

ارزیابی آزمایشگاهی اثر تحریک‌کنندگی د.د.ت و برخی پیرتروئیدها
در سوشهای مقاوم و حساس به د.د.ت *Anopheles stephensi* Liston
(Diptera: Culicidae)

پیمان مهرپویان^(۱)، حسین لدنی^(۲)

چکیده

در یک مطالعه‌ی آزمایشگاهی اثر تحریک‌کنندگی د.د.ت و ۴ سم پیرتروئیدی شامل لامبدا سی‌هالوترین، پرمترین، دلتامترین و سیفلوترین در سوش‌های مقاوم و حساس به د.د.ت *Anopheles stephensi* Liston با استفاده از روش استاندارد سازمان جهانی بهداشت بررسی گردید. آزمایش‌ها به روش WHO (1970) صورت گرفت که کاغذهای آغشته به د.د.ت ۰/۴٪، لامبدا سی‌هالوترین ۰/۰۲۵ درصد، پرمترین ۰/۲۵ درصد، دلتامترین ۰/۰۲۵ درصد و سیفلوترین ۰/۱ درصد و کاغذهای شاهد را شامل می‌گردید. در این روش زمان لازم برای اولین پرش (Time lapse for first take-off) بعد از ۱/۵ دقیقه انتظار و تعداد پرشهای انجام شده در ۷/۵ دقیقه (Number of take-off)، برای پشه‌هایی که با سطوح آغشته به حشره‌کشها تماس داده شده‌اند اندازه‌گیری شد. نتایج این بررسی اختلاف معنی‌داری را در میزان تحرک‌پذیری دو سوش مورد آزمایش در تماس با د.د.ت و پیرتروئیدها نشان نداد ($P > 0/05$). با استفاده از آنالیز آماری تجزیه واریانس و آزمایش توکی (Tukey test) مورد مقایسه قرار گرفت اثر تحریک‌کنندگی سموم مختلف نتایج نشان داد که پرمترین در غلظتهای بکار برده شده محرکترین سم در هر دو سوش بوده است و سیفلوترین و د.د.ت تحریک کمتری را ایجاد نموده‌اند. نتیجه‌گیری گردیده که مقاومت به د.د.ت در آنوفل استفسی تأثیری در تحریک‌پذیری آن نسبت به د.د.ت و پیرتروئیدها ندارد و اگرچه د.د.ت و پیرتروئیدها از ترکیبات تحریک‌کننده برای پشه‌ها محسوب می‌شوند ولی میزان این تحریک در غالب موارد برای پیرتروئیدها بیشتر از د.د.ت می‌باشد.

۱- پیمان مهرپویان، دانشکده بهداشت علوم پزشکی شهید بهشتی

۲- حسین لدنی، دانشکده بهداشت علوم پزشکی تهران

مالاریا یکی از مهمترین بیماریهای انگلی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان می باشد. این بیماری مسأله درجه یک بهداشتی در مناطق جنوب و جنوب شرقی ایران تلقی می شود، که سالانه ۸۰٪ موارد ابتلا از این مناطق گزارش می گردد. مهمترین ناقل این بیماری در مناطق ذکر شده *Anopheles stephensi* است که علیرغم کاربرد وسیع حشره کشها در چهارچوب برنامه های ریشه کنی و کنترل مالاریا علیه آن، هنوز هم انتقال بیماری را برقرار می نماید. از علل عدم موفقیت برنامه کنترل، می توان به ایجاد مقاومت های فیزیولوژیک و رفتاری در نزد این آنوفل اشاره نمود که سبب می شود نتایج لازم از عملیات مبارزه شیمیائی عاید نگردد. فاکتور اصلی ایجاد مقاومت های رفتاری و شکست کنترل، تحریک پشه ها به وسیله برخی حشره کشها و بخصوص د.د.ت در برنامه های سمپاشی ابقائی وسیع بوده است (Bhatia and Deobhankar, 1963). به نظر می رسد که خودداری پشه ها از استراحت بر روی سطوح سمپاشی شده علت این پدیده باشد (Eshghy, 1972). برای سنجش میزان تحریک ناشی از تماس با سطوح آغشته به سم، در آنوفلهای مختلف یا در سطوح متنوع، تعداد پرشهای (Number of take-off) حشرات تماس یافته یا زمان لازم برای انجام اولین پرش بعد از یک تماس اولیه (Time Lapse for first Take-off) مورد توجه قرار گرفته است. برخی گونه های آنوفل مانند *An. gambiae* در مقابل سطوح آغشته به د.د.ت تحریک بیشتری بروز داده اند در حالی که برخی دیگر مانند *An. albimanus* در مقایسه تحریک کمتری را نمایان می سازند (Coluzzi, 1963). مشاهدات نشان داده اند که پشه های قرار گرفته در روی سطوح آغشته به سموم تحریک کننده، رفتار هیجانی نشان می دهند و فرار می نمایند، در حالی که در روی سطوح غیرآغشته واکنشها طبیعی است و استراحت می نمایند. برخی گونه های پشه ها به زمان بیشتری برای تحریک شدن توسط حشره کش نیاز دارند در حالی که برخی دیگر بسرعت در اثر تماس با سطوح سمپاشی شده تحریک می گردند. همچنین بررسی های اولیه نشان داده است که بین جمعیتها و سوشهای مختلف یک حشره نیز رفتارهای مختلفی وجود دارد. اهمیت این پدیده اولین بار در دهه ۱۹۶۰ میلادی به وسیله سازمان جهانی بهداشت و برخی محققین مانند A.W.A Brown در ۱۹۵۸، de Zelueta در ۱۹۵۹ و Muirhaed-Thomson در ۱۹۶۰ مورد تاکید قرار گرفت و سازمان جهانی بهداشت آزمایشات استاندارد برای اندازه گیری میزان این تحریک پیشنهاد کرد که در نقاط مختلف دنیا و گونه های مختلف آنوفلها، در مقابل د.د.ت مورد ارزشیابی قرار گرفت. در کشور ما نیز این تستهای استاندارد در گونه های مختلف آنوفلها و د.د.ت توسط عشقی و همکاران انجام یافته است (Eshghy and Laarman, 1977; Eshghy, 1972). سالها پس از انجام بررسی های اولیه این مسأله مجدداً مورد توجه قرار گرفت که مصادف با استفاده وسیع از پیرتروئیدهای مصنوعی در عملیات مبارزه با آنوفلها بود. پس از کنار گذاشتن د.د.ت از برنامه سمپاشی های ابقائی غالباً در عملیات وسیع از ارگانوفسفره ها و کارباماتها استفاده گردید (Eshghy et al. 1979) که خاصیت

تحریک کنندگی قابل توجهی نداشتند، اما با ورود و بکارگیری وسیع پیرتروئیدهای مصنوعی به برنامه مبارزه و مشاهدات انجام شده مجدداً این مسئله مورد توجه قرار گرفته است. محققین مختلف با استفاده از روشهای گوناگون به مطالعه‌ی تحریک کنندگی این گروه از حشره‌کشها در مقابل ناقلین مالاریا پرداخته‌اند.

(Lindsay *et al.* 1991, Miler and Gibson 1994, Hodjati and Curtis 1997).

این دانشمندان اغلب بر روی تحریک کنندگی توریها و پشه بندهای آغشته به پیرتروئیدها کار کرده‌اند چراکه انتخاب پیرتروئید با تحریک کنندگی بالا سبب می‌شود که پشه بندهای آغشته به سم نتوانند اثرات خود را در کاهش جمعیت پشه‌های ناقل ایجاد کنند و انتقال بیماری ادامه پیدا می‌کند. بعلاوه برخی از پیرتروئیدها تحریک کنندگی زیادی دارند و باعث فرار پشه‌ها شده و نمی‌توانند مرگ و میر زیادی در جمعیت ایجاد نمایند (Lindsay *et al.* 1991). برخی از محققین معتقدند که پاسخ حشرات به پیرتروئیدها بستگی عمیقی به مقدار حشره‌کش بکار رفته در سطح دارد، به این ترتیب که غلظتهای بالای حشره‌کش باعث تحریک و فرار می‌گردند در حالی که غلظتهای کم باعث تماس حشره و ایجاد ریزش (Knock-down) و مرگ و میر می‌شوند. در این بررسی اثر تحریک کنندگی د.د.ت و ۴ پیرتروئید به روش استاندارد سازمان جهانی بهداشت در آنوفل استفسنی اندازه‌گیری شده و میزان این تحریک در دو سوش مقاوم و حساس به د.د.ت مقایسه گردیده است. همچنین اختلاف در میزان تحریک ایجاد شده در د.د.ت و چهار حشره‌کش پیرتروئید مورد ارزشیابی قرار گرفته و با هم مقایسه می‌گردد.

مواد و روشها

آزمایشها با استفاده از روش استاندارد سازمان جهانی بهداشت (WHO, 1970) روی آنوفل استفسنی، سوش بندرعباس و سوش هند صورت گرفته است. اصل سوش بندرعباس با نام (BAN) مربوط به مناطق اطراف شهر بندرعباس است که در تستهای حساسیت انجام شده مقاومت به د.د.ت را نشان می‌دهد (با ایجاد ۶۰٪ مرگ و میر پس از ۱ ساعت تماس با د.د.ت ۴٪) و سوش هند با نام (Beech) سوش حساس نسبت به همه حشره‌کشهاست که اصولاً مربوط به هندوستان میباشد. کاغذهای آغشته به د.د.ت و ۴ حشره‌کش پیرتروئیدی به ترتیب شامل د.د.ت ۴٪، لامبداسی‌هالوترین ۰/۰۲۵ درصد، پرمترین ۰/۲۵ درصد، دلتامترین ۰/۰۲۵ درصد و سیفلوترین ۰/۱ درصد توسط سازمان جهانی بهداشت تامین گردیده بود. روش ارزیابی شامل مشاهده زمان لازم برای اولین پرش هر پشه (Time lapse for first take-off) بعد از ۱/۵ دقیقه تماس اولیه و تعداد پرشهای انجام شده (Number of take-off) در واحد زمان برای مدت ۷/۵ دقیقه در حشرات تماس یافته با سطوح آغشته بوده است (گروههای ۵ تایی). لازم به توضیح است که تغییر زمان ۱۵ دقیقه روش استاندارد به ۷/۵ دقیقه در N.T و ۳ دقیقه در ۱/۵ دقیقه در T.L.T به دلیل ایجاد ریزش در زمان‌های استاندارد در حشره‌کشها مورد آزمایش بوده است.

حشرات در ظروف مخروطی شکل پلاستیکی شفاف قرار گرفته و در داخل کیت استاندارد که به صورت عمودی روی جعبه آزمایش نصب گردیده بود رهاسازی می شدند و شروع پرشها و تعداد آنها مورد توجه قرار می گرفت. به این منظور پشه های ماده بالغ سه روزه که با آب قند تغذیه شده بودند انتخاب و پس از رهاسازی، تعداد پرشها با شمارشگر دستی و زمان ها بوسیله کرومومتر اندازه گیری می گردید. در آزمایش مربوط به هر حشره کش، ۸ تکرار ۵ ثانی و ۲۰ تکرار انفرادی انجام شده، و آزمایشها همراه با شاهد صورت گرفته است.

نتایج و بحث

جدول (۱) نتایج تست استاندارد تحریک کنندگی د.د.ت و ۴ پیرتروئید را در دو سوش حساس و مقاوم به د.د.ت آنوفل استفسنی نشان می دهد. میزان این تحریک کنندگی با دو عامل متوسط زمان لازم برای اولین پرش بعد از در نظر گرفتن یک زمان اولیه (T.L.T)^(۱) و متوسط تعداد پرشها در زمان ثابت (N.T)^(۲) در هر مورد در جدول نشان داده شده است.

شکل (۱) و (۲) به ترتیب متوسط زمان لازم برای اولین پرش یک پشه و میانگین تعداد پرشهای ۵ پشه را نشان می دهند. در هر دو مورد نتایج شاهد حداقل میزان تحریک را داشته است. به این ترتیب که در زمان لازم برای اولین پرش آنها بیشترین زمان به چشم می خورد (۶ و ۵/۵ دقیقه) و این حشرات توانسته اند مدت زیادی را قبل از اولین پرش روی سطح استراحت نمایند. در حالی که در شکل ۲ یعنی از نظر تعداد پرشها، کم ترین مقدار مربوط به شاهد است (۹ و ۵/۸). به این معنی که در طی زمان آزمایش تعداد پرشهای این پشه ها نسبت به بقیه که روی سطح آغشته به حشره کش قرار داشته اند ناچیز بوده است. در مقایسه حشره کشهای مورد آزمایش تحریک قابل ملاحظه ای را در هر دو سوش ایجاد کرده اند. جهت تجزیه آماری و بدست آوردن اختلاف های موجود از برنامه کامپیوتری (SPSS (Statistical package for social science) استفاده گردید. اختلاف بین دو سوش با روش (t-test) مقایسه شده است. که اختلاف معنی داری از نظر میزان تحریک پذیری بین دو سوش حساس و مقاوم به د.د.ت در موقع تماس با د.د.ت و سموم پیرتروئیدی مورد آزمایش مشاهده نگردیده است ($P > 0.05$). نتیجه گیری شده است که وجود مقاومت به د.د.ت در پشه آنوفل استفسنی تاثیری در تحریک پذیری آن ندارد.

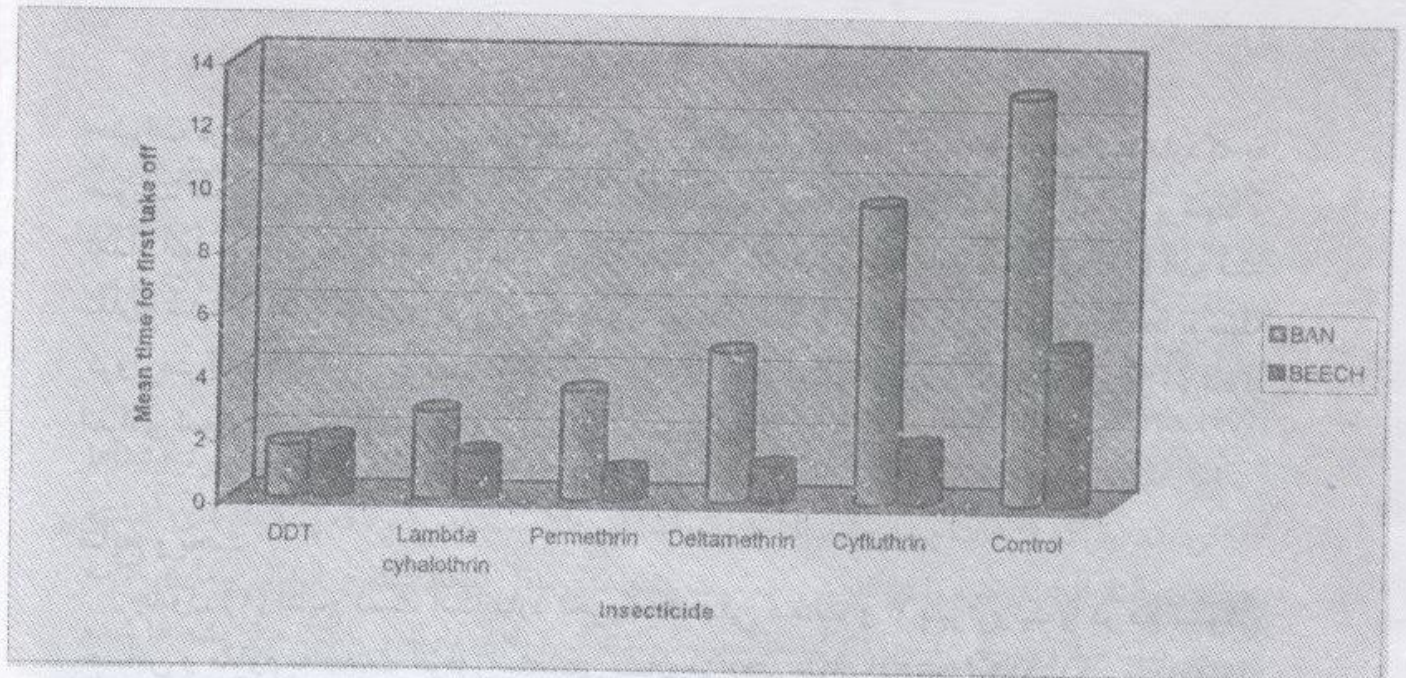
بررسیهای انجام شده قبلی در این زمینه در آنوفلها و مناطق مختلف، نتایج گوناگونی را ارائه کرده است (Hodjati 1977). Shataby در سال ۱۹۶۵ میزان تحریک پذیری یکسان را در سوشهای حساس و مقاوم به د.د.ت *An. culicifacies* گزارش کرده است. در حالی که Choudhury and Rahman (1967) تحریک پذیری کمتر آنوفل استفسنی سوش مقاوم به د.د.ت را نسبت به آن گزارش کرده اند.

1- T.L.T: Time lapse for first take-off

زمان لازم برای انجام اولین پرش

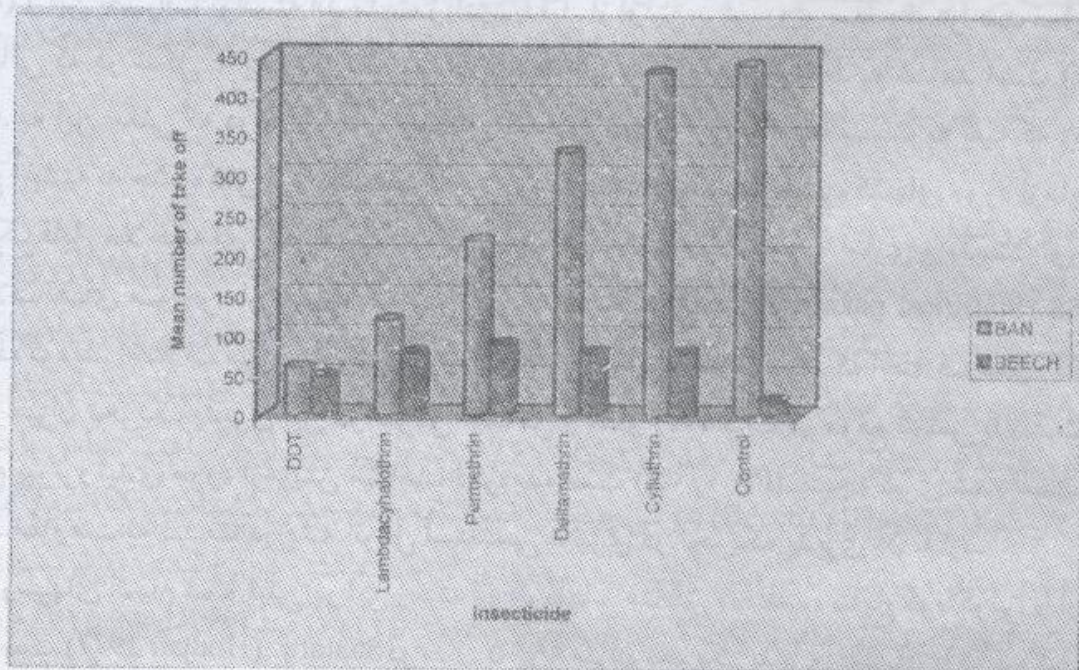
2- N. T: Number of take-off

تعداد پرش



شکل ۱- مقایسه زمان لازم برای اولین پرش در سوش های حساس و مقاوم به د.د.ت آنوفل استفنسی تماس یافته با ۵ حشره کش و شاهد

Fig. 1. Comparison of time lapse for first take-off (T.L.T) on a DDT susceptible and a resistant strain of *An-stephensi* against 5 insecticides and control.



شکل ۲- مقایسه تعداد پرشهای انجام شده در سوشهای حساس و مقاوم به د.د.ت آنوفل استفنسی تماس یافته با ۵ حشره کش و شاهد

Fig. 2. Comparison of number of take-off on a susceptible and a resistant strain of *Anopheles stephensi* against 5 insecticides and control.

جدول ۱- نتایج تست اثر تحریک کنندگی د.د.ت و برخی پیرتروئیدها در سوشها حساس و مقاوم به د.د.ت آنوفل استفسی

Table 1. Irritability effect of DDT and a number of pyrethroids on a susceptible and a resistant strain of *Anopheles stephensi*

حشره کشها Insecticides	سوش بندرعاس (مقاوم به د.د.ت) BAN.Strain		سوش هند (حساس به د.د.ت) BEECH.Strain	
	T.L.T. برای یک پشه T.L.T. for one mosquitoes	N.T. برای ۵ پشه N.T. for five mosquitoes	T.L.T. برای یک پشه T.L.T. for one mosquitoes	N.T. برای ۵ پشه N.T. for five mosquitoes
DDT	1.87±0.23	70.2±6.96	1.92±0.26	64.12±4.89
د.د.ت ۲٪ Lambdacyhalothrin لامبداسی هالوترین ۰/۰۲۵٪	1.85±0.2	95±11.42	1.85±0.25	84±3.09
پرمترین ۰/۰۲۵٪ Permethrin	1±0.1	116.62±9.34	1.22±0.1	118±6.89
دلتامترین ۰/۰۲۵٪ Deltamethrin	1.4±0.13	113.87±12.5	1.37±0.13	82.5±8.01
سیفلوترین ۰/۰۱٪ Cyfluthrin	2.85±0.19	92.75±9.22	2.4±0.23	84±3.09
کنترل Control	5.5	5.8	6	9

1- T.L.T: Time lapse for first take-off

زمان لازم برای انجام اولین پرش

2- N.T: Number of take-off

تعداد پرش

از روش آماری تجزیه واریانس برای مقایسه میزان تحریک کنندگی د.د.ت، لامبداسی هالوترین، پرمترین، دلتامترین و سیفلوترین استفاده گردید که نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین آنهاست ($P < .05$).

برای تشخیص این که کدام گروه با بقیه گروهها اختلاف دارد تست توکی (Tukey test) مورد استفاده قرار گرفت این آنالیز نشان داد که بین پرمترین، سیفلوترین و د.د.ت با بقیه اختلاف معنی داری وجود دارد به این ترتیب که پرمترین در غلظتهای بکار برده شده تحریک کننده ترین سم در هر دو سوش بوده است و سیفلوترین و د.د.ت تحریک کمتری را نسبت به بقیه حشره کشها

ایجاد نموده اند. در واقع از نظر زمان لازم برای اولین پرش، سیفلوترین در سوش مقاوم و حساس با به ترتیب $2/85 \pm 0/29$ و $2/4 \pm 0/23$ حداکثر زمان توقف پشه ها را داشته است و پرمترین با به ترتیب $1 \pm 0/1$ و $1/22 \pm 0/1$ حداقل را به خود اختصاص داده است و از نظر تعداد پرشها د.د.ت در سوش مقاوم و حساس با به ترتیب $70/2 \pm 6/96$ و $64/12 \pm 4/89$ پرش برای 5 پشه کمترین تحریک را ایجاد نموده و به ترتیب پرمترین با $116/5 \pm 9/34$ و $118 \pm 6/89$ محرکترین ترکیب تشخیص داده شده است. نتایج بدست آمده با نتایج پژوهشهای دیگر که همگی پرمترین را یک ترکیب محرک معرفی کرده اند مطابقت دارد، Hodjati and Curtis 1977, (Lindsay *et al.* 1991, Miler and Gibson 1994).

این نتایج نشان می دهد که اگرچه د.د.ت و پیرتروئیدها جملگی ترکیبات تحریک کننده محسوب میشوند ولی میزان تحریک پیرتروئیدها در آنوفل استفسنی غالباً بیشتر از د.د.ت است و سابقه مقاومت به د.د.ت در میزان تحریک بوجود آمده در اثر د.د.ت و پیرتروئیدهای مورد آزمایش تاثیر نمی گذارد.

Laboratory evaluation of the Irritancy of DDT and pyrethroids on DDT resistance and susceptible genotypes of *Anopheles stephensi*, (Diptera: Culicidae)

P. MEHRPOOYAN⁽¹⁾ and H. LADONNI⁽²⁾

Key words: *Anopheles stephensi*, Insecticide, Irritability, Irritancy.

Abstract

In a laboratory study, the irritancy of DDT and four pyrethroids include, Lambda-cyhalothrin, Permethrin, Deltamethrin and Cyfluthrin to DDT susceptible and resistant strain of *Anopheles stephensi* Liston was evaluated, using conicale exposure chambers. Tests followed the WHO (1970) procedure and treated paper with DDT 4%, Lambda-cyhalothrin 0.025%, permethrin 0.25%, Deltamethrin 0.025%, Cyfluthrin 0.1% and control paper used for this purpose.

This method involves observing the time lapse untill first flight take-off after 1.5 minute waiting, number of take-offs per 7.5 minute, of mosquitoes resting on a surface treated with residual insecticides. Result was analysis with SPSS software, t-test, analysis of variance and tukey test that didnt showed significant difference in Irritability of two strain to DDT and four pyrethroids ($p > 0.05$), But significant difference between five insecticide ($p < 0.05$). permethrin in applicated doses has maximum Irritancy and Cyfluthrin and DDT have minimum Irritancy in two strain of *Anopheles stephensi*. This Resistance to DDT in this *Anopheles* has not any effect on irritability to DDT and pyrethroids but irritancy of permethrin is more than DDT and other tested pyrethroids.

1- P. Mehrpooyan, School of Public Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences.

2- H. Ladonni, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences.

REFERENCES

- BHATIA, S. C. and DEOBHANKAR, R. B. 1963. Irritability of susceptible and resistant field populations of *An. culicifacies* in Maharashtra state, India. WHO/Mal/362, WHO/Vector control/9.
- BROWN, A. W. A. 1958. Laboratory studies on the behaviouristic resistance of *Anopheles albimanus* in Panama. Bull. World. Hlth. Org. 19: 1053.
- CHOUHDURY, D. S. and RAHMAN S. J. 1967. Observation on the irritability of susceptible and resistant strains of *An. stephensi* (TYPE) to DDT. Bulletin of the Indian Society for Malaria and other communicable Diseases. 4: 129-291.
- COLUZZI, M. 1963. Studies on Irritability of DDT to Anopheline Mosquitoes. WHO/Vector Control/33.
- ESHGHY, N. 1972. Studies on the irritability of a field population of *An. maculipennis* and *An superpictus* to DDT in the province of Isfahan, Iran. Iranian J. Pub. Hlth 1: 9-19.
- ESHGHY, N. and LAARMAN, J. 1977. Laboratory experiments on the irritability of *An. atroparus* and *An. stephensi* to DDT Iranian J. Pub. Hlth. 14: 12-23.
- ESHGHY, N., JANBACKHSH, B. and MOTABAR M. 1979. Experimental hut trials for the evaluation of Bendiocarb (Ficam W) against *Anopheles stephensi* Khesht district Kazeroun, southern Iran. Mosquito News. 39(1): 126-129.
- EVANS, R. G. 1993. Laboratory evaluation of the Irritancy of Bendiocarb, Lambda-cyhaltrin and DDT to *Anopheles gambiae*. J. Am. Msq. Cont. Assoc. 9(3): 285-293.
- HODJATI, M. H. and CURITS, C. F. 1997. Dosage differential effects of permethrin impregnated into bednet on pyrethroid resistance and susceptible genotypes of mosquito *Anopheles stephensi*. Med. Vet. Entomol. 11: 368-372.
- LINDSAY, S. W. ADIAMAH, J. H, MILLER, J. E. and ARMSTRONG, J. R. M. 1991. Pyrethroid-treated bed net effects on Mosquitoes of the *Anopheles gambiae* complex in the Gambia. Med. Vet. Entomol. 5: 477-483.
- MILLER, J. E., and GIBSON, G. 1994. Behavioural response of host-seeking mosquitoes (Diptera: Culicidae) to insecticide-impregnated bed netting: a new approach to insecticide bioassays. J. Med. Entomol. 31: 114-122.
- MUIRHEAD-THOMSON, T, C, 1960. The significance of irritability, behaviouristic

avoidance and allied phenomena in malaria eradication. Bull. World. Hlth. Org. 22: 721.

SHALABY, A. M. 1965. Irritability to DDT of certain adult *Anopheles* mosquitoes. Journal of the Egyptian public Health Association, 4: 283-291.

WORLD HEALTH ORGANIZATION 1970. Insecticide Resistance and Vector Control. 17th Report of WHO Expert Committee on Insecticides, Wld. Hlth. Org. Tech. Rep. Series 443: 158-163.

ZULUETA, J. 1959. Insecticide Resistance in *Anopheles sacharovi*. Bull. wld. Hlth. Org. 20: 797.