杀虫剂的抗药性测定 [J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2008, 19(6): 505-506.)

[2] Zeng LH, Sun DW, Zhao W, *et al.* Determination of the susceptibility of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus* to commonly used insecticides in Hainan Province [J]. Chin J Vect Bio Control, 2010, 21(2): 148-149. (in Chinese)
(曾林海, 孙定炜, 赵伟, 等. 海南省埃及伊蚊和白纹伊蚊对常用杀虫剂的敏感性测定[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2010, 21(2): 148-149.)

[3] WHO. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces[R]. Geneva: WHO, 1998.

[4] Department of Disease Control, MOH. A Manual for Malaria Control[M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007: 207-245. (in Chinese)
(卫生部疾病预防控制局. 疟疾防治手册[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 207-245.)

[5] Cai XZ. Residual spraying of DDT as an effective intervention measure in malaria control[J]. Chin Trop Med, 2009, 9(10): 1957-1960. (in Chinese)
(蔡贤铮. DDT 滞留喷洒是抗击疟疾一种主要干预措施[J]. 中国热带医学, 2009, 9(10): 1957-1960.)

[6] Pan B, Zhu TH, Liu Y, *et al.* Susceptibility status of main malaria vectors of China to insecticides [J]. Chin J Vect Bio Control, 2001, 12(2): 145-148. (in Chinese)

(潘波, 朱泰华, 刘鹰, 等. 我国主要传疟媒介对杀虫剂的敏感性现状[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2001, 12(2): 145-148.)

[7] Wu KC, Chen WJ, Wang ZG, *et al.* Studies on distribution and behavior of *Anopheles minimus* and its role in malaria transmission in Hainan Province at present[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 1993, 11(2): 120-123. (in Chinese)
(吴开琛, 陈文江, 王志光, 等. 海南省当前微小按蚊的分布特征、生态习性和传疟作用的研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1993, 11(2): 120-123.)

[8] Liu LX, Chen H, Lu YX, *et al.* Field survey on resistance of *Anopheles sinensis* to DDT and permethrin[J]. Chin Trop Med, 2008, 8(5): 809-811. (in Chinese)
(刘立新, 陈辉, 陆业新, 等. 中华按蚊对 DDT 和溴氰菊酯抗药性的现场调查[J]. 中国热带医学, 2008, 8(5): 809-811.)

[9] Zhang HX, Hu LQ, Liu JY, *et al.* Field study on resistance to DDT and deltamethrin of malaria mosquitoes in Hubei Province [J]. Acta Parasitol Med Entomol Sin, 2009, 16(2): 100-103. (in Chinese)
(张华勋, 胡乐群, 刘井元, 等. 湖北部分地区疟疾媒介对 DDT 和溴氰菊酯抗药性的现场调查[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2009, 16(2): 100-103.)

[10] Zhou HY, Li JL, Jin XM, *et al.* Surveillance on resistance of *Anopheles* vectors to pyrethroid in Jiangsu Province[J]. Chin J Schisto Control, 2004, 16(3): 199-201. (in Chinese)
(周华云, 李菊林, 金小明, 等. 江苏省传疟按蚊对菊酯类杀虫剂抗药性的监测[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2004, 16(3): 199-201.)

[11] Singh KV, Bansal SK. The impact of indoor residual spray on the insecticide susceptibility status of malaria vectors (Rajasthan; India) (Abstract) [C]//The Second International Forum for Sustainable Management Of Disease Vectors, Beijing, China, 2008: 302.
(Singh KV, Bansal SK. 室内滞留喷洒对疟疾媒介蚊虫敏感性的影响 (摘要)[C]//第二届媒介生物可持续控制国际论坛论文集, 北京, 2008: 302.)

[12] Wu KC, Deng D. Malaria control, we need DDT[J]. Chin Trop Med, 2009, 9(1): 194-195. (in Chinese)
(吴开琛, 邓达. 为了控制疟疾我们需要 DDT! [J]. 中国热带医学, 2009, 9(1): 194-195.)

(收稿日期: 2011-02-15 编辑: 杨频)

**感谢寄生虫病科研、防治、教学工作者
多年来对本刊的大力支持！欢迎继续投稿！**