



台灣地區埃及斑蚊抗藥性基因電壓門控鈉離子通道的胺基酸置換情形： 回顧與現況

陳易呈^{1,2*}

¹ 衛生福利部疾病管制署檢驗及疫苗研製中心

² 財團法人國家衛生研究院國家蚊媒傳染病防治研究中心

* 通訊作者 email: iccheng002@gmail.com

收件日期：2019年11月28日 接受日期：2020年4月29日 線上刊登日期：2020年5月22日

摘要

主要由埃及斑蚊 (*Aedes aegypti*) 傳播的登革熱是台灣公衛議題最嚴重的蟲媒疾病。除登革熱之外，埃及斑蚊亦能傳播黃熱病 (yellow fever)、茲卡病毒感染症 (Zika virus infection) 與屈公病 (Chikungunya fever)，是為台灣最具威脅性的病媒昆蟲。台灣的埃及斑蚊族群對於多種除蟲菊酯類殺蟲劑已產生抗藥性，並在與之相關的電壓門控鈉離子通道蛋白 (voltage-gated sodium channel, VGSC) 上被測得 S989P、V1016G、F1534C 以及 D1763Y 四種胺基酸置換。當埃及斑蚊 VGSC 同時帶有 S989P+V1016G+F1534C 三處胺基酸置換時，其對除蟲菊精除蟲菊酯殺蟲劑的抗藥性將會遽升。目前在台灣埃及斑蚊族群發現的 VGSC 基因型有六種，但尚未偵測到 S989P+V1016G+F1534C 的基因型，不過該基因型可在 S989P+V1016G 以及 F1534C 兩 VGSC 型別之間經由一次的染色體互換事件生成，而此兩型別已現存於台灣埃及斑蚊族群，當攜帶有 S989P+V1016G+F1534C 的個體產生並且被環境施藥所汰選下來時，對於埃及斑蚊的防治與相關疾病的預防將會更加困難。就目前台灣地區埃及斑蚊族群 VGSC 基因的組成現況，本文建議在施藥防治埃及斑蚊的策略上更需謹慎行事，以免汰選出對除蟲菊酯類殺蟲劑具有超高抗性的個體，讓台灣在登革熱或其他蚊媒疾病的防治更為棘手。

關鍵詞：埃及斑蚊、電壓門控鈉離子通道、除蟲菊酯類殺蟲劑、擊昏抗性、登革熱。

埃及斑蚊對於台灣公共衛生的重要性

台灣的緯度和氣候極適合蚊類昆蟲繁殖，而由蚊類所媒介的疾病一直是台灣公衛的重大議題 (Cheng *et al.*, 2019)。自 1965 年世界衛生組織認證台灣已為瘧疾根除地區 (Yip, 2000) 之後，登革熱取代瘧疾成為台灣地區最主要的蟲媒疾病。台灣在日據時代 (1895~1945) 曾有多次登革熱大規模全

島性的流行紀錄，光復後此疾病沉寂約四十年，直到 1981 年時於屏東縣琉球鄉爆發第二型登革熱大流行，至 1987~1988 年在台灣本島南部爆發由第一型登革病毒造成的大流行。2000 年後，因為外國移工的入境以及不斷升高的國人出入境造成境外移入病例逐年升高，進而造成本土病例的發生。2004~2013 年間每年約在 202~2,000 例；2014 年遽升至 15,492 例；2015 年更創下近代新高的 43,419 例；2016 年

的本土病例數下降至 381 例；2017 年 10 例；2018 年 183 例（衛生福利部疾病管制署傳染病統計資料查詢系統，<https://midss.cdc.gov.tw/ch/Default.aspx>）。登革熱可經由埃及斑蚊 (*Aedes aegypti*) 與白線斑蚊 (*Aedes albopictus*) 傳播，相對於白線斑蚊幾乎分佈於全台，埃及斑蚊分佈於北迴歸線以南，包括台南、高雄、屏東以及澎湖這些行政區 (Lin *et al.*, 2014)。根據此兩種蚊的比較生物學與登革熱本土病例分佈的資料 (Yang *et al.*, 2014; Cheng *et al.*, 2019)，顯示在台灣地區埃及斑蚊為主要登革熱傳播病媒。對於病媒昆蟲的化學防治是對蟲媒疾病預防與控管的手段之一。不可否認地，在疾病爆發產生時，對於疫區蟲媒的化學防治是防堵病源擴散最快速的方法之一，但殺蟲劑的使用又會造成抗藥性的增加，促使下一波以及未來防治的困難。因此，對於抗藥性機制的瞭解將有助我們更加合理且效率地使用藥劑來進行防治 (Moyes *et al.*, 2017)。

台灣病媒蚊藥劑防治歷史

瘧疾曾經是臺灣最嚴重的傳染病之一，台灣病媒蚊藥劑防治歷史可追溯至對瘧疾的防治，當時使用 4,4-Dichlorodiphenyl-trichloroethane (DDT) 來防治台灣主要瘧疾病媒矮小瘧蚊 (*Anopheles minimus*)，台灣當時 DDT 的使用可能也壓制了埃及斑蚊的族群，使得登革熱沉寂四十年 (Ko, 1989)。由於 DDT 會造成長效性環境污染的問題，台灣在 1973 年禁用 DDT 於農藥 (行政院農業委員會動植物防疫檢疫局農藥資訊服務網)，於 1989 年則依毒管法公告禁用。之後，氨基甲酸鹽類的安丹 (propoxur) 與有機磷類的亞特松 (pirimiphos-methyl)、撲滅松 (fenitrothion)、陶斯松 (chlorpyrifos)、亞培松 (temephos)、必芬松 (pyridaphenthion) 以及隸屬於除蟲菊酯類 (pyrethroid) 的十數種藥劑經環保署登記核可可用來防治病媒蚊成蟲。由於安丹與有機磷劑的作用為遲效性，而除蟲菊酯類藥劑的快速擊昏蚊蟲與對人類低毒性等特性，很適合用來觸殺可能帶有病原的飛行蚊蟲，以及進入住家內對喜好棲息於住家環境的埃及斑蚊進行防治，在台灣常被用來防治病媒蚊。台南與高雄的 14 處環保單位在 1997~2000 年噴灑了共計 39.198 公噸的除蟲菊酯類藥物，主要包括百滅寧 (permethrin)、賽滅寧 (cypermethrin)、治滅寧 (tetramethrin) 及芬化利 (fenvalerate) (Lin *et al.*, 2003)；高雄在 2009 年之前所使用過的環境衛

生用藥有效成分包含賽滅寧、治滅寧、亞滅寧 (alpha-cypermethrin)、普亞列寧 (prallethrin)、第滅寧 (deltamethrin)、賜百寧 (esbiothrin)、賽飛寧 (cyfluthrin)、賽洛寧 (lambda-cyhalothrin)、亞特松 (行政院衛生署疾病管制局 98 年度科技研究發展計畫：建置登革熱病媒蚊化學防治資料庫)；在 2007~2008 年防治病媒蚊藥劑的選擇，台南使用賽飛寧和第滅寧，高雄使用第滅寧、賽飛寧、賽洛寧及撲滅松，屏東使用撲滅松 (Wu *et al.*, 2013)；2016 年台南、高雄與屏東以含有除蟲菊酯類百滅寧的乳劑用於防治病媒蚊 (Chung *et al.*, 2019)。因為在台灣除蟲菊酯類藥劑常年的頻繁使用，使得台灣地區的埃及斑蚊對多種除蟲菊酯類藥劑產生抗藥性 (Lin *et al.*, 2003; Chang *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2013; Chung *et al.*, 2019)。

電壓門控鈉離子通道胺基酸置換在埃及斑蚊對除蟲菊酯類殺蟲劑抗藥性的角色

除蟲菊酯類化合物長期在台灣被施用來防治害蟲。除蟲菊酯類藥劑與 DDT 能夠經由表皮接觸而快速擊昏害蟲，其作用於蟲體神經細胞膜上的電壓門控鈉離子通道蛋白，該蛋白英文名為 voltage-gated sodium channel (VGSC，本文其後以 VGSC 通稱之)，或稱為 voltage-sensitive sodium channel (VSSC)。VGSC 蛋白由四個具有同源性的結構域 (domain) 所構成，每個結構域可再細分為六段跨膜區域，VGSC 蛋白以上述結構在神經細胞膜上構成一鈉離子通道，負責神經訊息之電位傳遞 (Du *et al.*, 2016)。除蟲菊酯類藥劑與 DDT 分子對 VGSC 具有親合性，當該分子進入蟲體後會結合 VGSC 造成神經訊息無法正常傳導，造成蟲體麻痺中毒效應的快速擊昏效果。當 VGSC 基因上具有點突變 (point mutation) 時，有些點突變會造成胺基酸置換 (amino acid substitution)，這樣的改變使得 VGSC 蛋白對除蟲菊酯類化合物或者是 DDT 分子親和性的下降，造成攜帶該突變的個體具有抗藥性，該抗性亦被稱為擊昏抗性 (knockdown resistance, kdr) (Dong *et al.*, 2014; Field *et al.*, 2017)，而台灣地區埃及斑蚊族群已被證實對一些除蟲菊酯類殺蟲劑具有抗藥性 (Lin *et al.*, 2003; Chang *et al.*, 2009; Wu *et al.*, 2013; Chung *et al.*, 2019)。VGSC 的胺基酸置換與擊昏抗性之間的關聯剛開始是在家蠅 (*Musca domestica*) 上被發現，後來的相關研究被拓展至多種昆蟲與其他節肢動物 (Rinkevich *et*

表一 台灣地區埃及斑蚊電壓門控鈉離子通道蛋白胺基酸置換研究的報告整理

Table 1. Studies on voltage-gated sodium channel amino acid substitutions in the *Aedes aegypti* population in Taiwan

Amino acid substitution ^A	Original Numbering ^B	Year ^C	Mosquito ^D	Reference
V1016G + D1763Y	V1023G + D1794Y	1990	Lab strain (Per-R)	Chang <i>et al.</i> , 2009
V1016G + D1763Y	V1023G + D1794Y	2008	Field	Lin <i>et al.</i> , 2013
V1016G + F1534C + D1763Y	V1023G + F1534C + D1794Y	2013-2015	Field	Biduda <i>et al.</i> , 2019
S989P + V1016G + F1534C + D1763Y		2016	Field	Chung <i>et al.</i> , 2019

^A Amino acid substitutions are numbered according to the amino acid sequence of *Musca domestica* VGSC (Accession number: AAB47604).

^B Numbering of amino acid substitutions in original papers.

^C The year or duration when mosquitoes were collected from the field.

^D Mosquitoes were either from lab strain or population collected from the field.

al., 2013)，讓許多研究非家蠅物種的報告仍以家蠅 VGSC 蛋白的胺基酸序列數字來標示其研究物種的 VGSC 胺基酸置換位點。埃及斑蚊的基因體已被解序 (Nene *et al.*, 2007)，其後更有對該蚊種 VGSC 的基因與其轉錄產物的研究 (Chang *et al.*, 2009)，埃及斑蚊 VGSC 的特定胺基酸置換在胺基酸序列的位置已被知悉，但為了方便讀者與其他相關文獻對照，本文沿用家蠅 VGSC 胺基酸編碼位置的序列來稱呼埃及斑蚊 VGSC 的特定胺基酸置換。

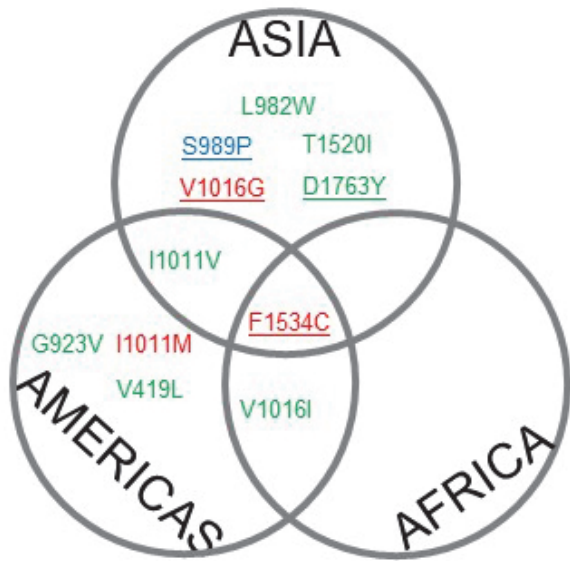
台灣地區埃及斑蚊 VGSC 胺基酸置換的研究歷史

埃及斑蚊 VGSC 抗性胺基酸置換的發現可追溯自 1990 年從田間採集的族群。於 1990 年採集自高雄田間族群的埃及斑蚊品系 Lingya 1990R 於實驗室環境中在百滅寧的選汰下累代飼養 (Lin *et al.*, 2003)，之後 Chang *et al.* (2009) 利用逐漸增高濃度的百滅寧對 Lingya 1990R 繼續篩選而得到新抗性品系 Per-R，Per-R 被發現 VGSC 帶有 100% (n = 10) 的 V1016G 與 D1763Y 的雙胺基酸置換 (在其報告中即分別為 V1023G 與 D1794Y) (Chang *et al.*, 2009) (表一)。除了實驗室品系之外，於 2008 年採集自台南市關廟區與高雄市苓雅區的田間族群也被發現帶有 V1016G 與 D1763Y 的胺基酸置換 (Lin *et al.*, 2013)。爾後，Chung *et al.* (2019) 於 2016 年採集於台南與高雄涵蓋沿海八處行政區的田間族群中，除了 V1016G 與 D1763Y，發現了兩個未曾紀錄於台灣埃及斑蚊族群的新胺基酸置換 S989P 與 F1534C。在 2019 年發表的另一篇研究報告中，作者們在 2013~2015 年所採集的族群偵測

到了 V1016G、F1534C 以及 D1763Y (Biduda *et al.*, 2019)，顯示早在 2013 年 F1534C 的突變即存在於台灣野生埃及斑蚊族群中。綜合上述研究可知目前台灣地區埃及斑蚊族群的 VGSC 已具有 S989P、V1016G、F1534C 以及 D1763Y 此四種胺基酸置換 (表一)。

台灣與其他國家埃及斑蚊 VGSC 胺基酸置換的狀況

就 Du *et al.* (2016)、Moyes *et al.* (2017)、Granada *et al.* (2018) 及 Chung *et al.* (2019) 等的研究資料 (圖一)，顯示目前世界上埃及斑蚊族群的 VGSC 至少具有 11 種胺基酸置換，而這 11 種分佈於九處胺基酸位點上，L982W、S989P、V1016G、T1520I 與 D1763Y 此五者目前僅發現於亞洲；V419L、G923V 和 I1011M 僅在美洲出現；I1011V 可見於亞、美兩洲；V1016I 則在美洲與非洲出現，而 F1534C 分佈於亞、美、非三洲。台灣的埃及斑蚊族群目前被發現存在於 S989P、V1016G、F1534C 以及 D1763Y 這四種胺基酸置換 (Chung *et al.*, 2019)，Chung *et al.* (2019) 所使用的方法除了上述四種胺基酸置換，尚可偵測在 I1011 上的胺基酸置換情形，在其所使用共 314 個體中均未發現 I1011M 或 I1011V 這兩種胺基酸置換，這樣的結果亦符合目前埃及斑蚊 VGSC 胺基酸置換在全球地理的分布狀況：I1011M 僅存在於美洲個體 (Bregues *et al.*, 2003; Saavedra-Rodriguez *et al.*, 2007; Martins *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2011)，而 I1011V 在亞洲國家中也僅被報導於泰國與越南 (Rajatileka *et al.*, 2008; Bingham *et al.*, 2011)。



圖一 世界三大洲地區埃及斑蚊 VGSC 胺基酸置換狀況。在 11 種已知 VGSC 的胺基酸置換中，這些胺基酸置換發生自九處胺基酸位點，可發現於台灣的胺基酸置換以下標標示，跟抗性有聯者標以紅色，尚無證據支持與抗性相關者標以綠色，對於其他突變具有輔助抗性的功能以藍色標示。本圖改編自 Moyes *et al.* (2017)。

Fig. 1. Geographical distribution of the 11 known voltage-gated sodium channel amino acid substitutions at the nine amino acid sites in *Aedes aegypti* across Asia, Africa, and Americas. The amino acid substitutions found in Taiwan are underlined. Substitutions with and without molecular evidence of resistance are indicated in red and green, respectively, and the substitution associated with resistance when in combination with other mutations is indicated in blue. The figure was adapted from Moyes *et al.* (2017).

D1763Y 此胺基酸置換目前僅在台灣被報導 (Chang *et al.*, 2009; Lin *et al.*, 2013; Chung *et al.*, 2019)。D1763Y 最早在百滅寧抗性品系 Per-R 中被發現 (Chang *et al.*, 2009)，而後在野外的族群也被發現帶有 D1763Y 的胺基酸置換 (Lin *et al.*, 2013; Chung *et al.*, 2019)。

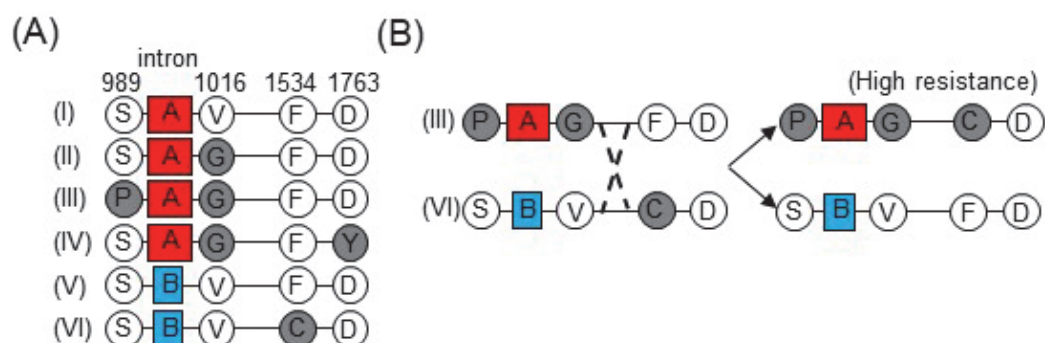
台灣地區埃及斑蚊 VGSC 內含子 (intron) 的多型性與胺基酸置換的關聯性

埃及斑蚊 VGSC 外顯子 (exon) 20 與 21 之間的內含子具有多型性，根據其長度與序列可區分為 A 群與 B 群 (Martins *et al.*, 2009)。此兩群被發現與許多 VGSC 胺基酸置換之間有連帶關係

(Martins *et al.*, 2009; Martins *et al.*, 2013; Kawada *et al.*, 2016; Chung *et al.*, 2019)。Chung *et al.* (2019) 發現台灣地區埃及斑蚊族群兩者兼有，A 群佔多數 (74.5%)，B 群則為 25.5%。台灣埃及斑蚊 VGSC 的 A 群內含子與 S989P、V1016G 以及 D1763Y 具有連帶關係；而 B 群內含子則與 F1534C 具有連帶關係。根據 VGSC 的四種胺基酸置換與此內含子的多型性可將台灣族群的 VGSC 分成六種基因型：包含 (I) S989-intron A-V1016-F1534-D1763、(II) S989-intron A-V1016G-F1534-D1763、(III) S989P-intron A-V1016G-F1534-D1763、(IV) S989-intron A-V1016G-F1534-D1763Y、(V) S989-intron B-V1016-F1534-D1763 及 (VI) S989-intron B-V1016-F1534-D1763 (圖二 A)。Chung *et al.* (2019) 亦證實帶有 S989P+V1016G 胺基酸置換的 VGSC 基因型 (III) 跟台灣地區所使用的除蟲菊酯類殺蟲劑百滅寧的抗藥性具有顯著相關性。

台灣地區埃及斑蚊 VGSC 胺基酸置換跟抗藥性的關係

VGSC 蛋白上胺基酸置換與抗藥性之間的關係可在非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*) 的卵中表現 VGSC 重組蛋白的平台來進行分子層級的檢測 (Du *et al.*, 2013; Hirata *et al.*, 2014)。目前 I1011M、V1016G 以及 F1534C 已被證實跟除蟲菊酯類殺蟲劑的抗藥性相關 (Du *et al.*, 2013; Hirata *et al.*, 2014)，S989P 單獨存在時本身並不具有抗藥性 (Du *et al.*, 2013; Hirata *et al.*, 2014)，但 S989P 可提升 V1016G 對百滅寧的抗性 (Hirata *et al.*, 2014)。目前在台灣所發現的四種胺基酸置換 S989P、V1016G、F1534C 以及 D1763Y，前三者已被證實跟除蟲菊酯抗藥性有關連 (Du *et al.*, 2013; Hirata *et al.*, 2014)，雖然目前的研究報告未顯示 D1763Y 跟抗藥性有關 (Du *et al.*, 2013)，(i) 但是對百滅寧具有高抗性品系 Per-R 的 VGSC 的確帶有 V1016G 和 D1763Y 的雙重胺基酸置換 (Chang *et al.*, 2009)；另一方面，(ii) 在不同時間點採集野生埃及斑蚊族群中，對百滅寧抗性較高的族群，其 VGSC 帶有 V1016G 和 D1763Y 雙重胺基酸置換的頻率也較高 (Chung *et al.*, 2019)；而且，(iii) 在目前所測得實驗室品系與野外埃及斑蚊族群中，尚未發現單獨帶有 D1763Y 的基因型，所有帶有 D1763Y 的基因型必帶有 V1016G，換句話說，D1763Y 一定伴隨



圖二 六種台灣地區埃及斑蚊 VGSC 的基因型 (A)，當染色體互換發生於 (III) 型與 (VI) 型的異型合子的 V1016G 與 F1534C 之間的基因體區域，將產生可能對除蟲菊酯殺蟲劑極具抗性的基因型 S989P+V1016G+F1534C (S989P-intron A-V1016G-F1534C-D1763)。白圈表示野生型 VGSC 胺基酸位點而灰圈表示發生胺基酸置換的型別，A 群以及 B 群內含子分別由紅框與藍框表示。本圖改編自 Chung *et al.* (2019)。

Fig. 2. Six voltage-gated sodium channel (VGSC) haplotypes in current Taiwanese *Aedes aegypti* (A) and the putative hyperresistance haplotype S989P+V1016G+F1534C through a crossover event within the genomic region between V1016G and F1534C sites in the individual harboring heterozygote of the type (III) and (VI) VGSC haplotypes (B). White and gray circles represent wild-type amino acids and substitution mutants, respectively. Blue and red boxes represent group A and B introns, respectively. The figure was adapted from Chung *et al.* (2019).

著 V1016G 出現，顯示兩者具有連帶關係。此三現象某部分也透露 D1763Y 有類似 S989P 的特性：D1763Y 可能本身不具功能但能提升 V1016G 的抗藥性，D1763Y 對在抗藥性所扮演的角色確實仍有深入研究的空間。

有一點值得注意的是，Hirata *et al.* (2014) 發現當 VGSC 同時帶有 S989P+V1016G+F1534C 三重突變時，其對除蟲菊酯殺蟲劑的抗藥性將會遽升：S989P+V1016G+F1534C 對百滅寧的抗性分別是 S989P+V1016G 與 F1534C 的 11 倍與 44 倍；而 S989P+V1016G+F1534C 對第滅寧的抗性分別是 S989P+V1016G 與 F1534C 的 9 倍與 90 倍。雖然上述研究係以爪蟾卵做為平台，未能直接反映 S989P+V1016G+F1534C 的突變實際對埃及斑蚊的抗藥性強度變化，但吾等在防範的角度上應該假設 S989P+V1016G+F1534C 的突變若出現在野外埃及斑蚊族群，其對於相關蟲媒疾病與害蟲防治將會變得相對棘手。就目前 Chung *et al.* (2019) 最新的研究顯示台灣地區埃及斑蚊族群的 VGSC 具有六種基因型 (圖二 A)，當埃及斑蚊 VGSC 的對偶基因具有 (III) 與 (VI) 的異型合子時，當染色體互換 (crossing-over) 發生於 V1016G 與 F1534C 之間的基因體區域，結果將產生出 S989P+V1016G+F1534C 的基因型 (圖二 B)。當這樣的個體被環境施藥所汰選下來時，對於埃及斑蚊的防治與相關疾病的預防將會更加困難。

結 論

埃及斑蚊偏好在水造積水容器中產卵，而幼蟲至蛹期又必須在水中渡過，因此，清除積水容器和孳生源方是防治埃及斑蚊最根本且有效的方法。使用殺蟲劑的化學防治應屬於較後端的防線，可使用於發現本土病例或登革熱爆發之時。除化學防治之外，像是物理防治 (設置紗窗或是利用衣物來遮蔽皮膚)、對民眾的教育宣導、法規的修訂、病例診斷與通報系統的改善與加速、快速診斷試劑或儀器的開發、相關藥物或疫苗的研發、沃巴赫氏菌 (*Wolbachia*) 感染蚊以及基因改造蚊這些方法可能都有助於減低登革熱以及埃及斑蚊傳播疾病的危害。目前最新的研究發現台灣地區埃及斑蚊的 VGSC 已經攜帶有 S989P+V1016G 以及 F1534C 這兩種基因型，過度施藥可能會汰選出 S989P+V1016G+F1534C 這型可能極具抗性的基因型，因此在化學防治的應用上應該更加謹慎行之。

誌 謝

本文承蒙莊芳宜女士意見提供與校正，特此申謝。

引用文獻

Biduda S, Lin CH, Saleh F, Konradsen F,

- Hansson H, Schiøler KL, Alifrangis M.** 2019. Temporal Pattern of Mutations in the Knockdown Resistance (*kdr*) Gene of *Aedes aegypti* Mosquitoes Sampled from Southern Taiwan. *Am J Trop Med Hyg* 101: 973-975.
- Bingham G, Strode C, Tran L, Khoa PT, Jamet HP.** 2011. Can piperonyl butoxide enhance the efficacy of pyrethroids against pyrethroid-resistant *Aedes aegypti*? *Trop Med Int Health* 16: 492-500.
- Brengues C, Hawkes NJ, Chandre F, McCarroll L, Duchon S, Guillet P, Manguin S, Morgan JC, Hemingway J.** 2003. Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. *Med Vet Entomol* 17: 87-94.
- 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* 2009: 272-278.
- Cheng IC, Chen YC, Teng HJ, Shu PY, Li SY.** 2019. Ecological Characteristics and Viral Transmission Capability of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *Taiwan Epidemiol Bull* 35: 172-186. (in Chinese)
- Chung HH, Cheng IC, Chen YC, Lin C, Tomita T, Teng HJ.** 2019. Voltage-gated sodium channel intron polymorphism and four mutations comprise six haplotypes in an *Aedes aegypti* population in Taiwan. *PLoS Negl Trop Dis* 13: e0007291.
- Dong K, Du Y, Rinkevich F, Nomura Y, Xu P, Wang L, Silver K, Zhorov BS.** 2014. Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance. *Insect Biochem Mol Biol* 50: 1-17.
- Du Y, Nomura Y, Satar G, Hu Z, Nauen R, He SY, Zhorov BS, Dong K.** 2013. Molecular evidence for dual pyrethroid-receptor sites on a mosquito sodium channel. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 11785-11790.
- Du Y, Nomura Y, Zhorov BS, Dong K.** 2016. Sodium Channel Mutations and Pyrethroid Resistance in *Aedes aegypti*. *Insects* 7(4). <https://doi.org/10.3390/insects7040060>.
- Field LM, Emyr Davies TG, O'Reilly AO, Williamson MS, Wallace BA.** 2017. Voltage-gated sodium channels as targets for pyrethroid insecticides. *Eur Biophys J* 46: 675-679.
- Granada Y, Mejía-Jaramillo AM, Strode C, Triana-Chavez O.** 2018. A Point Mutation V419L in the Sodium Channel Gene from Natural Populations of *Aedes aegypti* Is Involved in Resistance to λ -Cyhalothrin in Colombia. *Insects*. 9(1). <https://doi.org/10.3390/insects9010023>.
- Hirata K, Komagata O, Itokawa K, Yamamoto A, Tomita T, Kasai S.** A single crossing-over event in voltage-sensitive Na⁺ channel genes may cause critical failure of dengue mosquito control by insecticides. *PLoS Negl Trop Dis* 8: e3085.
- Kawada H, Higa Y, Futami K, Muranami Y, Kawashima E, Osei JH, Sakyi KY, Dadzie S, de Souza DK, Appawu M, Ohta N, Suzuki T, Minakawa N.** 2016. Discovery of Point Mutations in the Voltage-Gated Sodium Channel from African *Aedes aegypti* Populations: Potential Phylogenetic Reasons for Gene Introgression. *PLoS Negl Trop Dis* 10(6): e0004780.
- Ko YC.** 1989. Epidemiology of Dengue Fever in Taiwan. *Kaohsiung J Med Sci* 5: 1-11.
- Lima EP, Paiva MH, de Araujo AP, da Silva EV, da Silva UM, de Oliveira LN, Santana AE, Barbosa CN, de Paiva Neto CC, Goulart MO, Wilding CS, Ayres CF, de Melo Santos MA.** 2011. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceara, Brazil. *Parasit Vectors*. 4:5. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-5>.
- Lin C, Wang CY, Teng HJ.** 2014. The Study of Dengue Vector Distribution in Taiwan from 2009 to 2011. *Taiwan Epidemiol Bull* 4: 304-309. (in Chinese)
- Lin YH, Teng HJ, Ho CM, Pai HH, Wu SC, Hsu**

- EL.** 2003. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* during dengue epidemics in Taiwan. *Formosan Entomol* 23: 263-274.
- Lin YH, Tsen WL, Tien NY, Luo YP.** 2013. Biochemical and molecular analyses to determine pyrethroid resistance in *Aedes aegypti*. *Pestic Biochem Physiol* 107: 266-276.
- Martins AJ, Lins RM, Linss JG, Peixoto AA, Valle D.** 2009. Voltage-gated sodium channel polymorphism and metabolic resistance in pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* from Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 81: 108-115.
- Martins AJ, Brito LP, Linss JG, Rivas GB, Machado R, Bruno RV, Lima JBP, Valle D, Peixoto AA.** 2013. Evidence for gene duplication in the voltage-gated sodium channel gene of *Aedes aegypti*. *Evol Med Public Health*. 2013: 148-160.
- Moyes CL, Vontas J, Martins AJ, Ng LC, Koou SY, Dufour I, Raghavendra K, Pinto J, Corbel V, David JP, Weetman D.** 2017. Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. *PLoS Negl Trop Dis* 11: e0005625.
- Nene V, Wortman JR, Lawson D, Haas B, Kodira C, Tu ZJ, Loftus B, Xi Z, Megy K, Grabherr M, Ren Q, Zdobnov EM, Lobo NF, Campbell KS, Brown SE, Bonaldo MF, Zhu J, Sinkins SP, Hogenkamp DG, Amedeo P, Arensburger P, Atkinson PW, Bidwell S, Biedler J, Birney E, Bruggner RV, Costas J, Coy MR, Crabtree J, Crawford M, Debruyn B, Decaprio D, Eiglmeier K, Eisenstadt E, El-Dorry H, Gelbart WM, Gomes SL, Hammond M, Hannick LI, Hogan JR, Holmes MH, Jaffe D, Johnston JS, Kennedy RC, Koo H, Kravitz S, Kriventseva EV, Kulp D, Labutti K, Lee E, Li S, Lovin DD, Mao C, Mauceli E, Menck CF, Miller JR, Montgomery P, Mori A, Nascimento AL, Naveira HF, Nusbaum C, O'leary S, Orvis J, Perte M, Quesneville H, Reidenbach KR, Rogers YH, Roth CW, Schneider JR, Schatz M, Shumway M, Stanke M, Stinson EO, Tubio JM, Vanzee JP, Verjovski-Almeida S, Werner D, White O, Wyder S, Zeng Q, Zhao Q, Zhao Y, Hill CA, Raikhel AS, Soares MB, Knudson DL, Lee NH, Galagan J, Salzberg SL, Paulsen IT, Dimopoulos G, Collins FH, Birren B, Fraser-Liggett CM, Severson DW.** 2007. Genome sequence of *Aedes aegypti*, a major arbovirus vector. *Science*. 316: 1718-1723.
- Rajatileka S, Black WC, Saavedra-Rodriguez K, Trongtokit Y, Apiwathnasorn C, McCall PJ, Ranson H.** 2008. Development and application of a simple colorimetric assay reveals widespread distribution of sodium channel mutations in Thai populations of *Aedes aegypti*. *Acta Trop* 108: 54-57.
- Rinkevich FD, Du Y, Dong K.** 2013. Diversity and Convergence of Sodium Channel Mutations Involved in Resistance to Pyrethroids. *Pestic Biochem Physiol* 106: 93-100.
- Saavedra-Rodriguez K, Urdaneta-Marquez L, Rajatileka S, Moulton M, Flores AE, Fernandez-Salas I, Bisset J, Rodriguez M, McCall PJ, Donnelly MJ, Ranson H, Hemingway J, Black WC.** 2007. A mutation in the voltage-gated sodium channel gene associated with pyrethroid resistance in Latin American *Aedes aegypti*. *Insect Mol Biol* 16: 785-798.
- Wu HH, Lin YH, Pai HH, Hsu EL, Chang NT, Luo YP.** 2013. Insecticide Resistance Status in *Aedes aegypti* (L.) Adults from Southern Taiwan. *Formosan Entomol* 33: 253-270. (in Chinese)
- Yang CF, Hou JN, Chen TH, Chen WJ.** 2014. Discriminable roles of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in establishment of dengue outbreaks in Taiwan. *Acta Trop* 130: 17-23.
- Yip K.** 2000. Malaria eradication: the Taiwan experience. *Parassitologia* 42: 117-126.

Amino Acid Substitutions in Voltage-gated Sodium Channels of *Aedes aegypti* in Taiwan: Review and Current Status

I-Cheng Cheng^{1,2*}

¹ Center for Diagnostics and Vaccine Development, Centers for Disease Control, Ministry of Health and Welfare, Taipei, Taiwan

² National Mosquito-Borne Diseases Control Research Center, National Health Research Institutes, Miaoli, Taiwan

* Corresponding email: iccheng002@gmail.com

Received: 28 November 2019 Accepted: 29 April 2020 Available online: 22 May 2020

ABSTRACT

Yellow fever mosquitoes (*Aedes aegypti*) are the primary transmitter of dengue fever in Taiwan, and they exhibit strong resistance to several pyrethroids and possess four amino acid substitutions in voltage-gated sodium channels (VGSCs)-S989P, V1016G, F1534C, and D1763Y. *Ae. aegypti* VGSCs carrying the S989P+V1016G+F1534C triple amino acid substitution exhibit extremely high resistance. Although six VGSC haplotypes have been identified in the *Ae. aegypti* population of Taiwan, the S989P+V1016G+F1534C haplotype has not yet been detected. However, this ultra-resistant haplotype may be generated through a single crossover event between the S989P+V1016G and F1534C haplotypes, both of which exist currently in Taiwan. Furthermore, individual mosquitoes carrying S989P+V1016G+F1534C might be selected by the frequent use of pyrethroid insecticides in Taiwan. Considering the current status of VGSC haplotypes in the *Ae. aegypti* population in Taiwan, a high amount of caution must be exercised in the use of pyrethroid insecticides to control *Ae. aegypti*, which is also a vector of yellow fever, Zika virus infection, and chikungunya.

Key words: *Aedes aegypti*, Voltage-gated sodium channel, Pyrethroid insecticide, Amino acid substitution, Dengue fever