ภาษาไทย:

การศึกษาวิจัยในแมลงริ้นดำที่จับมาจากจังหวัดๆต่างใน 6 ภูมิภาคของประเทศไทยอย่างเป็นระบบ ทำให้ค้นพบแมลงริ้นดำชนิดใหม่ จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ แมลงริ้นดำ *Simulium* (*Nevermannia*) *chomthongense* จากอุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ แมลงริ้นดำ *S.* (*Asiosimulium*) *furvum* จากอุทยานแห่งชาติแม่วะ อำเภอเถิน จังหวัดลำปางแมลงริ้นดำ *S.* (*N.*) *khunklangense* จากหมู่บ้านขุนกลาง อุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ แมลงริ้นดำ *S.* (*Gomphostilbia*) *piroonae* จากอำเภอปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน แมลงริ้นดำ *S. (Simulium) atipornae* และ *S. (S.) lomkaoense* จากอำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์

การสำรวจแมลงวันที่มีความสำคัญทางการแพทย์ในประเทศไทย โดยการศึกษาเชิงอณูชีววิทยาของยีนส่วน ITS2 พบว่ามีความผันแปรในส่วน ITS2 ของแมลงวันชนิดเดียวกันและต่างชนิดกันที่เก็บในประเทศไทย ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ได้นำมาใช้ในการจำแนกชนิดของแมลงวัน โดยวิธี PCR–RFLP และ HRM โดยประโยชน์ของงานวิจัยนี้จะสามารถนำมาใช้ในงานทางด้านนิติเวชวิทยาได้ นอกจากนี้ ยังได้ทำการศึกษาชนิดของเชื้อ *Wolbachia* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถถ่ายทอดทางแม่จากแมลง ในแมลงวันชนิดต่างๆ ในประเทศไทย ความสัมพันธ์ระหว่าง *Wolbachia* กับแมลงมีหลายรูปแบบ ซึ่งอาจเป็นแบบให้ประโยชน์ต่อกัน สามารถมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ก่อให้เกิดความไม่เข้ากันของไซโตพลาสซึม ทำให้แมลงตัวผู้เป็นหมัน ตัวเมียออกลูกได้โดยไม่ต้องผสมพันธุ์ หรือเป็นหมันได้ เราได้แสดงให้เห็นถึงข้อมูลเบื้องต้นของ *Wolbachia* ในแมลงวันที่มีความสำคัญทางการแพทย์ที่เก็บจากพื้นที่ต่างๆของประเทศไทยโดยวิธี PCR ในส่วนของยีน *wsp* พบว่าแมลงวันที่ตรวจ 7 จาก 51 ตัวอย่าง (14%) มี *Wolbachia* การศึกษานี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นของ *Wolbachia* ในแมลงวันที่มีความสำคัญทางการแพทย์ของประเทศไทย การศึกษาที่คลอบคลุมมากกว่านี้จะนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมประชากรแมลงวันอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

การศึกษาวิจัยอย่างเป็นระบบในยุงก้นปล่อง จำนวน 8 ชนิด ที่เป็นสมาชิกของยุงก้นปล่องกลุ่มไฮร์คานัสในประเทศไทย (*Anopheles argyropus*, *An. crawfordi*, *An. nitidus*, *An. nigerrimus*, *An. paralia*e, *An. peditaeniatus*, *An. pursati* and *An. sinensis*) ประกอบด้วยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา การหารูปแบบเมตาเฟสคาริโอไทป์ การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไรโบโซมอลดีเอ็นเอ (ITS2) และไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ (COI, COII) การผสมพันธุ์ข้ามรูปแบบเมตาเฟสคาริโอไทป์และ/หรือข้ามสายพันธุ์ และการศึกษาความสามารถในการยอมรับพยาธิฟิลาเรียชนิด *Brugia malayi* ของยุงก้นปล่องทั้ง 8 ชนิด ผลการศึกษาวิจัยนี้ ไม่พบการแยกหลังการผสมพันธุ์ระหว่าง 2, 3, 4, 5, 4, 5, 6 และ 2 รูปแบบคาริโอไทป์ของยุงก้นปล่อง *An. argyropus*, *An. crawfordi*, *An. nitidus*, *An. nigerrimus*, *An. paralia*e, *An. peditaeniatus*, *An. pursati* and *An. sinensis* ตามลำดับ โดยให้ลูกผสมรุ่นที่ 1 และ 2 ที่แข็งแรง และมีลักษณะแขนของโพลีทีนโครโมโซมจากเซลล์ต่อมน้ำลายของลูกน้ำยุงลูกผสมที่เข้าคู่กันแนบสนิท และความแปรผันในระดับต่ำของลำดับนิวคลีโอไทด์ของแต่ละรูปแบบคาริโอไทป์ในยุงก้นปล่องชนิดเดียวกัน ยังเป็นหลักฐานที่ช่วยสนับสนุนว่า ยุงก้นปล่องทั้ง 8 ชนิด มีความแปรผันของรูปแบบเมตาเฟสคาริโอไทป์ได้หลายรูปแบบ ซึ่งสามารถพบได้ในประชากรธรรมชาติ ผลจากการศึกษาความสามารถในการยอมรับพยาธิฟิลาเรียชนิด *B. malayi* ของยุงก้นปล่องทั้ง 8 ชนิด พบว่ายุงก้นปล่อง *An. peditaeniatus*, *An.*

crawfordi, *An. nigerrimus*, *An. argyropus* และ *An. pursati* มีศักยภาพสูงในการเป็นพาหะ ยุงก้นปล่อง *An. paraliae* และ *An. sinensis* มีศักยภาพต่ำในการเป็นพาหะ ในขณะที่ยุงก้นปล่อง *An. nitidus* ไม่มีศักยภาพในการเป็นพาหะนำพยาธิฟิลาเรียชนิด *Brugia malayi* ในห้องปฏิบัติการ โดยพบว่า กลไกที่เกี่ยวข้องกับการต่อต้านการพัฒนาของพยาธิฟิลาเรียระยะตัวอ่อนที่กล้ามเนื้อทรวงอกของยุงก้นปล่องกลุ่มนี้ มี 2 กลไก คือ กลไกการเป็นพิษต่อตัวอ่อนพยาธิโดยตรง และ/หรือกลไกการหุ้มตัวอ่อนพยาธิด้วยเมลานิน นอกจากนี้ ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการพัฒนาเทคนิคทางสัณฐานวิทยาและอณูชีววิทยาในจำแนกยุงก้นปล่องทั้ง 8 ชนิดอีกด้วย

สถานการณ์โรคมาลาเรียตามแนวชายแดนไทยกัมพูชามีแนวโน้มความชุกเปลี่ยนแปลงไปจาก *Plasmodium falciparum* ไปเป็นชนิด *P. vivax* มากขึ้น จากการศึกษาในจังหวัดสระแก้วและจันทบุรีพบยุงชนิด *Anopheles campestris* และ *An. subpictus* มีแนวโน้มเป็นพาหะมาลาเรียโดยได้ทำการจับยุงด้วยวิธีใช้วัวและคนเป็นเหยื่อล่อตามลำดับในช่วงฤดูฝนและฤดูร้อนในปี 2555–2556 ในจังหวัดสระแก้ว พบยุง *An. campestris* 17.8% จากทั้งหมดจาก 22 ชนิดจำนวน 2,355 ตัว ส่วนในจันทบุรี พบ *An. subpictus* คิดเป็น 88% ของยุงทั้งหมด 433 ตัวจาก 7 สายพันธุ์ นอกจากนี้ยุง F_1 ถึง F_3 ของทั้งสองชนิดมีความไวต่อการติดเชื้อ *P. vivax* ในระดับห้องปฏิบัติการเมื่อเทียบกับ *An. dirus* การศึกษาความไวต่อยาฆ่าแมลงชี้ให้เห็นว่า *An. campestris* (F_1 ถึง F_3) จาก สระแก้ว มีศักยภาพที่จะ ต่อต้าน 0.1% Bendiocarb 1% Fenitrothion และ 4% ดีดีที ส่วน *An. subpictus* (F_1– F_3) มีแนวโน้มต่อต้าน 0.15 % Cyfluthrin 0.05% Lambda–cyhalothrin 5% Malathion และ 0.05 % deltamethrin การศึกษานี้สนับสนุนสมติฐานการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนการติดเชื้อจาก *P. falciparum* ไปเป็น *P. vivax* มากขึ้น ซึ่งจะมีผลต่อโปรแกรมการควบคุมโรคมาลาเรียรวมถึงการควบคุมพาหะได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ยุง *Ochlerotatus togoi* (ชื่อเดิม *Aedes togoi*) เป็นพาหะนำโรคพยาธิฟิลาเรีย บริเวณเขตชายฝั่งทะเลของทวีปเอเชีย ในประเทศไทย ยุง *Oc. togoi* (Chanthaburi strain) มีความสามารถในการยอมรับเชื้อสูงต่อพยาธิฟิลาเรียชนิด nocturnally subperiodic *Wuchereria bancrofti* (Tak and Kanchanaburi strains), nocturnally subperiodic (NSP) *Brugia malayi* (Narathiwat strain), *Brugia pahangi* (Malaysia strain), *Dirofilaria immitis* (Chiang Mai strain) และ nocturnally periodic *W. bancrofti* (Myanmar strain; unpublished data) แม้ว่ายุงชนิดนี้มีความสำคัญในการเป็นพาหะนำโรคแต่ข้อมูลเกี่ยวกับกระเพาะอาหารของยุงยังมีน้อย กระเพาะอาหารเป็นอวัยวะแรกที่เชื้อโรคปฏิสัมพันธ์ในระหว่างการเพิ่มจำนวน การเปลี่ยนรูปร่างหรือ การเคลื่อนย้ายของเชื้อโรคจากก้อนเลือดไปยังเซลล์เนื้อเยื่ออื่นๆ ของยุงพาหะก่อนที่จะถ่ายทอดไปสู่โฮสต์ตัวใหม่ต่อไป ในการศึกษานี้ได้รายงานเกี่ยวกับ ลักษณะสัณฐานของกระเพาะอาหารของลูกน้ำ *Oc. togoi* ระยะที่ 4 และ การบุกรุกกระเพาะอาหารของยุง *Oc. togoi* และ *Aedes aegypti* (refractory strain) โดยไมโครฟิลาเรีย ของพยาธิฟิลาเรียชนิด NSP *B. malayi* ซึ่งพบว่า ขบวนการบุกรุกกระเพาะอาหารของยุง *Oc. togoi* โดยไมโครฟิลาเรีย อยู่ในช่วงเวลา 3 ถึง 4 ชั่วโมงแรกหลังการกินเลือดที่มีเชื้อ *B. malayi* ในขั้นตอนแรกไมโครฟิลาเรียที่มีปลอกหุ้มตัวเท่านั้นที่สามารถไชผ่าน Peritrophic matrix ด้วยส่วนหน้าของพยาธิ จากนั้นผ่านเซลล์กระเพาะอาหารเข้าสู่ช่องท้อง (hemocoel) แล้วสลัดปลอกหุ้มตัวออก ปลอกหุ้มตัวของไมโครฟิลาเรียที่ถูกสลัดออกในช่องท้อง น่าจะเหนี่ยวนำให้ระบบภูมิคุ้มกันของยุง

ตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมบนปลอกหุ้มตัวนั้น ทำให้ไมโครฟิลาเรียที่สลัดปลอกหุ้มออกอยู่รอดได้ การค้นพบนี้จะนำไปสู่การศึกษาโปรตีน สารเคมี และปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการยอมรับเชื้อพยาธิฟิลาเรียของยุง *Oc. togoi* ที่เป็นพาหะนำโรคพยาธิฟิลาเรีย ในยุง *Ae. aegypti* (Thailand strain; a refractory strain) พบว่าไมโครฟิลาเรียทุกตัวที่ไชผ่านกระเพาะอาหารยุงนั้นสลัดปลอกหุ้มก่อนเข้าไปสู่ช่องท้อง การบุกรุกผ่านผนังกระเพาะอาหารของไมโครฟิลาเรียที่สลัดปลอกหุ้มนั้นอยู่ในช่วงเวลา 2 ถึง 48 ชั่วโมงหลังการกินเลือดที่มีเชื้อ *B. malayi* ในการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่ารอบตัวไมโครฟิลาเรียที่มีปลอกหุ้มมีอนุภาคขนาดเล็กล้อมรอบและมีการเปื่อยยุ่ยของปลอกหุ้ม เป็นไปได้ว่า ภายในกระเพาะอาหารของยุงที่ไม่ยอมรับเชื้อ น่าจะมีโปรตีนหรือปัจจัยที่เหนี่ยวนำให้เกิดการสลัดปลอกหุ้ม โดย Peritrophic matrix ไม่มีผลต่อการไชผ่านกระเพาะอาหารของไมโครฟิลาเรียที่สลัดปลอกหุ้มเหล่านั้น ในช่องท้องของยุงที่เวลา 96 ชั่วโมงหลังการกินเลือดที่มีเชื้อ *B. malayi* พบว่ามีไมโครฟิลาเรียที่ melanized ซึ่งคาดว่ายุงที่ไม่ยอมรับเชื้อใช้ปฏิกิริยา Melanization ในการต่อต้านพยาธิฟิลาเรีย การศึกษานี้จึงเป็นหลักฐานแสดงว่ายุง *Ae. aegypti* (Thailand strain) น่าจะมีปัจจัยที่มีผลต่อต้านพยาธิฟิลาเรียชนิด NSP *B. malayi* ทั้งในกระเพาะอาหารและช่องท้อง ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะนำไปสู่การศึกษาการเปลี่ยนแปลงในโปรติโอมและทรานสคริปโตมของกระเพาะอาหารของยุงเหล่านี้ในระหว่างการติดเชื้อพยาธิฟิลาเรีย

ไซโตโครมพี 450 เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารเคมี โดยอาศัย NADPH เป็น cofactor พบว่าไซโตโครมพี 450 มีระดับการแสดงออกของยีนที่เพิ่มขึ้นและสัมพันธ์กับการดื้อต่อสารเคมีกำจัดแมลง โดยเฉพาะ CYP9J32 มีระดับการแสดงออกของยีนที่สูงในยุงลายที่ดื้อต่อสารเคมีกำจัดแมลงชนิดไพรีทรอยด์ในยุงลายที่เป็นพาหะนำโรคไข้เลือดออก วัตถุประสงค์การศึกษาในครั้งนี้เพื่อค้นหาคุณสมบัติของ CYP9J32 ที่เกี่ยวข้องต่อการดื้อต่อสารเคมีกำจัดแมลงในยุงลายจากประเทศไทย ทำการศึกษาคุณลักษณะของยีนและโปรตีน CYP9J32 การฉีดอาร์เอนเอสายคู่ CYP9J32 เข้าไปในยุงลายที่ดื้อต่อสารเคมีกำจัดแมลงชนิดเพอร์เมทริน ส่งผลให้ไปลดการแสดงออกของยีน CYP9J32 ได้บางส่วนและไปมีผลทำให้ยุงมีความไวต่อสารเคมีกำจัดแมลงชนิดเพอร์เมทรินเพิ่มขึ้น การศึกษาคุณสมบัติของรีคอมบิแนนท์โปรตีน CYP9J32 แสดงให้เห็นว่า CYP9J32 สามารถไปออกซิไดซ์เพอร์เมทรินแมทาบอไลท์ได้แก่ ฟีนอกซีเบนซิลแอลกอฮอล์ และ ฟีนอกซีเบนซิลแอลดีไฮด์ ให้เป็นกรดฟีนอกซีเบนโซอิกได้ ผลการศึกษาในครั้งนี้บ่งชี้ว่า CYP9J32 มีบทบาทที่สำคัญในกระบวนการกำจัดสารเคมีชนิดไพรีทรอยด์

ผลการศึกษารูปแบบการแพร่กระจายของการกลายพันธุ์ F1534C, V1016G และ S989P ในประชากรยุงลาย *Aedes aegypti* ในจังหวัดเชียงใหม่ในฤดูการต่างๆ ศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์ F1534C, V1016G และ S989P กับการดื้อเดลต้าเมทรินในประชากรยุงลาย *Aedes aegypti* จัดตั้งสายพันธุ์ยุงลาย *Ae. aegypti* ที่ดื้อต่อเดลต้าเมทรินและทราบกลไกการดื้อสารเคมี และประเมินผลกระทบของการกลายพันธุ์ดังกล่าวต่อประสิทธิภาพการควบคุมยุงด้วยสารเคมีฆ่าแมลงพบว่าทั้งการกลายพันธุ์แบบคู่เหมือน F1534C และ V1016G ซึ่งวัดโดยเทคนิค allele-specific PCR (AS-PCR) พบว่ามีการกระจายตัวทั่วไปในตัวเมืองเชียงใหม่และจังหวัดต่างๆ ในประเทศไทย และมีความสัมพันธ์กับการดื้อเดลต้าเมทริน การคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีการกลายพันธุ์ V1016G (UPK-R strain) ดื้อต่อเดลต้าเมท

ริน ประสบความสำเร็จ โดยสายพันธุ์นี้ยังดื้อต่อเพอร์เมทรินด้วย ส่วนสายพันธุ์ที่มีการกลายพันธุ์ F1534C (PMD–R strain) ดื้อต่อเพอร์เมทรินแต่ดื้อต่อเดลต้าเมทรินน้อยกว่า ผลการทดสอบความไวต่อสารไพรีทรอย์ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ พบว่ากลไกการดื้อส่วนใหญ่เกิดจากยีนกลายพันธุ์เหล่านี้มากกว่าเอนไซม์ที่ย่อยสลายสารพิษ การทดสอบประสิทธิภาพในการฆ่ายุงในกรงโดยการพ่นหมอกควันร้อนพบว่าไม่ได้ผลโดยเฉพาะเมื่ออยู่นอกบ้าน

ผลการศึกษางานวิจัยในปีที่ 1 เป็นการศึกษาระบาดวิทยาการติดเชื้อพยาธิฟิลาเรียในแมว 2039 ตัว ซึ่งอาศัยในแหล่งระบาดของโรคเท้าช้างชนิด brugian filariasis ในจังหวัดนราธิวาส โดยศึกษาใน 4 อำเภอที่อยู่รอบๆ พรุโต๊ะแดงซึ่งเป็นแหล่งระบาดของโรคเท้าช้างชนิด brugian filariasis ของจังหวัดนราธิวาส เพื่อศึกษาความชุกและชนิดของพยาธิฟิลาเรียที่พบในแมว ตลอดจนศึกษาการกระจายตัวของแมวที่ติดเชื้อพยาธิฟิลาเรียชนิดต่างๆในอำเภอต่างๆที่เป็นแหล่งระบาดของโรคเท้าช้างชนิด brugian filariasis โดยใช้วิธีทางชีวโมเลกุลเทียบกับวิธีการตรวจหาพยาธิระยะไมโครฟิลาเรียโดยการย้อมสี ซึ่งการศึกษาครั้งนี้พบว่า เมื่อใช้วิธีทางชีวโมเลกุล จะพบความชุกของการติดเชื้อพยาธิฟิลาเรียในแมวที่ศึกษาจะสูงกว่าวิธีการตรวจหาพยาธิระยะไมโครฟิลาเรียโดยวิธีย้อมสี และวิธีชีวโมเลกุลยังมีประสิทธิภาพสูงกว่าในการแยกชนิดของพยาธิฟิลาเรีย และงานวิจัยในปีที่ 2 เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของยาชนิดใหม่ คือ doxycycline โดยเทียบกับยาที่ใช้ในปัจจุบันคือ ivermectin ในการกำจัดพยาธิฟิลาเรียที่อยู่ในแมวในห้องทดลอง ซึ่งผลการทดลองพบว่า ยา doxycycline มีประสิทธิภาพสูงกว่าในการรักษาแมวที่ติดเชื้อพยาธิ *Brugia malayi* เมื่อเทียบกับยา ivermectin

คำหลัก: แมลงวัน, แมลงริ้นดำ, ยุงลาย, ยุงก้นปล่อง, พยาธิฟิลาเรีย, สารเคมีฆ่าแมลง

ภาษาอังกฤษ:

The systematic investigations of collected specimens from 6 regions revealed six new black–fly species, i.e., *Simulium* (*Nevermannia*) *chomthongense* sp.nov. [Doi Inthanon National Park, Chomthong District, Chiang Mai Province], *S.* (*Asiosimulium*) *furvum* sp.nov. [Maewa National Park, Thoen District, Lampang Province], *S.* (*N.*) *khunklangense* sp.nov. [Khunklang village, Doi Inthanon National Park, Chomthong District, Chiang Mai Province], *S.* (*Gomphostilbia*) *piroonae* sp. nov. [Pai District, Mae Hongson Province], *S. (Simulium) atipornae* sp. nov., and *S. (S.) lomkaoense* sp. nov [Lom Kao District, Phetchabun Province].

The surveyed of medically important filth fly (Order Dipters, Suborder Brachycera) from various regions of Thailand. ITS2 region was studied by molecular techniques. Variations of the ITS2 within different species of flies collected from Thailand were demonstrated. Data obtained from this study was used for fly identification by PCR–RFLP and HRM techniques. Benefit of this study that it could be used to apply in forensic medicine. Moreover, we investigate the *Wolbachia* bacteria in flies of Thailand. *Wolbachia* are intracellular maternally inherited bacteria. Relationships between *Wolbachia* and their hosts have many forms ranging from reproductive parasitism to mutualistic symbiosis, which can induce reproductive alterations such as cytoplasmic incompatibility, male lethality, parthenogenesis, and feminization. We present preliminary data of *Wolbachia* infection in these medically important flies from different geographical populations in Thailand using PCR–based detection of *wsp*. PCR–based detection of *wsp* showed *Wolbachia* in 7/51 (14%) of the collected samples. This study is a preliminary survey of *Wolbachia* in medically important flies in Thailand. Extensive survey of *Wolbachia* infection in flies covering more areas of the country would provide valuable data for developing an effective *Wolbachia*–based fly control strategy.

Systematic investigations of eight species members of *Anopheles hyrcanus* group (*An. argyropus*, *An. crawfordi*, *An. nitidus*, *An. nigerrimus*, *An. paliae*, *An. peditaeniatus*, *An. pursati* and *An. sinensis*) in Thailand by using morphological and metaphase karyotype identification, DNA sequence analyses of rDNA (ITS2) and mitochondrial DNA (COI and COII), crossing experiments and susceptibility of these species to filarial nematode, *Brugia malayi* were performed in this study. The results showed no post–mating reproductive isolation among the 2, 3, 4, 5, 4, 5, 6 and 2 karyotypic forms of *An. argyropus*, *An. crawfordi*, *An. nitidus*, *An. nigerrimus*, *An. paliae*, *An. peditaeniatus*, *An. pursati* and *An. sinensis*, respectively. All crosses yielded viable progenies through F_2–generations and synaptic salivary gland polytene chromosomes, suggesting the conspecific nature of these karyotypic variants. The low intraspecific sequence variations of these karyotypic forms were good supportive evidence. Additionally, susceptibility level of these species to filarial nematode, *Brugia malayi* revealed that *An. peditaeniatus*, *An. crawfordi*, *An. nigerrimus*, *An. argyropus* and *An.*

pursati were high potential vectors. *An. paraliae* and *An. sinensis* were low potential vectors, while *An. nitidus* was a refractory vector. Two refractory mechanisms; direct toxicity and/or melanotic encapsulation against filarial larval were involved in the refractoriness of development in the thoracic muscles of the mosquito. Furthermore, morphological and molecular biology for species identification of 8 species members of the *An. hyrcanus* group were developed successfully in this study.

Changing malaria prevalence from *Plasmodium falciparum* to *P. vivax* along the Thai–Cambodian border has been observed. We have investigated the potential vectors that may contribute to this change in two selected endemic areas, Sa Kaeo and Chantaburi provinces. Two potential vectors, *An. campestris* and *An. subpictus*, were collected by cow bait or human landing catch during the wet and dry seasons of 2012–2013. In Sa Kaeo, 17.8% of 2,355 mosquitoes from 22 species collected were *An. campestris.* In Chantaburi 88% of 433 mosquitoes from 7 species collected were *An. subpictus*. Both species were found susceptible to *P. vivax*. In contrast, development of *P. falciparum* was not observed in either species when compared with *An. dirus*, the major malaria vector in Asia. Study of insecticide susceptibility indicated that *An. campestris* (F_1 to F_3) from Sa Kaeo had potential to resist 0.1% Bendiocarb, 1% Fenitrothion and 4%DDT. *An. subpictus* (F_1–F_3) had shown to resist 0.15% Cyfluthrin, 0.05% Lambda–cyhalothrin, 5% Malathion, and 0.05% Deltamethrin. The change in species composition and malaria vector biology on the Thai Cambodian border may contribute to the shift in the *P. falciparum* to *P. vivax* prevalence; therefore, the malaria control program including vector control will have to be planned accordingly.

The mosquito *Ochlerotatus togoi* (formerly known as *Aedes togoi*) is a vector of filariasis in the coastal area of Asia. In Thailand, *Oc. togoi* (Chanthaburi strain) is highly susceptible to nocturnally subperiodic *Wuchereria bancrofti* (Tak and Kanchanaburi strains), nocturnally subperiodic (NSP) *Brugia malayi* (Narathiwat strain), *Brugia pahangi* (Malaysia strain), *Dirofilaria immitis* (Chiang Mai strain), and nocturnally periodic *W. bancrofti* (Myanmar strain; unpublished data). Despite its importance as a vector, little information of the midgut of this mosquito is available. The midgut of mosquitoes is the first site that vector borne pathogens contact during their multiplication, differentiation or migration from blood meal to other tissues before transmission to a new vertebrate host. In this study, the ultrastructure of the midgut of *Oc. togoi* fourth instar and invasion of the midguts of *Oc. togoi* and *Aedes aegypti* (refractory strain) by NSP *B. malayi* microfilariae were reported. The invasion process of the microfilariae was observed during three to four hours post feeding on a *B. malayi*–infected blood meal (PIBM) in *Oc. togoi*. In the beginning of the process, only sheathed microfilariae interacted with the internal face of the peritrophic matrix (PM) by its anterior part, and then the midgut epithelium before entering the hemocoel, after that they exsheathed. Microfilarial sheaths lying within the hemocoel were observed suggesting that they may serve as a

decoy to induce the immune systems of the mosquitoes to respond to the antigens on the sheaths, thereby protecting the exsheathed microfilariae. These initial findings would lead to further study on the proteins, chemicals, and factors in the midgut that are involved in the susceptibility of *Oc. togoi* as a vector of filariasis. In *Ae. aegypti* (Thailand strain; a refractory strain), all microfilariae penetrating the mosquito midguts were exsheathed. Midgut invasion by the exsheathed microfilariae was observed between two and 48 h PIBM. SEM analysis revealed sheathed microfilariae surrounded by small particles and maceration of a microfilarial sheath in the midguts suggesting that the midguts of the refractory mosquitoes might have protein(s)/factor(s) for inducing exsheathment. The PM was not a barrier against the exsheathed microfilariae migrating towards the midgut. Melanized microfilariae were discovered in the hemocoel examined at 96 h PIBM suggesting that the refractory mosquitoes used melanization reactions against this parasite. This study provided evidence that *Ae. aegypti* (Thailand strain) might have refractory factors against NSP *B. malayi* in both midgut and hemocoel. The information obtained from this study might lead to further study on changes in proteome and transcriptome of the midgut of these mosquitoes during filarial infection.

Cytochrome P450 (CYP) is a complex family of enzymes which are involved in a NADPH–requiring oxidation system of a wide variety of xenobiotic compounds and endogenous compounds. It has been reported that over–expression of genes encoding cytochrome P450s has been involved in insecticide resistance mechanisms in many insect species. CYP9J32 was significantly over–transcribed in pyrethroid–resistant *Aedes aegypti* species, the dengue vector. The aim of this study is to characterize CYP9J32 in *Ae. aegypti* from Thailand and provide evidence for a role of cytochrome P450 in conferring resistance to insecticides. Gene encoding to CYP9J32 was identified. Double–stranded CYP9J32 injection led to the reduction of CYP9J32 expression. Partial silencing of this gene by RNA interference resulted in an increased susceptibility to permethrin. Characterization of recombinant CYP9J32 shows oxidase activity against phenoxybenzyl alcohol and phenoxybenzylaldehyde to phonoxybenzoic acid.

We determined the distribution pattern of F1534C, V1016G and S989P allele mutations in *Aedes aegypti* populations in Chiang Mai city in different seasons, the association of F1534C and V1016G mutations and deltamethrin resistance in *Ae. aegypti* populations, established a deltamethrin resistant strain of *Ae. aegypti* from wild population and characterize resistant mechanisms and evaluated the impact of knockdown resistant genes on the efficacy of mosquito control with insecticides. The results revealed that F1534C and V1016G, as determined by our allele–specific PCR (AS–PCR), were widely distributed in Chiang Mai and other provinces in Thailand. Both F1534C and V1016G mutations have been found associated with pyrethroid resistance. A deltamethrin resistant *Ae. aegypti* colony (UPK–R strain) with V1016G homozygous mutation has successfully been

established. V1016G homozygous mutation confers resistance to both deltamethrin and permethrin whereas F1534C homozygous mutation (PMD-R strain) confers resistance to permethrin but relatively low resistant to deltamethrin. Susceptibility tests of larvae and adults with and without synergists suggest that the pyrethroid resistant ability is mainly due to knockdown resistant genes rather than detoxifying enzymes. Cage bioassay showed that control of knockdown resistant *Ae. aegypti* by thermal fogging with deltamethrin is not effective particularly in outdoor environment.

The first year study aimed to investigate the epidemiological aspects of filariasis in domestic cats in 4 districts of Narathiwart Province, Thailand, using real-time PCR with High Resolution Melting (HRM) analysis assay and Giemsa staining method. Blood samples were taken from a total of 2,039 cats. The results of our investigations suggest that the lymphatic filariasis control program in the endemic areas of Narathiwart province should focus on domestic cats with prophylactic treatment being employed on all infected cats. Furthermore, these molecular approaches are more sensitive than microfilariae detection and enable the species identification, as well as greatly facilitate the collection of epidemiological data. The second study ains to test whether regular treatment with doxycycline or on combination of doxycycline and/or ivermectin against *B. malayi* infected cats could be used to eliminate existing microfilaria as well as the adult worms, and thirdly, if so, to assess the persistence of these effect after the end of treatment.

Key words: Filth Fly, Black Fly, *Aedes* spp., *Anopheles* spp., Filarial worm, Insecticide