

出國報告（出國類別：研究）

參加熱帶醫學訓練  
**Training Program in Tropical Medicine**

服務機關：行政院衛生署疾病管制局

姓名職稱：陳琬菁護理師、蔡玉琪護士、林敏琮醫事放射師、  
潘淑玲護理師、林建生技正、陳美珠副研究員、  
陳鈺欣護理師、段延昌技士、梁昭華技士、  
柯海韻護理師、陳主慈副研究員、王任鑫技士

派赴國家：泰國

出國期間：民國 97 年 07 月 27 日至 08 月 02 日

報告日期：民國 97 年 10 月 30 日

## 摘 要

由於氣候變遷及全球暖化等因素，傳染病的分布與流行也受到影響。為能增進對熱帶地區盛行傳染病及其傳播病媒、防治策略的瞭解，由泰國曼谷 Mahidol 大學提供熱帶醫學訓練（Training Program in Tropical Medicine）課程，期望藉由本次訓練，提升本局對於病媒傳染病之防治能力，儲備我國熱帶醫學人才，並與泰國熱帶醫學學術單位建立專業的聯繫交流管道。

本次訓練主題為「病媒防治（Vector Control）」，自 2008 年 7 月 28 日起至 8 月 1 日止，為期 5 天。主要課程內容包括東南亞地區病媒傳染病及其防治現況、泰國病媒防治策略、泰國醫學昆蟲學研究現況、蚊類鑑定與實習、病媒調查與病媒指數、病媒對殺蟲劑的感受性與抗藥性、病媒抗藥性機轉、幼蟲防治、防蚊忌避劑簡介與效果測試等。在課程安排上，課堂解說與實驗並重，使學員在實驗過程中實際體驗並複習課堂中的解說內容，獲益良多。

Mahidol 大學熱帶醫學院在熱帶醫學訓練方面擁有豐富的經驗與熱忱，該校也協助其他國家進行人員訓練，並針對參訓人員為醫師、公共衛生人員或病媒防治人員等不同背景規劃訓練內容。建議未來可視病媒傳染病防治及人才培訓需求，持續派員前往學習，並增加野外實習課程，至疾病流行或病媒棲息地區實地調查當地病媒生長環境狀況，以增加實務經驗，並強化我國之防疫能量。

# 目 次

## 摘 要

一、目的.....	1
二、行程.....	1
三、訓練過程.....	2
四、心得與建議.....	26

附 錄：1. 熱帶醫學訓練課程表.....	28
2. 殺蟲劑抗藥性實驗原理與操作.....	29
3. 泰國使用BTI及BS控制病媒蚊之試驗.....	41
4. 忌避劑有效性測試實驗.....	46
5. 活動剪影.....	48

# 參加熱帶醫學訓練出國報告

## 一、目的

近年來，由於氣候變遷及全球暖化等因素，傳染病的分布與流行也受到影響。台灣地理位置處於熱帶及亞熱帶交界地區，氣候型態適合蚊、蠎、蜚、蚤等病媒孳生，也容易在流行季節造成登革熱、日本腦炎、恙蟲病等病媒傳染疾病的流行；加上交通便利以及經貿旅遊活動帶來的國際交流，使我國與東南亞各國接觸頻繁，更增加熱帶地區盛行傳染病之境外移入風險。為能增進對此類傳染病及其傳播病媒的認識，瞭解防治策略，以因應此類傳染病的境外移入，進而避免造成本土流行，故安排此次訓練，由泰國曼谷 Mahidol 大學熱帶醫學院協助提供一系列之病媒防治課程。希望藉由本次訓練，提升本局同仁對於病媒傳染病防治的能力，同時儲備我國的熱帶醫學人才，並與泰國熱帶醫學學術單位建立專業的聯繫交流管道。

## 二、行程

日期	地點	行程內容
2008. 07. 27	台北→曼谷	啓程與抵達
2008. 07. 28 ~ 08. 01	曼谷	參加熱帶醫學訓練
2008. 08. 02	曼谷→台北	返程與抵達

### 三、訓練過程

本次熱帶醫學訓練 (Training Program in Tropical Medicine) 主題為「病媒防治 (Vector Control)」, 自 2008 年 7 月 28 日起至 8 月 1 日止, 為期 5 天。主要課程內容包括東南亞地區病媒傳染病及其防治現況、泰國病媒防治策略、泰國醫學昆蟲學研究現況、蚊類鑑定與實習、病媒調查與病媒指數、病媒對殺蟲劑的感受性與抗藥性、病媒抗藥性機轉、幼蟲防治、防蚊忌避劑簡介與效果測試等, 課程表如附錄 1。

開訓典禮於 7 月 28 日上午 9 時在 Mahidol 大學熱帶醫學院的 Chamlong Harinasuta 大樓 5 樓教室舉行, 由 Mahidol 大學熱帶醫學院副院長 Dr. Attanath 及醫學昆蟲學系副教授 Dr. Komalamisra 共同主持。Dr. Attanath 在致詞中表示, Mahidol 大學的熱帶醫學院一向致力於熱帶傳染性疾病的教學與研究, 包括登革熱、瘧疾、絲蟲病、日本腦炎等, 並與東南亞國家許多大學及研究單位進行學術交流與經驗分享, 並經常辦理熱帶醫學訓練, 協助各國培育熱帶醫學人才。Dr. Komalamisra 也表示, 該校熱帶醫學院除了辦理寮國、越南、菲律賓、馬來西亞、印尼等國的人員訓練之外, 近年來與台灣的交流機會增加, 本局曾多次派員前往研習熱帶醫學及病媒防治相關課程, 凸顯在氣候變遷的影響下, 各國對於熱帶傳染性疾病或病媒傳染病防治之重視。

#### (一) 7 月 28 日 (星期一)

首日課程先由 Dr. Chamnam Apiwathnasorn 介紹「Vector-borne disease situation: An overview in SEA and their control」。

目前在東南亞地區流行的 Vector-borne disease 包括 SARS、CJD、Avian Flu、Ebola 等人畜共通傳染病 (Zoonoses), 以及 Malaria、Dengue、Lymphatic

Filariasis 等以昆蟲為傳播媒介的傳染病。每一種傳染病的傳播或之所以會造成流行，和引起該種疾病的病原特性及致病機轉有關。在全球人口中，約有 26% 的死亡及 31% 的失能是由傳染病造成的，而過去 20 年來，大約有 75% 的新興及再浮現傳染病都與人畜共通傳染病有關。由於環境的變遷、土地的大量開發使用，人類與環境中病原相互影響的機會與頻率大幅超越過去 50 年，加上交通進步及旅遊興盛，更使疾病在不同地區之間快速傳播，某個地區原本沒有的古老病原也可能因此在新的地區感染新的物種，或是發生突變而引發大規模的傳染病流行，2003 年的 SARS 即是一例。近年來，氣候變遷以及地震、海嘯、風災等天然災害，更是對傳染病的流行型態及防治產生重大影響。

目前在全球各類傳染病之中，Malaria 仍是威脅人們健康及導致死亡的主要傳染病，僅次於急性呼吸道感染、AIDS、腸道傳染病及 TB。而在以昆蟲為媒介的傳染病當中，Malaria 造成的疾病負擔也是最高的，每千人 42,280 DALYs，排名第三的 Lymphatic Filariasis 為每千人 5,644 DALYs。目前 Malaria 在非洲或經濟發展較為落後國家的防治甚為困難，因為 Malaria 的病媒蚊特性使其在鄉村地區或是較未開發的偏遠村落流行，醫療資源與公共衛生措施皆難以深入這些窮鄉僻壤，貧窮及抗藥性問題更加深瘧疾防治的困難。

登革熱是另一項重要的蟲媒傳染病，目前全球每年約有 5000 萬人感染登革熱及 50 萬人感染登革出血熱。由於傳播登革熱的埃及斑蚊所產的卵具有顆粒狀的外殼，使其容易黏附在積水容器壁上，並可在乾燥環境之下生存超過一年以上，要清除登革熱病媒蚊孳生源相當困難，加上埃及斑蚊可多次重複吸血並在受到驚擾時快速中斷吸血行為，一但該埃及斑蚊帶有登革病毒，將會使得登革熱的傳播更加快速，這也是登革熱在東南亞國家防治困難

的原因之一。加強對民眾的衛生教育及澈底清除孳生源，仍然是防治登革熱的不二法門。

除了瘧疾與登革熱之外，在東南亞國家流行的疾病尚有淋巴絲蟲症、日本腦炎、西尼羅熱、屈公病、鼠疫、利什曼原蟲感染症等，上述疾病在不同國家或不同地區造成不同程度的影響，大致而言，瘧疾與登革熱仍是東南亞國家在公共衛生與疾病防治上最重要的課題。

星期一下午的課程由 **Dr. Dakorn Limrat** 介紹目前泰國的病媒防治策略。該國病媒防治的主要目標在於降低病媒密度、減少人與病媒之接觸、減短病媒的壽命以及阻斷疾病傳播鏈；而病媒防治的方法包括生物防治法、環境管理、物理防治及化學防治等四種方法。泰國在 1950 年代以前，以生物防治法及環境管理為主，例如在儲水容器飼養食蚊魚來吃蚊子的幼蟲；1950 年之後開始使用 **DDT** 進行病媒防治，近年來由於科技進步研發出各種環境衛生用藥及新的噴藥機具，使 1960 年代之後運用化學防治方法進行登革熱病媒防治成爲主流。而進行病媒防治應先了解病媒的習性，包括叮咬人的習性、棲息的習性、吸血的習性、季節盛行情形與分布、飛行能力等，才能針對其習性選擇正確的防治方法。至於防治的效果如何，可以運用病媒密度調查及計算病媒指數來評估。

## (二) 7 月 29 日 (星期二)

第二天的課程由 **Mr. Yudthana Samung** 介紹 **Basic identification of mosquito**，並到實驗室進行蚊子鑑定的實習。**Mr. Samung** 將課程分爲蚊蟲的分類及蚊蟲的鑑定二部分。

在蚊蟲的分類方面，蚊子屬於雙翅目 (**Diptera**) 蚊科 (**Culicidae**)，可

再區分為三個亞科：

- 1、巨蚊亞科 (*Toxorhynchitinae*)，共有 65 種，特徵為體型碩大，具彩色鱗片，口吻向下彎曲成彎曲鉤狀，無吸血能力，故無法傳播疾病，其子孓可補食其他蚊蟲之子孓，抑制其他蚊種的密度。
- 2、瘧蚊亞科 (*Anophelinae*)，可區分為 6 屬，約有 368 種瘧蚊，其中 *Cellia* 有 173 種、*Anopheles* 有 151 種、*Kerteszia* 有 9 種、*Lophopodomyia* 有 6 種、*Nyssorhynchus* 有 24 種、*Stethomyia* 有 5 種，多孳生於水質清澈、水流緩慢的溪流及灌溉溝渠，雌蚊於夜間吸血，且喜吸人血，在泰國，*Anopheles dirus* 為主要傳播瘧疾的媒介。
- 3、家蚊亞科 (*Culicinae*)，可區分為 37 屬，約有 2700 種，分布於下列族群：*Aedeomyiini*、*Aedini*、*Cuicicini*、*Culisetini*、*Ficabiini*、*Hodgesiini*、*Mansoniini*、*Orthopodomyiini*、*Sabethini*、*Uranotaeniini*。
  - (1) 熱帶家蚊 (*Culex quinquefasciatus*) 為班氏絲蟲 (*Wuchereria bancrofti*) 重要媒介，常見於熱帶及亞熱帶地區，可孳生於富含有機物的水塘或容器，亦可孳生於阻塞的水溝，熱帶家蚊主要吸血對象為人類，但也可叮咬牛、豬、狗等動物。
  - (2) 三斑家蚊 (*Culex tritaeniorhynchus*) 及環紋家蚊 (*Culex vishinui* Edwards) 為日本腦炎傳播媒介，主要孳生於水稻田，均為夜間活動，叮咬人與豬，以夜間九時為高峰，日間常棲息於有吸血對象的附近，吸血後的雌蚊多棲息於牆上；另外，在熱帶家蚊的口吻無白環而三斑家蚊具有。
  - (3) 埃及斑蚊 (*Aedes aegypti*) 及白線斑蚊 (*Aedes albopictus*) 為登革熱主要媒介，埃及斑蚊分布遍及世界各地，介於北緯 24° 50'



以南之地區，吸血高峰期不明顯，吸血對象為人類，吸血時容易受到驚擾而飛離，以致呈現間斷吸血的現象，使得傳播能力增加；白線斑蚊分佈於海拔 1000 公尺以下地區，主要發生在東南亞各國，吸血高峰期為日出後 1 至 2 小時及日落前 2 至 3 小時，吸血對象可為多種動物，吸血時不易受到干擾，可連續吸血 20 秒以上，傳播疾病能力因而受限制。此兩種斑蚊均喜孳生於積水人工容器。

(4) 巨型叢蚊 (*Armigeres magnus*)，成蟲體型較其他家蚊科的種類為大，主要特徵為口吻粗、略彎曲，胸背邊緣部分顏色淡且厚，腹節背面為棕黑色，主要孳生於化糞池、豬舍廢水等富含有機質的容器，飛行速度較慢，傍晚為其活動的高峰。

(5) 白腹叢蚊 (*Armigeres subalbatus*)，為泰國主要家蚊，不會傳播疾病，但會對民眾的生活造成騷擾。

(6) 斑腳沼蚊 (*Msnsonia uniformis*)，為馬來絲蟲 (*Brugia malayi*) 和班氏絲蟲 (*Wuchereria bancrofti*) 的病媒，沼蚊的幼蟲和蛹必須附著於水生植物的莖或根上，卵為紡錘形，卵塊呈放射狀，產於水生植物的葉下表皮，雌蚊產卵時以觸角尋找適當位置，將腹部伸入葉緣的水中，並以尾部刺入葉的表皮產卵，孵化的幼蟲需找到植物附著才能生存，蛹及子孓依賴骨化的呼吸管而附生於植物，沼蚊多在室外吸血，吸血高峰為夜間。

在蚊蟲的鑑定方面，Mr. Samung 詳細介紹蚊子的形態與生態。

1、蚊子的型態：主要可區分頭部、胸部和腹部。

(1) 頭部：一對複眼 (compound eye)、一對鞭狀觸角 (antenna)，分成 15 節，各分節處有環生之輪毛，觸鬚及口吻，雌性輪毛疏短，

雄性則密長。口吻 (proboscis) 細長，兩側有一對觸鬚 (palpus)，觸鬚有 5 節，瘧蚊亞科觸鬚幾乎與口吻等長，雌蚊觸鬚直伸，雄蚊觸鬚端部二節膨大為棍棒狀；家蚊亞科為雌蚊的觸鬚很短，雄蚊的觸鬚長且密生叢毛，端部上翹。

(2) 胸部：胸部分為前、中、後三節，各節均生一對腳，腳由基節、轉節、腿節、脛節及跗節構成，中胸背面主要為中胸背板 (scutum)，小盾板 (scutellum) 及後背板 (postnotum)，瘧蚊亞科之小盾板呈弧形，有緣毛均勻分佈；家蚊亞科小盾板彎曲成三突出部分，緣毛生於突出部位上。翅一對生於中胸，狹長且有固定脈象，包括前緣脈 (prehumeral)、亞前緣脈 (humeral)、六條縱脈其中第二、第四、第五縱脈成分叉狀，翅脈是有鱗片，翅後緣也有鱗片，第二對翅膀退化成棒狀，稱為平衡棍 (halter)。泰國主要瘧蚊鑑定舉例：斑腳瘧蚊 (*An. Maculatus*) 其後足第二至第五分跗節有三個寬淡色帶，中間間隔兩個暗色帶，翅前緣脈及脛脈基部有白斑；矮小瘧蚊 (*An. Minimus*) 所有跗節均為暗色，翅前緣脈及脛脈基部無白斑；*An. Dirus* 後足脛節具一段大的白斑，翅前緣脈及脛脈基部有白斑。

(3) 腹部：共分 11 節，前 7 節則有背板及腹板各一片，每節各有氣孔一對，腹節上與節間多有鱗片分佈，第 8 至 11 節特化為外生殖器，雄蚊的生殖器可作為分類依據。

## 2、蚊子的生態：

(1) 卵：一般產於水面，斑蚊的卵胚胎 3 至 5 天發育完成，由於卵殼較厚可抵抗乾燥，故可於乾燥環境下一年多後遇水仍可孵化成

蚊，大多數蚊種的卵發育所需時間約 2 至 3 天。

- ( 2 ) 幼蟲：軟殼內發育成熟的幼蟲，以期頭部背面之尖刺將卵殼前端切出一個環狀頂蓋，並蠕動脫出，幼蟲蛻皮經過三次四齡期，由上頭縫裂開脫出，大多數幼蟲的正常食物為細菌、藻類及原生動物，少部分蚊種如巨蚊可捕食其他蚊蟲幼蟲。
- ( 3 ) 蛹：於第四齡幼蟲末期體內行程，蛻皮後成為蛹，期間並不進食，一般須浮至水面以呼吸空氣
- ( 4 ) 成蟲：從蛹羽化為成蟲，由頭胸部的頂端裂出縫細鑽出，直至成蟲外骨骼硬化後飛離水面，而雄性較雌性早 1 至 2 天孵化成蚊，一般只有雌蚊吸血，剛羽化後第一天並不吸血，因口吻尚未硬化，吸血時間以夜間或午夜以前為主僅斑蚊屬於白天吸血，而雄蚊以自然界植物汁液為食，雌蚊吸血後卵巢發育 2 至 4 天可產卵，另外其交配時間僅需 10 至 25 秒，雌蚊只交配一次，交配後雄蚊分泌液體形成交配栓於雌蚊交配孔內，但約於 72 小時內完成消失，精子存於儲精囊中，供雌蚊所產的卵受精用。

### (三) 7 月 30 日 (星期三)

星期三的課程主要分為「Bioassay for base line information of Insecticide susceptibility of the vector」及「Detection of insecticide resistant status of mosquito by diagnostic dose」二項主題，均由 Dr. Narumon Komalamisra 主講。

在 Bioassay for base line information of Insecticide susceptibility of the vector 的主要內容包括：

#### 1、殺蟲劑的分類：

- (1) 有機氯殺蟲劑 (Organochlorine Compounds ; OC) : 具有神經毒性，理化性甚為安定，在酸鹼溶液及土壤中不易被分解，具遲效及長殘效性，代表化合物如 DDT。而 DDT 的使用因殘效性強，易殘留於食物鏈中最底層生物，故已被禁用。其主要作用於昆蟲中央或周圍神經系統，以干擾神經傳導離子管道之開關，特別是影響正價鈉離子管道之開啓，促使昆蟲因累積過多之鈉離子而一直處於興奮狀態，以致過度亢奮而亡。
- (2) 有機磷殺蟲劑 (Organophosphate Compounds ; OP) : 主要作用為抑制昆蟲體內乙醯膽鹼之合成，阻斷神經傳導脈衝。具觸毒、燻蒸毒及胃毒作用。代表化合物 (A) Malathion (馬拉松)，其急毒性與對人類或其他溫血動物之低毒性，成為控制病媒害蟲之首選殺蟲劑，並可取代 DDT 於殘效噴灑以防治瘧疾。代表化合物 (B) Temephos (亞培松)，主要用於殺幼蟲，對哺乳類動物具極低致毒性。
- (3) 氨基甲酸鹽殺蟲劑 (Carbamates ; C) : 與有機磷劑作用相似，亦為抑制乙醯膽鹼之作用，具胃毒及觸殺作用。毒性較有機磷劑低，在動物體內代謝快，不易蓄積。代表化合物為 Propoxur (安丹)，長殘效性，可用於蚊、蟑螂與錐蝨的防治。
- (4) 除蟲菊殺蟲劑 (Pyrethroids ; PY) : 由除蟲菊花提煉，具觸毒、胃毒、燻蒸及驅趕作用。並具速效及廣效性，對哺乳動物毒性低，但對光不穩定。新一代的除蟲菊殺蟲劑則已改良對光的穩定與增強殺蟲力。
- (5) 昆蟲生長調節劑 (Insec Growth Regulator ; IGR) : 主要作用為阻

礙昆蟲之正常發育（抑制幼蟲表皮成長與變態，使不能正常蛻皮，以致死亡）。

## 2、殺蟲劑劑型與應用

- (1) 粉劑 (Dust or Powder)，用於蝨與跳蚤防治。
- (2) 乳劑或油膏劑型 (Lotions or Ointment)，乳劑 BHC (蟲必死) 或馬拉松可用於頭蝨與體蝨防治。
- (3) 可濕性粉劑 (Wettable Powder)，以水稀釋後使用，可用於蚊類防治。
- (4) 煙霧劑型 (Aerosol)，為高濃度劑型以油或其他溶劑稀釋後，使用於 ULV 或熱霧機進行空間噴灑。
- (5) 空中噴灑型 (Aerial spraying)，用於大範圍沼澤，防治蚊類幼蟲。

## 3、殺蟲劑應用方式

- (1) 殘效噴灑：(a) 將殺蟲劑應用於物體表面。(b) 浸藥蚊帳也是殘效應用的一種。(c) 需要長時間殘效性殺蟲劑。(d) DDT 與除蟲菊類殺蟲劑可應用。(e) 大部分用於瘧疾防治。(室內殘效噴灑使用第滅寧 Deltamethrin，是目前其中一種選擇用於瘧疾流行地區)。
- (2) 熱霧噴灑：(a) 藉由熱產生殺蟲劑蒸發。(b) 將殺蟲劑加熱至 200°C。(c) 當殺蟲劑煙霧由噴嘴排出，形成緻密的煙霧。(d) 可以手持、車載或航空器方式施放。優點：可見煙霧能易於監控、可與民眾建立良好關係、僅需低濃度殺蟲劑。缺點：需要大量有機物稀釋液、稀釋成本高、居民需關閉窗戶與門、火災風險、造成交通意外機會。

- (3) 冷霧噴灑：(a) 藉由壓力噴灑殺蟲劑溶液。(b) 殺蟲劑外觀呈現霧狀而非煙狀。(c) 可以手持、車載或航空器方式施放。優點：稀釋液需求量少、可使用可濕性粉劑之劑型、更有效應用、無交通意外風險。缺點：很難看見噴灑情形、需要技巧與常規校正。
- (4) 幼蟲防治：(a) 應用殺蟲劑防治幼蟲。(b) 有效但很難執行。(c) 可使用界面活性劑、有機磷類、除蟲菊類與昆蟲生長調節劑類殺蟲劑。(d) 廣泛使用乳劑與沙粒劑型。

#### 4、殺蟲劑敏感性試驗

原理：暴露一批昆蟲（蒼蠅或蚊子）於一系列之濃度殺蟲劑，以獲得致死率。且需與正常或標準相同品系之昆蟲進行比較。實驗結果之評估，可根據於實驗所得之  $\log\text{-dose/probit line}$ 。

殺蟲劑敏感性：

LD50 (Lethal Dose)，代表每單位體重之毒性，可殺死 50% 族群數量的劑量。

LC50 (Lethal Concentration)，使用於無法決定接受確定劑量時使用，但毒物的濃度是知道的。「應用於抗藥性偵測時，於幼蟲若發現實驗族群之 LC50 大於對照族群之 LC50 10~15 倍，則有抗藥性發生。於成蟲若發現實驗族群之 LC50 大於對照族群之 LC50 5 倍，則有抗藥性發生。」

LT50，某種劑量或濃度殺蟲劑，殺死半數族群所需時間。可應用於田野調查，監控殺蟲劑抗藥性。

KD50 或 KT50，主要應用於測量擊昏時間，對除蟲菊精類殺蟲劑甚為重要。

LD-P 線圖代表的訊息：

使用 Probit 分析法可決定某種昆蟲對毒物反應的特性，如果將累積性死亡率百分比轉換成 Probit 的單位，在將其取對數的劑量做圖，可得 LD-P (Log-dose-probit mortality) 線圖。再將死亡率與劑量資料引入 Probit 分析，即可定性出一種昆蟲對毒物的反應，並得出殺死特定百分比個體所需的藥物劑量。昆蟲可以半數致死劑量 (LC50) 或 90% 致死劑量 (LC90) 加以定性。

殺蟲劑敏感性試驗可分為以下：

- (1) Topical application (局部滴藥法)：經常應用於大型昆蟲 (蟑螂)，昆蟲會得到精確的殺蟲劑劑量。實驗步驟：(a) 試驗昆蟲短暫地使用二氧化碳或乙醚麻醉。(b) 將殺蟲劑溶液微液 (0.1  $\mu$ l) 滴於試驗昆蟲之前胸背板。(c) 至少需使用 5 種濃度。(d) 每種濃度需使用 30 隻試驗昆蟲。(e) 記錄 24 小時後之致死率。(f) 計算 Log dose/ probit mortality regression (劑量-死亡率迴歸線) 或畫於對數機率紙上。(g) 求得 LC50、LC90、LC95。
- (2) Tarsal contact with insecticide impregnated filter paper：使用世界衛生組織實驗套組 (WHO test kit)，試驗於羽化 2 至 5 天之未吸血雌蚊 (20-25 隻)，暴露於浸藥濾紙 1 小時後，將試驗雌蚊移至無浸藥濾紙試管，決定 24 小時劑量與致死率關係。計算 Log dose/ probit mortality regression 或畫於對數機率紙上求得 LD50。分析資料：(a) 假如對照組致死率小於 5%，無須校正。(b) 假如對照組致死率介於 5%~20%，需進行校正。(c) 假如對照組致死率大於 20%，實驗無效。校正時使用 Abbott' s

方程式

$$M = (MO - MC) \div (100 - MC) \times 100$$

M = 校正致死率 (%)、MO = 觀察組致死率 (%)、MC = 控制組致死率 (%)

- (3) Residual action of insecticide deposits on plywood, plaster, mud, thatch and other substrates (殘效試驗): 實驗步驟: (a) 將懸浮狀、乳狀或液狀濃縮之殺蟲劑噴灑於實驗材質表面。(b) 將此實驗材質儲存於 25°C 及 50~55% 相對濕度環境。(c) 將羽化 2 至 5 天之未吸血雌蚊 (15 隻), 暴露於圓錐中 (WHO test kit), 使雌蚊停靠於實驗材質上。(d) 暴露 30 分鐘。(e) 24 小時後計算致死率。(f) 實驗必須於防治後重複執行。準則: 於防治 (噴灑殺蟲劑) 8 週後, 暴露 30 分鐘, 並於 24 小時後, 計算其致死率仍需至少達 70%。
- (4) Tarsal contact with insecticide impregnated bed net: 實驗步驟: (a) 準備羽化 2 至 5 天之未吸血雌蚊 (15 隻)。(b) 將生物檢測圓錐 (WHO test kit) 置放於浸藥蚊帳上。(c) 將雌蚊置放於圓錐中暴露 3 分鐘後, 移除雌蚊。(d) 控制組與系列濃度殺蟲劑使用試驗, 以評估 LD50。(e) 24 小時後, 計算其致死率。
- (5) For fast acting (quick knock down) insecticide: 實驗步驟: (a) 放置生物檢測圓錐 (WHO test kit) 於浸藥蚊帳上。(b) 將 11 隻雌蚊置放於圓錐中, 接觸蚊帳 1 分鐘 (5 重複)。(c) 觀察第 6 隻雌蚊 (中位數) 第一次被擊昏的時間。(d) 計算求得平均半數擊昏時間 (KT50)。KT50 達 10 分鐘, 代表好的擊昏效果。



## (6) Techniques for testing insecticide on mosquito larva

### A、Conventional insecticide

實驗步驟：(a) 一系列至少 5 種濃度殺蟲劑於酒精或合適的有機溶劑。(b) 25 隻晚期 L3 或早期 L4 子孓，放於 249ml 的水。(c) 添加 1ml 殺蟲劑溶液。(d) 觀察 24 小時後之致死率。(e) 計算劑量-死亡率迴歸線或畫於對數機率紙上。

### B、IGR

實驗步驟與傳統幼蟲殺蟲劑實驗相似，若使用晚期 L4 子孓，則暴露六小時。若使用中期 L4 子孓，則連續暴露 24 或 48 小時。每天觀察致死率直到羽化為成蟲，或最後一隻子孓或蛹死亡。因為實驗持續時間較長，因此實驗期間需提供子孓食物。總致死率（子孓、蛹及成蟲致死率）及羽化的成蟲數量需被記錄。IGR 效力可表示為 LC50 或 LC90，或羽化抑制率（%Emergence Inhibition；%EI）。

$$EI(\%) = 100 - \left( \frac{\text{No. of adult emergence}}{\text{No. of test larvae}} \right) \times 100。$$

### C、微生物製劑殺蟲劑

實驗步驟：(a) 準備一系列至少 6 種濃度的細菌性殺蟲劑懸浮液，加入去離子水中。(b) 將 25 隻早期 L4 子孓，放入每杯含有 150ml 的去離子水。埃及斑蚊使用蘇力菌、熱帶家蚊使用球桿菌。(c) 記錄 24 和 48 小時後的致死率。(d) 實驗 24 小時後提供幼蟲食物。(e) 計算劑量-死亡率迴歸線或畫於對數機率紙上。

在Detection of insecticide resistant status of mosquito by diagnostic dose的主要內容包括：

1、決定蚊子對殺蟲劑感受性狀態，目的包括：

- (1) 於防治工作前提供某種品系蚊子，對殺蟲劑反應的基準資料 (Baseline data)，以規劃防治計畫與殺蟲劑的選擇。
- (2) 早期偵測抗藥性出現，適時提出抗藥性管理。於晚期發現抗藥是仍是重要，因其仍可說明防治失敗的原因。此時提出任何抗藥性管理方法都未比更換殺蟲劑來的有效。
- (3) 監測抗藥性一段時間，以評估防治策略於抗藥性的成效。

2、測試殺蟲劑敏感性試驗

- (1) Tarsal contact with insecticide impregnated filter paper
- (2) Techniques for testing insecticide on mosquito larva (Conventional insecticide)

3、以診斷劑量偵測蚊子對殺蟲劑的抗藥性狀態

實驗步驟：(a) 使用 WHO test kit。(b) 使用單一殺蟲劑劑量的診斷劑量。(c) 試驗於羽化 2 至 5 天之未吸血雌蚊 (20-25 隻)。(d) 暴露 1 小時。(e) 24 小時後，計算其致死率。

藉由診斷劑量決定成蚊對殺蟲劑感受性協定：

- (1) 使用診斷濃度或暴露時間。
- (2) 實驗需週期性執行，至少需 75 隻成蚊，若有 100 隻更好。事實上獲得足夠的數目滿足統計要求可能是困難的，特別是當這種殺蟲劑有效地降低族群數目，或者在該季節的繁殖是較少的時後。

- (3) 抗藥性的操作型標準，通常認為是有 20% 存活率，或者是有更多試驗存活，是應用 WHO test kit 於田野，使用目前知道常用的殺蟲劑之診斷濃度。
- (4) 診斷濃度不傾向模擬使用於田野，但是濃度發現是可靠殺死從未遭遇殺蟲劑的品系時，可假設其為感性品系。
- (5) 報告一種特別病媒品系，在一特別地區內具抗藥性時，並不需要改變在該區域的防治計畫。

#### 4、決定蚊類幼蟲對殺蟲劑具感受性或抗藥性

敏感性試驗的目的，是盡快在一蚊子幼蟲的族群裡發現具抗藥性個體的出現，當使用的殺蟲劑不再有預期效果時，其它的控制計畫將可及時制定，以處理這個狀況。通常，以廣泛的試驗先建立正常族群的劑量-死亡率迴歸線。從這些資料，通常是可選擇出單一劑量，可預期殺死在特定的狀況下，實驗品系的全部正常個體。此關鍵劑量能使用作為監視，以確認野生族群的樣本起始的抗藥性狀況。

兩種方法對調查幼蟲的族群是必要的，

- (1) 建立正常族群基線 (baseline) 的感受性。
- (2) 在殺蟲劑篩選的壓力下，頻繁暴露一族群於診斷濃度，將可作為偵測異常耐受個體出現和監視他們改變的頻率。

建立基準線資料，

- (1) 初步試驗為使用大範圍的濃度，於 24 個小時的標準暴露。
- (2) 更進一步的試驗執行至少 4 種濃度，將得到不完全的死亡率（至少其中一種濃度獲得 100% 致死率，其他兩種得到 5~50% 致死率）。每種濃度進行四重複。從結果中建立劑量-死亡率迴歸線。

透過診斷劑量，進行隨後之常規確認，

- (1) 在抗藥性的常規監測方面，只有診斷濃度應該被使用。
- (2) 以診斷濃度試驗，應該重複週期性執行，至少使用 25 隻幼蟲，進行四重複。
- (3) 如果反覆發現存活者，則確認發生抗藥性。

診斷劑量與解釋：診斷劑量定義為 2 倍感性品系對殺蟲劑濃度 LC99，野外品系使用一種診斷濃度進行試驗，每次進行 3 重複。假如在其中一次試驗中，觀察到有存活者，代表有抗藥性存在，實驗應該要再重複進行以確認。

使用診斷劑量解釋感受性試驗結果：WHO 建議，98~100%致死率代表感性品系、80~97%致死率建議有抗藥性的可能，建議實驗重做、小於 80%致死率建議為抗藥性品系。如果在理想狀況下，使用樣本數超過 100，發現致死率小於 95%時，強烈建議為抗藥性品系。

#### (四) 7 月 31 日 (星期四)

星期四課程主題為「Detection of Insecticide resistance mechanism」，仍由 Dr. Narumon Komalamisra 主講，並進行殺蟲劑抗藥性的實驗操作，同時就前一天課程中有關偵測昆蟲抗藥性結果進行數值分析 (Probit analysis)。

在 Detection of Insecticide Resistance mechanisms 課程部分，主要內容如下。

昆蟲殺蟲劑依其主成分可分為四大類：有機氯類 (Organochlorine)、有機磷類 (Organophosphate)、除蟲菊精類 (Pyrethroids) 及氨基甲酸鹽類 (Carbamate)。有機氯及除蟲菊精類藥物作用機制類似，兩者皆是與神經細胞細胞膜上的鈉離子通道相結合，阻斷細胞內、外鈉離子的傳輸，藉以干擾神經

傳導。但另一種屬有機氯類的藥劑—Cyclodienes 則較為特殊，其藉由與  $\gamma$ -丁氨基酪酸 (Gama-aminobutyric acid, GABA) 受器結合 (GABA 受器位於神經元細胞膜的氯離子通道上)，導致依賴 GABA 受器移動的氯離子無法傳輸，達到毒殺效果。有機磷與氨基甲酸鹽類藥物作用機制類似，但氨基甲酸鹽殘效期較長。兩者皆為乙醯膽鹼酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 抑制劑，其藉由與乙醯膽鹼酯酶結合而使其失去作用，導致乙醯膽鹼 (acetylcholine) 無法正常分解，而乙醯膽鹼正是攜帶神經衝動傳導通過突觸 (synaptic junction) 的物質，累積過量之乙醯膽鹼將引發異常興奮，最終造成昆蟲死亡。

上述藥物雖已用於病媒防治工作上，但在藥物施用過程中往往會出現藥物失效的情況。究其原因為生物具備基因多樣性有關。簡單的說，原始族群內昆蟲個體各自攜有不同的抗藥基因，或許有表現，亦或無表現，一旦藥物開始施用後，感受性個體逐漸因施藥而淘汰死亡，不具感受性個體 (抗藥個體) 則存活並繁殖，此篩選過程使得族群內抗藥個體大量增生，昆蟲抗藥性問題隨之浮現。

昆蟲抗藥性機制共分爲四種：

- 1、增加排出藥劑的能力：增加殺蟲劑排泄的速率，避免殺蟲劑累積於體內。  
對多數昆蟲而言，此模式較為罕見。
- 2、降低結合標的物對藥劑的感受性：多數是由於受器 (AChE、GABA receptors 等) 上的胺基酸分子結構發生改變以影響其感受性。例如改變乙醯膽鹼酯酶構造，讓有機磷及氨基甲酸鹽類藥劑無法與乙醯膽鹼酯酶結合，造成藥劑失去作用。另外，有些昆蟲藉由改變鈉離子通道上胺基酸分子結構來抵抗除蟲菊精類所引起的快速擊昏效果，稱爲 knock-down resistance (kdr)。具 kdr 抗藥性昆蟲，係藉由減少結合標的物 (受器)

密度，或者是減少藥劑與受器之親和力來減少對藥劑的敏感度。

- 3、減少藥劑穿透體壁的能力：藉由增加體表的厚度或者是改變化學結合位置以減少藥劑進入昆蟲體內的機會。
- 4、增加毒性物質之代謝能力：酵素在「質」與「量」上發生變化，讓藥劑尚未與結合標的物（受器）結合前，即先行代謝藥劑，使其無法發生作用，Esterase、Monooxygenases 及 Glutathione-S-transferase 等皆屬此類酵素。此種能力可透過分子機制改變調節：1.增加製造酵素的基因數目，讓酵素能大量製造；2.基因調節物質數量大增，轉譯出更多的酵素；3.讓轉錄的 mRNA 穩定度增加，後續能轉譯出更多的酵素 4. 酵素基因序列本身發生突變促其分解殺蟲劑的能力增加。

過去的抗藥性偵測需等到防治後期出現控制失敗後才考慮調整用藥，這對於疫情控制是緩不濟急的，因此，極需更佳的抗藥性管理策略以應付之。野外品系感受性試驗屬早期診斷方法之一，現在已可透過生化微陣列分析（biochemical microassay）偵測抗藥性基因存在與否，以及早獲得抗藥性發展情報。現所使用的生化微陣列分析較以往傳統生物性試驗有更多的優點，包括：只需單一隻昆蟲即可進行簡短的測試，完成抗藥性與其機轉偵測；而其所具備的實用特性，更有利於抗藥性監視工作，達到早期診斷發現之目的。

現行生化微陣列分析有兩種方法：

- 1、濾紙法（Filter paper）：或稱為硝化纖維素膜（nitrocellulose membrane）測試，通常一次測試以單一隻蚊子為材料，結果可直接利用視覺或濃度計進行測量，並留下永久紀錄。
- 2、微量盤測試法（Microtiter plates）：此法讓同種昆蟲可一併測試，測試結果係利用視覺或分光光度計進行測量，如利用分光光度計測量後，機

器將可自動紀錄結果並列印於紙上，再由人工進行判讀。

對昆蟲族群長期使用殺蟲藥劑將形成一種篩選機制，最終必會產生昆蟲抗藥性之結果。固定單一藥劑的長時間施用將有機會引發交互抗藥性問題，使得某些化學構造及毒殺作用機制與此藥劑類似者，雖過去未曾使用過，但昆蟲族群亦出現抗藥性情形產生。以登革熱防治工作為例，如能避免同時施用單一藥劑於成蚊與幼蟲防治工作上，將可減少病媒蚊形成抗藥性機會。當一種昆蟲具有兩種以上抗藥機轉，稱其為具有多重抗藥性。為避免昆蟲抗藥性產生而影響疾病防治工作結果，建議應將抗藥性監測機制納為病媒防治計畫中的一環，實施防治工作前，須先確認欲防治之病媒族群其對藥劑的感受性，確立使用藥劑種類及劑量。而在防治計畫過程中持續監測，以早期偵測抗藥性發生情形，俾使抗藥性管理策略得以及早妥適因應。

Dr. Komalamisra 在詳細的課程講解後，請 Dr. Rawewan Srisawat 帶大家進行殺蟲劑抗藥性的實驗操作，實驗的原理及操作詳如附錄 2。

在偵測昆蟲抗藥性結果的數值分析 (Probit analysis) 部分，毒物學的研究常會使用 Probit analysis 分析方法，來瞭解某種毒物對於受試體之影響，特別是當受試體測試結果為「存活或死亡」時；若應用在昆蟲研究領域，則常用於計算某種藥劑對於某昆蟲的半數致死劑量 (LD50)、半數致死濃度 (LC50) 等數值，該方法亦可用於某昆蟲族群進行殺蟲藥物敏感度檢測，也就是一般熟知的抗藥性檢測。

Probit analysis 的概念最早是由 Chester Ittner Bliss 所提出，其將生物試驗所獲得的死亡率轉換成一機率單位 (‘probability unit’ 或稱 ‘probit’ )，並製作表格供其他研究者將實驗數據：受試生物死亡率 (mortality) 及取對數後的藥劑劑量 (Log dose) 進行繪圖，讓圖內各點所串連的線條可近似直線。這張

表格經過 D. J. Finney 修改後，更被廣泛應用在毒物學研究上。

欲瞭解現使用之藥劑對於特定地區登革熱病媒蚊之防治效果，即可使用 Probit analysis 協助計算 LD50 或 LC50，來判斷實際施藥之藥劑濃度是否足夠，或者可依實驗結果選定噴灑何種藥劑，及其所需濃度。本次泰國訓練課程，課堂上使用「Probit analysis program」軟體協助計算實驗中所觀察到的數據，該軟體於訓練課程結束後校方另行燒製成光碟，讓我們攜回台灣。

執行該軟體時畫面會先出現七個選項，首先選第三項：Menu 3 < File creation >，再選擇第四項：Create a file。軟體會要求使用者將檔案命名，並指定檔案儲存位置。接著軟體會詢問實驗設計中，有試驗幾種藥劑濃度 (Point)？以及實驗日期與藥劑名稱。隨後，軟體會出現 Point 1 標題，使用者可依序輸入「受試蟲體隻數 (Total)」、「受試蟲體死亡隻數 (Killed)」、「劑量濃度 (Dose)」，當所有藥劑濃度點 (Point) 輸入完畢後，再輸入控制組的「受試蟲體隻數 (Total)」及「受試蟲體死亡隻數 (Killed)」，隨後軟體即整理出方才所輸入的數據，並存入檔案中。另軟體可將劑量濃度 (Dose) 數值轉換為對數值，以取得劑量濃度與受試物死亡百分比間的線性關係。完成上述步驟後，選擇軟體選項二：Menu 2 < Detailed analysis >，再選擇第五項：Compute line parameters，畫面即可出現不同 LC 值時所對應的劑量濃度，軟體預設 LC 值為 LC2、LC50、LC90、LC95 及 LC98 等，同時以 95% 信賴區間表示。如在研究上需要計算其他的 LC 值，則可在提示行 (Enter another LC value) 後方輸入欲計算之 LC 值；同樣地，該值的信賴區間可以自行鍵入或使用軟體預設值 (95%)。如此算出的 LC50 值，即可讓我們知道受試蟲體在何種藥劑濃度下，會出現半數死亡之結果。

野外的登革熱病媒蚊是否有抗藥性出現？這與各地不同的判定標準有



關。就目前泰國所使用的標準來說，野生株的 LC50 值與感受性株的 LC50 值兩者相除，若成蚊大於 5，孑孓大於 10，則判定為具有抗藥性。台灣現在似無建立類似的判定標準，未來，或許可透過本土資料建立自己的判定標準，一旦登革熱疫情發生而須進行噴藥工作時，即可迅速判定該區域是否已出現抗藥性之蚊種，以利藥劑之選用。

#### (五) 8 月 1 日 (星期五)

本次訓練最後一天的課程主題包括「Mosquito larva control by biopesticide and monitoring of biopesticide method」及「Repellent for personal protection and testing method for repellent effectiveness」，由 Dr. Narumon Komalamisra 主講。

在生物性殺蟲劑 (Mosquito larva control by biopesticide and monitoring of biopesticide method) 部分，詳細課程內容如下。

生物性殺蟲劑的種類可分為植物化學物質 (Phytochemicals) 及病原性微生物製劑 (Pathogenic microbial agents)，植物化學物質 (Phytochemicals) 包括除蟲菊 (pyrethrin)、毒藤酮 (Rotenoids，豆薯種子所含的劇毒成分)、尼古丁 (nicotine) 及印楝素 (azadirachtin)；病原性微生物製劑 (Pathogenic microbial agents) 包括(1)生物孢子 (Bacterial spores)，(2)病毒粒子 (Virions)，(3)分生孢子 (Conidia)，(4)微孢子蟲 (Microsporidia) 及(5)Mermithid nematodes。而目前用於蚊子防治的生物性殺蟲劑包括：

#### 1、病原性微生物製劑：

(1) 蘇力菌 *Bacillus thuringiensis israeliensis* (Bti)

(2) *B. sphaericus* (BS)

#### 2、植物化學物質 (忌避性)



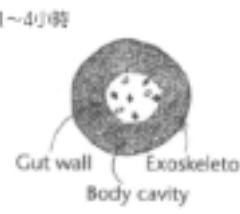

( 1 ) *Cymbopogon nardus*: citronella oil

( 2 ) *Eucalyptus maculata citriodon*: Citriodiol

一般而言，生物性殺蟲劑用於控制農業害蟲，但也可用於病媒性昆蟲的防治。在控制農業害蟲方面的效用包括降低農作物及山林的損失、克服合成性殺蟲劑的缺點、提升並達到對人類、動物及環境之健康標準；若特定用於控制病媒昆蟲，可能原因為( 1 )病媒昆蟲的抗藥性、( 2 )合成化學物質成本高昂、( 3 )對非目標物種的毒性問題、( 4 )環境污染問題。目前生物性殺蟲劑在防治蚊子方面之使用狀況，以微生物製劑蘇力菌 *Bacillus thuringiensis israeliensis* (Bti)為例，說明如下。

- 細菌性殺蚊劑：具高度專一性，可殺死特定蚊子，對其他物種無害；有立即的致死力；無環境污染。
- 作用機制：蘇力菌為一胃毒劑，必須讓害蟲取食引起消化道中毒而死，所有蘇力菌產品之作用原理，均與此類似。當蘇力菌孢子及其毒蛋白結晶內毒素被標的害蟲取食，進入中腸，中腸內呈高度鹼性，並含有許多酵素，以致於毒蛋白結晶溶解，會使中腸細胞麻痺，毒蛋白成份隨即攻擊害蟲腸壁，阻斷酵素系統，干擾正常的消化作用，腸壁迅即產生破洞、腸穿孔，而使得腸內的物質進入體腔、血淋巴。此一初步中毒，使得害蟲停止進食，甚至於麻痺，然後細菌孢子經由此腸破洞侵入害蟲體腔及其他組織，在血淋巴內繁殖數小時，引起血淋巴中毒、敗血症，迅速將害蟲殺死或數日後死亡。

BTI 破壞蚊子幼蟲中腸過程圖

			
<p>孑孓取食懸浮水面之 BTI 孢子及毒蛋白結晶</p>	<p>孢子及毒蛋白結晶進入中腸內，結晶溶解</p>	<p>孑孓中腸由於毒蛋白結晶之作用，腸壁破裂</p>	<p>毒蛋白結晶完全溶解，孢子隨之侵入體腔，孑孓死亡</p>

● 二種微生物製劑的細菌毒性：

(1)BTI：4 種毒蛋白，包括 cry 4A，4B，10A，11A。對所有蚊種均有效，包括 black fly larvae。

(2)球形芽孢桿菌 *B. sphaericus* (B.sp.)：雙體毒蛋白 51.4 kDa & 41.9 kDa。對 *Culex*, *Anopheles*, *Mansonia* 有效。

● 微生物製劑殺蟲劑之生物檢定實驗

(1)至少一系列 6 種濃度的細菌性懸浮液（使用去離子水），

(2)每杯 150 ml 去離子水，分別進行測試 *Aedes aegypti* 用 Bti H-14 測試；*Culex. quinquefasciatus* 用 Bs 測試。

(3)紀錄 24 小時及 48 小時後的死亡率。

(4)暴露 24 小時後，提供食物予測試之幼蟲。

(5)進行數值分析及回歸

(6)結論：Bti H-14 可快速殺死幼蟲，24 小時與 48 小時死亡率並無差別，而 Bs 僅能緩慢殺死幼蟲，在 48 小時才紀錄到死亡率。

● BTI 與 BS 二種微生物製劑之劑型：包括液體濃縮劑、可濕性粉劑、粉劑、粒劑或餅塊劑。

● 應用方式：空間噴灑（冷霧式噴灑或熱霧式噴灑）或直接投入容器。

有關泰國在使用 BTI 及 BS 控制病媒蚊之試驗，詳如附錄 3。

在忌避劑及其效能測試(Repellent for personal protection and testing method for repellent effectiveness) 部分，忌避劑主要用於皮膚或衣物，可避免蚊蟲叮咬人類或其他溫血動物。特別用於戶外活動以防止被蚊蟲叮咬，是個人防護的優先選擇，但不建議用於蚊帳、草蓆及其他化學防治方法。忌避劑並非殺蟲劑，無法殺死蚊子，僅可防止蚊子叮咬，使蚊子遠離使用忌避劑之表面 5-7.5 公分，但仍可看見蚊子在身旁飛舞。良好的忌避劑應可完全覆蓋使用的表面，使蚊子無法偵測到宿主(人或動物)，妨礙蚊子對宿主的感知能力，而無法叮咬宿主。

傳統或天然的忌避劑包括煙以及由某些植物萃取的油，如香茅草(citronella)、楝樹(Neem tree)或其他芳香植物(Aromatic trees)。而常見的合成性忌避劑有下列三種：

- 1、N,N-Diethyl-3-methylbenzamide(deet; formerly N,N-diethyl-meta-toluamide)，一般稱為待乙妥或敵避。
- 2、IR3535 [3-(N-acetyl-N-butyl) aminopropionic acid ethyl ester]
- 3、icaridin [1-piperidinecarboxylic acid 2-(2-hydroxyethyl)-1-methylpropylester]

忌避劑的有效性及其持續時間受下列因素影響：

- 1、忌避劑的型式(有效成分及劑型)
- 2、應用的模式
- 3、當地環境狀況(溫度、溼度、風向或風速)
- 4、個人對蚊蟲的吸引力
- 5、汗水或耗損造成忌避劑的流失
- 6、蚊蟲對忌避劑的敏感性

忌避劑是否有效的測試方法與實驗詳如附錄 4。

為期 5 天的訓練在緊湊的課程與一連串的實驗操作中結束，星期五下午的結訓典禮，由 Mahidol 大學熱帶醫學院院長 Dr. Singhasivanon 主持，並舉行授證儀式。Dr. Singhasivanon 在熱帶醫學之臨床與公共衛生方面均有豐富的經驗，他在致詞中強調，由於氣候及環境的變遷，熱帶醫學已逐漸受到各國的重視，身為公共衛生與傳染病防治團隊的一員，除了不斷學習相關的知識，能夠知其然之外，也要有追根究底的好奇心，才能知其所以然。Dr. Singhasivanon 也謙虛的感謝本局選擇 Mahidol 大學熱帶醫學院作為訓練單位，希望藉由這樣的學術交流與經驗分享，共同提升彼此對於傳染病防治的專業能力，帶給人們更好的生活。最後，Dr. Singhasivanon 並親自逐一為這次參訓的學員授證。

#### 四、心得與建議

本次訓練是由本局就病媒傳染病的防治需要，請泰國曼谷 Mahidol 大學熱帶醫學院協助安排相關的訓練課程。由於熱帶地區盛行的病媒傳染病相當多，但受限於訓練時間僅有 5 天，Mahidol 大學熱帶醫學院也針對不同疾病的病媒種類及其防治方法，重點式的將病媒防治策略、病媒種類鑑定、病媒對殺蟲劑的敏感性與抗藥性、生物防治法及忌避劑的使用與效果等議題，詳細介紹給學員，同時在課程安排上，課堂解說與實驗並重，使我們在實驗操作的過程中實際體驗並複習講堂中老師所講解的內容，實在獲益良多。

Mahidol 大學熱帶醫學院在熱帶醫學的訓練方面，擁有豐富的經驗與熱忱，該校除了多次提供本局同仁熱帶醫學訓練的機會之外，也協助其他國家進行訓練，並針對參訓人員為醫師、公共衛生人員或病媒防治人員等不同背景規劃訓練內容，在我們前往受訓的同時，正好也有寮國的公共衛生人員參加熱帶傳染病的防治訓練，並在受訓二天後由 Dr. Chamnarn Apiwathnasorn 帶領前往郊外進行病

媒調查實習，此次有幸能夠前往這個豐富的學術殿堂研習病媒防治，確實是一次難忘的經驗。

建議事項如下：

- 一、 泰國曼谷 Mahidol 大學的熱帶醫學院擁有豐富的教學資源，並可依需求提供不同的熱帶傳染病訓練課程，而泰國所處的地理位置及環境也有多樣性的病媒可供調查實習，建議可視病媒傳染病防治及人才培訓需求，持續派員前往學習，強化我國之防疫能量。
- 二、 本次訓練受限於時間，實習課程以實驗室操作為主，未來如有機會可增加野外實習課程，至疾病流行或病媒棲息地區實地調查當地病媒生長環境狀況，以增加實務經驗。

## 附錄 1. 熱帶醫學訓練課程表

Training Program: Vector Control Course  
Vector-Borne Section, Prevention Division, Centers for Disease Control, Taiwan  
During 28 July – 1 August 2008

Date/Time	Topics	Lecturer	Lab. Instructor
<b>Mon. 28 Jul. 2008</b> 09.00-10.00 hr 10.00-12.00 hr 13.00-15.00 hr 15.00-16.00 hr	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Opening ceremony</li> <li>● Vector-borne disease situation: An overview in SEA and their control (Lec.)</li> <li>● Vector control strategies in Thailand (Lec.)</li> <li>● Current researches on medical entomology (Lec.)</li> </ul>	Chamnarn Apiwathnasorn  Dakorn Limrat Chamnarn Apiwathnasorn	- - -
<b>Tues. 29 Jul. 2008</b> 09.00-12.00 hr 13.00-14.00 hr 14.00-16.00 hr	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Practice on basic identification of mosquito (Lab.)</li> <li>● Mosquito colonization (Lec.)</li> <li>● Field surveys and entomological indices (Lec.)</li> </ul>	Yudthana Samung Supatra Thongrunkiat Chamnarn Apiwathnasorn	- - -
<b>Wed. 30 Jul. 2008</b> 09.00-12.00 hr 13.00-15.00 hr 15.00-16.00 hr	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Bioassay for base line information of Insecticide susceptibility of the vector (Lec. 1.5, Lab. 1.5)</li> <li>● Detection of insecticide resistant status of mosquito by diagnostic dose (Lec. 1.5, Lab. 1.5)</li> <li>● Probit analysis (Lec.)</li> </ul>	Narumon Komalamisra  Narumon Komalamisra  Raweewan Srisawat	Narumon Komalamisra Raweewan Srisawat Narumon Komalamisra Raweewan Srisawat
<b>Thurs. 31 Jul. 2008</b> 09.00-12.00 hr 13.00-16.00 hr	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Detection of Insecticide resistance mechanism (Lec. 2, Lab. 1)</li> <li>● Detection of Insecticide resistance mechanism (Lec. 1, Lab. 2)</li> </ul>	Narumon Komalamisra Raweewan Srisawat	Narumon Komalamisra Raweewan Srisawat
<b>Fri. 1 Aug. 2008</b> 09.00-12.00 hr 13.00-16.00 hr	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Mosquito larva control by biopesticide and monitoring of biopesticide method (Lec. 1, Lab.2)</li> <li>● Repellent for personal protection and testing method for repellent effectiveness (Lec. 1, Lab. 2)</li> </ul>	Narumon Komalamisra  Narumon Komalamisra	Narumon Komalamisra Samrerng Prummongkol Narumon Komalamisra Keawmala Palakul

**Coordinator:** Assoc.Prof.Narumon Komalamisra. Insecticide Research Unit, Department of Medical Entomology, Tel. 1843, 1844. **Revised:** July 11, 2008

## 附錄 2. 殺蟲劑抗藥性實驗原理與操作

### 殺蟲劑抗藥機轉檢測

神經傳遞主要依靠神經細胞膜上末端軸突間乙醯膽鹼傳遞脈衝。OC(滴滴涕 DDT 衍生物)藉由結合神經細胞膜上之鈉離子通道電位閘門阻礙神經脈衝傳導到軸突。除蟲菊精.Pyrethroids 也是藉由結合神經細胞膜上之鈉離子通道電位閘門。環二烯類 Cyclodienes (OC) 藉由結合神經細胞膜上之氯離子通道之  $\gamma$ -丁氨基酪酸 gamma aminobutyric acid (GABG)接受體。

有機磷 OP 和氨基甲酸鹽 Carbamates 主要目標是乙醯膽鹼酯酶(AChE)，乙醯膽鹼酯酶負責水解軸突間乙醯膽鹼，而乙醯膽鹼主要傳遞訊息脈衝。

### 殺蟲劑抗性

一些原先對藥物具感受性物種喪失它的感受性且原先對正常組群中個體有效的致死劑量也變得有耐受性。這種現象常發生在昆蟲界中，當用藥一段時期後，會篩選出不正常的抗藥個體出來。

經由一種藥物篩選出的抗藥性能夠對其他藥物產生交叉抗性出來。這種抗藥性可能具狹窄性(例如僅在某類藥物中少數幾種)或具寬廣性含蓋多種藥物種類抗性。一隻昆蟲個體同時具備一種以上之抗藥機轉稱為多重抗藥。

蟲媒控制計劃中，抗藥性監測應是重要的一部份。在執行計劃時之前應確定蟲媒的感受性，選出適當的殺蟲劑。而且應在計畫早期就開始執行並貫徹全期監測，使得抗藥處理策略能夠獲得成效。事件晚期發覺控制失敗時，要替換藥劑來改善狀況。

需要有效之技術來作為早期監測抗藥性發生，其中之一需作田野感受性試驗監測早期抗藥發生，另外應用生化技術監測個體是否產生抗藥基因突變。

### 殺蟲劑抗藥機轉

在所有昆蟲中針對主要殺蟲劑做抗藥機轉分為 4 大類：

1. 增加非毒性物質代謝率
2. 減少目標位置敏感性
3. 減少殺蟲劑穿透率
4. 增加殺蟲劑排泄率

#### 一.減少殺蟲劑穿透率：

可藉由改變昆蟲外表化學結構或厚度來減少殺蟲劑穿透吸收，例如部份家蚊 *Cx quinquefasciatus* 對 OP 抗性，家蠅對 DDT 產生抗性。但這類抗性僅提供低



程度抗性(小於 5 倍)，僅結合其他抗藥機轉時才會變得重要。

## 二. 增加殺蟲劑排泄率：

通常不常見，例如埃及斑蚊幼蟲利用 peritrophic 膜當作工具將 DDT 排除。

## 三. 減少目標位置敏感性：

殺蟲劑接受體目標感受性改變阻礙與殺蟲劑交互反應，通常發生在蛋白質序列中單一氨基酸的取代。這些目標位置有乙醯膽鹼酵素(AChE)、gamma aminobutyric acid (GABG)接受體、鈉離子通道蛋白質等。

### 1. 改變乙醯膽鹼酵素(AChE)

乙醯膽鹼酵素(AChE)主要為 OP 與 carbamate 殺蟲劑接受體，乙醯膽鹼酵素的結構變化廣泛發生在昆蟲界中。乙醯膽鹼酵素與其基因 *Ace* 在 *D. melanogaster* 已被研究透徹。其改變可透過轉譯層次產生大量乙醯膽鹼酵素來抵制殺蟲劑和藉由結構改變來降低與殺蟲劑之親合力。

乙醯膽鹼酵素分析可透過加入受質、染劑、殺蟲劑 (抑制劑)反應後測 OD405nm 當呈現黃色時表示具抗性，清澈表示具感受性。

### 2. 改變 gamma aminobutyric acid (GABG)接受體

GABG 位於神經系統中 chloride 離子通道上，為 cyclodiene 殺蟲劑接受體，cyclodiene 殺蟲劑藉由阻隔 chloride 離子通道造成神經傳導異常。突變 gamma aminobutyric acid (GABG)發生在蛋白質序列中單一氨基酸的取代(Ala<sup>320</sup> 變成 Ser)位於通道上第二穿透膜。

### 3. 改變鈉離子通道蛋白質

鈉離子通道蛋白質是昆蟲神經系統中為除蟲菊精 (Pyrethroids) 及滴滴涕 (DDT) 殺蟲劑接受體，昆蟲可藉由改變鈉離子通道蛋白質抵抗除蟲菊精快速的擊昏(knock-down)效果，稱之擊昏抗性 knock-down resistant (Kdr)。昆蟲具 Kdr 抗性，可藉由降低鈉離子通道蛋白質上殺蟲劑目標位置的密度或藉由改變結構降低其與殺蟲劑之親合力。

## 四. 增加非毒性物質代謝率：

在殺蟲劑抵達目標位置前，這包括代謝或分解殺蟲劑之酵素本身定性和定量的改變。這些昆蟲代謝相關酵素有酯酶 (Esterase)、單氧化酶

(Monooxygenases)、麩胱甘肽硫轉基酶 (Glutathione-S-transferase)。

這些代謝酵素 2 個主要產生抗性途徑：量的改變，增加產量，增強代謝率或分解率；質的改變，催化活性提昇，增加對殺蟲劑代謝率。

而以上這些代謝酵素可透過許多不同分子機轉來增加其活性：

1. 放大酵素本身之轉錄基因。
2. 改變轉錄基因調控，增加基因轉錄 (transcription)。
3. 增加 mRNA 穩定性。
4. 結構基因可能含 1 或 2 個突變 (刪除或插入) 導致酵素催化殺蟲劑活性提昇。

一般抗性的檢測是透過實驗室中昆蟲感受性試驗之致死劑量來呈現。

### 生化微量分析的好處勝過生物分析

1. 能夠從單一蟲體檢測抗性和機轉
2. 能夠實際監測早期抗性發生

### 生化微量分析：

1. 濾紙分析法(Filter paper)
2. 微量盤分析法(Microtiter plates)

濾紙分析法通常每次分析使用 1 隻蚊子並可使用密度儀或肉眼定量，且提供一個恆久記錄可供未來再一次測試。微量盤分析法使得相同昆蟲進行所有分析並可使用光學質譜密度儀或肉眼定量，並簡單使用一轉移盤將記錄永久保存在紙上，但實驗結果不是自動化。

### 濾紙分析法操作技術

1. 昆蟲在 15ul 蒸餾水中被磨碎呈均質液
2. 將此均質液點滴在 Whatman2 號 濾紙上
3. 接著將濾紙浸入酵素受質，染劑和固定液中，後乾燥

### 微量盤分析法操作

1. 蚊子個別磨碎均質化
2. 均質液稀釋至一隻昆蟲可同時做 30 個分析量
3. 將稀釋好均質液分裝轉移至微量分析盤的小洞中
4. 使用轉移盤將試劑同時加入
5. 用光學質譜密度儀判讀或肉眼解釋

### 生化微量盤分析法

#### 2 種抗藥機轉釋疑

1. 當具抗性昆蟲顏色反應加深高於感受性組群，抗性來源為增加殺蟲劑代謝(去毒作用)。
2. 當具抗性昆蟲顏色反應正常時，殺蟲劑在特定濃度無法抑制它的目標酵素，抗性來源為目標酵素作用位去敏感化。

### 麩胱甘肽硫轉基酶 Glutathione-S-transferase(GSTs)

某些對 DTT 和 OP 抗性來自麩胱甘肽硫轉基酶 GSTs，此時個體對 chlorodinitrobenzene (CDNB)受質活性增加，此時可透過生化微量盤分析法實驗 CDNB 和還原 Glutathione 之間結合率，用 UV 340nm 光學質譜密度儀判讀。

麩胱甘肽硫轉基酶 GST 活性分析  
 昆蟲磨碎後均質液 (GST)  
 +  
 受質 1-chloro-2、4-dinitrobenzene (CDNB)或  
 1、2-chloro-4-dinitrobenzene (DCNB)  
 +  
 還原 Glutathione (GSH)  
 ↓  
 用 UV 340nm 光學質譜儀或微量盤判讀機判讀

### Monooxygenases(MFOs)

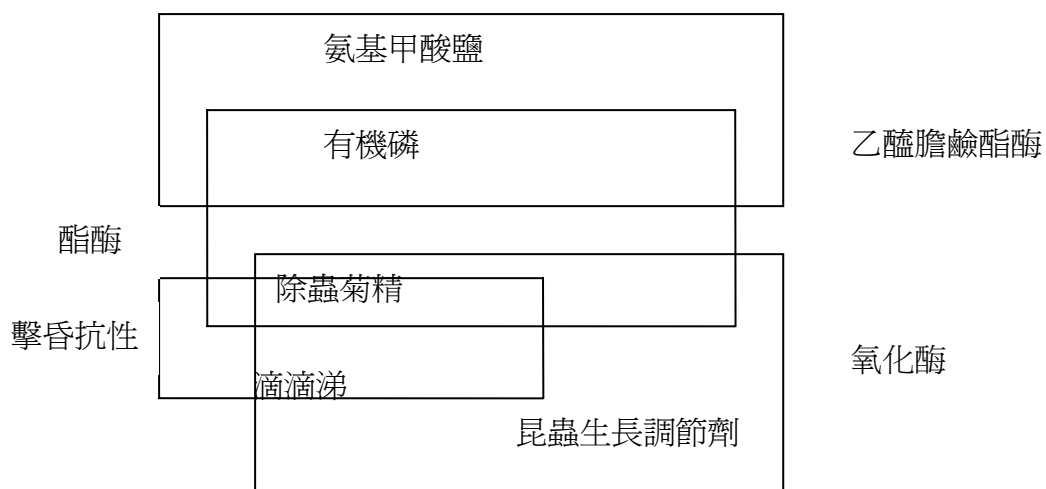
是一種需要 NADPH 的氧化系統，許多單氧酵素統稱 cytochrome-P450 ，  
 Monooxygenases(MFOs)催化氧分子還原，藉由將氧原子與受質結合呈氧化產物。

Monooxygenases(MFOs)活性測試  
 昆蟲均質液 (MFOs)  
 +  
 受質：methanol solution of 3,3,5,5-tetramethy benzidine  
 And sodium acetate buffer PH5.0  
 +  
 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  
 ↓  
 用 650nm 光學質譜儀或微量盤判讀機判讀

Carboxylesterases 或 esterases 是催化水解 Carboxylic esters 的統稱，在蚊子體內  
 Carboxylesterases 主要對有機磷(OP)產生抗藥性和對氨基甲酸鹽(carbamate)產生  
 抗藥性，有機磷主要成份磷酸酯類可被 Carboxylesterases 催化水解。

Esterases 活性測試  
 昆蟲均質液 (EST)  
 +  
 受質：奈酚醋酸 1-naphthyl acetate and/or 2- naphthyl acetate  
 +  
 Stain：Fast blue B salt+5%SDS  
 ↓  
 顏色：粉紅至紫色  
 ↓  
 用 570nm 微量盤判讀機判讀

### 常使用之殺蟲劑其交叉抗性關係



機轉	交叉抗性幅度
目標作用位去敏感化 AChE 去敏感化	有機磷 氨基甲酸鹽
擊昏抗性	除蟲菊精 有機磷
去毒酵素 非特異性酯酶上升	有機磷 氨基甲酸鹽 除蟲菊精
特異性酯酶	馬拉松 賽達松
麩胱甘肽硫轉基酶	有機磷 滴滴涕
混合功能氧化酶	任何外來有害異物

### 生化分析可增補傳統分析，生化分析的優點：

1. 結果較明確，確定抗藥機轉，相對地劑量診斷分析，可能劑量分析不正確，須重覆實驗或測試存活者的後代來確認之。
2. 僅須花費數分鐘時間。
3. 可利用深度冰凍將遠處捕獲昆蟲收集回實驗室一起操作。

### 生化分析的主要限制：

1. 通常全部抗藥機轉無法由實驗得到。
2. 當做定量分析時，須花費不少。
3. 當做定量分析時，須由具特定技術人員操作。

### 檢測殺蟲劑抗藥機轉

#### 1. 檢體：成蚊

編號 41-50 埃及斑蚊(Khu Buar(S)品系)

#### 2.試劑：

##### 蛋白質

1. 準備染料，一份染料加上 4 份去離子蒸餾水，用 Whatman # 1 濾紙過濾

##### 酯酶

1. 保存液：30mM 1-naphthyl acetate (NA) (取 0.2793g 1-NA 溶入 50 毫升丙酮)
2. 工作液：取 1 毫升之 30mM 保存液加入 99 毫升之磷酸鹽緩衝液 0.02M pH7.2
3. 染劑 (150 mg Fast blue B 鹽類溶在 15 毫升蒸餾水，然後加入 35 毫升之 5% SDS )

#### 3.步驟

##### 1.檢體準備

1 檢體+200ul 去離子蒸餾水

↓ 研磨均質化  
離心 14000rpm，30 秒，4°C

##### 蛋白質

1. 取均質上清液加入微量分析盤中每個 well 中 5 ul 且重覆作
2. 加入 200 ul 之 Biorad 蛋白質試劑(1：4 去離子蒸餾水)
3. 放置室溫 5 分鐘後，用 595nm 波長讀取

### 標準蛋白質

1. 配製 3 至 4 個標準蛋白質稀釋液，當做測試蛋白質

濃度	1	2	3	4
(mg/ml)	0.0695	0.139	0.278	0.556

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
重覆	A	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	C	
重覆	B	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	C	
標準	C	S1	S2	S3	S4								
	D	S1	S2	S3	S4								
	E												
	F												
	G												
	H												

### 酯酶

#### 奈酚醋酸終點分析

1. 取均質上清液加入微量分析盤中每個 well 中 20 ul 且重覆作
2. 每個 well 加 200 ul 之 1-奈酚醋酸工作液置室溫 2 分鐘
3. 加 50 ul Fast blue 染液
4. 每盤均需 1 個以上空白對照組，含 20 ul 蒸餾水，200 ul 之 1-奈酚醋酸工作液和 50 ul 染液
5. 置室溫 5 分鐘後，用 450nm 波長讀取

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
重覆#1	E	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	C	
重覆#2	F	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	C	
	G												
	H												

## 計算

從標準曲線得知蛋白質濃度為 A mg/ml

B=檢體體積 ul

蛋白質總重量  $P = A*B/1000$

酯酶 (OD/分/mg 蛋白質 )

平均 OD 值 = C

D = 與受質作用時間

酯酶 =  $(C/D*2) / P$

## 例子

從標準曲線得知蛋白質濃度=0.420 mg/ml

10 ul 總蛋白質重量 =  $(0.420*10)/1000$

= 0.0042 mg

平均酯酶 OD 值 = 0.123

與受質作用時間=2 分

酯酶活性 =  $(0.123/2)*2/0.0042$

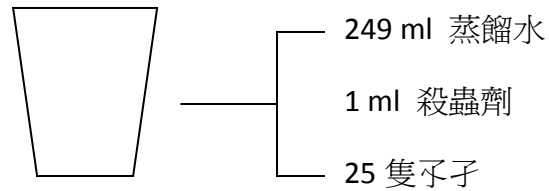
= 29.28 OD/分/mg 蛋白質

## 1. 檢體(孑孓)

埃及斑蚊 *Ae. aegypti* (Khu Bua 品系(S))

殺蟲劑：亞培松 (temephos) 配製 5 種濃度

步驟



濃度	1	2	3	4	5	對照組	
重覆 1							249 ml 蒸餾水
重覆 2							1 ml 酒精
							25 隻孑孓

## 2. 檢體(成蚊)

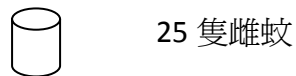
埃及斑蚊 *Ae. aegypti* (Khu Bua 品系(S))

殺蟲劑：百滅寧 0.75% (Permethrin)

第滅寧 0.05% (Deltamethrin)

PY 對照組

步驟



百滅寧 0.75%		第滅寧 0.05%		PY 對照組
P1	P2	D1	D2	PY1



### 亞培松 (temephos)濃度配製

(mg/L)	(6.25)	(3.125)	(1.5625)	(0.7813)	(0.3906)	(0.1953)	(0.0976)
濃度	1	2	3	4	5	6	7
在 250ml	0.025	0.0125	0.00625	0.00312	0.00156	0.00078	
0.00039							
dH <sub>2</sub> O 最終濃度							
(mg/L)							

### 計算

儲備濃度 (temephos) 31.25 mg/L

例如

濃度 1 (6.25 mg/L) = 2ml 儲備濃度之亞培松溶於 8ml 乙醇  
濃度 2 (3.125 mg/L) = 1ml 儲備濃度之亞培松溶於 9ml 乙醇  
濃度 3 (1.5625 mg/L) = 5ml 濃度 2 之亞培松溶於 5ml 乙醇  
濃度 4 (0.7813 mg/L) = 5ml 濃度 3 之亞培松溶於 5ml 乙醇  
濃度 5 (0.3906 mg/L) = 5ml 濃度 4 之亞培松溶於 5ml 乙醇  
濃度 6 (0.1953 mg/L) = 5ml 濃度 5 之亞培松溶於 5ml 乙醇  
濃度 7 (0.0976 mg/L) = 5ml 濃度 6 之亞培松溶於 5ml 乙醇

例如

取濃度 1 (6.25 mg/L) 1ml 溶入 249 ml dH<sub>2</sub>O

$$M1V1=M2V2$$

$$6.26 \times 1 = M2(250)$$

$$M2 = \frac{6.26}{250}$$

$$250$$

M2=0.025 mg/L 最終濃度

成蚊實驗報告型式

日期\_\_\_\_\_

蚊子品系\_\_\_\_\_ 殺蟲劑 \_\_\_\_\_

收集地點\_\_\_\_\_ 檢體狀況\_\_\_\_\_

分析者姓名\_\_\_\_\_

時間 分	死亡數/總數							總數			
	重覆1	重覆2	重覆3	重覆4	重覆5	重覆6	重覆7				
0											
5											
10											
15											
20											
25											
30											
35											
40											
45											
50											
55											
60											
24hus											

孑孓實驗報告型式

日期\_\_\_\_\_

蚊子品系\_\_\_\_\_ 殺蟲劑 \_\_\_\_\_

收集地點\_\_\_\_\_ 檢體狀況\_\_\_\_\_

分析者姓名\_\_\_\_\_

實驗	劑量	對照組	重覆 1	重覆 1	重覆 1	重覆 1	重覆 1	總數	死亡 率	LC <sub>50</sub>	LC <sub>95</sub>
1											
2											
3											

### 附錄 3. 泰國使用 BTI 及 BS 控制病媒蚊之試驗

#### 一、實施步驟：

1. 辨識防治目標蚊種
2. 辨識及標記目標蚊種的幼蟲棲地
3. 決定幼蟲棲地的大小
4. 決定 BTI 及 BS 劑型之劑量
5. 決定適當的處理方式：直接使用或空間噴灑
6. 目標幼蟲棲地均一覆蓋

#### 二、現場試驗過程

	
<p>量測池塘區域面積以確定需要生物製劑數量</p>	<p>汲取蚊子幼蟲</p>
	
<p>將杓子取得之蚊子幼蟲倒至盤子計數</p>	<p>計數及將幼蟲按齡期分類，並觀察其他出現的水中生物</p>



噴藥前先以水噴灑以決定需要的生物製劑量



量測生物製劑需要量



量測需要水量



將生物藥劑倒入水中攪拌混合



混合後的生物製劑懸浮液

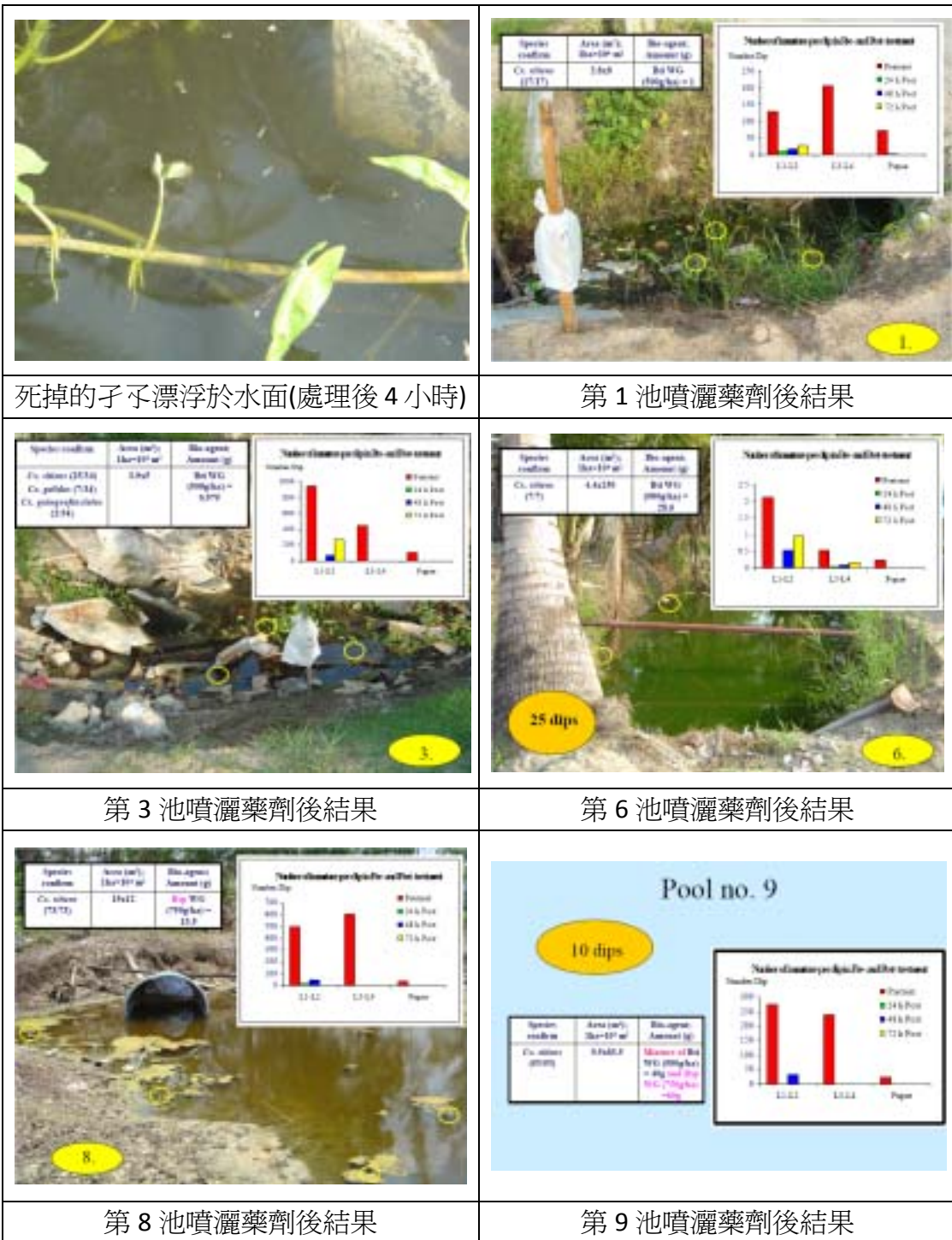


將生物製劑懸浮液倒入噴霧機藥桶



	
<p>將懸浮液噴灑至溝渠</p>	<p>將懸浮液噴灑至所有水面</p>
	
<p>將懸浮液噴灑至所有水面</p>	<p>將懸浮液噴灑至所有水面</p>
	
<p>將懸浮液噴灑至所有水面</p>	

三、實驗結果：



結論：

1. Bti 劑型(VectoBac® WDG)、Bsp 劑型(VectoLex® WDG) ，及 VectoBac® 與 VectoLex®的混合劑，可降低 3-4 齡幼蟲 99.71-100%。
- 2.在噴灑藥劑 24、48 及 72 小時後，蛹的密度降低 100%。非目標生物如魚、水生昆蟲及很多水蚤，在噴藥劑後 24、48 及 72 小時後均存活。

BTI 及 BSP 水分散性粒劑的處理效率

生物製劑	池別	幼蟲齡期	處理後降低百分比(%)		
			24 hr	48 hr	72 hr
<i>Bti</i> WDG	1-6	L3-L4	99.81-100	99.71-100	99.84-100
		Pupae	96.82-100	99.54-100	99.76-100
<i>Bsp</i> WDG	8	L3-L4	99.97	100	NA
		Pupae	100	100	NA
Mixture of <i>Bti/Bsp</i> WGD	9	L3-L4	100	100	NA
		Pupae	100	100	NA



## 附錄 4. 忌避劑有效性測試實驗

### 一、實驗室試驗

目的：

1. 測定提煉之精油或新型忌避劑產品的效用
2. 製造產品的品管

忌避劑的測試實驗，可能希望得知：

1. 相對於使用劑量百分比的保護效果，或
2. 使用後之保護時間，或
3. 以上二者皆有

WHO 測試使用忌避劑後可保護時間之方法：

1. 手臂（前臂）以 25% 的忌避劑 1ml 塗抹 25 cm<sup>2</sup>。
2. 伸出手臂至蚊籠內，手戴手套以使其對蚊子無吸引力。
3. 手臂每 30 分鐘暴露 3 分鐘，直到有發生被蚊子叮咬之紀錄。確證的叮咬是相同或接下來的暴露程序，發生第 2 次叮咬表示保護時間結束。

泰國測試使用忌避劑後可保護時間之方法：

1. 手臂（前臂）以忌避劑 0.1ml 塗抹 30mm×10mm。其餘部分以橡膠袖套保護。
2. 手臂每 30 分鐘暴露 3 分鐘。
3. 紀錄手臂塗抹區域第 1 次被蚊子叮咬之時間。發生第 2 次叮咬表示保護時間結束。



## 二、半田野試驗

目的：測定提煉之精油或忌避劑產品在半自然狀況下的效用

測試房間尺寸為 3m（長）×2m（寬）×2.5m（高）

測試用的蚊子可以在房間內自由飛行

- 1.將忌避劑塗抹於皮膚表面
- 2.釋放 30 隻飢餓的蚊子，並紀錄 10 分鐘內，停留或叮咬皮膚的蚊子數目。
- 3.每測試 10 分鐘，休息 50 分鐘。



## 三、野外試驗

目的：測定提煉之精油或忌避劑產品在自然狀況下對 *Culex* 及 *Mansonia* 的效用。但野外可能有帶病毒之斑蚊或帶原之瘧蚊，因此對這 2 種蚊子不可進行野外試驗。



附錄 5. 活動剪影

<p>Dr. Attanath (左) 及 Dr. Komalamisra 開訓典禮致詞</p>	<p>病媒鑑定實習</p>
<p>蚊子幼蟲對殺蟲劑感受性試驗</p>	<p>Insecticide Research Unit 的實驗室</p>
<p>以診斷劑量偵測蚊子對殺蟲劑的抗藥性實驗</p>	<p>以柚子皮製做蚊子忌避劑</p>
<p>Dr. Singhasivanon 為學員授證</p>	<p>結訓典禮—所有學員與老師合影</p>