



Formosan Entomologist

Journal Homepage: entsocjournal.yabee.com.tw

Insecticide Resistance Status in *Aedes aegypti* (L.) Adults from Southern Taiwan **【Research report】**

台灣南部地區埃及斑蚊成蟲對殺蟲劑的抗藥性 **【研究報告】**

Huai-Hui Wu¹, Ying-Hsi Lin², Hsiu-Hua Pai³, Err-Lieh Hsu⁴, Niann-Tai Chang⁵, and Yi-Pey Luo^{6*}

吳懷慧¹、林鶯熹²、白秀華³、徐爾烈⁴、張念台⁵、羅怡珮^{6*}

*通訊作者E-mail: insecta@mail.chna.edu.tw

Received: 2013/08/14 Accepted: 2013/09/27 Available online: 2014/02/01

Abstract

Aedes aegypti were collected from Kaohsiung City, Pingtung County and Tainan City, from 2002 to 2012. World Health Organization's standard protocols were used for the insecticide bioassays and biochemical assays to determine the insecticide susceptibility and resistance mechanisms. The susceptibility of mosquitoes was tested against propoxur (0.1%), fenitrothion (1%), cyfluthrin (0.15%), deltamethrin (0.05%), etofenprox (0.5%), permethrin (0.75%) and lambda cyhalothrin (0.05%). All field cohorts from southern Taiwan were highly susceptible to fenitrothion and highly resistant to permethrin and etofenprox. The results showed a higher proportion of resistant cohorts against propoxur and deltamethrin in Kaohsiung City than in Pingtung County and Tainan City, and a higher proportion of resistant cohorts against cyfluthrin and lambda cyhalothrin in Pingtung County than in Kaohsiung City and Tainan City. The difference in the resistance profiles between these areas is in accordance to the insecticide used. Since Kaohsiung City has adopted the use of deltamethrin, cyfluthrin and lambda cyhalothrin for the control of dengue vectors in 2007 to 2008, the proportions of resistant cohorts against deltamethrin, cyfluthrin and lambda cyhalothrin all increased in 2009. In this study, we used the insecticide-impregnated paper bioassay method which revealed moderate to extremely high levels of resistance to cyfluthrin, deltamethrin, permethrin and lambda cyhalothrin in *Aedes aegypti* from Southern Taiwan. The biochemical assays showed that the activity of glutathione-S-transferase, cytochrome P450 monooxygenase and β -esterase were elevated in the field cohorts in comparison with the NS strain. These results imply that these three enzymes are involved in the pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* of Taiwan, however, no evidence was found for the altered acetylcholinesterase sensitivity.

摘要

本研究以世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 鑑別濃度藥膜監測自2002至2012年台灣南部地區埃及斑蚊成蟲對安丹、撲滅松、賽飛寧、第滅寧、依芬寧、百滅寧及賽洛寧的抗藥性。結果顯示台灣南部地區埃及斑蚊對撲滅松均不具抗藥性。依芬寧及百滅寧均不適宜用於台灣南部地區埃及斑蚊的防治。高雄市族群對安丹及第滅寧產生抗藥性的比例最高，屏東縣族群次之，台南市族群最低。屏東縣族群對賽飛寧及賽洛寧產生抗藥性的比例最高，高雄市族群次之，台南市族群最低。各地野外族群對殺蟲劑產生抗藥性與藥劑施用後的選汰壓力有關。高雄地區於2007至2008年使用第滅寧、賽飛寧及賽洛寧防治登革熱病媒蚊，造成2009年對第滅寧、賽飛寧及賽洛寧產生抗藥性的族群比例增加。由埃及斑蚊成蟲對殺蟲劑感藥性基線之生物檢定得知，高雄市、屏東縣及台南市各族群埃及斑蚊對賽飛寧、第滅寧、百滅寧及賽洛寧等除蟲菊劑具中度到極高度的抗藥性。以微量盤生化分析埃及斑蚊成蟲的酵素活性，安丹抑制野外族群與敏感對照NS品系埃及斑蚊體內乙醯膽鹼酯酶的殘留活性百分比不具明顯差異。各族群對有機磷劑的撲滅松均具高度感受性。以微量盤生化分析也證實對除蟲菊劑產生抗藥性的埃及斑蚊會提升麩胱苷硫轉基酶、細胞色素P450單氧化酶及 β -酯酶等酵素活性吸光值，顯示對除蟲菊劑的抗藥性與埃及斑蚊體內解毒酵素活性增加有關。

Key words: *Aedes aegypti*, insecticide resistance, monitoring, biochemical assay

關鍵詞: 埃及斑蚊、抗藥性、監測、生化分析。

Full Text: [PDF \(1.08 MB\)](#)

下載其它卷期全文 Browse all articles in archive: <http://entsocjournal.yabee.com.tw>

台灣南部地區埃及斑蚊成蟲對殺蟲劑的抗藥性

吳懷慧¹、林鶯熹²、白秀華³、徐爾烈⁴、張念台⁵、羅怡珮^{6*}

¹ 大仁科技大學生物科技系 90741 屏東縣鹽埔鄉新二村維新路 20 號

² 元培科技大學醫學檢驗生物技術系 30015 新竹市元培街 306 號

³ 國立高雄大學運動健康與休閒學系 81148 高雄市楠梓區高雄大學路 700 號

⁴ 國立台灣大學昆蟲系 10617 臺北市羅斯福路四段 1 號

⁵ 國立屏東科技大學植物醫學系 91201 屏東縣內埔鄉老埤村學府路 1 號

⁶ 嘉南藥理科技大學生物科技系 71710 台南市仁德區二仁路一段 60 號

摘 要

本研究以世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 鑑別濃度藥膜監測自 2002 至 2012 年台灣南部地區埃及斑蚊成蟲對安丹、撲滅松、賽飛寧、第滅寧、依芬寧、百滅寧及賽洛寧的抗藥性，結果顯示台灣南部地區埃及斑蚊對撲滅松均不具抗藥性，依芬寧及百滅寧均不適宜用於台灣南部地區埃及斑蚊的防治。高雄市族群對安丹及第滅寧產生抗藥性的比例最高，屏東縣族群次之，台南市族群最低。屏東縣族群對賽飛寧及賽洛寧產生抗藥性的比例最高，高雄市族群次之，台南市族群最低。各地野外族群對殺蟲劑產生抗藥性與藥劑施用後的選汰壓力有關，高雄地區於 2007 至 2008 年使用第滅寧、賽飛寧及賽洛寧防治登革熱病媒蚊，造成 2009 年對第滅寧、賽飛寧及賽洛寧產生抗藥性的族群比例增加。由埃及斑蚊成蟲對殺蟲劑感藥性基線之生物檢定得知，高雄市、屏東縣及台南市各族群埃及斑蚊對賽飛寧、第滅寧、百滅寧及賽洛寧等除蟲菊劑具中度到極高度的抗藥性。以微量盤生化分析埃及斑蚊成蟲的酵素活性，安丹抑制野外族群與敏感對照 NS 品系埃及斑蚊體內乙醯膽鹼酯酶的殘留活性百分比不具明顯差異，各族群對有機磷劑的撲滅松均具高度感受性。由微量盤生化分析也證實對除蟲菊劑產生抗藥性的埃及斑蚊會提升麩胱甘肽硫轉基酶、細胞色素 P450 單氧化酶及 β -酯酶等酵素活性吸光值，顯示對除蟲菊劑的抗藥性與埃及斑蚊體內解毒酵素活性增加有關。

關鍵詞：埃及斑蚊、抗藥性、監測、生化分析。

*論文聯繫人

Corresponding email: insecta@mail.chna.edu.tw

埃及斑蚊成蟲的抗藥性 253

前 言

登革熱是一種熱帶地區流行的病毒病，主要分布於亞洲、中南美洲、非洲及澳洲北部等地。埃及斑蚊 (*Aedes aegypti*) 及白線斑蚊 (*Ae. albopictus*) 是台灣地區傳播登革熱的主要二種病媒蚊 (Hwang, 1991)。由於目前沒有疫苗及治療藥劑防治登革熱傳播 (Thomas, 2011)，有效徹底清除斑蚊幼蟲的孳生源，可使登革熱的防治工作達事半功倍之效。但是在登革熱流行期，仍需進行緊急化學防治，才能殺滅帶病毒的病媒蚊。美國環保署 (U.S. Environmental Protection Agency) 肯定殺蟲劑在公共衛生扮演重要的角色，化學藥劑施用應被列為蚊蟲綜合防治體系的重要措施，以殺蟲劑防治騷擾性的昆蟲和公共衛生害蟲，可大幅降低人類罹患疾病的風險 (Rose, 2001)。因此在擬定化學防治策略時，監測登革熱病媒蚊對化學藥劑的抗藥性，實為重要的工作 (Lin *et al.*, 1997; Macoris *et al.*, 2003)。自 1987 年台灣地區爆發登革熱以後，幾乎每年均出現規模不等的本土疫情，根據衛生福利部疾病管制署統計自 1998 年至 2012 年的資料，台灣地區的本土病例有 98.4% 是發生在南區 (台南市、嘉義縣市及雲林縣) 及高屏區，主要發生的縣市是高雄市 (68.1%)、台南市 (23.3%) 及屏東縣 (6.1%) (Anonymous, 2013)。因此，為有效進行登革熱病媒蚊的化學防治，須瞭解台灣南部地區埃及斑蚊成蟲對殺蟲劑的抗藥性，以擬定適切的化學防治策略，選擇有效的防治藥劑。

世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 於 1960 年建立以鑑別濃度 (diagnostic dose) 並依照標準作業流程，進行蚊蟲對殺蟲劑抗藥性的監測 (Anonymous, 1960)。鑑別濃度的是依照蚊蟲對化學藥劑感

受性的差異，得以鑑別出感性品系及抗性品系。如果死亡率達 98~100% 稱為感性品系，若死亡率低於 80% 則為抗性品系，若死亡率介於 80~97%，則屬於中等程度的抗性或需再進一步確認抗藥性情形 (Davidson and Zahar, 1973)。WHO 於 1998 年修正以鑑別濃度判別抗藥性的標準，提出當測試族群的供試蚊蟲多於 100 隻，以鑑別濃度測試之死亡率 < 95%，即可被懷疑可能存在抗藥性的現象 (Anonymous, 1998a)。但是不同國家的病媒蚊對殺蟲劑產生抗藥性的情況並不一致，因此要如何訂定抗藥性監測所使用的鑑別濃度？WHO 建議應於不同國家及區域進行當地蚊蟲對藥劑感受性之生物檢定，再以感性品系對殺蟲劑感藥性基線的資料，建立 LC₉₉ 的兩倍濃度做為鑑別濃度進行田間族群例行性的抗藥性監測 (Macoris *et al.*, 2005)。為提昇緊急噴藥防治的效益，進行田間病媒蚊抗藥性監測將是登革熱防治成功的要件。

本研究自 2002 至 2012 年，由台南、高雄及屏東地區採集埃及斑蚊，於實驗室飼養繁殖，以 WHO 藥膜進行南部地區埃及斑蚊成蟲對殺蟲劑之感受性生物檢定，藥膜的藥劑種類包括安丹 (propoxur, 0.10%)、撲滅松 (fenitrothion, 1%)、賽飛寧 (cyfluthrin, 0.15%)、第滅寧 (deltamethrin, 0.05%)、依芬寧 (etofenprox, 0.50%)、百滅寧 (permethrin, 0.75%) 及賽洛寧 (lambda cyhalothrin, 0.05%) 等七種。藉此瞭解南部地區埃及斑蚊對殺蟲劑產生抗藥性的變動情形，及探討埃及斑蚊成蟲對殺蟲劑的抗藥性與歷年殺蟲劑施用的相關性。再以系列濃度稀釋藥液製備的藥膜，建立埃及斑蚊成蟲對殺蟲劑之感藥性基線，討論以感性品系對殺蟲劑之感藥性基線求得 LC₉₉ 兩倍濃度之鑑別濃度與 WHO 藥膜使用的鑑別濃度，進行評估判別埃及斑蚊成蟲抗

藥性可能造成的差異。另外以微量盤分析酵素的方法，進行南部地區埃及斑蚊成蟲的酵素活性分析，探討南部地區埃及斑蚊對殺蟲劑的抗藥性機制，提出對抗藥性蚊蟲防治策略的建議。

材料與方法

一、供試斑蚊品系建立

本研究使用埃及斑蚊 NS 品系及 Bora-Bora 品系做為敏感對照品系，NS 品系是國立陽明大學寄生蟲所自 1987 年建立的實驗室品系，Bora-Bora 品系是 1994 年衛生署疾病管制局自英國引進。

自 2002 至 2012 年分別於南部地區放置誘卵筒，建立各區各年度埃及斑蚊供試田間族群。高雄市建立供試田間族群包括苓雅區、前鎮區、三民區、大寮區、小港區、左營區、前金區、新興區、楠梓區、鼓山區、旗津區、鹽埕區、鳳山區、岡山區及林園區，共計進行 129 次野外族群的抗藥性監測。屏東縣建立供試田間族群包括屏東中區、屏東北區、琉球鄉及東港鎮，共計進行 55 次野外族群的抗藥性監測。台南市建立供試田間族群包括東區、中西區、南區、北區、安平區、安南區、仁德區、永康區、關廟區、歸仁區、新化區及新市區，共計進行 44 次野外族群的抗藥性監測。

本研究的田間族群是收集放置於各行政區內 4~5 個里的誘卵筒所誘集的卵，經孵化、分類後分別建立。

二、斑蚊飼養

斑蚊幼蟲飼養於 $23.5 \times 17 \times 7.5$ cm 的塑膠盆，混合台糖酵母粉與豬肝粉 (1:1) 餵飼，每盆約飼養 300~400 隻幼蟲，逐日刮去水膜並添加飼料。待斑蚊化蛹後，將蛹挑出

放於水杯，再放入壓克力養蟲籠中 ($20 \times 20 \times 30$ cm)，供給 5% 糖水。以小白鼠供雌蚊吸血，以水杯浸漬紙片供成蚊產卵，待卵片乾燥後再放入水中，即可得到一齡幼蟲，卵片保留期不超過一個月。養蟲室溫度維持於 $25 \sim 28^\circ\text{C}$ ，相對濕度約為 70%，光照 12 小時、黑暗 12 小時。

三、埃及斑蚊成蟲對 WHO 藥膜之感受性生物檢定

採購安丹 (propoxur, 0.10%)、撲滅松 (fenitrothion, 1%)、賽飛寧 (cyfluthrin, 0.15%)、第滅寧 (deltamethrin, 0.05%)、依芬寧 (etofenprox, 0.50%)、百滅寧 (permethrin, 0.75%) 及賽洛寧 (lambda cyhalothrin, 0.05%) 等七種 WHO 浸漬藥液的藥膜，參考世界衛生組織進行蚊蟲抗藥性檢定的標準方法 (Anonymous, 1981a, b)，逐年分別測試各地區建立之埃及斑蚊成蟲對各供試藥劑的感受性。

使用世界衛生組織成蟲抗藥性套組進行試驗，於測試管 (exposure tubes) 內放入 25 隻羽化後 5~7 日齡未吸血雌成蟲，令供試雌蚊接觸藥膜 2 小時，再將供試雌蚊轉移至不含藥膜的觀察管 (holding tubes)，供給含 5% 糖水的棉球，記錄 24 小時的死亡率。試驗進行時將各族群供試埃及斑蚊與敏感對照品系同時進行測試，試驗進行 4~5 次重複，以不含藥劑成分的空白對照藥膜進行對照組試驗。對照組的死亡率如 $< 5\%$ 則不需校正，若介於 $5 \sim 20\%$ 則需以 Abbott's 公式進行死亡率校正 (Anonymous, 1998a)。

四、建立埃及斑蚊成蟲對殺蟲劑感藥性基線之生物檢定

將百滅寧 (92.0% w/w，昆言企業股份有

限公司)、賽飛寧 (90.0% w/w, 拜耳作物科學股份有限公司)、賽洛寧 (2.43% w/w, 宇慶化工股份有限公司)、第滅寧 (98% w/w, 昆言企業股份有限公司) 以及撲滅松 (93%, 萬全國際事業有限公司) 等五種殺蟲劑, 以酒精進行系列濃度稀釋, 取 0.9 mL 稀釋液均勻滴加於 12 × 15 cm 濾紙上 (Whatman No. 1), 製成不同濃度的藥膜 (百滅寧、賽飛寧、賽洛寧、第滅寧及撲滅松試驗使用之終濃度分別為 10、0.5、1.22、0.5 及 0.05 g a.i./m²)。使用世界衛生組織檢測成蟲抗藥性套組裝置, 進行敏感對照品系 (NS 品系) 及 2010 年建立的台南市關廟區 (GM, TN)、台南市中西區 (WC, TN)、台南市東區 (E, TN)、屏東市北區 (N, PT)、高雄市鳳山北區 (N, FS, KS)、高雄市前鎮區 (QZ, KS)、高雄市鳳山南區 (S, FS, KS) 及高雄市苓雅區 (LY, KS) 等野外族群埃及斑蚊成蟲對殺蟲劑的感藥性試驗。令羽化後 5~7 日齡未吸血雌成蟲接觸藥膜 2 小時, 再移至觀察管, 供給含 5% 糖水的棉球, 記錄 24 小時的死亡率。試驗進行至少 5 個系列濃度及 4 次重複試驗, 對照組以酒精製備之藥膜進行試驗。對照組的死亡率如 < 5% 則不需校正, 若介於 5~20% 則需以 Abbott's 公式進行死亡率校正 (Anonymous, 1998a)。

五、埃及斑蚊雌成蟲酵素活性分析

修改 WHO 微量盤分析酵素的方法, 分析敏感對照品系 (NS) 及 2010 年建立的台南市關廟區 (GM, TN)、台南市中西區 (WC, TN)、台南市東區 (E, TN)、屏東市北區 (N, PT)、高雄市鳳山北區 (N, FS, KS)、高雄市前鎮區 (QZ, KS)、高雄市鳳山南區 (S, FS, KS) 及高雄市苓雅區 (LY, KS) 等各野外族群埃及斑蚊雌成蟲的酵素活性。將羽化後 5~7 日齡未吸血雌成蟲放入冰箱冷凍約 5 分鐘,

取出後將單隻分別放於小型離心管中 (eppendorf), 加入 200 μL 的去離子水, 以小型研磨杵在碎冰上研磨, 並暫存與冰浴中, 研磨液樣品在 2 小時內分析完畢, 每一族群分析 40 個樣品, 每一個樣品同時進行麩胱苷肽硫轉基酶、細胞色素 P450 單氧化酶、α-酯酶、β-酯酶及乙醯膽鹼酯酶的酵素活性分析。

麩胱苷肽硫轉基酶 (glutathione-S-transferase, GST) 的分析方法是於微量盤加入 20 μL 研磨液, 加入 200 μL 反應混合液 [將 1 mL、63 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) 及 20 mL、10 mM 麩胱苷肽 (glutathione, GSH) 混合], 於室溫反應 20 分鐘, 使用 Thermo ELISA Reader 測定波長 340 nm 的吸光值。對照組以 20 μL 去離子水取代研磨液 (Anonymous, 1998b)。

細胞色素 P450 單氧化酶 (cytochrome P450 monooxygenase, CYP) 的分析方法是於微量盤加入 20 μL 研磨液, 加入 200 μL 反應混合液 [將以甲醇配製的 0.08 M TMB (tetramethyl benzidine) 與 pH 5.0、0.25 M 醋酸鈉以 1:3 比例混合], 再加入 25 μL 3% 雙氧水, 反應 30 分鐘, 使用 Thermo ELISA Reader 測定波長 630 nm 的吸光值。對照組以 20 μL 去離子水取代研磨液 (Anonymous, 1998b)。

α-酯酶 (α-esterase) 及 β-酯酶 (β-esterase) 的分析方法是先製備反應混合液, 將 20 mL、0.1 M、pH 7.2 磷酸鈉緩衝溶液與 200 μL、30 mM α-naphthyl acetate (α-NA) 或 β-naphthyl acetate (β-NA) 丙酮溶液混合。微量盤中加入 10 μL 研磨液, 再加入 200 μL 反應混合液, 於室溫反應 15 分鐘, 加入 50 μL、fast blue B salt 染液進行染色, 使用 Thermo ELISA Reader 測定波長 570 nm 的吸光值。對照組以 10 μL 去離子水取代

研磨液 (Anonymous, 1998b)。

乙醯膽鹼酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 的分析方法是於兩個微量盤中各加入研磨液 20 μL ，分別加入 145 μL 含 1% Triton X-100 的磷酸溶液 (pH 7.8)，再加入 10 μL 、0.01 M DTNB (dithio-bis-2-nitrobenzoic acid) 染劑，控制組加入 25 μL 、0.01 M ATChI (acetylthiocholine iodide)，抑制組加入 25 μL 含有 0.2 mM 安丹的 0.01 M ATChI，在室溫反應 1 小時，使用 Thermo ELISA Reader 偵測 405 nm 的吸光值 (Anonymous, 1998b)。計算各族群埃及斑蚊成蟲乙醯膽鹼酯酶的殘留活性百分比 (%) = $(1 - \text{抑制組吸光值} / \text{控制組吸光值}) \times 100\%$ (Anonymous, 1998b)。

蛋白質含量的分析方法是取 10 μL 研磨液於微量盤中，加入 300 μL 5 倍 Bio-Rad Dye Reagent 的去離子水稀釋液，在室溫下反應 15 分鐘，偵測 595 nm 的吸光值。蛋白質濃度標準曲線以去離子水系列稀釋的小牛血清蛋白 (bovin serum albumin, BSA) 溶液訂定，參考標準曲線的吸光值換算出參與反應的蛋白質量 (Anonymous, 1998b)。

六、統計分析

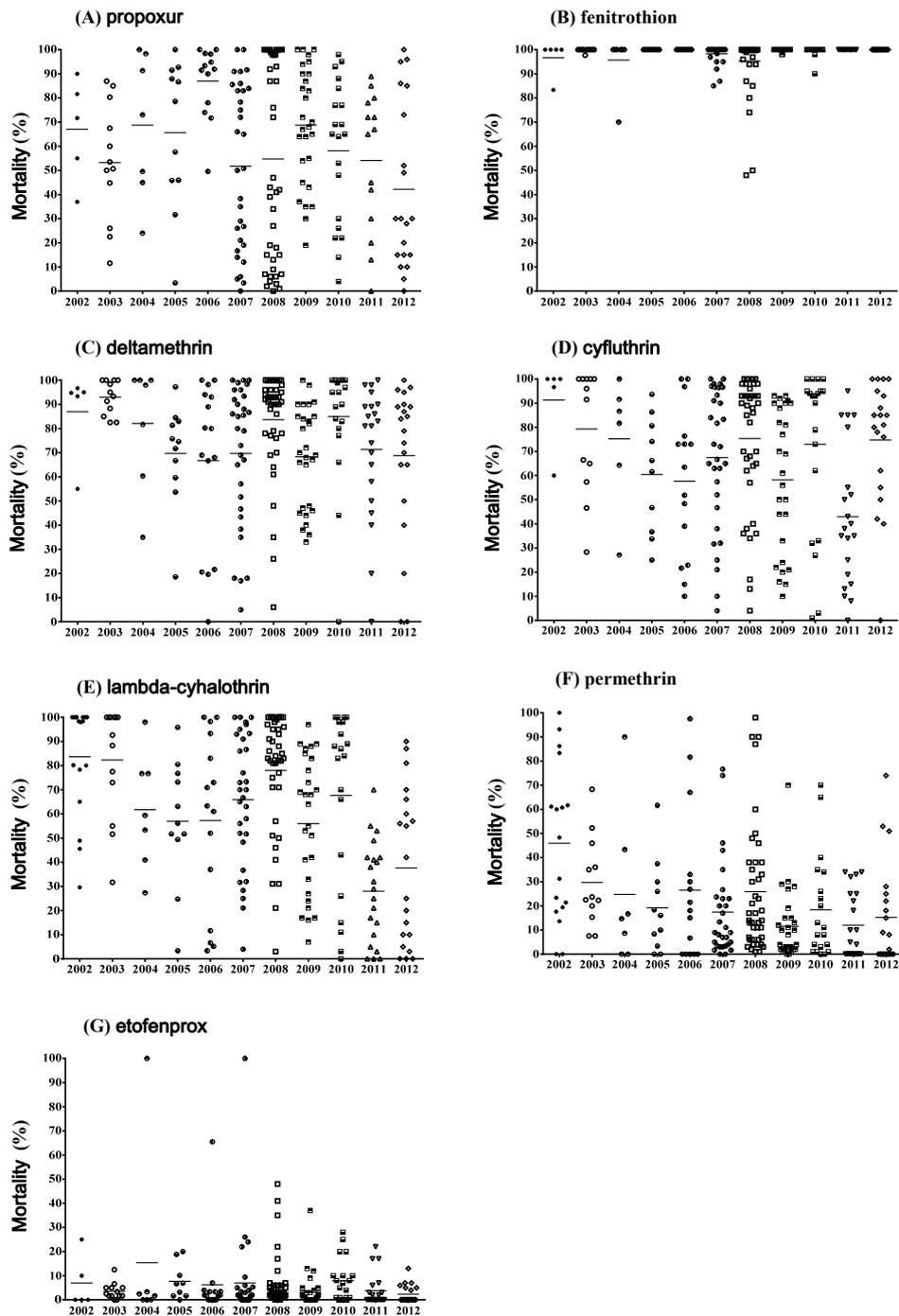
以 SPSS 統計軟體 (SPSS[®] for windows version 12.0) 進行對數機值分析 (probit analysis)，建立各供試族群成蟲對殺蟲劑的感藥性基線，計算各供試殺蟲劑對供試斑蚊成蟲的半致死濃度 (half lethal concentration, LC_{50})。並將田間族群對殺蟲劑的 LC_{50} 值除以敏感對照品系對殺蟲劑的 LC_{50} 值計算抗性比值 (RR_{50})。以 SPSS 軟體進行 ANOVA 及 Tukey HSD tests 分析敏感對照品系與南部地區埃及斑蚊體內酵素活性的差異。

結 果

一、埃及斑蚊成蟲對 WHO 藥膜之感受性生物檢定

本研究自 2002 至 2012 年逐年進行高雄市、屏東縣及台南市埃及斑蚊成蟲之感受性生物檢定。以空白對照藥膜進行對照組的死亡率皆小於 5%，不需校正死亡率。以敏感對照品系 (NS 品系或 Bora-Bora 品系) 進行試驗的死亡率皆大於 99%，可確認藥膜具有殺蟲效果。圖一是各年度所有供試野外族群接觸 WHO 藥膜的死亡率平均值。比較歷年供試埃及斑蚊成蟲對各藥劑的抗藥性檢測結果，僅撲滅松於各年度死亡率皆維持將近 100%，顯示南部地區埃及斑蚊未出現對撲滅松產生抗藥性的族群。第滅寧、賽飛寧、賽洛寧及百滅寧的死亡率平均值，雖然歷年資料顯示變動的情形，但均呈現逐年遞減的趨勢。第滅寧的死亡率平均值約維持在 90~70% 之間；賽飛寧於 2002 年的死亡率平均值為 90%，至 2011 年降為 40%；賽洛寧的死亡率平均值在 2002 年及 2003 年維持在 80% 以上，至 2011 年降至 30% 以下；百滅寧的死亡率逐年遞減的情形更為明顯；依芬寧的結果顯示不宜推薦用於埃及斑蚊防治；安丹雖未推薦用於防治埃及斑蚊，各年度死亡率也呈現逐年遞減的趨勢，唯下降趨勢較為和緩。

根據 WHO 以單一濃度鑑別蚊蟲抗藥性的判別標準，當 24 小時死亡率介於 98~100%，97~80% 和 < 80%，分別表示該族群對殺蟲劑的感受性分類為感性品系、中等抗性或疑似抗性品系 (需進一步確認) 及抗性品系 (Anonymous, 1960)。為瞭解高雄市、屏東縣及台南市埃及斑蚊的抗藥性情形，且每年進行監測的野外品系數量並不一致，因此依據上述 WHO 訂定的判斷標準，當死亡率低於 80% 即



圖一 自 2002 至 2012 年以 WHO 鑑別濃度藥膜檢定南部地區埃及斑蚊的死亡率。圖中每一個點表示一個供試族群的死亡率平均值，測試族群包括高雄市、屏東縣及台南市的野外族群，圖中的短橫線是該年度的死亡率平均值。

Fig. 1. Scatter plots of the average mortality in *Aedes aegypti* collected from southern Taiwan during 2002-2012, using WHO diagnostic concentrations. The mean mortality for each year is shown (horizontal bar).

判定為具抗藥性的品系，死亡率大於 80% 則判定為非抗藥品系，分別計算 2002 至 2012 年各年度於高雄市、屏東縣及台南市埃及斑蚊族群對殺蟲劑具抗藥性的百分比。高雄市埃及斑蚊成蟲族群對安丹產生抗藥性的比例最高，屏東縣次之，台南市最低（圖二，A）。各地區族群的監測結果顯示對撲滅松產生抗藥性的百分比皆為 0%（圖二，B）。台南地區埃及斑蚊成蟲族群對第滅寧產生抗藥性的比例最低，屏東縣次之，高雄地區族群的抗性比例最高（圖二，C）。屏東縣族群對賽飛寧產生抗藥性的比例最高，高雄市次之，台南市最低（圖二，D）。屏東縣族群對賽洛寧產生抗藥性的比例最高，高雄市次之，台南市最低（圖二，E）。高雄市及屏東縣族群對百滅寧產生抗藥性的百分比皆為 100%，台南市族群在 2008 年後對百滅寧產生抗藥性的百分比達 100%（圖二，F）。高雄市及台南市族群對依芬寧產生抗藥性的百分比皆為 100%，屏東縣族群在 2007 年後對依芬寧產生抗藥性的百分比達 100%（圖二，G）。結果顯示，各地區埃及斑蚊對殺蟲劑的感受性具地區的差異性。

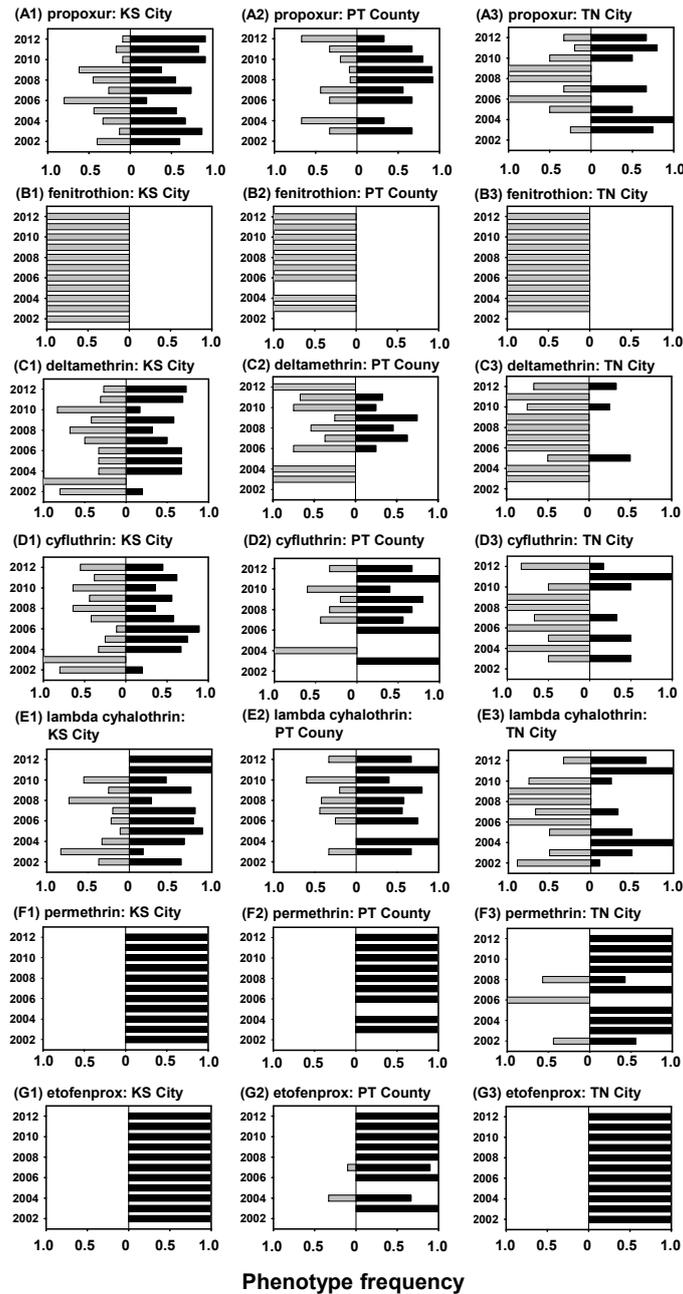
二、建立埃及斑蚊成蟲對殺蟲劑感藥性基線之生物檢定

使用世界衛生組織成蟲抗藥性套組進行 NS 品系，台南市關廟區、中西區、東區，屏東市北區及高雄市鳳山北區、前鎮區、鳳山南區及苓雅區埃及斑蚊成蟲族群對百滅寧、賽飛寧、賽洛寧、第滅寧及撲滅松等殺蟲劑之感受性生物檢定，求得各供試殺蟲劑對供試斑蚊成蟲的半致死濃度 (LC_{50})（圖三）。並將田間族群對殺蟲劑的 LC_{50} 值除以敏感對照品系對殺蟲劑的 LC_{50} 值計算抗性比值 (RR_{50})，當抗性比值為 < 10 、 $10 \sim 40$ 、 $40 \sim 160$ 和 > 160 ，則分別表示田間品系對該殺蟲劑具有低度、中

度、高度及極高度的抗藥性 (Kim *et al.*, 1999)。結果顯示埃及斑蚊成蟲對撲滅松均具高度感受性 ($RR_{50} = 1.08 \sim 2.10$)。高雄市苓雅區 ($RR_{50} = 136.77$)、鳳山北區 ($RR_{50} = 42.26$) 及屏東市北區 ($RR_{50} = 77.74$) 對第滅寧具高度抗藥性，其餘地區呈現中度抗藥性 ($RR_{50} = 12.35 \sim 39.03$)。高雄市苓雅區對賽飛寧 ($RR_{50} = 662.43$) 呈現極高度抗藥性，高雄市前鎮區 ($RR_{50} = 53.57$) 及鳳山南區 ($RR_{50} = 42.90$) 呈現高度抗藥性，台南市及屏東市北區皆呈現中度抗藥性 ($RR_{50} = 16.46 \sim 39.79$)。高雄市苓雅區 ($RR_{50} = 490.77$)、鳳山北區 ($RR_{50} = 239.61$) 及鳳山南區 ($RR_{50} = 968.87$) 對賽洛寧具極高度抗藥性，高雄市前鎮區 ($RR_{50} = 44.06$) 呈現高度抗藥性，其餘地區呈現中度抗藥性 ($RR_{50} = 10.03 \sim 33.23$)。高雄市苓雅區 ($RR_{50} = 57.00$) 及鳳山南區 ($RR_{50} = 66.32$) 對百滅寧具高度抗藥性，台南市關廟區呈現低度抗藥性 ($RR_{50} = 9.75$)，其餘地區呈現中度抗藥性 ($RR_{50} = 20.45 \sim 38.66$)。整體而言高雄市各區埃及斑蚊的抗藥性情形最為嚴重。

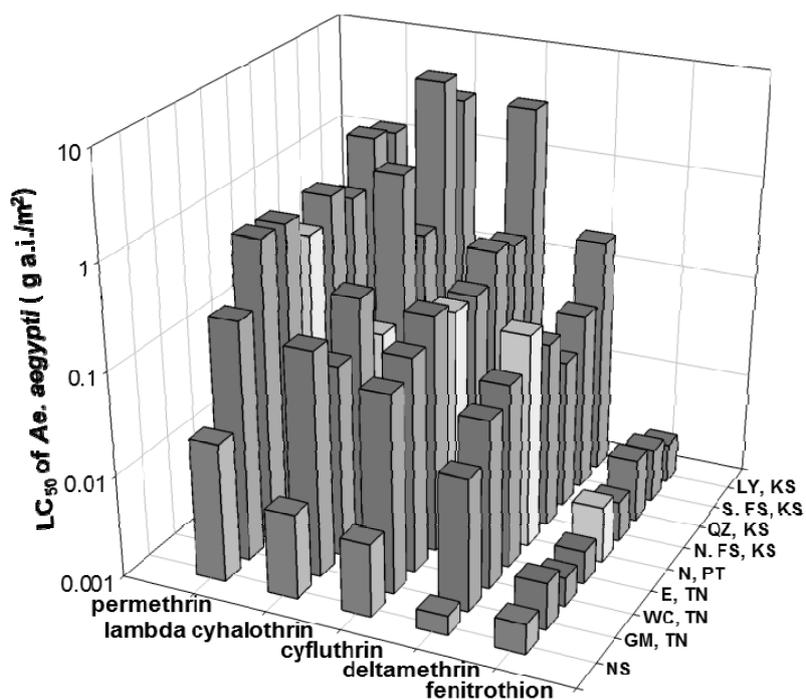
三、埃及斑蚊雌成蚊酵素活性分析

進行蛋白質含量分析結果確認，各供試族群成蟲個體的蛋白質含量不具顯著差異，因此未再進行酵素的比活性 (specific activity) 計算，僅以吸光值代表酵素活性。台南市中西區、東區，屏東市北區及高雄市前鎮區及苓雅區埃及斑蚊成蟲族群之麩胱甘肽硫轉基酶活性吸光值與敏感對照 NS 品系間均具極顯著 ($p < 0.001$) 差異，台南市關廟區、高雄市鳳山北區及鳳山南區埃及斑蚊成蟲族群則不具差異性（圖四，A）。台南市東區及高雄市苓雅區埃及斑蚊成蟲族群的細胞色素 P450 單氧化酶活性吸光值與敏感對照 NS 品系間具顯著 ($p < 0.05$) 及極顯著 ($p < 0.001$) 差異（圖



圖二 自 2002 至 2012 年以 WHO 鑑別濃度藥膜檢定高雄市、屏東縣及台南市品系埃及斑蚊對安丹 (A)、撲滅松 (B)、第滅寧 (C)、賽飛寧 (D)、賽洛寧 (E)、百滅寧 (F) 及依芬寧 (G) 產生抗藥性 (黑色, 死亡率 < 80%) 及未產生抗藥性 (灰色, 死亡率 ≥ 80%) 的族群比例。

Fig. 2. The proportion of cohorts classed as resistant (black, mortality < 80%) and not resistant (gray, mortality ≥ 80%) to propoxur (A), fenitrothion (B), deltamethrin (C), cyfluthrin (D), lambda cyhalothrin (E), permethrin (F) and etofenprox (G) in *Aedes aegypti* collected from Kaohsiung City (KS City), Pingtung County (PT County) and Tainan City (TN City) during 2002-2012, using WHO diagnostic concentrations.

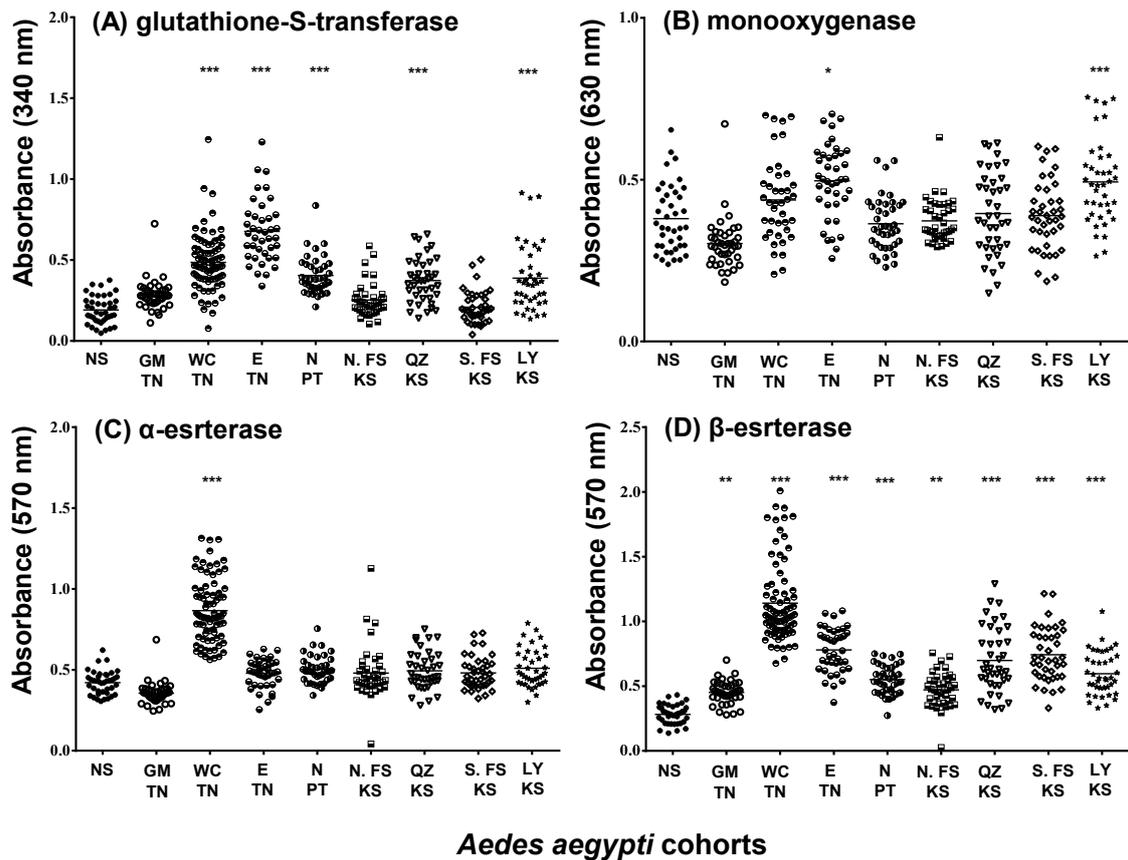


圖三 2010年進行百滅寧、賽洛寧、賽飛寧、第滅寧及撲滅松對南部地區及敏感對照品系 (NS 品系) 埃及斑蚊成蟲的生物檢測。南部地區族群包括台南市關廟區 (GM, TN)、台南市中西區 (WC, TN)、台南市東區 (E, TN)、屏東北區 (N, PT)、高雄市鳳山北區 (N, FS, KS)、高雄市前鎮區 (QZ, KS)、高雄市鳳山南區 (S, FS, KS) 及高雄市苓雅區 (LY, KS)。

Fig. 3. Bioassays of *Aedes aegypti* adults from a susceptible strain (NS strain), Tainan Guanmiao (GM, TN) cohort, Tainan West Central (WC, TN) cohort, Tainan East (E, TN) cohort, Pingtung North (N, PT) cohort, Kaohsiung Northern Fengshan (N, FS, KS) cohort, Kaohsiung Qianzhen (QZ, KS) cohort, Kaohsiung Southern Fengshan (S, FS, KS) cohort and Kaohsiung Lingya (LY, KS) cohort in 2010, with permethrin, lambda cyhalothrin, cyfluthrin, deltamethrin and fenitrothion.

四, B)。台南市中西區品系埃及斑蚊成蟲族群的 α -酯酶活性吸光值敏感對照 NS 品系間具極顯著 ($p < 0.001$) 差異 (圖四, C)。除了台南市關廟區及高雄市鳳山北區埃及斑蚊成蟲族群具非常顯著差異外 ($p < 0.01$)，其餘各區埃及斑蚊成蟲族群的 β -酯酶活性吸光值與敏感對照 NS 品系間均具極顯著 ($p < 0.001$) 差異 (圖四, D)。比較各族群以安丹抑制乙醯膽鹼酯酶的殘留活性百分比，台南市關廟區及高雄

市鳳山北區埃及斑蚊成蟲族群的殘留活性百分比與對照 NS 品系間具極顯著 ($p < 0.001$) 及非常顯著 ($p < 0.01$) 差異 (圖五)。南部地區埃及斑蚊雌成蚊的麩胱苷肽硫轉基酶活性吸光值、細胞色素 P450 單氧化酶活性吸光值及 β -酯酶活性吸光值與敏感對照性 NS 品系間具有差異性，以安丹抑制乙醯膽鹼酯酶的殘留活性百分比與敏感對照 NS 品系間的差異性不明顯。



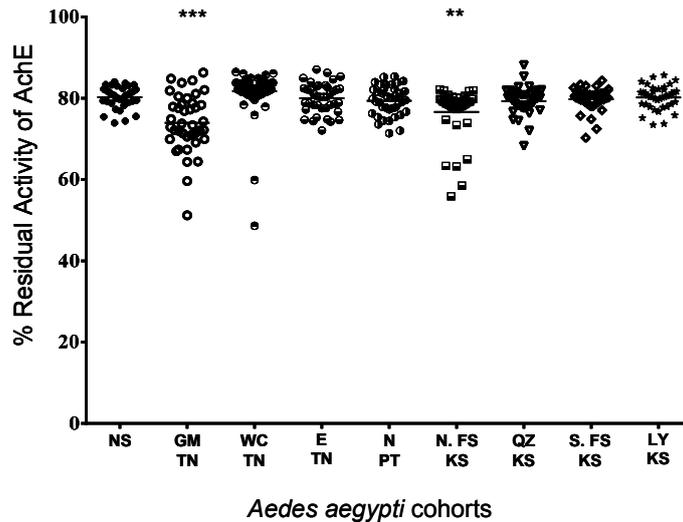
圖四 台南市關廟區 (GM, TN)、台南市中西區 (WC, TN)、台南市東區 (E, TN)、屏東北區 (N, PT)、高雄市鳳山北區 (N, FS, KS)、高雄市前鎮區 (QZ, KS)、高雄市鳳山南區 (S, FS, KS)、高雄市苓雅區 (LY, KS) 及敏感對照品系 (NS 品系) 埃及斑蚊成蟲羰肼胺苷狀硫轉基酶 (A)、細胞色素 P450 單氧化酶 (B)、 α -酯酶 (C) 及 β -酯酶 (D) 之活性吸光值。圖中每一個點表示一隻供試成蟲的分析結果，圖中的短橫線是該族群的平均酵素活性吸光值。星號表示以 Tukey HSD tests 分析敏感對照品系與南部地區埃及斑蚊體內酵素活性具顯著差異 (*, $p < 0.05$)、非常顯著差異 (**, $p < 0.01$) 及極顯著差異 (***, $p < 0.001$)。

Fig. 4. Scatter plots of corrected absorbance values of *Aedes aegypti* adults from a susceptible strain (NS strain), Tainan Guanmiao (GM, TN) cohort, Tainan West Central (WC, TN) cohort, Tainan East (E, TN) cohort, Pingtung North (N, PT) cohort, Kaohsiung Northern Fengshan (N, FS, KS) cohort, Kaohsiung Qianzhen (QZ, KS) cohort, Kaohsiung Southern Fengshan (S, FS, KS) cohort and Kaohsiung Lingya (LY, KS) cohort for glutathione-S transferase (A), cytochrome P450 monooxygenase (B), α -esterase (C) and β -esterase (D) enzymes. Mean absorbance for each cohort is shown (horizontal bar). *Aedes aegypti* cohorts with elevated enzymatic activity compared to the NS strain are marked with an asterisk. (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$, Tukey HSD tests).

討 論

根據 WHO 統計 2004 至 2010 年各國登

革熱案例的年平均值，越南為 91,321 例，泰國為 60,205 例，菲律賓為 54,639 例，馬來西亞為 42,568 例，新加坡為 7,389 例



圖五 台南市關廟區 (GM, TN)、台南市中西區 (WC, TN)、台南市東區 (E, TN)、屏東北區 (N, PT)、高雄市鳳山北區 (N, FS, KS)、高雄市前鎮區 (QZ, KS)、高雄市鳳山南區 (S, FS, KS)、高雄市苓雅區 (LY, KS) 及敏感對照品系 (NS 品系) 埃及斑蚊成蟲乙酰膽鹼酯酶殘留活性百分比。圖中的短橫線是該品系的平均值。星號表示以 Tukey HSD tests 分析敏感對照品系與南部地區埃及斑蚊乙酰膽鹼酯酶抑制百分率具非常顯著差異 (**, $p < 0.01$) 及極顯著差異 (***, $p < 0.001$)。

Fig. 5. Scatter plots of the percentage residual activity of AchE of *Aedes aegypti* cohorts from the susceptible strain (NS strain), Tainan Guanmiao (GM, TN) cohort, Tainan West Central (WC, TN) cohort, Tainan East (E, TN) cohort, Pingtung North (N, PT) cohort, Kaohsiung Northern Fengshan (N, FS, KS) cohort, Kaohsiung Qianzhen (QZ, KS) cohort, Kaohsiung Southern Fengshan (S, FS, KS) cohort and Kaohsiung Lingya (LY, KS) cohort. The mean percentage residual activity of AchE for each cohort is shown (horizontal bar). *Aedes aegypti* cohorts with altered enzymatic activity compared to the NS strain are marked with an asterisk. (**, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$, Tukey HSD tests).

(Anonymous, 2012)。疾病管制署的資料紀錄臺灣地區於 2004~2010 年的年平均案例僅為 919 例，顯見以孳生源清除為主，當病例發生時噴灑殺蟲劑進行緊急防治的策略值得肯定，中央與地方政府、基層人員與民眾合作無間，是台灣地區登革熱防治成功的重要關鍵 (Tung *et al.*, 2011)。

疾病管制署探討登革熱成蟲化學防治效益及其應用，指出國內實施空間噴灑殺蟲劑防治登革熱二十多年，登革熱疫情每年皆有發生，並引用新加坡於 2005 年起減少噴藥頻率並未明顯增加病例數的資料，再加上執行化學

防治花費政府大量物力、人力，且進行戶內噴藥引起民怨的糾紛不斷，因此建議國內未來防治登革熱宜審慎評估噴藥之必要性並減少噴藥 (Wang *et al.*, 2009)。疾病管制署探討 2009 年高屏區本土性登革熱疫情與防治成效，指出高雄市小港區與前鎮區因孳生源清出量能的明顯差異而影響疫情控制，認為增強執行清除孳生源之速度與量能，可於數週內有效控制群聚發生病例之疫情 (Lin *et al.*, 2011)。單純分析孳生源清除與疫情防治成效，完全模糊緊急化學防治在 2009 年登革熱疫情防治的助益。高雄市於 2006 年採用修正

的防治策略，以黏捉式誘蚊產卵器防治登革熱病媒蚊，爆發 942 位登革熱病例。越南使用劍水蚤、食蚊魚、蘇力菌等新防治技術防治病媒蚊幼蟲，在疫情發生時並無法有效中斷登革熱病毒傳播循環的途徑 (Anonymous, 2012)。重視清除幼蟲孳生源可預防登革熱，但是當登革熱疫情發生時，緊急噴灑防治殺蟲劑仍為目前及時消滅帶病毒病媒蚊最主要及有效的方法 (Wang *et al.*, 2011)。雖然由登革熱病媒蚊防治噴藥前後成蚊密度調查顯示，單次藥劑防治常僅能達 70% 防治率，因此須配合第二次噴藥方能達到中斷病毒傳播循環的目的 (Wang *et al.*, 2011)。

由於化學殺蟲劑被廣泛使用，病媒蚊對殺蟲劑產生抗藥性往往會阻礙防疫工作的進行 (Tabashick, 1989)。2002 年進行高雄地區埃及斑蚊成蟲的藥效檢定發現對依芬寧、賽洛寧和百滅寧產生抗藥性，當年 (2002 年) 的本土登革熱病例數高達 5,336 例，登革熱疫情難以控制與埃及斑蚊對化學防治採用的藥劑—百滅寧產生抗藥性有關 (Lin *et al.*, 2003)，而撲滅松、第滅寧及賽飛寧則可被推薦用於防治登革熱病媒蚊 (圖二)。因此例行性進行田間病媒蚊抗藥性監測，有助於選擇有效的防治藥劑，提昇緊急噴藥防治的效益。

一般認為昆蟲對殺蟲劑產生抗藥性與藥劑的選汰壓力有關 (Devonshire and Field, 1991)，整理於 2007 至 2008 年防治登革熱的殺蟲劑種類中，台南市選擇使用賽飛寧及第滅寧；屏東縣使用撲滅松；高雄市選擇使用第滅寧、賽飛寧、賽洛寧及撲滅松。在 2009 年賽飛寧、第滅寧、賽洛寧的死亡率平均值均低於 2008 年，撲滅松的結果則無明顯差異 (圖一)。其中第滅寧、賽飛寧及賽洛寧對高雄地區埃及斑蚊確實造成選汰壓力，使得在 2009 年的族群產生抗藥性的百分比均高於 2008 年

(圖二)。台灣南部地區埃及斑蚊對除蟲菊劑的選汰產生抗藥性，但是對有機磷劑卻未產生抗藥性 (Lin *et al.*, 2003; Chang *et al.*, 2009)。使用化學藥劑執行抗藥性管理的策略可藉由田間病媒蚊抗藥性監測，審慎評估並規劃輪替使用不同作用機制的藥劑，以降低抗藥性的發生速率 (Sutherst and Comins, 1979; Georghiou, 1983)。

使用世界衛生組織成蟲抗藥性套組建立埃及斑蚊成蟲對百滅寧、賽飛寧、賽洛寧、第滅寧及撲滅松等殺蟲劑之感藥性基線。比較野外族群及敏感對照品系的半致死濃度 (LC_{50}) 並計算抗性比值 (RR_{50})，除了台南市關廟區埃及斑蚊對百滅寧屬於低度抗藥性之，其餘各族群對除蟲菊劑的抗性比值被歸類為具中等程度到極高程度的抗藥性。此結果與 2008 年進行埃及幼蟲生物檢定的結果一致，台南市關廟區埃及斑蚊對百滅寧的抗性比值最低，其餘南部地區埃及斑蚊幼蟲均對百滅寧表現高度抗藥性 (Lin *et al.*, 2012)，埃及斑蚊成蟲對撲滅松及幼蟲對亞培松等有機磷劑均不具抗藥性。

WHO 建議不同國家及區域宜建立當地敏感對照品系對殺蟲劑之感藥性基線，再以殺蟲劑對敏感對照品系 LC_{99} 的兩倍濃度做為鑑別濃度進行抗藥性監測 (Macoris *et al.*, 2005)。為瞭解自 WHO 採購的藥膜是否適合台灣地區使用，本研究使用敏感對照品系 (NS 品系) 建立對殺蟲劑之感藥性基線。NS 品系是國立陽明大學寄生蟲所自 1987 年建立，由感藥性基線計算 NS 品系對第滅寧及賽飛寧 LC_{99} 的兩倍濃度分別為 0.05% 及 0.1%，與自 WHO 採購的藥膜濃度一致；NS 品系對百滅寧及撲滅松 LC_{99} 的兩倍濃度的值分別為 0.25% 及 0.1%，低於自 WHO 採購的藥膜濃度；NS 品系對賽洛寧 LC_{99} 的兩倍濃度的值為 0.1%，高於自 WHO 採購的藥膜濃度。Macoris

et al. (2005) 分別以巴西實驗室敏感對照品系 (Rockefeller 和 Bora Bora 品系) 建立地區性的抗藥性薦別濃度及 WHO 鑑別濃度進行埃及斑蚊抗藥性監測, 當採用的 WHO 鑑別濃度高於由地區敏感品系建立的數值進行抗藥性監測, 會低估當地抗藥性的情形。相反的, 若採用的 WHO 鑑別濃度低於由地區敏感品系建立的數值進行抗藥性監測, 可能會高估當地抗藥性的情形。未來可進一步以 NS 品系進行台灣地區防治登革熱病媒蚊用藥種類的生物檢定資料, 包括賽滅寧 (cypermethrin)、亞滅寧 (α -cypermethrin)、亞特松 (pirimifos-methyl)、賽酚寧 (cyphenothrin) 等, 建立各殺蟲劑抗藥性的鑑別濃度, 運用於野外族群埃及斑蚊成蟲抗藥性監測, 應可更具體提供現行使用藥劑輪替施藥的建議, 以提高害蟲抗藥性管理的成效。

2006 至 2007 年自高雄及台南地區的建立的埃及斑蚊品系幼蟲, 對除蟲菊劑的抗性是感性品系 (NS 品系) 的 10 倍, 但是對安丹、亞特松及亞培松 (temephos) 則不具抗藥性 (Chang *et al.*, 2009)。2008 年自田間採集埃及斑蚊幼蟲對亞培松均不具明顯抗藥性 (Lin *et al.*, 2012)。由安丹抑制乙醯膽鹼酯酶活性的分析, 野外族群埃及斑蚊體內乙醯膽鹼酯酶的殘留活性百分比與敏感對照 NS 品系間不具明顯差異 (圖五), 此結果可說明撲滅松對南部地區埃及斑蚊成蟲具防治效果, 各族群埃及斑蚊對撲滅松的感受性呈現一致的情形 ($RR_{50} = 1.08 \sim 2.10$)。

多功能氧化酶 (mixed function oxidases, MFOs) 與非特異性酯酶 (non-specific esterase, NSEs) 會提高埃及斑蚊對百滅寧的抗藥性 (Brogdon and McAllister, 1998; Miller, 1988; Ishaaya, 1993), 細胞色素 P450 單氧化酶會參與百滅寧的代謝 (Kasai

et al., 1998)。本研究測定細胞色素 P450 單氧化酶活性的方法是用以偵測昆蟲體內的血基質含量 (heme content), 在未吸血的昆蟲體內則可偵測細胞色素 P450 活性 (Anonymous, 1998b)。台南市東區及高雄市苓雅區埃及斑蚊族群的細胞色素 P450 單氧化酶活性吸光值與敏感對照 NS 品系間具顯著 ($p < 0.05$) 及極顯著 ($p < 0.001$) 差異, 而高雄市苓雅區埃及斑蚊成蟲對第滅寧 ($RR_{50} = 136.77$) 及百滅寧 ($RR_{50} = 57.00$) 具高度抗藥性, 對賽飛寧 ($RR_{50} = 662.43$) 及賽洛寧 ($RR_{50} = 490.77$) 具極高度抗藥性, 細胞色素 P450 單氧化酶的活性增加與高雄市苓雅區埃及斑蚊對除蟲菊劑的抗藥性關係密切。昆蟲體內麩胱苷肽硫轉基酶活性的增加與抗藥性有關, 有機磷劑經去甲基化作用 (dealkylation) 與麩胱苷肽結合, 可加速有毒物質的排泄 (Grant and Matsumura, 1988; Grant, 1991; Grant *et al.*, 1991)。許多吸血昆蟲暴露於多種殺蟲劑後, 體內麩胱苷肽硫轉基酶會高度表現 (Grant and Matsumura, 1988; Ding *et al.*, 2003), 麩胱苷肽硫轉基酶會催化 DDT 代謝成 DDE (Ranson *et al.*, 1997, 2001)。但是針對除蟲菊劑的抗藥性, 麩胱苷肽硫轉基酶可以保護組織, 避免因除蟲菊劑誘導脂質過氧化作用 (lipid peroxidation) 產生的傷害 (Kostaropoulos *et al.*, 2001; Vontas *et al.*, 2001), 因而增加對除蟲菊劑的耐受性 (Che-Mendoza *et al.*, 2009)。實驗結果顯示台南市中西區、東區品系, 屏東市北區品系、高雄市前鎮區及苓雅區埃及斑蚊成蟲體內之麩胱苷肽硫轉基酶活性吸光值與敏感對照 NS 品系間均具極顯著 ($p < 0.001$) 差異, 上述野外族群同時也呈現對除蟲菊劑具程度不等的抗藥性。Wang (1996) 發現協力劑 PBO 可以使亞滅寧對埃及斑蚊幼蟲的毒性增加 23.6

倍，Lin *et al.* (2003) 發現協力劑 PBO (piperobyl butoxide) 及 DEF (S,S,S-tributyl phosphorotrithioate) 可增加百滅寧對埃及斑蚊幼蟲的殺蟲效果。PBO 是細胞色素 P450 單氧化酶的抑制劑，DEF 是酯酶的抑制劑，因此推論埃及斑蚊幼蟲對百滅寧的抗藥性與細胞色素 P450 單氧化酶及酯酶的解毒功能有關。若能結合協力劑與殺幼蟲劑或殺成蟲劑的使用，應可增加病媒防治的成效 (Darriet and Corbel, 2006; Lucia *et al.*, 2009; Maharaj, 2011)。

利用單一鑑別濃度進行田間抗藥性監測，藉由登革熱病媒蚊對不同殺蟲劑種類 WHO 藥膜的感受性，可快速獲得野外族群抗藥性的情形，建立並選擇適合臺灣地區使用的藥膜種類及鑑別濃度，是未來可努力的目標。若能再配合進行野外族群對殺蟲劑的藥效生物檢定、生化分析或分子檢定，可更精準的判斷野外族群的抗藥性情形。本研究整理 2002 至 2012 年南部地區埃及斑蚊成蟲田間抗藥性監測結果，瞭解臺灣南部登革熱好發區主要病媒蚊之抗藥性變化及現況，由生化分析也證實對除蟲菊劑的抗藥性與麩胱甘肽硫轉基酶、細胞色素 P450 單氧化酶及 β -酯酶等解毒酵素活性提升有關。瞭解抗藥性機制方能建議適宜的防治策略，在殺蟲劑中添加協力劑抑制解毒酵素活性，應是可行的方式。另外，加強訓練第一線噴灑藥劑的防疫人員，選用有效的環境用藥，使用霧化效能穩定的噴霧機具，定能有效阻斷登革熱病毒的傳播環，有效完成登革熱病媒蚊緊急防治的工作 (Hsia *et al.*, 2010)。

誌 謝

本文承蒙行政院衛生署疾病管制局科技研究計畫經費補助 (DOH101-DC-1307)，特

此致謝。

引用文獻

- Anonymous.** 1960. Insecticide resistance and vector control. Tenth report of the Expert Committee on Insecticides. WHO Tech Rep Ser 191. Geneva: World Health Organization.
- Anonymous.** 1981a. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquito to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides diagnostic test, WHO/VBC/81.806. Geneva: World Health Organization.
- Anonymous.** 1981b. Criteria and meaning of tests for determining the susceptibility or resistance of insects to insecticides. WHO/VBC/81.806. Geneva: World Health Organization.
- Anonymous.** 1998a. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces. Geneva: World Health Organization.
- Anonymous.** 1998b. Techniques to detect insecticide resistance mechanisms (Field and laboratory manual). WHO/CDS/CPC/MAL/98.6. Geneva: World Health Organization.
- Anonymous.** 2012. Global strategy for dengue prevention and control, 2012-2020. WHO/HTM/NTD/VEM/2012.5. Geneva: World Health Organization.

- Anonymous.** 2013. Centers for Disease Control, R.O.C. (Taiwan) Web site. Available at: <http://nidss.cdc.gov.tw/> Accessed August 10, 2013.
- Brogdon WG, McAllister JC.** 1998. Insecticide resistance and vector control. *Emerg Infect Dis* 4: 605-613.
- Chang C, Shen WK, Wang TT, Lin YH, Hsu EL, Dai SM.** 2009. A novel amino acid substitution in a voltage-gated sodium channel is associated with knockdown resistance to permethrin in *Aedes aegypti*. *Insect Biochem Mol Biol* 39: 272-278.
- Che-Mendoza A, Penilla RP, Rodríguez DA.** 2009. Insecticide resistance and glutathione S-transferases in mosquitoes: a review. *Afr J Biotechnol* 8: 1386-1397.
- Darriet F, Corbel V.** 2006. Laboratory evaluation of pyriproxyfen and spinosad, alone and in combination, against *Aedes aegypti* larvae. *J Med Entomol* 43: 1190-1194.
- Davidson G, Zahar AR.** 1973. The practical implication of resistance of malaria vectors insecticides. *Bull WHO* 49: 475-483.
- Devonshire AL, Field LM.** 1991. Gene amplification and insecticide resistance. *Ann Rev Entomol* 36: 1-23.
- Ding Y, Ortelli F, Rossiter L, Hemingway J, Ranson H.** 2003. The *Anopheles gambiae* glutathione transferase superfamily: Annotation, phylogeny and expression profiles. *BMC Genomics* 4: 35-45.
- Georghiou GP.** 1983. Management of resistance in arthropods. pp 769-792. In: Georghiou GP, Saito T (eds). *Pest Resistance to Pesticides*. Plenum Press, New York.
- Grant DF, Dietze EC, Hammock BD.** 1991. Glutathion-S-transfwease isozymes in *Aedes aegypti*: purification, characterization, and isozyme specific regulation. *Insect Biochem* 21: 421-433.
- Grant DF, Matsumura F.** 1988. Glutathione S-transferase-1 in *Aedes aegypti* larvae: Purification and properties. *Insect Biochem* 18: 615-622.
- Grant DF.** 1991. Evolution of glutathione S-transferase subunits in Culicidae and related Nematocera: Electrophoretic and immunological evidence for conserved enzyme structure and expression. *Insect Biochem* 21: 435-445.
- Hsia WT, Wu PF, Lin C, Yang YC.** 2010. The influence of sprayers and formulations of insecticide droplet subsidence. *Formosan Entomol* 30: 51-63. (in Chinese)
- Hwang JS.** 1991. Ecology of *Aedes* mosquitoes and the relationships with dengue epidemics in Taiwan area. *Chinese J Entomol Special publ* 6: 105-127. (in Chinese)
- Ishaaya I.** 1993. Insect detoxifying enzymes: their importance pesticide synergism and resistance. *Arch Insect*

- Biochem Physiol 22: 263-276.
- Kasai S, Weerashinghe IS, Shono T.** 1998. P450 monooxygenases are an important mechanism of permethrin resistance in *Culex quinquefasciatus* Say larvae. *Arch Insect Biochem Physiol* 37: 47-56.
- Kim, YJ, Lee YJ, Kim GH, Lee SW, Ahn YJ.** 1999. Toxicity of tebufenpyrad to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Amblyseius wormsleyi* (Acari: Phytoseiidae) under laboratory and field conditions. *J Econ Entomol* 92: 187-192.
- Kostaropoulos I, Papadopoulos AI, Metaxakis A, Boukouvala E, Papadopoulou-Mourkidou E.** 2001. Glutathione S-transferase in the defense against pyrethroids in insects. *Insect Biochem Mol Biol* 31: 313-319.
- Lin HJ, Duan YC, Chen YS, Huang CC, You CY, Chen MJ, Chang CC, Lin LR.** 2011. Initial investigation of indigenous dengue fever situation and efficacy of prevention measures in Kaohsiung and Pingtung areas in Taiwan, 2009. *Epidemiol Bull.* 27: 228-238. (in Chinese)
- Lin YH, Chen JY, Hsu EL.** 1997. Insecticide resistance and *management strategy* in mosquito. In: Liu YC, Lee SJ, Tu WC, Hung YT (eds). Proceedings of the 9th seminar on the control of vectors and pests; 1997 May 1-2; Taichung, Taiwan: Environmental Protection Administration, R.O.C. pp 101-109. (in Chinese)
- Lin YH, Wu HH, Hsu EL, Chang NT, Luo YP.** 2012. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* (Skuse) larvae in southern Taiwan. *Formosan Entomol* 32: 107-121. (in Chinese)
- Lin YH, Wu SH, Hsu EL, Teng HJ, Ho CM, Pai HH.** 2003. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* during dengue epidemics in Taiwan, 2002. *Chinese J Entomol* 23: 263-274. (in Chinese)
- Lucia A, Harburguer L, Licastro S, Zerba E, Masuh H.** 2009. Efficacy of a new combined larvicidal-adulticidal ultralow volume formulation against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), vector of dengue. *Parasitol Res* 104: 1101-1107.
- Macoris MLG, Andrighetti MTM, Nalon KCR, Garbeloto VC, Caldas Júnior AL.** 2005. Standardization of bioassay for monitoring resistance to insecticides in *Aedes aegypti*. *Dengue Bull* 29: 176-182.
- Macoris MLG, Andrighetti MTM, Takaku L, Glasser CM, Garbeloto VC, Bracco JE.** 2003. Resistance of *Aedes aegypti* from the state of São Paulo, Brazil, to organophosphates insecticides. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 98: 703-708.
- Maharaj R.** 2011. Global trends in insecticide resistance and impact on disease vector control measures. *Open Access Insect Physiol* 3: 27-33.
- Miller TM.** 1988. Mechanisms of resistance to pyrethroid insecticides, *Parasitol*

Today 4: S3-S7.

- Ranson H, Prapanthadara L, Hemingway J.** 1997. Cloning and characterization of two glutathione S-transferases from a DDT-resistant strain of *Anopheles gambiae*. *Biochem J* 324: 97-102.
- Ranson H, Rossiter L, Ortelli F, Jensen B, Wang X, Roth CW, Collins FH, Hemingway J.** 2001. Identification of a novel class of insect glutathione S-transferases involved in resistance to DDT in the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Biochem J* 359: 295-304.
- Rose RI.** 2001. Pesticides and public health: integrated methods of mosquito management. *Emerg Infect Dis* 7: 17-23.
- Sutherst RW, Comins HN.** 1979. The management of acaricide resistance in the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae), in Australia. *Bull Entomol Res* 69: 519-540.
- Tabashnick BE.** 1989. Managing resistance with multiple pesticide tactics theory, evidence and recommendation. *J Econ Entomol* 82: 1263-1269.
- Thomas SJ.** 2011 The necessity and quandaries of dengue vaccine development. *J Infect Dis* 203: 299-303.
- Tung TH, Tsai KH, King CP, Huang YJ, King CC.** 2011. The relationships among socio-political/environmental changes, prevention and control strategies, and epidemics of dengue fever in Taiwan-future prospects. *Taiwan J Public health* 30: 517-532.
- Vontas JG, Small GJ, Hemingway J.** 2001. Glutathione S-transferases as antioxidant defense agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Biochem J* 357: 65-72.
- Wang CY, Lin C, Ge YF, Chien HF, Lin CS, Wang CS, Jian SW, Chen YH, Wang YZ, Teng HJ.** 2011. Survey of dengue fever vector density before and after insecticide spraying. *Epidemiol Bull* 27: 249-254. (in Chinese)
- Wang IC.** 1996. Study on resistance of *Aedes aegypti* to α -cypermethrin. [MS thesis]. Taipei: National Taiwan University. 54 pp. (in Chinese)
- Wang JH, Wu JW, Huang TM, Liu DP.** 2009. Benefit evaluation of dengue adult mosquito chemical control and its application. *Epidemiol Bull* 25: 391-400. (in Chinese)

收件日期：2013年8月14日

接受日期：2013年9月27日

Insecticide Resistance Status in *Aedes aegypti* (L.) Adults from Southern Taiwan

Huai-Hui Wu¹, Ying-Hsi Lin², Hsiu-Hua Pai³, Err-Lieh Hsu⁴, Niann-Tai Chang⁵, and Yi-Pey Luo^{6*}

¹ Department of Biotechnology, Tajen University, Pingtung County, Taiwan

² Department of Medical Laboratory Science and Biotechnology, Yuanpei University, Hsinchu City, Taiwan

³ Department of Kinesiology, Health, and Leisure Studies, National University of Kaohsiung, Kaohsiung, Taiwan

⁴ Department of Entomology, National Taiwan University, Taipei City, Taiwan

⁵ Department of Plant Medicine, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung County, Taiwan

⁶ Department of Biotechnology, Chia-Nan University of Pharmacy and Science, Tainan City, Taiwan

ABSTRACT

Aedes aegypti were collected from Kaohsiung City, Pingtung County and Tainan City, from 2002 to 2012. World Health Organization's standard protocols were used for the insecticide bioassays and biochemical assays to determine the insecticide susceptibility and resistance mechanisms. The susceptibility of mosquitoes was tested against propoxur (0.1%), fenitrothion (1%), cyfluthrin (0.15%), deltamethrin (0.05%), etofenprox (0.5%), permethrin (0.75%) and lambda cyhalothrin (0.05%). All field cohorts from southern Taiwan were highly susceptible to fenitrothion and highly resistant to permethrin and etofenprox. The results showed a higher proportion of resistant cohorts against propoxur and deltamethrin in Kaohsiung City than in Pingtung County and Tainan City, and a higher proportion of resistant cohorts against cyfluthrin and lambda cyhalothrin in Pingtung County than in Kaohsiung City and Tainan City. The difference in the resistance profiles between these areas is in accordance to the insecticide used. Since Kaohsiung City has adopted the use of deltamethrin, cyfluthrin and lambda cyhalothrin for the control of dengue vectors in 2007 to 2008, the proportions of resistant cohorts against deltamethrin, cyfluthrin and lambda cyhalothrin all increased in 2009. In this study, we used the insecticide-impregnated paper bioassay method which revealed moderate to extremely high levels of resistance to cyfluthrin, deltamethrin, permethrin and lambda cyhalothrin in *Aedes aegypti* from Southern Taiwan. The biochemical assays showed that the activity of glutathione-S-transferase, cytochrome P450 monooxygenase and β -esterase were elevated in the field cohorts in comparison with the NS strain. These results imply that these three enzymes are involved in the pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* of Taiwan, however, no evidence was found for the altered acetylcholinesterase sensitivity.

Key words: *Aedes aegypti*, insecticide resistance, monitoring, biochemical assay