

# 长角血蜱野外种群对常用杀虫剂相对敏感 基线和诊断剂量研究

赵奇, 高丽君, 张玉勤, 刘吉起

河南省疾病预防控制中心消毒与媒介生物控制室, 河南 郑州 450016

**摘要:** **目的** 建立长角血蜱野外种群对常用杀虫剂的相对敏感基线和诊断剂量。**方法** 分别于 2013 年和 2014 年 4—9 月采集河南省王屋山区未接触过任何杀虫剂的长角血蜱野外种群。采用药膜法测定长角血蜱成蜱对杀虫剂的敏感性。采用 DPS 数据处理软件进行机值分析, 拟合毒力回归方程, 确定半数致死剂量、99% 致死剂量, 计算诊断剂量。**结果** 建立了对敌敌畏、双硫磷、仲丁威、氯菊酯、溴氰菊酯和高效氯氟菊酯 6 种杀虫剂的相对敏感基线, 分别为  $y=1.549\ 9+1.359\ 4x$ 、 $y=2.343\ 3+1.225\ 6x$ 、 $y=-6.850\ 7+5.213\ 9x$ 、 $y=0.866\ 1+1.571\ 1x$ 、 $y=0.411\ 6+2.277\ 8x$  和  $y=2.551\ 8+1.018\ 9x$ ; 相应的诊断剂量分别为 35.505 6、10.764 7、1.047 4、25.872 9、2.171 4 和 97.063 2 mg/L。**结论** 建立了长角血蜱野外种群对常用杀虫剂的相对敏感基线和诊断剂量, 可作为长角血蜱抗药性监测的参考。

**关键词:** 长角血蜱; 诊断剂量; 抗药性; 抗药性监测

中图分类号: R384.4; S482.3 文献标志码: A 文章编号: 1003-8280(2019)01-0078-03

DOI: 10.11853/j.issn.1003.8280.2019.01.018

## A study on the relative susceptibility baselines and diagnostic doses of wild population of *Haemaphysalis longicornis* to common insecticides

ZHAO Qi, GAO Li-jun, ZHANG Yu-qin, LIU Ji-qi

Henan Center for Disease Control and Prevention, Zhengzhou 450016, Henan Province, China

Corresponding author: LIU Ji-qi, Email: hncdcljq@sina.com

Supported by the Medical Science and Technique Project of Henan Province (No. 2011020176)

**Abstract: Objective** To establish the relative susceptibility baselines and diagnostic doses of the wild population of *Haemaphysalis longicornis* to common insecticides. **Methods** The wild population of *H. longicornis* without exposure to any pesticides was collected at Mount Wangwu in Henan, China from April to September in both 2013 and 2014. The residual film method was used to determine the susceptibility of adult *H. longicornis* to insecticides. DPS data processing software was used for probit analysis, and the toxicity regression equation was fitted to determine the median lethal dose and 99% lethal dose and then to calculate the diagnostic dose. **Results** The susceptibility baselines of *H. longicornis* to dichlorvos, temephos, bassa, permethrin, deltamethrin, and beta-cypermethrin were  $y=1.549\ 9+1.359\ 4x$ ,  $y=2.343\ 3+1.225\ 6x$ ,  $y=-6.850\ 7+5.213\ 9x$ ,  $y=0.866\ 1+1.571\ 1x$ ,  $y=0.411\ 6+2.277\ 8x$ , and  $y=2.551\ 8+1.018\ 9x$ , respectively; the diagnostic doses were 35.505 6, 10.764 7, 1.047 4, 25.872 9, 2.171 4, and 97.063 2 mg/L, respectively. **Conclusion** The relative susceptibility baselines of the wild population of *H. longicornis* to the six insecticides, as well as the diagnostic doses, have been established. The results can be used as a reference for monitoring the resistance of *H. longicornis* to pesticides.

**Key words:** *Haemaphysalis longicornis*; Diagnostic dose; Insecticide resistance; Resistance monitoring

长角血蜱(*Haemaphysalis longicornis*)是蛛形纲、蜱螨亚纲、寄螨目、蜱总科下硬蜱科、血蜱属的一种, 常见于我国温带地区的山地中, 是河南省内的优势蜱种, 广泛存在于河南省西部和南部山区<sup>[1-2]</sup>。2011 年由于长角血蜱传播新型布尼亚病毒导致患者死亡而被社会广泛关注, 但其对常见杀虫剂的相对敏感基

线和诊断剂量未见报道。

蜱类的化学控制, 早期在畜牧行业以砷、有机氯农药和有机氮农药为主<sup>[3]</sup>, 但因食品安全隐患、环境问题和抗药性的产生<sup>[4]</sup>, 这些杀虫剂已不再用于蜱的防治。目前, 防治蜱类常用的杀虫剂以氨基甲酸酯类和拟除虫菊酯类杀虫剂为主, 有报道指出, 氨基

基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目(2011020176)

作者简介: 赵奇, 男, 硕士, 主要从事媒介生物控制研究工作, Email: zhaopi23@foxmail.com

通信作者: 刘吉起, Email: hncdcljq@sina.com

网络出版时间: 2018-12-06 20:17 网络出版地址: <http://navi.cnki.net/knavi/JournalDetail?pcode=CJFD&pykm=ZMSK>

甲酸酯类和拟除虫菊酯类复配的杀虫剂在实验室生境和野外生境下对草原革蜱(*Dermacentor nuttalli*)、血红扇头蜱(*Rhipicephalus sanguineus*)均产生了良好的控制效果<sup>[5-6]</sup>。

本研究根据河南省长角血蜱的分布情况,采集了王屋山地区的长角血蜱野外种群,经过鉴定筛选后测定了该种群对于常用卫生杀虫剂的敏感基线和诊断剂量,现将结果报告如下。

## 1 材料与方法

**1.1 试虫** 2013 和 2014 年 4—9 月利用布旗法采集河南省王屋山地区(112°13' 59"E, 35°11' 28" N, 海拔 457.2 m)次生林灌木中孳生的长角血蜱成蜱或若蜱,置于 50 ml 离心管中,并放入孳生地草叶保湿,用纱布封口,带回实验室后置于干燥器中饲养,环境条件为温度(26±1)℃、相对湿度 75%。

**1.2 试剂** 选取敌敌畏、双硫磷、仲丁威、氯菊酯、溴氰菊酯和高效氯氰菊酯杀虫剂分别进行实验,原药由中国疾病预防控制中心传染病预防控制所媒介生物控制室提供,有机溶剂丙酮(分析纯)购自北京北化精细化学品有限责任公司。

**1.3 实验方法** 采用多剂量药膜法,将杀虫剂原药

稀释成 62.5~2 000 μg/L 的系列浓度,各取 2.5 ml 制备广口瓶药膜,每瓶放入 20 只雌性未吸血长角血蜱成虫,封口后用湿毛巾保湿保存,24 h 后用探针触之,无应激反应,不能爬行者判为死亡,并记录死亡数。每个浓度平行重复 3 次,并设置空白对照。

**1.4 统计学分析** 使用 DPS 软件采用 DPS 数据处理软件进行机值分析,对得到的实验数据进行机值分析,拟合毒力回归方程,计算杀虫剂对长角血蜱的半数致死浓度(LC<sub>50</sub>)及相应的 95% 可信区间(95% CI)和 99% 致死浓度(LC<sub>99</sub>)。

## 2 结果

6 种杀虫剂的生物测定结果显示,有机磷类杀虫剂敌敌畏对长角血蜱的 LC<sub>50</sub> 为 0.345 1 mg/L、双硫磷为 0.097 5 mg/L,氨基甲酸酯类杀虫剂仲丁威对长角血蜱的 LC<sub>50</sub> 为 0.187 5 mg/L,拟除虫菊酯类杀虫剂氯菊酯对长角血蜱的 LC<sub>50</sub> 为 0.427 7 mg/L、溴氰菊酯为 0.103 4 mg/L、高效氯氰菊酯为 0.252 8 mg/L。以 LC<sub>99</sub> 的 2 倍作为诊断剂量,计算得出以上 6 种杀虫剂对长角血蜱的诊断剂量分别为 35.505 6、10.764 7、1.047 4、25.872 9、2.171 4 和 97.063 2 mg/L,见表 1。

表 1 6 种杀虫剂对河南省王屋山地区长角血蜱成虫的半数致死浓度测定结果

杀虫剂	LC <sub>50</sub> 及其 95%CI(mg/L)	毒力回归方程( $y=a+bx$ )	LC <sub>99</sub> (mg/L)	诊断剂量(mg/L)
敌敌畏	0.345 1(0.246 1~0.481 7)	1.549 9+1.359 4x	17.752 8	35.505 6
双硫磷	0.097 5(0.013 3~0.177 6)	2.343 3+1.225 6x	5.382 3	10.764 7
仲丁威	0.187 5(0.117 2~0.236 2)	-6.850 7+5.213 9x	0.523 7	1.047 4
氯菊酯	0.427 7(0.309 3~0.695 1)	0.866 1+1.571 1x	12.936 4	25.872 9
溴氰菊酯	0.103 4(0.057 2~0.144 9)	0.411 6+2.277 8x	1.085 7	2.171 4
高效氯氰菊酯	0.252 8(0.131 7~0.413 7)	2.551 8+1.018 9x	48.531 6	97.063 2

## 3 讨论

昆虫对杀虫剂的敏感毒力基线是以试虫敏感品系作为测定对象,依据杀虫剂应用剂量和试虫死亡率值关系建立的毒力回归线<sup>[7]</sup>,进而用于确定昆虫的区分剂量,准确判断昆虫种群是否产生抗药性及抗药的程度和范围<sup>[8]</sup>。依据世界卫生组织以及抗药性检测方法国家标准<sup>[7]</sup>,一般将某杀虫剂对敏感品系的 99% 或 99.9% 致死剂量(或浓度)的 2 倍作为诊断剂量。诊断剂量可以区分种群抗性个体和敏感个体,能监测种群中抗性个体频率的微小变化,是媒介生物抗性监测的常用指标。

长角血蜱是河南省地区传播莱姆病、人粒细胞无形体病、巴尔通体病等蜱传疾病的主要媒介生物<sup>[9]</sup>,同时也是发热伴血小板减少综合征的传播媒介,有证据表明约 50% 的该病患者有明确的蜱叮咬

史<sup>[10]</sup>。此外,最近证实长角血蜱体内确有发热伴血小板减少综合征的病原体存在<sup>[11]</sup>。针对目前的防控形势,积极控制长角血蜱的孳生,明确长角血蜱的杀虫剂敏感性基线成为需要尽快落实的工作。目前国内针对长角血蜱进行的抗药性分析研究相对较少,没有统一的数据基线和研究方法。本研究根据长角血蜱野外种群的形态、行为特征,参考选用测定德国小蠊(*Blattella germanica*)抗药性时使用的多剂量药膜法进行实验。

本研究结果显示,长角血蜱对常用杀虫剂均较敏感,对受试杀虫剂的 LC<sub>50</sub> 均在 10<sup>-6</sup> g/L 数量级,说明杀虫剂的常用剂量能够对长角血蜱进行有效控制。对实验中的 6 种杀虫剂进行比较,LC<sub>50</sub> 从小到大依次为双硫磷、溴氰菊酯、仲丁威、高效氯氰菊酯、敌敌畏和氯菊酯。但由于双硫磷、高效氯氰菊酯、敌敌畏和氯菊酯的毒力回归方程中 (下转第 83 页)

他型别疟疾感染的可能,不能作为诊断依据,最终的实验室诊断结果必须综合血涂片镜检,巢式多重 PCR 检测结果分析判断。由于 PCR 技术可以特异性的检测微量的靶向核酸序列,根据疟原虫的特异性引物能够快速的区分恶性疟、间日疟、三日疟和卵形疟原虫,并且可以同时检测近百个检测样本,这就大大缩短了临床上的确诊时间,为患者争取了更多的治疗时间,更好的指导临床大夫用药。随着分子生物学在鉴定疟原虫领域的广泛应用,摆脱了传统的疟原虫吉氏染色镜检技术的局限性,提高了疟疾实验室诊断的灵敏性和准确性。本实验研究通过利用巢式 PCR 扩增疟原虫 *18S rRNA* 基因和 DNA 测序比对分析,能够非常快速区分卵形疟原虫与其他类型疟原虫,在很大程度上弥补了涂片镜检法因主观性等原因造成误诊和漏诊<sup>[12]</sup>。

综上所述,实验室要加强实验人员的疟疾镜检能力的培训和分子生物学在疟原虫领域的推广,巢式 PCR 的检测可以提高疟疾诊断的敏感性,对于减少卵形疟的误诊十分必要。

#### 参考文献

- [1] 李硕,张云辉,王永怡,等. 2016 年全球传染病热点回顾[J]. 传染病信息, 2017, 30(1): 1-7. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2017.01.003.
- [2] Snounou G, Viriyakosol S, Zhu XP, et al. High sensitivity of

- detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction [J]. Mol Biochem Parasitol, 1993, 61 (2): 315-320. DOI: 10.1016/0166-6851(93)90077-B.
- [3] Snounou G, Viriyakosol S, Jarra W, et al. Identification of the four human malaria parasite species in field samples by the polymerase chain reaction and detection of a high prevalence of mixed infections [J]. Mol Biochem Parasitol, 1993, 58 (2) : 283-292. DOI: 10.1016/0166-6851(93)90050-8.
- [4] Singh B, Bobogare A, Cox-Singh J, et al. A genus-and species-specific nested polymerase chain reaction malaria detection assay for epidemiologic studies [J]. Am J Trop Med Hyg, 1999, 60(4) : 687-692. DOI: 10.4269/ajtmh.1999.60.687
- [5] 滕聪,雷露,孙英伟,等. 2008—2013 年辽宁省疟疾流行病学分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2014, 26(2): 200-202.
- [6] 孙英伟,于丹梅,陈君,等. 辽宁省丹东市两例间日疟病例报告疫情分析[J]. 中国公共卫生, 2017, 33(2) : 314-316. DOI: 10.11847/zgggws2017-33-02-38.
- [7] Groger M, Fischer HS, Veletzky L, et al. A systematic review of the clinical presentation, treatment and relapse characteristics of human *Plasmodium ovale* malaria [J]. Malaria J, 2017, 16: 112. DOI: 10.1186/s12936-017-1759-2.
- [8] 王磊,王非,齐志群,等. 62 例输入性疟疾病原学特点分析 [J]. 传染病信息, 2016, 29(3) : 170-172. DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2016.03.012.
- [9] 夏志贵,丰俊,周水森. 2012 年全国疟疾疫情分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2013, 31(6) : 413-418.
- [10] 周瑞敏,张红卫,邓艳,等. 2 例输入性卵形疟的实验室检测 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2013, 31(2) : 127-130.
- [11] Nzeyimana I, Henry MC, Dossou-Yovo J, et al. The epidemiology of malaria in the southwestern forests of the Ivory Coast (Tai region) [J]. Bull Soc Pathol Exot, 2002, 95(2) : 89-94.
- [12] 徐超,魏庆宽,李瑾,等. 套式聚合酶链式反应在疟原虫检测和分型中的应用研究[J]. 中华诊断学电子杂志, 2013, 1(1) : 17-21. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-655X.2013.01.004.

收稿日期: 2018-09-30 (编辑: 卢亮平)

(上接第 79 页)

*b* 值较小,说明长角血蜱实验种群对上述杀虫剂的抗性异质性较大,即种群中个体间抗药性的差异较大,故诊断剂量从小到大的排序依次为仲丁威、溴氰菊酯、双硫磷、氯菊酯、敌敌畏和高效氯氰菊酯。

蜱的化学防治方法目前还未能形成体系,多数情况下为物理方式间隔或驱避剂预防,如动物服用阿维菌素等抗生素类药物可预防蜱寄生<sup>[7]</sup>。蜱的控制应像其他有害生物一样遵循综合控制的原则,以减少孳生地,控制蜱孳生为主,以化学防治为辅,避免蜱抗药性的产生。

#### 参考文献

- [1] 赵奇,高丽君,唐振强,等. 河南省蜱种类和地理分布及季节消长调查[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2015, 26(1) : 68-70. DOI: 10.11853/j.issn.1003.4692.2015.01.020.
- [2] 刘吉起,郭祥树,高平,等. 安阳鹤壁两地区蜱对不同宿主侵害状况的调查研究[J]. 中华卫生杀虫药械, 2011, 17(5) : 383-384.
- [3] 曹允. 蜱的危害及防治措施研究进展[J]. 山东畜牧兽医,

- 2015, 36(2): 56-58. DOI: 10.3969/j.issn.1007-1733.2015.02.041.
- [4] Barriga OO. A review on vaccination against protozoa and arthropods of veterinary importance [J]. Vet Parasitol, 1994, 55 (1/2) : 29-55. DOI: 10.1016/0304-4017(94)90054-X.
- [5] 石淑珍,刘增加,杨银书,等. 复方高效灭蜱剂灭蜱药效研究 [J]. 中华卫生杀虫药械, 2006, 12(3) : 187-188. DOI: 10.3969/j.issn.1671-2781.2006.03.011.
- [6] 陈式明,唐仕雄,徐海涛,等. 某战备仓库蜱虫危害调查与控制 [J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2012, 23(2) : 169-171.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 26352-2010 蜚蠊抗药性检测方法 德国小蠊生物测定法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- [8] 鲁艳辉,杨婷,高希武. 禾谷缢管蚜和麦长管蚜玻璃管药膜法敏感毒力基线的建立 [J]. 昆虫学报, 2009, 52(1) : 52-58. DOI: 10.3321/j.issn: 0454-6296.2009.01.008.
- [9] 刘吉起,赵奇,许汴利. 蜱类研究进展[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2013, 24(2) : 186-188.
- [10] 甘德礼. 光山县 2009—2011 年发热伴血小板减少综合征发病情况分析 [J]. 医药论坛杂志, 2012, 33(10) : 52-53.
- [11] 刘洋,黄学勇,杜燕华,等. 河南发热伴血小板减少综合征流行区蜱类分布及媒介携带新布尼亚病毒状况调查 [J]. 中华预防医学杂志, 2012, 46(6) : 500-504. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2012.06.005.

收稿日期: 2018-09-10 (编辑: 卢亮平)