

封面式樣

計畫編號：DOH90-DC-2014

行政院衛生署疾病管制局九十年度自行研究計畫

# 台灣地區矮小瘧蚊孳生溪流空間分布及其型別組成

## 自行研究成果報告

執行機構：疾病管制局

研究主持人：鄧華真

共同研究主持人：林鼎翔、邱乾順

研究人員：呂良振、吳艷儷、黃國欽、朱美蓮

執行期間：90年1月1日至90年12月31日

\* 本研究報告僅供參考，不代表衛生署疾病管制局意見 \*

## 目錄

摘要 .....	2
前言 .....	3
材料與方法.....	5
結果 .....	7
討論 .....	16
參考文獻 .....	17

## 圖次

圖一、90年7-12月屏東縣矮小瘧蚊孳生溪流調查點.....	8
圖二、屏東縣滿洲鄉長樂村矮小瘧蚊孳生溪流空間分布.....	9
圖三、屏東縣滿洲鄉九棚村矮小瘧蚊孳生溪流空間分布(一).....	9
圖四、屏東縣滿洲鄉九棚村矮小瘧蚊孳生溪流空間分布(二).....	10
圖五、矮小瘧蚊生活史.....	10
圖六、屏東縣獅子鄉丹路村矮小瘧蚊孳生溪流採集點分布圖.....	10
圖七、屏東縣獅子鄉內文村矮小瘧蚊孳生溪流採集點分布圖.....	11
圖八、屏東縣牡丹鄉高士村矮小瘧蚊孳生溪流採集點分布圖.....	11
圖九、屏東縣牡丹鄉旭海村矮小瘧蚊孳生溪流採集點分布圖.....	12
圖十、屏東縣牡丹鄉牡丹村矮小瘧蚊孳生溪流採集點分布圖.....	12
圖十一、台南縣8月份矮小瘧蚊溪流採樣點及原有孳生村里.....	13
圖十二、台南縣許線溪矮小瘧蚊孳生溪流採樣點.....	13
圖十三、台南縣虎源吸矮小瘧蚊孳生溪流採樣點.....	14
圖十四、台南縣潭頂溪矮小瘧蚊孳生溪流採樣點.....	14

## 表次

表一、幼蚊採集結果.....	15
表二、成蚊牛餌法夜間採集結果.....	15

行政院衛生署疾病管制局委託研究計畫原始數據資料庫

資料讀我檔案

計畫名稱：台灣地區矮小瘧蚊孳生溪流空間分布及其型別組成

計畫編號：DOH90-DC-9014

執行機構：疾病管制局

計畫主持人：鄧華真

計畫主持人服務單位：實驗室資源服務組

計畫主持人職稱：科長

研究報告中文摘要：

本計畫為利用衛星定位系統 GPS 來建立台灣地區矮小瘧蚊孳生溪流地圖資訊系統，以瞭解矮小瘧蚊孳生溪流空間分布以及周圍可能之吸血來源。第一年計畫實施台南縣及屏東縣之現有孳生溪流，於矮小瘧蚊可能孳生地點，以長柄杓調查幼蚊，以衛星定位系統定位，並將幼蚊帶回實驗室進行種類及型別鑑定。第二年實施台東縣及花蓮縣孳生溪流之空間分布。第三年進行高雄縣孳生溪流之空間分布及離島矮小瘧蚊分布調查。另外於各地調查時，以形態先區分各地區組成之矮小瘧蚊型別以及其姊妹種-溪溝瘧蚊的存在。並建立以分子生物來確認，而這些資訊可提供瘧疾防治之依據，以預防台灣本土性瘧疾病例之發生。

中文關鍵詞(至少三個)：矮小瘧蚊、孳生溪流、空間分布

Research Data Archive, Center for Disease Control, Department of Health, Taiwan, R.O.C.  
Readme file

Project Title: Spatial distribution of breeding streams and form composition of *Anopheles minimus* in Taiwan.

Project Number: DOH90-DC-9014

Executing Institute: Center for Disease Control

Principal Investigator(P.I.): Teng, Hwa-Jen

P.I. Position Title: Section Chief

P.I. Institute: Division of Laboratory Resource & Service, Center for Disease Control

Abstract:

This three-year project used GPS technique to establish Geological Information System of *Anopheles minimus* in Taiwan to understand spatial distribution of this species and its possible hosts. The breeding streams in Tainan and Pingtung were surveyed in the first year of this project. Each collecting site was positioned by GPS. Larvae and pupae were collected and brought back to Laboratory for further species and form identification. In the second year, Taitung and Hualien will be surveyed. In the third year, Kaohsiung and Islands will be surveyed.

Keyword: *Anopheles minimus*, Breeding Streams, Spatial distribution.

## 前言

目前全世界每年感染急性瘧疾約五百萬人，而每年至少一百萬人死亡，而大部分都是兒童（700,000 例死亡病例），而在急性瘧疾個案中，兒童於感染後 24 小時即可死亡。世界衛生組織認為瘧疾在全球復甦是因為健康制度的失敗、瘧原蟲抗藥性的產生、人口的移動、環境衛生的變壞、氣候改變等因素。台灣自 1965 年正式列入瘧疾根除地區( Anonymous 1991 )，目前每年僅有境外移入病例 5-43 例。在台灣傳播瘧疾之主要病媒蚊為矮小瘧蚊 *Anopheles minimus*，目前分布於 5 縣市 19 鄉鎮 41 村里。瘧原蟲在人體的潛伏期依瘧原蟲種類而有不同，為 11-28 天。目前國人出國前往瘧疾疫區觀光旅遊做生意的頻率很高，尤其是大陸。大陸有瘧疾的地區主要發生在南部，包括雲南省、海南島、廣州市、福建省、四川省及廣東省。年底進行小三通後，往來的頻率將大幅提昇。台灣瘧疾根除後，大多數的醫生並沒有診斷瘧疾的經驗（例如榮總醫院於民國 86 年的感染事件，造成六人死亡）。

在早期台灣有瘧疾發生之時期，矮小瘧蚊之足跡遍布台灣南北各地之水稻田、灌溉溝渠及溪流，而其密度與水稻耕作時期關係密切 (Anonymous 1991)。而後台灣地區因農業轉型及山坡地開發的結果，矮小瘧蚊孳生地被破壞或改變，本所於八十年至八十二年之全面性調查(全省每個鄉鎮選二個村里)，發現矮小瘧蚊幼蟲僅發現於台南縣、高雄縣、屏東縣、台東縣、花蓮縣之 22 個鄉鎮，而其孳生地為灌溉溝渠及溪流(林鼎翔等 1997)。於八十五年六月至八十六年七月，針對發現矮小瘧蚊孳生附近之村里進行幼蚊及成蚊調查，再次將孳生範圍修訂為 19 鄉鎮 41 村里（圖一）(病媒及昆蟲病組 1998)。另外，於八十三年七月至八十四年六月於發現矮小瘧蚊之縣市，各選一個密度較高之地點，研究季節性消長及孳生地之水質。發現各地區

之幼蟲密度以台南縣新化鎮、屏東縣及台南縣較高及種類較單純，而全年之密度於九月開始至第二年之三月，因水位較穩定而較高(Teng et al. 1998)。

利用地圖方式瞭解當地矮小瘧蚊之分布及孳生之國家包括日本、澳洲及泰國(Sweeney 1990; Rattnarithikul 1995; Toma 1996a,b)。而其調查之方法包括幼蟲採集或兼用幼蟲及成蚊(CO<sub>2</sub>誘蚊燈)調查。幼蟲調查依據詳細地圖系統性地選擇 300 條溪流，而每條溪流選 150-200 公尺，四人 30 分鐘以杓調查幼蟲(Toma, 1996a)。調查瘧蚊雌蚊之方法有很多，包括人餌法(human-biting catches)，牛餌法(animal bait)，誘蚊燈(light traps)，白天戶內採集法(daytime resting indoors)及除蟲菊精噴灑採集法(pyrethrum spray collections)(Service 1976)。其中仍以人餌法或牛餌法最有效，但費時費力，且亦可能吸引未吸血之雌蚊，而忽略不吸血之雌蚊。誘蚊燈攜帶方便、可增加重覆數及可誘集到已吸血之雌蚊。雖然有不少研究指出以誘蚊燈調查之結果與人餌法有相當好之相關性 (Odetoyin 1969, Chandler et al. 1975, Garrett-Jones and Magayuka 1975, Joshi et al. 1975, Cooper et al. 1996)，但亦有些研究指出該方法會低估尋找寄主之雌蚊族群及低密度族群(Service 1976, Hii et al. 1986, Zaim et al. 1986, Mbogo et al. 1993)。白天戶內採集法及除蟲菊精噴灑採集法適用於房子內，亦可得到不錯之結果(Petrarca et al. 1991)。

矮小瘧蚊的包括八種形態相似的姊妹種 (Harrison, 1980)，型別則有A型、B型及C型三種。在大陸紀錄有A型及B型兩種 (Sawabe 1996, Yuan 1978)，而泰國則有A型及C型 (Sharpe 1999, Sucharit 1997)。依據一個在泰國北部進行的標幟-釋放-再捕捉試驗中發現此兩型對寄主有不同的喜好 (Suthas et al. 1986)。而此會影響傳播瘧疾的能力。台灣依據大陸的A及B

外部形態特徵，而在不同地點均發現兩型存在（Teng et al. 1998）。另外與台灣矮小瘧蚊型態十分類似的種類有溝溪瘧蚊 *Ano. fluviatilis*，而依據連日清（1997）後來指出台灣並沒有溝溪瘧蚊，以前的紀錄可能是錯誤的。

目前台灣雖無本土性瘧疾病例報告，然每年仍有約三十例的境外移入病例。因境外移入之病例分散各地，資料顯示這些病例由發病到確診尚需一段時間，病情輕微者也可能在尚有矮小瘧蚊孳生地活動，一旦瘧原蟲傳給當地之瘧蚊（本局於87年5月曾有一晚捕獲108隻成蚊的紀錄），則有發生本土性病例之可能。例如美國自1970年即由世界衛生組織宣佈為根除地區，仍有零星個案發生於紐約、德州、喬治亞州、密西根州等州。因此確實掌握台灣主要瘧疾病媒蚊---矮小瘧蚊(*Anopheles minimus* Theobald)在台灣之分布及詳細孳生地是很重要之資訊。而此項資訊可掌握先機，提供瘧疾防治單位，防止本土性瘧疾在台灣發生之可能機會。本計劃的目的為建立台灣矮小瘧蚊現有孳生溪流的地理資訊系統，並了解每條溪流的矮小瘧蚊密度。

## 材料與方法

### 野外調查

90年進行台灣地區屏東縣及台南縣矮小瘧蚊的調查，調查現有分布溪流（圖一及圖十），沿溪調查所有可能孳生地（包括緩流及有水草孳生的地點），則以衛星定位系統定出它的座標。於可能孳生地，以直徑14公分長杓採集幼蚊，紀錄杓數，並將幼蟲放進保存液，帶回實驗室進行種類鑑定。另外，尋找當地可能吸血源，包括牛、豬等，以地理定位系統定出它的座標，視調查季節而於天黑後進行夜間採集成蚊。所採集成蚊放置於紙杯，帶回實驗室鑑定種類及型別。

### 地理資訊系統之建立

利用定位儀來定採樣點的經緯度以及溪流的位置，而後跟 PC Arcview 軟體來結合建立矮小瘧蚊孳生溪流地理資訊系統。

## 型別鑑定

### 1.形態學鑑定

將採獲之矮小瘧蚊幼蚊帶回實驗室，飼養至成蚊，或直接捕獲之成蚊，先以下列形態特徵來區分矮小瘧蚊成蚊的型別，A 型：翅脈  $M_{1+2}$  除基部及末端外，並非全黑，B 型：翅脈  $M_{1+2}$  除基部及末端外，全黑，C 型：①翅脈  $M_{1+2}$  除基部及末端外，並非全黑②前緣脈具有一個肩部淡色斑點( Yuan 1987, Green et al. 1990 )。矮小瘧蚊與它的姊妹種 *Ano. fluviatilis* 的成蚊型態區分如下，矮小瘧蚊：觸鬚先端及次位之兩帶寬度略同，或次末白帶只有先端白帶之二分之一寬，兩白帶間之黑帶較狹，翅前緣脈內側三分之一部分有白斑。溪溝瘧蚊：觸鬚先端較次位白帶間之黑帶較寬，翅前緣脈內側三分之一部分無白斑。( 周欽賢等 1988 )。

### 2.建立分子生物學鑑定系統

矮小瘧蚊成蚊 A 型與 C 型已知在 28S rDNA 的 D3 區序列有兩個鹼基對的差異，據此 Sharpe et al. (1999)設計一組引子(primers)，應用在 allele-specific amplification (ASA)的方法，以區別此兩種型別，這個方法將引用來區別台灣 A 與 C 型別矮小瘧蚊。台灣存在的 B 型矮小瘧蚊的分子鑑定上，由於 B 型矮小瘧蚊該段核酸序列未被解序，ASA 的方法還未被發展出來，本研究將進行 B 型矮小瘧蚊 28S rDNA 的 D3 區序列的定序、與 A 型、C 型進行核酸序列比對，據此設計 ASA 的引子組，用以區 A、B、C 型矮小瘧蚊。研究將應用 Sharpe et al. (1999)的 PCR 反應步驟進行矮小瘧蚊 28S rDNA 的增幅(amplification)與 ASA 鑑定工作。核酸定序工作，將委由民間定序公司完成。

同時亦將進行矮小瘧蚊姊妹種 *Ano. fluviatilis* 的分子學研究。首先進行 *Ano. fluviatilis* 之 28S rDNA 的 D3 區序列的定序，再與 *Ano. minimus* 的序列比對，由於 28S rDNA 的序列在演化上相當穩定，核酸序列的差異可做為姊妹種的鑑定依據。另外亦將分析兩種姊妹種的 internal transcribed spacer 2 (ITS2) ribonuclear DNA (rDNA) 片斷 (Van Bortel, et al. 2000)，以研究兩姊妹種的分子學上差異，實驗操作步驟將依據 Van Bortel, et al (2000) 的方法進行。

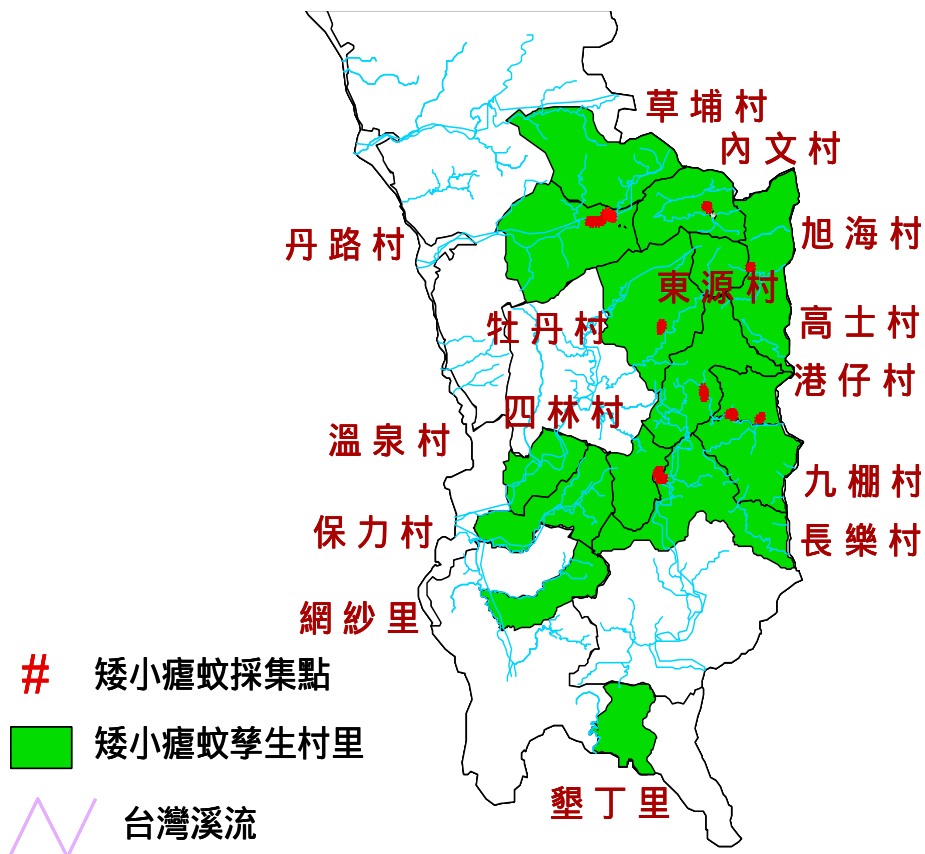
## 結果

目前屏東縣矮小瘧蚊孳生溪流共調查 8 段溪流，屬於 8 個村(圖一)。屏東縣滿洲鄉長樂村溝渠於 7 月及 9 月進行 2 次調查，於可能孳生點 71 個採集 710 杓，發現 32 個點有採集到矮小瘧蚊(圖二)，其中矮小瘧蚊幼蟲 119 隻，蛹 4 隻，斑腳瘧蚊幼蟲 138 隻，蛹 6 隻(表一)。滿洲鄉九棚村於 9 月前往調查可能孳生點 40 點 400 杓，發現 8 個點有採集到矮小瘧蚊(圖三及圖四)，其中矮小瘧蚊幼蟲 15 隻，斑腳瘧蚊幼蟲 95 隻，蛹 5 隻，河床瘧蚊 180 隻幼蚊，1 隻蛹。另外於九棚村牛舍進行夜間採集 2 次，共捕獲矮小瘧蚊 4 隻、斑腳瘧蚊 27 隻、河床瘧蚊 84 隻、中華瘧蚊 53 隻、多斑瘧蚊 6 隻，其他蚊種 30 隻(表二)。矮小瘧蚊成蚊帶回實驗室飼養，收集卵粒，並完成拍攝矮小瘧蚊生活史的照片(圖五)。屏東縣獅子鄉於 10 月共進行 3 段溪流調查，調查 102 個可能孳生點，僅於內文村段溪流發現 17 個孳生點(圖六及七)，其中矮小瘧蚊幼蚊 101 隻，蛹 8 隻。屏東縣牡丹鄉進行三段吸流調查，屬於 3 個村。屏東縣牡丹鄉高士村共調查 310 個孳生點(圖八)，發現矮小瘧蚊 2 隻，斑腳瘧蚊 79 隻。屏東縣牡丹鄉旭海村共調查 240 個孳生點(圖九)，發現 51 隻矮小瘧蚊，138 隻斑腳瘧蚊及 1 隻中華瘧蚊。屏東縣牡丹鄉牡丹村共調查 310 個孳生點(圖十)，發現 121 隻矮小瘧蚊及 48 隻斑腳瘧蚊。台



南縣於 8 月調查龍崎鄉崎頂村、新化市礁坑里及左鎮鄉澄山村段溪流(圖十一)，崎頂村共調查 26 個可能孳生點，沒有採集到任何蚊蟲(圖十二)，礁坑里共採集 55 個可能孳生點，沒有採集到任何蚊蟲(圖十三)。澄山村共採集 44 個可能孳生點，僅採集到 1 隻中華瘧蚊幼蟲(圖十四)。

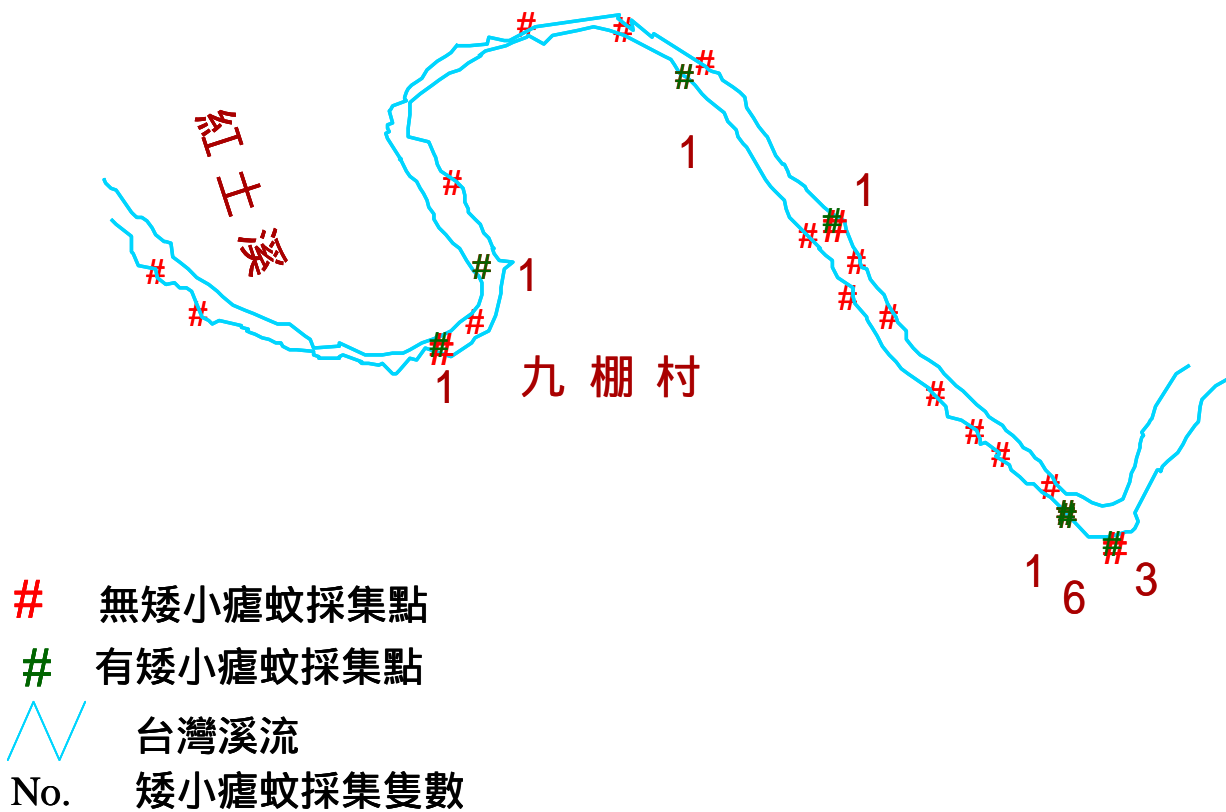
90 年因台灣矮小瘧蚊的密度過低，故先將矮小瘧蚊委請本局委外研究計劃「台灣地區矮小瘧蚊型別的鑑定」陽明大學何兆美教授處進行型別鑑定，以節省經費及人力。



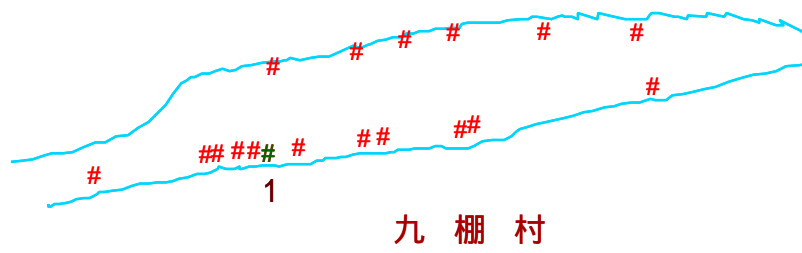
圖一、90 年 7-12 月屏東縣矮小瘧蚊孳生溪流調查點。



圖二、屏東縣滿洲鄉長樂村矮小瘧蚊孳生溪流空間分布。

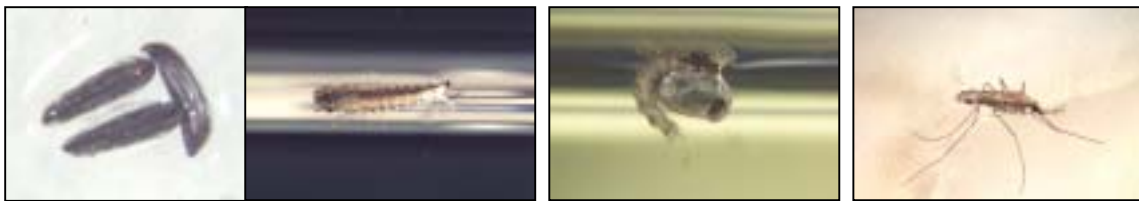


圖三、屏東縣滿洲鄉九棚村矮小瘧蚊孳生溪流空間分布(一)。

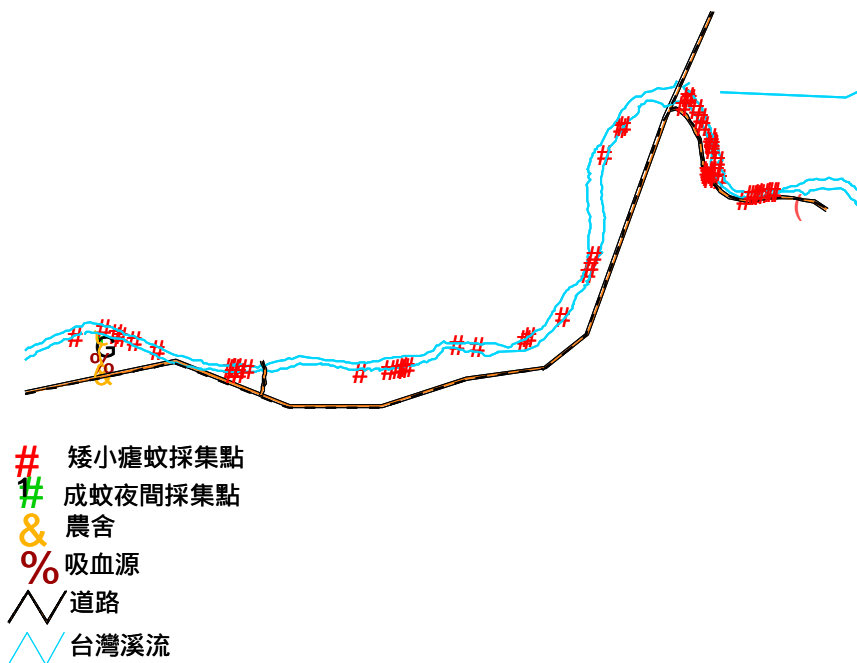


- # 無矮小瘧蚊採集點
- # 有矮小瘧蚊採集點
- ∧ 台灣溪流
- No. 矮小瘧蚊採集隻數

圖四、屏東縣滿洲鄉九棚村矮小瘧蚊孳生溪流空間分布(二)。

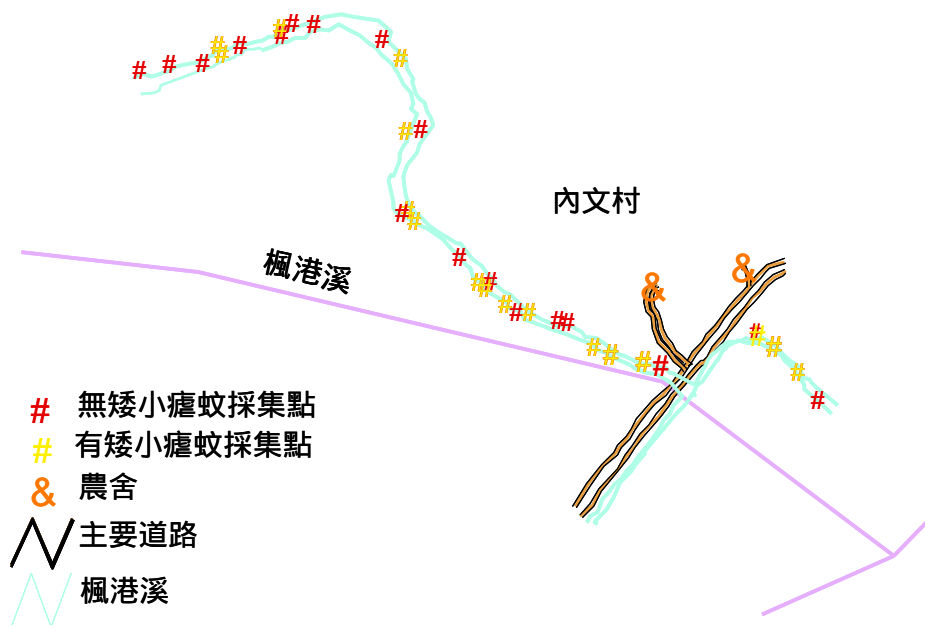


圖五、矮小瘧蚊生活史

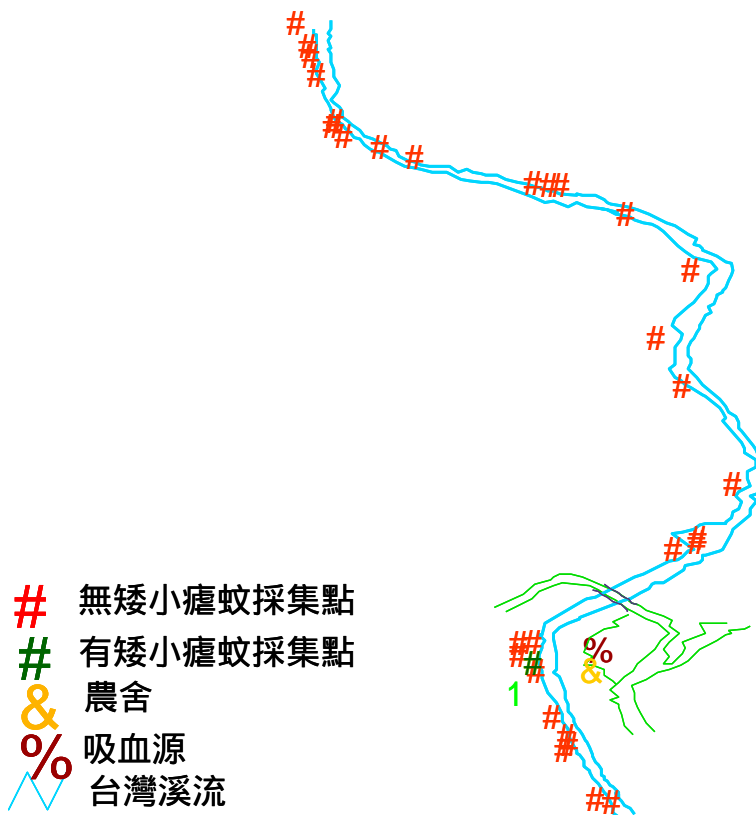


- # 矮小瘧蚊採集點
- # 成蚊夜間採集點
- & 農舍
- % 吸血源
- ∧ 道路
- ∧ 台灣溪流

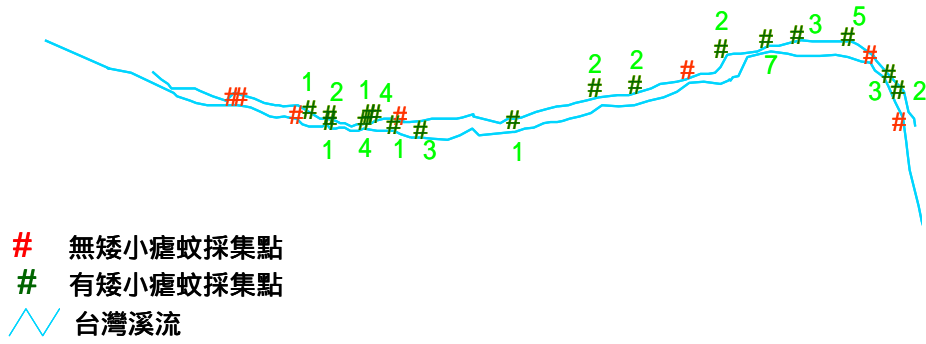
圖六、屏東縣獅子鄉丹路村及草埔村矮小瘧蚊孳生溪流採集點分布圖。



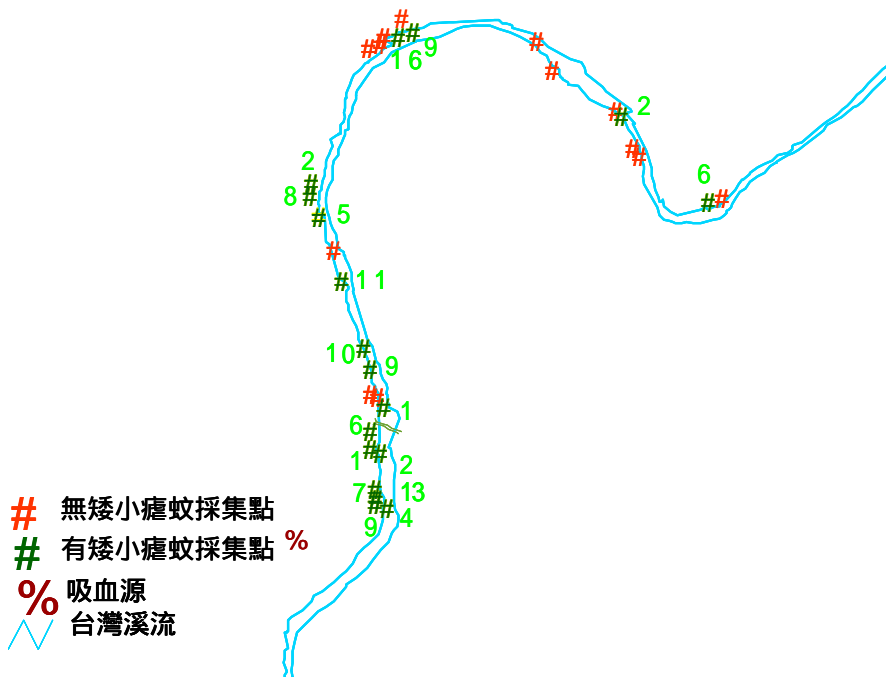
圖七、屏東縣獅子鄉內文村矮小瘧蚊孳生溪流採集點分布圖。



圖八、屏東縣牡丹鄉高士村矮小瘧蚊孳生溪流採集點分布圖。



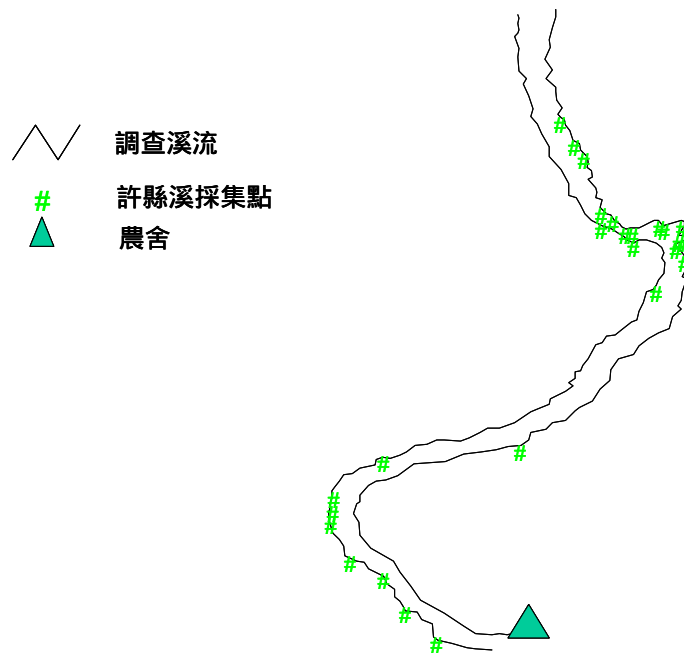
圖九、屏東縣鄉旭海村矮小瘧蚊孳生溪流採集點分布圖。



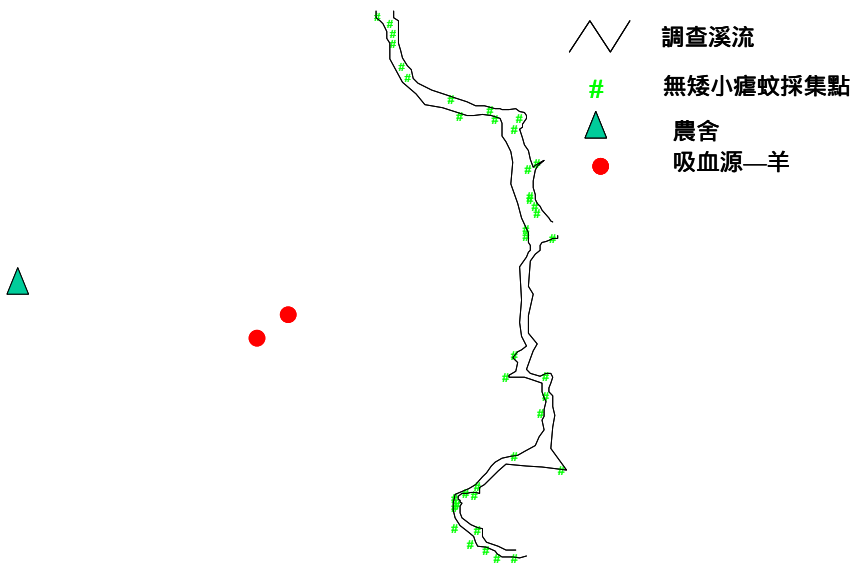
圖十、屏東縣牡丹鄉牡丹村矮小瘧蚊孳生溪流採集點分布圖。



圖十一、台南縣 8 月份矮小瘧蚊溪流採樣點及原有孳生村里。



圖十二、台南縣許線溪矮小瘧蚊孳生溪流採樣點。



圖十三、台南縣虎源吸矮小瘧蚊孳生溪流採樣點。



圖十四、台南縣潭頂溪矮小瘧蚊孳生溪流採樣點。

表一、幼蚊採集結果。

調查地點	調查時間	採集拘數	矮小瘧蚊		斑腳瘧蚊	河床瘧蚊	中華瘧蚊
			採集總隻數	平均			
屏東長樂	7/10-11	370	111	0.30	25	0	0
	9/11-12	340	12	0.04	119	31	0
台南澄山	8/14	291	0	0.00	0	0	1
台南礁坑	8/15	550	0	0.00	0	0	0
台南崎頂	8/16	370	0	0.00	0	0	0
屏東九棚	9/11-13	400	15	0.04	100	181	0
屏東草埔	10/23	410	0	0.00	22	0	0
屏東內文	10/24	350	109	0.31	3	0	0
屏東丹路	10/25	280	0	0.00	0	0	0
屏東高士	12/11	310	2	0.01	79	0	0
屏東旭海	12/12	240	51	0.21	138	0	1
屏東牡丹	12/13	310	121	0.39	48	0	0

表二、成蚊牛餌法夜間採集結果。

採集地點	滿洲鄉九棚村	獅子鄉丹路村	滿洲鄉九棚村
採集時間	9月11日	10月23日	12月11日
吸血源	八隻牛	雞	十隻牛
矮小瘧蚊	4	0	8
斑腳瘧蚊	27	0	13
河床瘧蚊	84	0	0
中華瘧蚊	53	0	3
多斑瘧蚊	6	0	0
白肋斑蚊	11	0	0
日本腦炎病媒蚊	18	0	0
斑腳沼蚊	1	0	0



## 討論

此次調查中，於 8 月在台南縣選三個以前密度較高的孳生溪流進行調查，僅採集到 1 隻中華瘧蚊幼蚊，但疾病管制局於八十三年七月至八十四年六月調查台南縣新化鎮，發現該地之溪流蚊相相當單純，以矮小瘧蚊為主，而幼蟲密度於七月最低，八月至十月次低，其他月份維持相當高的密度 (Teng et al. 1998)，所以台南縣矮小瘧蚊的密度可能因為今年夏季颱風偏多，而造成偏低，所以發生瘧疾本土性機會微乎其微。另外，極有可能此三段溪流均非矮小瘧蚊孳生的大本營，僅為下游，預定於冬季水位較穩定時，前往調查其他段的河流，以了解矮小瘧蚊在台南縣孳生的狀況。

此次調查屏東縣矮小瘧蚊孳生溪流 8 段，雖未有完整的地圖系統，但初步可了解矮小瘧蚊分布十分不均勻，以長樂村、內文村、牡丹村、旭海村密度較高。屏東縣獅子鄉內文村可能為上游，採集到 109 隻矮小瘧蚊，為主要孳生地，而草埔村及丹路村為下游，沒有採集到矮效瘧蚊幼蚊。此結果與民國 87 年 5 月在丹路村所調查結果相似，該點夜採 108 隻成蚊，而附近幼蚊極少，所以採集到的成蚊是由上游飛過來的。屏東縣牡丹鄉高士村為上游，僅採集到 2 隻矮小瘧蚊，九棚村為下游，其中中段溪流，採集到 14 隻矮小瘧蚊，且有牛吸血源，而下段僅採集到 1 隻矮小瘧蚊，故其大本營因在九棚村中段。屏東縣滿洲鄉長樂村為矮小瘧蚊孳生另一個大本營，平時孳生於灌溉溝渠，有牛吸血源，無水且大溪水流穩定時，孳生於大溪。牡丹村及旭海村僅調查一個溪流段，需再調查其他溪流段。

此計劃因為通過的晚，錯過矮小瘧蚊主要孳生季節 (11 月-4 月)，而去年夏季颱風甚為頻繁，造成矮小瘧蚊密度普遍偏低，再加上台南縣及屏東縣為矮小瘧蚊孳生的兩個主要縣市，故無法完成完整的地圖系統，期待未來兩年可以完成。

## 參考文獻

- 病媒及昆蟲病組。1998。台灣地區矮小瘧蚊 *Anopheles minimus* 密度監視與分布範圍之研究。衛生署八十六年計畫。
- 林鼎翔 鐘兆麟 呂良振 曾丑。1997。台灣地區矮小瘧蚊 (*Anopheles minimus*) 之分布。第九屆病媒防治技術研討會論文集：185-195。
- 周欽賢、連日清、王正雄。1988。醫學昆蟲學。南山出版社。536 頁。
- Anonymous. 1991. Malaria eradication in Taiwan. Department of Health, The Executive Yuan, R. O. C. 300 pp.
- Chandler, J. A., R. B. Highton and M. N. Hill. 1975. Mosquitoes of the Kano Plain, Kenya. I. Results of indoor collections in irrigated and non-irrigated areas using human bait and light traps. J. Med. Entomol. 12:504-510.
- CDC. 1997. Probaly locally acquired mosquito-transmitted Plasmodium vivax infection----Georgia, 1996. MMWR 46:264-7.
- CDC. 1999. Probaly locally acquired mosquito-transmitted Plasmodium vivax infection---Suffolk County, New York, MMWR 49:495-498.
- Collins, F. H. and S. M. Paskewitz. 1995. Malaria: Current and future prospects for control. Annu. Rev. Entomol. 40:195-219.
- Copper, R. D., S. P. Frances, D. G. E. Waterson, R. G. Piper and a. W. Sweeney. 1996. Distribution of Anopheline mosquitoes in northern Australia. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 12:656-663.
- Garrett-Jones, C. and S. A. Magayuka. 1975. Studies on the natural incidence of *Plasmodium* and *Wuchereria* infections in *Anopheles* in rural East Africa: I-assessment of densities by trapping hungry female *Anopheles gambiae* Giles species A. WHO/MAL/75.851, WHO/VBC/75.541.
- Green, C. A., R. F. Gass, L. E. Munstermann and V. Baimai. 1990. Population genetic evidence for two species in *Anopheles minimus* in Thailand. Medical and Veterinary Entomology 4:25-34.

- Hii, J., K. F. Chin, W. Macdonald and Y. S. Vun. 1986. The use of CDC light traps for malariometric entomology surveys in Sabah, Malaysia. *Trop. Biomed.* 3:39-48.
- Joshi, G. P., M. W. Service and G. D. Pradham. 1975. A survey of species A and B of the *Anopheles gambiae* Giles complex in the Kisumu area of Kenya prior to insecticidal spraying with OMS-43 (fenitrothion). *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 69:91-104.
- Lien, J. C. 1997. Current status of Anopheline mosquitoes in Taiwan. International Symposium of Recent Advances on Malaria. 5-6 December, 1997.
- Lien, J. H., C. L. Chung, C. C. Lin, and M. H. Weng. 1997. The mosquitoes of Nankan and Peikan islands in the Matsu area, Fuchien Province, Republic of China (Diptera, Culicidae). *Chinese J. Parasitology* 10:75-85.
- Mbogo, C. N. M., G. E. Glass, D. Forster, E. W. Kabiru, J. I. Githure, J. H. Ouma and J. C. Beier. 1993. Evaluation of light traps for sampling Anopheline mosquitoes in Kilifi, Kenya. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* 9(3):260-263.
- Odetoyinbo, J. A. 1969. Preliminary investigation on the use of a light-trap for sampling malaria vectors in the Gambia. *Bull. W.H.O.* 43:635-641.
- Petrarca, V., J. C. Beier, F. Onyango, J. Koros, C. Asiago, D. K. Koech and C. R. Roberts. 1991. Species composition of the *Anopheles gambiae* complex (Diptera: Culicidae) at two sites in western Kenya. *J. Med. Entomol.* 28:307-313.
- Rattanarithikul, R., C. A. Green, S. Panyim, C. Noigamol, S. Chanaimongkol and P. Mahapibul. 1995. Larval habitats of malaria vectors and other *Anopheles* mosquitoes around a transmission focus in Northwestern Thailand. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* 11(4):428-433.
- Sawabe, K., M. Takagi, Y. Tsudo, L. H. Tang, J. J. Xu, C. P. Qui, L. Z. Jin, and X.

- F. Luo. 1996. Genetic differentiation among three populations of *Anopheles minimus* of Guangxi and Yunnan Provinces in the People's Republic of China Southeast Asian J Trop Med Public Health 27(4):818-27.
- Service, M. W. 1976. Mosquito ecology: Field sampling methods. 583 p
- Sharpe, R. G., M. M. Hims, R. E. Harbach, and R. K. Butlin. 1999. PCR-based methods for identification of species of the *Anopheles minimus* group: allele-specific amplification and single-strand conformation polymorphism. Medical & Veterinary Entomology. 13(3):265-73.
- Sucharit, S., and N. Komalamisra. 1997. Differentiation of *Anopheles minimus* species complex by RAPD-PCR technique. Journal of the Medical Association of Thailand. 80(9):598-602.
- Sweeney, A. W., R. D. Cooper and S. P. Frances. 1990. Distribution of the sibling species of *Anopheles farauti* in the Cape York Peninsula, northern Queensland, Australia. J. Amer. Mosq. Control Assoc. 6:425-429.
- Tanaka, K., K. Mizusawa and E. S. Saugstad. 1979. A revision of the adult and larval mosquitoes of Japan (including the Ryukyu Archipelago and the Ogasawara Islands) and Korea (Diptera: Culicidae). Contributions of the American Entomological Institute 16, 987pp.
- Teng, H. J., Y. L. Wu, S. J. Wang and C. Lin. 1998, Effects of environmental factors on abundance of *Anopheles minimus* (Diptera: Culicidae) larvae and their seasonal fluctuation. Environ. Entomol. 27:324-328.
- Toma, T. I. Miyagi, M. Takagi and Y. Tsuda. 1996. Survey of *Anopheles minimus* immatures in Miyako Island, Ryukyu Archipelago, Japan, 1991 and 1995. Med. Entomol. Zool. 47(2):167-170.
- Toma, T., I. Miyagi, W. L. M. Malenganisho, M. Tamashiro, M. Takagi, Y. Higa, Y. Tsuda, A. Sugiyama and H. Ishak. 1996. Distribution and seasonal prevalence of the malaria vector mosquito, *Anopheles minimus*, in Ishigaki

Is., Ryukyu Archipelago, Japan, 1990-1994. *Med. Entomol. Zool.*  
47(1):63-72.

Van Bortel, W., H. D. Trung, P. Roelants, R. E. Harbach, T. Backeljau, and M.  
2000. Coosemans. Molecular identification of *Anopheles minimus* s.l.  
beyond distinguishing the members of the species complex. *Insect Mol Biol*  
9(3):335-40.

Yuan, Y. 1987. Studies on the two forms of *Anopheles* ( *Celia* ) *minimus*  
Theobald, 1901 in China ( *Diptera: Culicidae* ) . *Mosq. Syst.* 19:143-145.

Zaim, M., M. R. Y. Ershadi, A. V. Manouchehri and M. R. Hamdi. 1986. The use  
of CDC light traps and other procedures for sampling malaria vectors in  
southern Iran. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* 2:511-515.