



中华人民共和国国家标准

GB/T 26350—2010

蝇类抗药性检测方法 家蝇生物测定法

Test methods of fly resistance to insecticides—
The bioassay methods for musca domestica

2011-01-14 发布

2011-05-01 实施



中华人民共和国卫生部 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准起草单位：中国农业大学、北京市疾病预防控制中心、中国人民解放军军事医学科学院微生物流行病学研究所。

本标准主要起草人：高希武、曾晓芃、马彦、刘婷、梁沛、钱坤、赵彤言。

蝇类抗药性检测方法 家蝇生物测定法

1 范围

本标准规定了家蝇(*Musca domestica*)对有机磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯等杀虫药剂抗药性的生物检测方法。

本标准适用于家蝇抗药性的实验室生物检测。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

诊断剂量 diagnostic dose

由敏感品系的敏感基线计算得到的与死亡率99%或99.9%相对应的杀虫药剂剂量值,该剂量值能使敏感品系99%或99.9%的个体致死,利用该剂量通过生物测定技术区分抗性和敏感个体。

2.2

F1代 F1 generation

从现场捕捉的家蝇,繁殖后得到的第一代。

2.3

点滴法 topical application method

将一定量的药液直接滴在昆虫体壁的特定部位以测定药剂对供试昆虫的触杀毒力。

2.4

药膜法 medical membrane method

将一定量的药液施布于载体的表面并形成均匀的药膜,然后将试虫放于载体上,药剂通过昆虫的足、体壁等进入虫体内起到毒杀作用,间隔一定时间后统计死亡率。常见的载体有滤纸、玻璃表面等。

3 试虫

现场采集家蝇,室内饲养,羽化后3 d~5 d的F1代雌性家蝇。

4 试剂

丙酮或其他有机溶剂、CO₂或乙醚、杀虫药剂原药。

5 仪器

具可控光照和温度的培养箱或房间,养虫笼,100 mL血清瓶,移液管,微量点滴器(微量进样器)。

6 测试条件

温度: $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 光周期: 14 L, 10 D, 相对湿度: 60%~80%。

7 敏感基线法

7.1 原理

依据杀虫剂应用剂量和害虫死亡率值关系建立毒力回归方程, 以敏感品系得到的杀虫剂毒力回归线作为敏感基线。以待测昆虫种群得到的杀虫剂毒力回归线与敏感基线对比, 来确定待测种群的抗性水平。具体是比较两条毒力回归线的 b 值变化以及由毒力回归线计算得到的半数致死量的变化。

7.2 操作步骤

7.2.1 药膜法

用丙酮或其他易挥发的有机溶剂将杀虫药剂母液稀释到一系列的浓度(通过预实验确定药剂的浓度系列范围, 最低浓度时死亡率小于 20%, 最高浓度时大于 80%), 然后取 0.5 mL 溶液加入 100 mL 血清瓶中, 不断转动血清瓶, 使药液均匀分布于瓶内壁, 置于通风橱中过夜, 使有机溶剂挥发完全。然后每瓶放试虫 20 只, 用纱网或纱布封口。实验重复 5 次。以相应溶剂处理为对照组。3 h 后统计死亡率。根据每一浓度对应的死亡率求出回归方程, 根据回归方程可以求出 LC_{50} 值。需要分别测定并求出实验室敏感种群和待测种群的 LC_{50} 值。

7.2.2 点滴法

用丙酮或其他易挥发的有机溶剂将杀虫药剂母液稀释到一系列的浓度(通过预实验确定药剂的浓度系列范围, 最低浓度时死亡率小于 20%, 最高浓度时大于 80%), 将试虫用乙醚或 CO_2 等麻醉至昏迷。用微量点滴器将 $0.5\text{ }\mu\text{L} \sim 1\text{ }\mu\text{L}$ 杀虫药剂溶液点滴在雌性家蝇前胸背板上。每个处理点滴 30 只羽化后 3 d~5 d 雌性家蝇, 以相应溶剂点滴为空白对照, 实验重复 3 次。将受药后的试虫转入清洁容器内, 供给水和食物, 正常饲养, 24 h 后统计死亡率。根据每一浓度对应的死亡率求出回归方程, 根据回归方程可以求出 LD_{50} 值。需要分别测定并求出实验室敏感种群和待测种群的 LD_{50} 值。

7.3 死亡判断

试虫完全不动或腹部上翻、抽搐, 不能爬行视为死亡。

7.4 结果表述

结果用抗性倍数表述, 抗性倍数 = 待测种群 LC_{50} (LD_{50}) 值 / 敏感种群 LC_{50} (LD_{50}) 值。

7.5 判别标准

敏感品系和测定样本 95% 置信限不重叠, 且抗性倍数 ≥ 5 倍为抗性种群。

8 诊断剂量法

8.1 原理

依据药剂对敏感品系的毒力回归线, 确定一个能够区分敏感个体和抗性个体或抗性杂合子的剂量。

一般用敏感品系的 LD_{50} (LC_{50}) 值作为诊断剂量, 预期死亡率为 99%。

8.2 操作步骤

8.2.1 药膜法

用丙酮或其他有机溶剂将供试杀虫药剂配成一定浓度的母液。用丙酮或其他易挥发的有机溶剂将杀虫药剂稀释到一定的浓度, 取 0.5 mL 溶液加入 100 mL 血清瓶中(血清瓶内表面药膜的最终剂量达到诊断剂量, 常见杀虫药剂对敏感家蝇种群的诊断剂量参见表 A.1), 不断转动血清瓶, 使药液均匀分布于瓶内壁, 置于通风橱中过夜, 使有机溶剂挥发完全。然后每瓶放试虫 20 只, 用纱网或纱布封口。实验重复 5 次。以相应溶剂处理为对照组。在测试条件下放置 3 h 后, 检查结果并计算死亡率。

8.2.2 点滴法

用丙酮或其他易挥发的有机溶剂将杀虫药剂母液稀释到诊断剂量需要的浓度。将试虫用乙醚、 CO_2 等麻醉至昏迷。用微量点滴器将 0.5 μ L~1 μ L 杀虫药剂溶液点滴在雌性家蝇胸部背板上(每头家蝇的受药量等于诊断剂量, 常见杀虫药剂对敏感家蝇种群的诊断剂量见表 A.1)。每个处理点滴 30 只羽化后 3 d~5 d 雌性家蝇, 以相应溶剂点滴为空白对照, 实验重复 3 次。将受药后的试虫转入清洁容器内, 供给水和食物, 正常饲养, 24 h 后统计死亡率。

8.3 死亡判断

试虫完全不动或腹部上翻、抽搐, 不能爬行视为死亡。

8.4 结果表述

结果用死亡率表述, 计算见公式(1)。

$$M = \frac{N_m}{N} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

M ——死亡率;

N_m ——死亡虫数;

N ——试虫总数。

对照死亡率小于 5% 无需校正; 对照死亡率在 5%~20% 之间, 用 Abbott 公式进行校正; 对照死亡率大于 20% 为无效测定。

依据 Abbott 公式校正死亡率, 计算见公式(2)。

$$M_m = \frac{M_t - M_c}{1 - M_c} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

M_m ——校正死亡率;

M_t ——处理组死亡率;

M_c ——对照组死亡率。

8.5 判别标准

校正死亡率小于 80% 为抗性种群。

附录 A
(资料性附录)

常见杀虫药剂对敏感家蝇种群的诊断剂量

表 A.1 给出了常见杀虫药剂对敏感家蝇种群的诊断剂量。

表 A.1 常见杀虫药剂对敏感家蝇种群的诊断剂量

杀虫药剂	诊断剂量(药膜法) LD ₅₀ μg/cm ²	诊断剂量(点滴法) LD ₅₀ μg/只
残杀威(propoxur)	0.30	1.0
敌敌畏(DDVP)	2.00	1.0
胺菊酯(tetramethrin)	1.00	0.30
溴氰菊酯(deltamethrin)	0.03	0.005
高效氯氰菊酯(alpha-cypermethrin)	0.04	0.025
注：敏感品系来自中国农业大学选育的家蝇敏感品系，2004 年测定结果。		



GB/T 26350-2010

版权专有 侵权必究

书号：155066 · 1-42181

定价：14.00 元