An.stephensi *An.subpictus*

TÌNH TRẠNG NHẠY, KHÁNG *AN.STEPHENSI & AN.SUBPICTUS* VỚI HÓA CHẤT DIỆT CÔN TRÙNG Ở ẤN ĐỘ.

I. Tóm tắt:

Nghiên cứu tính nhạy kháng hóa chất của *An.stephensi và An.subpictus* giai đoạn 2004-2007 từ nhiều vùng khác nhau ở Ấn Độ với DDT, Malathion, Deltamethrin và hóa chất diệt bọ gậy Fenthion, Temephos, Chlorpyriphos và Malathion; Cả 2 loài muỗi trưởng thành từ nhiều vùng khác nhau kháng với DDT và Malathion nhạy với Deltamethrin, bọ gậy cả 2 loài kháng với Chlorpyriphos, Fenithion một số nơi nhạy với Temephos và Malathion.

II. Giới thiệu:

Sốt rét là vấn đề sức khỏe toàn cầu, khoảng 247 triệu ca sốt rét và khoảng ½ dân số toàn cầu ở vùng nguy cơ và gần 1 triệu người chết mỗi năm (WHO 2009), 109 quốc gia có dịch sốt rét. Ấn Độ có 1,5 triệu ca sốt rét được xác nhận năm 2009 hơn 1000 người chết (WHO 2010). Có nhiều *Anophen* truyền bệnh sốt rét ở Ấn Độ như: *An.stephensi và An.subpictus* được tìm thấy phổ biến trong suốt quá trình điều tra ở vùng Rajasthan và Gujarat. *An.stephensi* là loài ở vùng cận nhiệt đới phân bố khắp Trung Đông và Nam Á và là véc tơ sốt rét chủ yếu vùng thành thị Ấn Độ gây ra 12 % ca sốt rét hàng năm và cũng là véc tơ sốt rét quan trọng ở Pakistan, Iran (Dash et.al. 2007). Đây là loài thường xuyên truyền bệnh sốt rét ở Rajasthan nơi có tính đặc thù nơi đẻ là vật chứa nước dưới đất thường tìm thấy trong làng và vùng thành thị (Dash et.al.2006).

An.subpictus là loài phân bố rộng khắp ở phương đông là loài đẻ nhiều. Trong nhiều nơi ở Ấn Độ suốt mùa mưa. *An.subpictus A* (loài nước ngọt) được xác nhận là véc tơ sốt rét chủ yếu ở Tarakeswar, Tây Bengal (Chatterjee và Chandra 2000). Ở Orissia, loài này được xác định là véc tơ sốt rét năm 2009 (Kumani et.al. 2009). *An.subpictus* là véc tơ sốt rét chủ yếu ở Jaffna và là véc tơ sốt rét thứ yếu ở vùng khác Srilanka (Karanathasan et.al. 2008). Virus viêm não Nhật bản ở Ấn Độ đã được phân lập từ 16 loài muỗi bao gồm *An.subpictus* (Samule et.al. 2000). Đây là loài được báo cáo kháng DDT và Dieldrin/HCH ở Gujarat (NMEP 1991).

Lan truyền sốt rét có thể làm giảm bằng các biện pháp phòng chống véc tơ như phun tồn lưu trong nhà với hóa chất, phòng chống bọ gậy và bảo vệ cá nhân. Kết hợp các biện pháp để chống sốt rét bao gồm: tẩm màn tồn lưu lâu và điều trị với Artemisinin và phun tồn lưu trong nhà. Trong đó phun tồn lưu trong nhà là biện pháp chủ yếu ở Ấn Độ. Độ bao phủ khoảng 80 triệu nhà và bảo vệ 40% dân số nguy cơ (WHO 2008). 12 hóa chất được đề nghị bởi WHO cho phun tồn lưu trong nhà. Ở Ấn Độ hóa chất chủ yếu sử dụng phun tồn lưu bao gồm DDT, Malathion và Pyrethroid tổng hợp ở nông thôn và làm giảm nguồn và phòng chống bọ gậy ở vùng thành thị. Tuy nhiên, việc sử dụng thường xuyên hóa chất dẫn đến sự phát triển kháng nhiều loài véc tơ sốt rét trên thế giới. Ở Ấn Độ nhiều loài Anophen trở nên kháng hóa chất. *An.culicifacies* là véc tơ sốt rét chính ở Ấn Độ gây ra từ 60-70% ca sốt rét, đã kháng DDT và Malathion (Dash et.al.2006). Những véc tơ vùng nông thôn không được nghiên cứu trong suốt thời gian thu thập. Những địa phương nghiên cứu hiện tại, sự phun tồn lưu được thực hiện một cách đều đặn. Tuy nhiên, mức độ kháng của véc tơ sốt rét chưa được giám sát với các hóa chất.

Thực vậy, nghiên cứu xác định tình trạng nhạy của Anophen trưởng thành và giai đoạn bọ gậy với hóa chất sẽ thông tin cung cấp nhằm tìm ra giải pháp sử dụng hóa chất là cần thiết trong vùng tránh tăng hóa chất sử dụng mà có thể đe dọa chiến lược phòng chống véc tơ bởi gây ra sự kháng hóa chất.

III. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu:

a. Đối tượng côn trùng:

Muỗi được thu thập từ những vùng khác nhau được phân loại.

Bọ gậy *An.stephensi* được thu thập từ những vị trí đẻ như: Bể chứa nước, nguồn nước, ống nước bể. Nơi bọ gậy *An.subpictus* được thu thập chủ yếu từ nước bùn, ao, vũng và vũng nước mưa.

b. Hóa chất diệt côn trùng:

Thông số kỷ thuật hóa chất sử dụng trong nghiên cứu Deltamethrin 98.42% và Temephos 90.63% được cung cấp bởi Heranba Chemicals, Fenthion 99.9% được đặt mua từ Riedel de Haen, Malathion 96% và DDT p,p isomer 77% từ Hindustan insecticides Ltd, Chlorpyriphos 99% từ Bharat rasayam.

c. Thử sinh học muỗi trưởng thành:

Muỗi Anophen thu thập từ những điểm nghiên cứu khoảng 1800-2000 giờ. Giữ trong lồng cho uống nước đường 10% thêm Libitum. Khi muỗi trưởng thành thu thập từ thực địa thiếu thì muỗi cái 3-5 ngày tuổi nở từ bọ gậy được thu thập cũng được sử dụng cho thử sinh học. Tiêu chuẩn kiểm tra để xác định sự kháng hóa chất ở muỗi trưởng thành được hướng dẫn (WHO 1981).

d. Thử sinh học bọ gậy:

Thử sinh học bọ gậy nhạy kháng được thực hiện theo phương pháp WHO (1981). Bọ gậy thu thập ở giai đoạn tuổi 3,4 được phân ra 25 bọ gậy nuôi trong ly nhựa 200ml có chứa 99ml nước được khử Chlo, 1ml hóa chất được hòa tan trong ly. Tỷ lệ bọ gậy chết được đếm sau 24 giờ. Bọ gậy gần chết (không thể bơi tới bề mặt nước, cơ thể cứng đờ, hấp hối) được xem như chết. Thí nghiệm được lập lại 2 lần, thí nghiệm được chấp nhận khi đối chứng chết dưới 20% và khi tỷ lệ nhộng hóa dưới 10%.

IV. Kết quả và Bàn luận:

Thử sinh học muỗi trưởng thành với Deltamethrin, Malathion, DDT với *An.stephensi* cho thấy muỗi trưởng thành thu thập từ các vùng 2005-2007 còn nhạy và tăng sức chịu đựng với Deltamethrin 0,05% với khoảng tỷ lệ chết 92,85-100%. *An.stephensi* trưởng thành thu thập từ Bikaner 2005, Jodhur 2006, Bhuj và Bikaner 2007 cho thấy nhiều mức độ kháng khác nhau tới Malathion 5% (tỷ lệ muỗi trưởng thành chết từ 38,46-77,27 %); Trái lại, chùng còn nhạy từ Barmer trong suốt 2 năm. Kháng DDT cũng được tìm thấy ở muỗi trưởng thành được thu thập từ Barmer, Jodhur và Bhuj.

Địa điểm	Năm	Deltamethrin 0,05%		Malathion 5%		DDT 4%	
		Tỷ lệ chết	Tình trạng	Tỷ lệ chết	Tình trạng	Tỷ lệ chết	Tình trạng
Gandhinagar	2005	100	S	77,27	R		
Jannagar	2005	100	S	76	R		
	2007	90	IR	95,45	IR		
Sriganaganagar	2005	94,11	IR	95,45	IR		
Bikaner	2005	100	S	66,66	R		
	2007			77,27	R		
Barmer	2005			100	S		
	2006			100	S	59,9	R
Jodpur	2006	92,85	IR	72	R		
	2007	100	S	94,73	IR	71,87	R
Bhuj	2007	100	S	38,46	R	58,42	R

Bảng1: Nhạy, kháng của muỗi trưởng thành *An.stephensi* với các hóa chất.
Ghi chú: S-nhạy, IR-kháng trung bình/tăng sức chịu đựng, R-kháng.

An.subpictus thu thập từ các địa phương 2004-2007 thì nhạy và tăng sức chịu đựng với Deltamethrin 0,05% (88,23-100%). *An.subpictus* kháng Malathion 5% (36-75%) ngoại trừ Bathinda và Barmer nơi *An.subpictus* được tìm thấy tăng sức chịu đựng với Malathion 5%. *An.subpictus* cũng tìm thấy kháng DDT từ 8 địa phương (40,62-70,83%).

Thử sinh học knocdown với Deltamethrin 0,05% với chủng *An.stephensi* labo xác định KD_{50} là 11 phút. Chủng từ thực địa có dấu hiệu cao hơn KD_{50} 8,16-8,22 phút ở Gandhinagar và Sriganganagar KD_{50} 7,78-8,15 phút. Tổng thể từ các vùng KD_{50} thấp hơn 1,5 lần so với chủng *An.stephensi* Labo. Knockdown *An.subpictus* thực địa ở các vùng khác nhau với Deltamethrin 0,05% trong khoảng 6,49-10,52 phút.

Thử sinh học bọ gậy *An.stephensi* thực địa cho thấy nhạy Malathion (3,5mg/l), Temephos 0,25mg/l và Fenthion 0,05mg/l. Bọ gậy *An.subpictus* cũng nhạy với Malathion, Temephos và Fenthion ở các địa phương ngoại trừ Gandhinagar chỉ có 78% bọ gậy chết với Fenthion 0,05mg/l. Bọ gậy *An.stephensi* tăng sức chịu đựng

với Chlorpyriphos 0,025mg/l (88%). Ở Bhuj. Ngược lại bọ gậy *An.subpictus* kháng với Chlorpyriphos ở Gandhinagar, Jannagar, Jodhpur và Bhuj với tỷ lệ chết 28-56%.

Địa điểm	Năm	Deltamethrin 0,05%		Malathion 5%		DDT 4%	
		Tỷ lệ chết	Tình trạng	Tỷ lệ chết	Tình trạng	Tỷ lệ chết	Tình trạng
Bikarner	2004	92,3	IR	37,5	R		
Bathinda	2004	90	IR	89,47	IR		
Sriganaganagar	2004	100	S	64,28	R		
Gandhinagar	2005	100	S	40,62	R		
	2006	100	S	75	R	40,62	R
	2007	100	S	44	R	66,66	R
Jannagar	2005	92	IR	55	R		
	2006					46,15	R
	2007	100	S	50	R	40,62	R
Jodpur	2005	88,23	IR	64,28	R		
	2006	100	S	40,62	R	50	R
Barmer	2005	90	IR	96,15	IR	52	R
	2006	100	S	36	R	70,83	R
Bhuj	2007	87,5	IR	39,38	R	57,14	R

Bảng 2: Nhạy kháng của muỗi trưởng thành *An.subpictusi* với các hóa chất.
Ghi chú: S-nhạy, IR-kháng trung bình/tăng sức chịu đựng, R-kháng.

Ở Ấn Độ, sự kháng hóa chất đã phát triển rộng khắp với các véc tơ sốt rét chủ yếu *An.stephensi*, *An.culicifacies*. Bất chấp có nhiều báo cáo về sự kháng các véc tơ với DDT. DDT rẻ tiền, xua tốt và tồn lưu lâu DDT được sử dụng 60-65% để phun trong nhà sau đó là Pyrethroid tổng hợp và Malathion. Nghiên cứu hiện tại cho thấy mức độ kháng cao của DDT với *An.stephensi* được thu thập từ tất cả các địa phương như

Barmer, Jodhpur, Bhuj. Ngược lại, *An.stephensi* từ Mangalore nhạy với DDT (Tiwari et, al. 2010). Mặc dù DDT và HCH không trực tiếp sử dụng phòng chống véc tơ sốt rét ở vùng thành thị, nhưng được sử dụng ở ngoại ô và vùng quê đã gây ra kháng ở loài này. Tuy nhiên, ở vùng quê *An.stephensi* không phải là véc tơ chủ yếu. Thực vậy, sự kháng của *An.stephensi* với hóa chất phun tồn lưu không là một vấn đề trong phòng chống sốt rét vì ở vùng thành thị, phòng chống *An.stephensi* lệ thuộc chủ yếu biện pháp phòng chống bọ gậy và phun tồn lưu trong nhà (Mital et,al. 2004). Một nguyên nhân làm giảm nhạy *An.quandriannularis* với DDT có thể chọn lựa giai đoạn bọ gậy (Mzilahowa et, al. 2008). Trong nguyên cứu hiện tại, *An.subpictus* kháng nhiều với DDT ở Gandhinagar, Jamnagar, Jodhpur và Barmer. Một báo cáo tương tự về sự kháng từ Bikaner (Bansal và Singh. 1996) đã được báo cáo gần đây với mức độ kháng cao DDT (muỗi trưởng thành 14-47%) và Malathion (muỗi trưởng thành 23-49%) với *An.subpictus* ở 5 huyện ở Srilanka (Parera et, al. 2008).

Hiện tượng kháng sâu rộng ở các véc tơ là 1 trong 3 yếu tố chính không hiêu quả của DDT ở Ấn Độ (Sharma 2003). Hội nghị Stockholm về việc sử dụng những sản phẩm cho sức khỏe cộng đồng được miễn thuế. Sử dụng DDT phun trong nhà để phòng chống bệnh do véc tơ truyền.. WHO đề nghị không thay đổi tới sự đề nghị hiện tại về an toàn DDT cho phòng chống bệnh do véc tơ, tiếp tục giám sát tình trạng kháng hóa chất để chọn lựa hóa chất với véc tơ còn nhạy và cũng thực thi chiến lược quản lý kháng hóa chất (WHO 2007).

Chúng tôi đã quan sát sự kháng Malathion ở *An.stephensi* và *An.subpictus* từ những địa phương nghiên cứu chủ yếu. Mức độ kháng cao của Malathion ở nhiều địa phương khác nhau có lẻ là việc sử dụng Malathion phòng chống muỗi. Kháng Malathion ở *An.culicifacies* được báo cáo đầu tiên từ Gujarat năm 1973 và sau đó trở nên phổ biến khắp đất nước. Kháng Malathion ở *An.stephensi* đã được báo cáo từ Surat và Gujarat (MRC/STP 1999). Jodhpur, Barmer và Jaisalmer (Singh và Bansal 2006-2007) và gần đây từ Mangalore (Tiwari et, al. 2010). Mức độ kháng cao hơn của *An.subpictus* với Malathion có thể do việc sử dụng hóa chất nông nghiệp nơi *An.subpictus* đẻ và hóa chất phòng chống sốt rét (Herath và Joshi 1989). Trong nghiên cứu này, cả 2 loài *Anophen* đã tìm thấy nhạy với Deltamethrin và thời gian knockdown không khác nhau từ chủng nhạy. Sử dụng Pyrethroid tổng

hợp nơi *Anophen* kháng DDT và Malathion. Ở Ấn Độ Pyrethroid tổng hợp đã được giới thiệu trong chương trình sức khỏe cộng đồng ở thập niên 1990 để phòng chống dịch sốt rét và phòng chống muỗi kháng (Singh et.al. 2002). Hơn nữa, Pyrethroid tổng hợp được sử dụng phòng chống véc tơ trong nhang muỗi, mats, xông hơi cho thấy có tác dụng hạn chế KST và ca sốt rét bởi tẩm màn Deltamethrin (Joshi et. Al. 2003). Ở Ấn Độ Pyrethroid tổng hợp và hóa chất diệt côn trùng gốc phosphat được sử dụng hiên tại không chỉ cho phòng chống véc tơ mà còn sử dụng trong nông nghiệp. Trong nghiên cứu hiện tại, cả 2 loài *Anophen* còn hiệu quả với Fenthion và Temephos. Tuy nhiên, bọ gậy *An.subpictus* từ Andhra Dradesh cho thấy có mức độ kháng cao với Fenthion và Temephos (Sharma et. Al. 2003). Một cách chung chung, Chlorpyriphos không được phổ biến chống bọ gậy *An.subpictus*. Một trong những nguyên nhân tại sao *An.subpictus* kháng Chlorpyriphos là nó được sử dụng trong nông nghiệp.

Địa điểm	Năm	Malathion 3,5mg/l	Temephos 0,25mg/l	Fenthion 0,05mg/l	Chlorpyriphos 0,025mg/l
An.stephensi					
Lab S		100	100	100	100
Barmer	2006	100*	100*	100*	
Jodhpur	2006	100	100	96	
Jannagar	2007	100	100	100	
Bikaner	2007	100*	100*	92*	
Jodhpur	2007	100	100	100	
Bhuj	2007	100		100	88
An.subpictus					
Gandhinagar	2006	100	100	100	48

Jannagar	2006	100	100	88	28
Jodhpur	2006	100	100	100	56
Barmer	2006	100	100	92	
Gandhinagar	2007	100	100	78	
Jannagar	2007	100	100	100	28
Bhuj	2007	100	100	100	

Bảng 3: Nhạy kháng của bọ gậy *An.stephensi, An.subpictus* với các hóa chất.
Ghi chú: N-50 bọ gậy, N*-25 bọ gậy.

Sự kháng hóa chất ở nhiều mức độ khác nhau lệ thuộc vào kiểu hóa chất và tần xuất sử dụng, việc sử dụng hóa chất vô tội vạ không chỉ tăng sự kháng véc tơ mà còn gây kháng chéo với hóa chất khác. Mặc dù nhiều cơ chế khác nhau của sự kháng như: kháng sinh hóa, enzym monooxigenase, hay sự vận chuyển glutathion-s, kháng gây ra làm giảm sự xâm nhập hay kháng hành vi được báo cáo ở nhiều véc tơ. Tìm hiểu cơ chế kháng cũng rất quan trọng trong việc giám sát sự kháng véc tơ. Tổng quát trong nghiên cứu này cho thấy cả 2 loài muỗi kháng cao với DDT và kháng thấp hơn với Malathion nhưng có thể nhạy với Deltamethrin. Kháng hóa chất là vấn đề nổi lên nghiêm trọng ở Ấn Độ. Hiện tại, chương trình quốc gia không có thay đổi hóa chất diệt côn trùng để phòng chống hiệu quả hay quản lý sự kháng hóa chất (Dash et. Al. 2006). Bởi vì với một số lượng hóa chất hạn chế có giá trị phòng chống véc tơ, sự luân phiên sử dụng hóa chất diệt côn trùng có thể thông qua để trì hoản sự phát triển kháng đối với véc tơ sốt rét. Như nghiên cứu ở thực địa ở Mexico để quản lý sự đa kháng *An.albimanus* (Rodriguez et. al. 2008) cũng nhấn mạnh cần thiết đưa ra biện pháp phòng chống véc tơ thân thiện với sinh thái như phòng chống bằng sinh học với cá ăn bọ gậy và vi khuẩn diệt bọ gậy như *Bacillus thuringiensis* và *Bacillus israelensis* được bao gồm trong chương trình quản lý véc tơ lồng ghép (Ghoih và Dash 2007; Tiwari et. al.2011). Để quản lý kháng hiệu quả lệ thuộc vào sớm xác định tình trạng kháng, thực vậy giám sát kháng hóa chất thường xuyên là cần thiết để chiến lược quản lý hiệu quả.

Lê Tấn Kiệt dịch từ nguồn: Tài liệu kháng hóa chất 2011.