

การต้านทานข้ามต่อเดลต้าเมทรินในยุงลายบ้านตัวเต็มวัยจากการเหนี่ยวนำให้มีความต้านทานต่อที่มีฟอส ในระยะเวลาลูกน้ำ

(Cross-resistance to deltamethrin in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae)

adult induced by selection with temephos in larvae)

ดำรงพันธุ์ ทองวัฒน์, วท.ด. (ปรสิตวิทยา)

Damrongpan Thongwat, Ph.D. (Parasitology)

นพวรรณ บุญชู, วท.ด. (ปรสิตวิทยา)

Nophawan Bunchu, Ph.D. (Parasitology)

ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา

Department of Microbiology and Parasitology

คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

Faculty of Medical Science Naresuan University

บทคัดย่อ

ความต้านทานข้ามต่อสารฆ่าแมลงเป็นปัญหาหนึ่งที่สำคัญในการควบคุมแมลงพาหะด้วยการใช้สารเคมี ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) เป็นแมลงพาหะสำคัญในการนำโรคไข้เลือดออก ปัจจุบันมีรายงานการเกิดความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงหลายชนิดในยุงลายบ้านอย่างแพร่หลาย วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงทำการศึกษาด้านการต้านทานข้ามต่อสารเคมีไพรีทรอยด์สังเคราะห์ในยุงลายบ้านตัวเต็มวัย จากการเหนี่ยวนำลูกน้ำให้มีความต้านทานต่อที่มีฟอสด้วยวิธีการห่อปฏิบัติการ โดยคัดเลือกเลี้ยงลูกน้ำจำนวน 6 รุ่น ที่รอดชีวิตจากการสัมผัสกับที่มีฟอสความเข้มข้น 0.0156 มิลลิกรัมต่อลิตรให้เจริญเป็นยุงตัวเต็มวัย จากนั้นทำการประเมินความไวต่อสารฆ่าแมลงของยุงตัวเต็มวัยแต่ละรุ่น โดยใช้กระดาษชุบสารเคมีเดลต้าเมทริน 0.05% และเพอร์เมทริน 0.75% จากการศึกษาพบว่า ลูกน้ำยุงลายบ้านมีการพัฒนาความต้านทานต่อที่มีฟอสเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในยุงรุ่นที่ 1-6 และพบการเพิ่มขึ้นของความต้านทานต่อเดลต้าเมทรินทั้งในอัตราการหนีค-ดาวน์ และอัตราการตายของยุงตัวเต็มวัย ในขณะที่ความต้านทานต่อเพอร์เมทรินนั้นอยู่ในระดับสูงและคงที่ในยุงทั้ง 6 รุ่น จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของความต้านทานต่อที่มีฟอสของยุงในระยะลูกน้ำมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการเพิ่มขึ้นของความต้านทานต่อเดลต้าเมทรินของยุงตัวเต็มวัย ทั้งในอัตราการหนีค-ดาวน์ ($r = 0.812$) และอัตราการตาย ($r = 0.798$) ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าความต้านทานข้ามต่อเดลต้าเมทรินในยุงลายบ้านตัวเต็มวัยนั้น สามารถพัฒนามาจากความต้านทานต่อที่มีฟอสในยุงระยะลูกน้ำ ดังนั้น จึงควรตระหนักอย่างมากในการใช้ที่มีฟอสในการควบคุมกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านอย่างถูกต้อง เพื่อเป็นการป้องกันปัญหาการเพิ่มขึ้นของความต้านทานและการเกิดความต้านทานข้ามต่อไป

คำสำคัญ: ยุงลายบ้าน, ที่มีฟอส, เพอร์เมทริน, เดลต้าเมทริน, ความต้านทานข้าม

Abstract

Insecticide cross-resistance is one of the major problems for using insecticide to control insect vectors. *Aedes aegypti* is a vector of dengue hemorrhagic fever. Currently, insecticide resistance in *Ae. aegypti* has been widely

documented. Therefore, objective of this study was to determine cross-resistance to synthetic pyrethroids in *Ae. aegypti* adults which were induced by laboratory selection with temephos in their larvae. Six generations of larvae, survived from testing with temephos 0.0156 mg/L, were reared to be adult stage. After that, adults from each generation were evaluated for insecticides susceptibility to the deltamethrin 0.05% and permethrin 0.75% by using impregnated papers. It was found that, resistant rate to temephos in larvae significantly increased in F_1 - F_6 . Increasing of resistant effects of adults to deltamethrin on both knock-down and mortality rates was also found. In contrast, the resistant rate of adults to permethrin was high and stable in all 6 generations. The Pearson's correlation coefficient value indicated that the increasing of temephos resistant rate of larvae was related to the increasing of deltamethrin resistant rate of both knock-down ($r=0.812$) and mortality ($r=0.798$) rates in adults. It can be concluded that the cross-resistance to deltamethrin in *Ae. aegypti* adults can be developed from the temephos resistance in their larvae. Therefore, the use of temephos to control *Ae. aegypti* larvae correctly should be highly concerned for protecting the rising of resistance and cross-resistance problems in mosquito further.

Keywords: *Aedes aegypti*, Temephos, Permethrin, Deltamethrin, Cross-resistance

บทนำ

ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) เป็นพาหะสำคัญในการนำโรคไข้เลือดออก ซึ่งมีการระบาดและเป็นปัญหาทางสาธารณสุขของประเทศไทยอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ปี พ.ศ. 2501 (Nimmannitya, 1987) จนถึงปัจจุบัน จากสรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข พบว่าในปี พ.ศ. 2553 มีอัตราป่วยด้วยโรคไข้เลือดออกสูงถึง 183.59 รายต่อประชากรหนึ่งแสนคน เนื่องจากยังไม่มีวัคซีนสำหรับโรคไข้เลือดออก การป้องกันควบคุมการแพร่ระบาดของโรคจึงเน้นหนักในด้านการกำจัดยุงพาหะด้วยวิธีการต่างๆ ทั้งทางกายภาพ ชีวภาพ และการใช้สารเคมี โดยวิธีการที่สามารถควบคุมกำจัดยุงลายบ้านได้ดีและรวดเร็วที่สุดนั้นคือการใช้สารเคมีฆ่าแมลง สารเคมีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการกำจัดลูกน้ำยุงลายในปัจจุบัน คือ ทิมโฟส (temephos) ซึ่งเป็นสารเคมีในกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส

(organophosphorus) สำหรับการกำจัดยุงลายตัวเต็มวัยนั้นนิยมใช้สารเคมีในกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์ (synthetic pyrethroid) เพราะมีพิษสูง ออกฤทธิ์เร็ว แต่มีพิษต่อสัตว์เลือดอุ่นต่ำ และไม่ทำให้เกิดปัญหาพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม สารเคมีฆ่าแมลงกลุ่มนี้ได้แก่ เพอร์เมทริน (permethrin) และเดลต้าเมทริน (deltamethrin) อย่างไรก็ตาม การกำจัดยุงลายในระยะลูกน้ำนั้นจะมีประสิทธิภาพสูงที่สุด เนื่องจากยุงระยะนี้อาศัยอยู่ในพื้นที่ขนาดเล็กซึ่งง่ายต่อการถูกกำจัด ดังนั้นทิมโฟส (ชื่อทางการค้าคืออะเบท) ที่เคลือบผิวเม็ดยทราย (ทรายอะเบท) จึงได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากด้วยเหตุผลหลายประการ เช่น มีประสิทธิภาพสูงออกฤทธิ์ได้ด้วยความเข้มข้นต่ำ, สะดวกต่อการใช้งาน, ออกฤทธิ์ได้นาน และมีความปลอดภัยสูงต่อคนและสัตว์ ซึ่งองค์การอนามัยโลกยอมรับให้ใช้น้ำดื่มได้ (Rozendaal, 1997) ทรายอะเบทจึงมีความสำคัญในการกำจัดยุงพาหะและลดการระบาดของ



โรคใช้เลือดออกในประเทศไทยมาเป็นเวลานาน (Chareonviriyaphap *et al.*, 1999)

แม้ว่าการใช้สารเคมีฆ่าแมลงในการควบคุมยุงลายบ้านจะมีความสะดวกและมีประสิทธิภาพดี แต่เนื่องจากการใช้อย่างแพร่หลายมาเป็นเวลานาน จึงทำให้ยุงมีการพัฒนาความต้านทานขึ้น โดยพบว่า ยุงลายบ้านในประเทศไทยพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีฆ่าแมลงที่ใช้กันโดยทั่วไป เช่น ทิมโฟส (Ponlawat *et al.*, 2005; Saelim *et al.*, 2005; Jirakanjanakit *et al.*, 2007a; Thanispong *et al.*, 2008; Sormpeng *et al.*, 2009) เพอร์เมทริน และเคลด้าเมทริน (Somboon *et al.*, 2003; Paeporn *et al.*, 2005; Ponlawat *et al.*, 2005; Jirakanjanakit *et al.*, 2007) เป็นต้น ปัญหาหนึ่งซึ่งอาจเป็นปัจจัยหลักที่ก่อให้เกิดการพัฒนาความต้านทานดังกล่าว คือ การใช้สารฆ่าแมลงในปริมาณที่น้อยเกินไป จนทำให้ยุงรอดชีวิตและมีการพัฒนาความต้านทานขึ้นดังเช่น การใช้ทิมโฟสอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน มีการแจกจ่ายให้กับประชาชนนำไปใส่ในภาชนะน้ำขังตามบริเวณบ้านเรือนได้ด้วยตนเอง ซึ่งแม้จะมีคำแนะนำถึงการนำไปใช้งานอย่างถูกต้องโดยละเอียด แต่หากประชาชนไม่ได้ใส่ใจวิธีปฏิบัติที่ถูกต้องนั้น อาจเป็นต้นเหตุที่ก่อให้เกิดการพัฒนาความต้านทานต่อทิมโฟส และการแพร่กระจายของลูกน้ำที่มีความต้านทานนี้ได้ และจากการศึกษาในลูกน้ำยุงลายบ้านของหมู่เกาะบริติชเวอร์จิน (หมู่เกาะเวอร์จินของอังกฤษ) (Wirth and Georghiou, 1999) และประเทศคิวบา (Rodriguez *et al.*, 2002) พบว่าเมื่อลูกน้ำมีความต้านทานต่อทิมโฟส จะทำให้เกิดความต้านทานข้าม (cross-resistance) ต่อสารเคมีกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์ คือ เพอร์เมทริน เคลด้าเมทริน และเฟนไธออน (fenthion) ได้อีกด้วย ดังนั้นหากยุงลายบ้านในประเทศไทยมีความต้านทานข้ามในลักษณะเช่นเดียวกับผลการศึกษาดังกล่าว การเพิ่มขึ้นของลูกน้ำที่มีความ

ต้านทานอาจก่อให้เกิดปัญหาในการเลือกใช้สารเคมีฆ่าแมลงในการควบคุมกำจัดยุงตัวเต็มวัย เนื่องจากไพรีทรอยด์สังเคราะห์เป็นสารเคมีฆ่าแมลงกลุ่มที่ใช้กำจัดยุงตัวเต็มวัยกันอย่างแพร่หลายอยู่ในปัจจุบัน

อย่างไรก็ตาม ไม่มีการศึกษาถึงการมีความต้านทานข้ามของทิมโฟสต่อสารเคมีไพรีทรอยด์สังเคราะห์ในยุงลายบ้านตัวเต็มวัยของประเทศไทย อีกทั้งการศึกษาของ Wirth and Georghiou (1999) และ Rodriguez *et al.* (2002) นั้น เป็นการศึกษาถึงความต้านทานต่อสารเคมีฆ่าแมลงของยุงในระยะลูกน้ำเท่านั้น ซึ่งในประเทศไทยสารเคมีกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์เช่น เพอร์เมทรินและเคลด้าเมทริน นิยมใช้ในการควบคุมกำจัดยุงตัวเต็มวัย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาเพื่อหาแนวโน้มในการต้านทานข้ามของยุงลายบ้านที่ได้รับการเหนี่ยวนำให้มีความต้านทานต่อสารเคมีทิมโฟส

วิธีการศึกษา

ทำการทดสอบยุงลายบ้านในรุ่นที่ 1 ถึงรุ่นที่ 6 (F_1 - F_6) โดยแบ่งยุงออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกเป็นกลุ่มควบคุม ซึ่งเลี้ยงให้เป็นยุงรุ่นต่างๆ ตามปกติ และกลุ่มที่สองเป็นกลุ่มทดสอบที่ถูกคัดเลือกให้มีความต้านทานต่อทิมโฟส โดยนำยุงลายบ้านแต่ละรุ่นในระยะลูกน้ำทดสอบกับทิมโฟส ความเข้มข้น 0.0156 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงลูกน้ำที่รอดชีวิตจนเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งยุงส่วนหนึ่งจะถูกทดสอบความไวต่อเพอร์เมทรินและเคลด้าเมทริน และยุงส่วนที่ไม่ได้ใช้ในการทดสอบนั้นจะให้กินเลือดวางไข่ และเพาะเลี้ยงเป็นลูกน้ำรุ่นถัดไป เพื่อใช้ทดสอบกับทิมโฟสในลักษณะเช่นเดียวกับที่กล่าวข้างต้น ทำการเพาะเลี้ยงและทดสอบในลักษณะนี้กับยุงที่นำมาศึกษาจำนวนทั้งหมด 6 รุ่น





การเก็บและเพาะเลี้ยงยุงลายบ้านในห้องปฏิบัติการ: ดำเนินการเก็บลูกน้ำยุงลายจากภาชนะกักเก็บน้ำตามบ้านเรือนของเขตพื้นที่ตำบลบ้านกว้าง ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคไข้เลือดออกสูงสุด 1 ใน 5 ของเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิจิตรโลก (รายงานประจำปี สำนักงานสาธารณสุขอำเภอเมืองพิจิตรโลก, 2552) ในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2553 เก็บลูกน้ำยุงลายโดยใช้ปิเปตพลาสติกดูดลูกน้ำใส่ในภาชนะพลาสติกใส และนำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงลูกน้ำในถาดพลาสติกขนาด 28x42.5x9.5 เซนติเมตร ให้อาหารสุนัขบดละเอียด เมื่อลูกน้ำเจริญเป็นตัวโม่ง เก็บตัวโม่งใส่ภาชนะพลาสติกขนาดเล็กซึ่งปิดปากภาชนะด้วยผ้าตาข่าย ทิ้งตัวโม่งไว้ในภาชนะนี้จนเจริญเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นทำการวินิจฉัยยุงโดยใช้กฎของ Rattanarithikul and Panthusiri (1994) เลี้ยงยุงลายบ้านตัวเต็มวัยในกรงเลี้ยงยุงมาตรฐานขนาด 30x30x30 เซนติเมตร ให้สำลีชุบสารละลายน้ำตาล 5% ผสมวิตามินรวมเป็นอาหาร เมื่อยุงลายเพศเมียมีอายุ 3-4 วัน ให้กินเลือดโดยวิธี artificial membrane feeding (Rutledge *et al.*, 1964) หลังจากยุงกินเลือด 3 วัน นำถ้วยพลาสติกบรรจุน้ำซึ่งมีกระดากกรองอยู่โดยรอบใส่ในกรงเลี้ยงยุงเพื่อให้ยุงวางไข่ ปล่อยให้กระดากกรองแห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงเก็บแผ่นกระดากกรองในโถแก้วคลุมความชื้นเพื่อเก็บรักษาไว้ก่อนนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

สารเคมีฆ่าแมลง: สารเคมีฆ่าแมลงที่มีฟอสความเข้มข้น 31.25 มิลลิกรัมต่อลิตร, กระดาษชุบเพอร์เมทริน 0.75% และกระดาษชุบเดลต้าเมทริน 0.05% ตามมาตรฐานองค์การอนามัยโลก

การทดสอบและคัดเลือกลูกน้ำยุงลายบ้านต่อสารเคมีที่มีฟอส: เตรียมสารละลายที่มีฟอสที่ความเข้มข้น 0.0156 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากเป็นความเข้มข้นที่ทำให้ลูกน้ำยุงลายบ้านมีอัตราการตายประมาณ 50% (LC₅₀) ทำการ

เตรียมสารละลายจำนวน 2 ลิตร ในถาดพลาสติกขนาด 28x42.5x9.5 เซนติเมตร จากนั้นคัดเลือกและนำลูกน้ำระยะที่ 3 ตอนปลาย หรือระยะที่ 4 ตอนต้น จำนวน 600 ตัว มาทำการทดสอบ โดยให้ลูกน้ำสัมผัสกับสารเคมีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดสอบ 2 ชั่วโมง เพื่อให้ได้ลูกน้ำยุงลายบ้านที่ผ่านการทดสอบจำนวน 1,200 ตัว ต่อยุง 1 รุ่น สำหรับในชุดควบคุม (control) นั้น ดำเนินการเช่นเดียวกันแต่ใส่แอลกอฮอล์ (จาก WHO Vector Control Research Unit) แทนที่มีฟอส เมื่อครบเวลาบันทึกอัตราการตายของลูกน้ำแล้วย้ายลูกน้ำที่รอดชีวิตไปยังถาดพลาสติกที่มีน้ำประปาบรรจุอยู่ เลี้ยงลูกน้ำที่รอดชีวิตจากการทดสอบจนเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นนำตัวเต็มวัยไปทดสอบความไวต่อเพอร์เมทรินและเดลต้าเมทรินต่อไป

การทดสอบความไวต่อเพอร์เมทรินและเดลต้าเมทรินของยุงลายบ้านตัวเต็มวัย: การทดสอบทำตามวิธีการมาตรฐานของ World Health Organization (1998) โดยคัดเลือกยุงลายบ้านตัวเต็มวัยเพศเมีย อายุ 2-3 วัน ซึ่งยังไม่กินเลือด จำนวน 25 ตัว ใส่ในกระบอกพักยุง พักยุงไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อสังเกตความแข็งแรงของยุง หากมียุงที่มีลักษณะไม่แข็งแรงหรือตาย จะนำยุงตัวใหม่ที่แข็งแรงมาทดแทน จากนั้นถ่วงยุงสู่กระบอกทดสอบซึ่งภายในบรรจุกระดาษชุบเพอร์เมทริน 0.75% หรือเดลต้าเมทริน 0.05% ให้ยุงสัมผัสกระดาษชุบสารเคมีเป็นเวลา 1 ชั่วโมง โดยวางกระบอกทดสอบในแนวตั้ง เมื่อครบเวลาตรวจสอบนับจำนวนยุงที่เกิดการน็อก-ดาวน์ (knock-down) โดยมีลักษณะอาการ คือ ไม่สามารถบิน ทรงตัวไม่ได้ และร่วงลงสู่พื้นของกระบอกทดสอบ จากนั้นถ่วงยุงทั้งหมดกลับไปยังกระบอกพักยุง ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้สารละลายน้ำตาล 5% ผสมวิตามินรวมเป็นอาหาร เมื่อครบเวลา ตรวจสอบจำนวนยุงที่ตายทำการทดสอบ 4 ชั่วโมง เพื่อให้ได้จำนวนยุงที่ผ่านการ



ทดสอบ 100 ตัว ต่อสารเคมี 1 ชนิด และมีชุดควบคุม (control) โดยดำเนินการเช่นเดียวกันแต่ใช้กระดาษที่ไม่ชุบสารเคมีกรุภายในกระบอทดสอบ

การคำนวณอัตราการน็อก-คาน์ (knock-down rate) และอัตราการตาย (mortality rate)

$$\text{อัตราการน็อก — คาน์} = \frac{\text{จำนวนยุงตัวเต็มวัยทดสอบที่เกิดการน็อก — คาน์}}{\text{จำนวนยุงตัวเต็มวัยทดสอบทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{อัตราการตาย} = \frac{\text{จำนวนลูกน้ำหรือตัวเต็มวัยของยุงทดสอบที่ตาย}}{\text{จำนวนลูกน้ำหรือตัวเต็มวัยของยุงทดสอบทั้งหมด}} \times 100$$

การวิเคราะห์ทางสถิติ: ความแตกต่างของอัตราการน็อก-คาน์ และอัตราการตายของยุงลายบ้านทั้งระยะลูกน้ำและตัวเต็มวัยต่อสารเคมีที่ใช้ทดสอบพิจารณาโดยการทดสอบไคสแควร์ (Chi-square test) ในขณะที่ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของลูกน้ำต่อที่มีฟอส และอัตราการน็อก-คาน์ หรืออัตราการตายของยุงตัวเต็มวัยต่อเพอร์เมทรินหรือเดลต้าเมทรินพิจารณาโดยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน

(Pearson's correlation coefficient) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS รุ่น 17.0

ผลการศึกษา

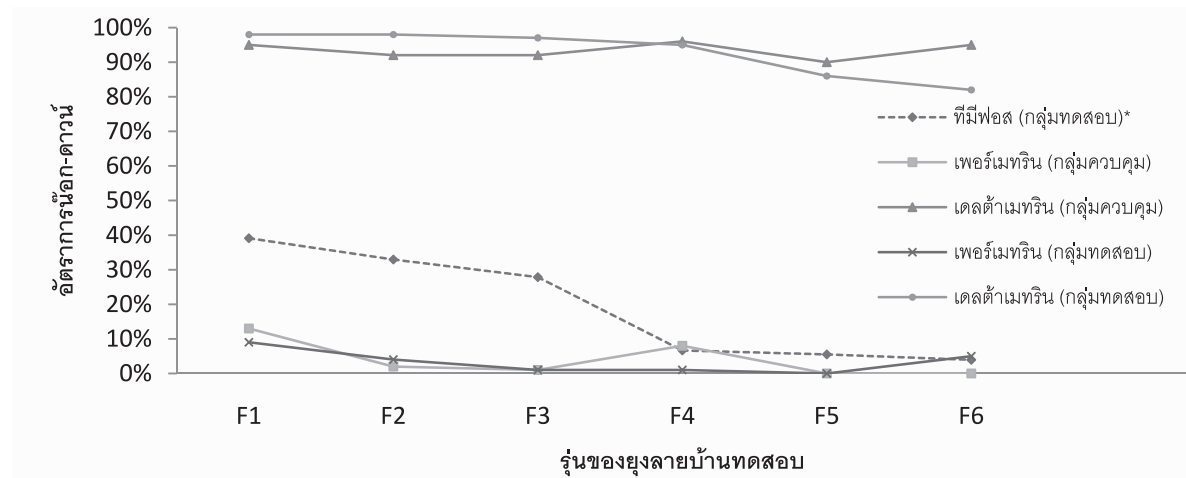
จากการทดสอบเพื่อคัดเลือกลูกน้ำยุงลายบ้านจากตำบลบ้านกร่าง อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก ให้มีความต้านทานต่อที่มีฟอส พบว่า ลูกน้ำทั้ง 6 รุ่น ที่ผ่านการคัดเลือกและรอดชีวิตจากสารละลายที่มีฟอสความเข้มข้น 0.0156 มิลลิกรัมต่อลิตรนั้น มีอัตราการตายลดลงจาก 39.08% ในยุงรุ่นที่ 1 เป็น 3.92% ในรุ่นที่ 6 (มีความต้านทานต่อที่มีฟอสเพิ่มขึ้นประมาณ 10 เท่า) ซึ่งอัตราการตายลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) อย่างต่อเนื่อง ในยุงรุ่นที่ 1 (39.08%) ถึงรุ่นที่ 3 (27.83%) และมีอัตราการลดลงอย่างมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.0001$) เมื่อยุงเป็นรุ่นที่ 4 (6.67%) ต่อจากนั้นอัตราการตายลดลงเล็กน้อยอย่างต่อเนื่องในยุงรุ่นที่ 5 (5.50%) และรุ่นที่ 6 (3.92%) ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และกราฟที่ 1 และ 2) โดยไม่พบการตายของลูกน้ำยุงทั้ง 6 รุ่น ในการทดสอบของชุดควบคุม (control)

ตารางที่ 1 อัตราการน็อก-คาน์และอัตราการตายของลูกน้ำและตัวเต็มวัยของยุงลายบ้าน ในกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม รุ่นที่ 1-6 เมื่อทำการทดสอบกับที่มีฟอส 0.0156 มิลลิกรัมต่อลิตร, เพอร์เมทริน 0.75% และเดลต้าเมทริน 0.05%

รุ่นของยุงทดสอบ	กลุ่มควบคุม				กลุ่มทดสอบ				
	เพอร์เมทริน		เดลต้าเมทริน		ที่มีฟอส	เพอร์เมทริน		เดลต้าเมทริน	
	อัตราการน็อก-คาน์*	อัตราการตาย*	อัตราการน็อก-คาน์*	อัตราการตาย*		อัตราการน็อก-คาน์*	อัตราการตาย*	อัตราการน็อก-คาน์*	อัตราการตาย*
F ₁	13.00	7.00	95.00	90.00	39.08	9.00	6.00	98.00	98.00
F ₂	2.00	5.00	92.00	94.00	32.92	4.00	1.00	98.00	96.00
F ₃	1.00	1.00	92.00	90.00	27.83	1.00	2.00	97.00	97.00
F ₄	8.00	10.00	96.00	92.00	6.67	1.00	4.00	95.00	94.00
F ₅	0	2.00	90.00	91.00	5.50	0	3.00	86.00	80.00
F ₆	0	4.00	95.00	92.00	3.92	5.00	4.00	82.00	76.00

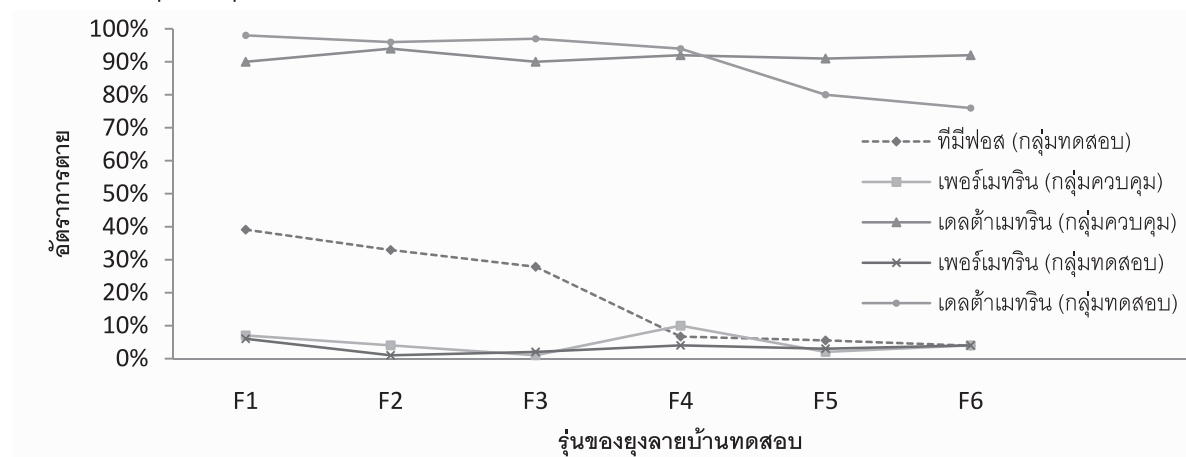
* เปอร์เซนต์ (%)

ภาพที่ 1 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน เมื่อทดสอบกับทีมีฟอส 0.0156 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับอัตราการน็อก-ควาน์ของยุงลายบ้านตัวเต็มวัย เมื่อทดสอบกับเพอร์เมทริน 0.75% และเดลด้าเมทริน 0.05% ในยุงรุ่นที่ 1-6 ในกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม



* อัตราการตาย

ภาพที่ 2 อัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้าน เมื่อทดสอบกับทีมีฟอส 0.0156 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับอัตราการตายของยุงลายบ้านตัวเต็มวัย เมื่อทดสอบกับเพอร์เมทริน 0.75% และเดลด้าเมทริน 0.05% ในยุงรุ่นที่ 1-6 ในกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม



เมื่อพิจารณาถึงอัตราการน็อก-ควาน์และอัตราการตายของยุงตัวเต็มวัยรุ่นต่างๆ ในกลุ่มทดสอบ (รอดชีวิตจากการทดสอบกับทีมีฟอส) เทียบกับกลุ่มควบคุม (ตารางที่ 1 และกราฟที่ 1 และ 2) พบว่า การทดสอบกับเพอร์เมทริน 0.75% พบอัตราการน็อก-ควาน์และอัตราการตายในระดับต่ำในยุงทั้ง 2 กลุ่ม เมื่อพิจารณาตามหลักเกณฑ์การแปลผลด้านความไวต่อสารเคมีฆ่าแมลง (World Health Organization, 1998) สรุปได้ว่า ยุงลายบ้านจากพื้นที่ที่นำมาศึกษามีความต้านทาน (resistance) ต่อเพอร์เมทริน และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในอัตรา



การน็อก-ดาว์นและอัตราการตายของยุงทั้ง 6 รุ่น ระหว่างกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม แต่เมื่อพิจารณาถึงความไวต่อเคลด้าเมทริน 0.05% พบอัตราการน็อก-ดาว์นและอัตราการตายที่สูงทั้งในยุงกลุ่มทดสอบและกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่ายุงลายบ้านจากพื้นที่นี้ยังมีความไว (susceptible) ต่อเคลด้าเมทรินอยู่ในระดับสูง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการน็อก-ดาว์นและอัตราการตายของยุงทั้ง 6 รุ่น ต่อเคลด้าเมทริน ในกลุ่มทดสอบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่า อัตราการน็อก-ดาว์นและอัตราการตายของยุงกลุ่มทดสอบลดลงอย่างต่อเนื่อง และลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีอัตราการน็อก-ดาว์นลดลงในยุงรุ่นที่ 6 จาก 95% เป็น 82% ($P < 0.001$) สำหรับอัตราการตายนั้น พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่ยุงรุ่นที่ 5 จาก 91% เป็น 80% ($P < 0.05$) และมีการลดลงอย่างมากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในยุงรุ่นที่ 6 จาก 92% เป็น 76% ($P < 0.005$) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงจากการมีความไวไปได้ที่จะต้านทาน (possibility of resistance) เป็นมีความต้านทาน (resistance) ต่อเคลด้าเมทรินในยุงรุ่นที่ 6

สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านต่อที่มีฟอส กับอัตราการน็อก-ดาว์นและอัตราการตายของยุงตัวเต็มวัยต่อเพอร์เมทริน ในยุงกลุ่มทดสอบ พบว่า อัตราการน็อก-ดาว์นและอัตราการตายของยุงตัวเต็มวัยไม่มีความสัมพันธ์กับอัตราการตายที่ลดลงอย่างต่อเนื่องของลูกน้ำในยุงทั้ง 6 รุ่น ($r = 0.568$ และ 0.242 สำหรับอัตราการน็อก-ดาว์น และอัตราการตาย ตามลำดับ) แต่เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ของอัตราดังกล่าวในการทดสอบกับเคลด้าเมทริน พบว่า อัตราการตายของลูกน้ำต่อที่มีฟอส กับอัตราการน็อก-ดาว์นและอัตราการตายของยุงตัวเต็มวัยต่อเคลด้าเมทริน ในยุงกลุ่มทดสอบมีความสัมพันธ์กัน ($r = 0.812$ และ 0.798 สำหรับอัตราการน็อก-ดาว์น และอัตราการตาย ตามลำดับ) หรือกล่าวได้ว่าการที่ลูกน้ำ

ยุงลายบ้านมีความต้านทานต่อที่มีฟอสเพิ่มมากขึ้น เมื่อเจริญเป็นตัวเต็มวัยจะแสดงความต้านทานต่อเคลด้าเมทรินมากขึ้นด้วยเช่นกัน

อภิปรายผล

จากผลการศึกษาพบว่า เมื่อลูกน้ำยุงลายบ้านรุ่นต่างๆ ได้สัมผัสกับที่มีฟอสอย่างต่อเนื่อง จะทำให้เกิดการพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการเกิดความต้านทานต่อที่มีฟอสของยุงลายบ้านในธรรมชาติ โดยพบว่าหากมีการใช้ที่มีฟอสในการควบคุมกำจัดลูกน้ำยุงลายอย่างแพร่หลายและต่อเนื่อง จะพบยุงที่มีความต้านทานต่อสารเคมีเพิ่มมากขึ้น ซึ่งพบการเกิดความต้านทานของลูกน้ำยุงลายบ้านในลักษณะนี้ ทั้งในประเทศไทย (Ponlawat *et al.*, 2005; Saelim *et al.*, 2005; Sornpeng *et al.*, 2009) บราซิล (Macoris *et al.*, 2003) และหลายประเทศในลาตินอเมริกา (Rodriguez *et al.*, 2007) นอกจากนี้ผลการศึกษาายังแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มและความสัมพันธ์ของการเกิดความต้านทานข้ามต่อเคลด้าเมทรินในยุงตัวเต็มวัยเมื่อระยะลูกน้ำมีการพัฒนาความต้านทานต่อที่มีฟอส ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Wirth and Georgiou (1999) และ Rodriguez *et al.*, (2002) ที่พบความต้านทานข้ามของที่มีฟอสต่อสารเคมีกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์ในยุงลายบ้านระยะลูกน้ำ อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่แสดงถึงการมีความต้านทานข้ามของสารเคมีที่ใช้กำจัดยุงในระยะลูกน้ำต่อสารเคมีที่ใช้กำจัดยุงตัวเต็มวัย

การพัฒนาความต้านทานต่อที่มีฟอสในลูกน้ำยุงลายบ้านนั้น มีการศึกษาพบว่าเกิดจากการเพิ่มขึ้นของการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่ม esterase เพื่อทำลายพิษ (detoxification) ของสารเคมีที่ได้รับ (Mazzarri and Georgiou, 1995; Paeporn *et al.*, 2003; Saelim *et al.*,





2005; Montella *et al.*, 2007) ในขณะที่ความต้านทานของยุงตัวเต็มวัยต่อสารเคมีฆ่าแมลงชนิดต่างๆ รวมถึงสารเคมีในกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์นั้น เกิดจากกลไกความต้านทานหลายอย่าง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงในด้านปริมาณหรือคุณภาพของเอนไซม์ที่ใช้ทำลายพิษ เช่น เอนไซม์ esterase, oxidase (Brogdon and McAllister, 1998; Prapanthadara *et al.*, 2002; Yaicharoen *et al.*, 2005; Ahmad, 2007) และ glutathione S-transferase (Prapanthadara *et al.*, 2002; Brengues *et al.*, 2003; Che-Mendoza *et al.*, 2009) เป็นกลไกสำคัญกลไกหนึ่งที่ทำให้ยุงตัวเต็มวัยพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีฆ่าแมลงที่ได้รับ จะเห็นได้ว่า เอนไซม์ esterase นั้น มีบทบาทสำคัญในการทำให้ยุงทั้งระยะลูกน้ำและตัวเต็มวัยมีความต้านทานต่อที่มีฟอสและไพรีทรอยด์สังเคราะห์ ตามลำดับ การเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ esterase ทำให้เกิดความต้านทานต่อสารเคมี โดยเพิ่มประสิทธิภาพการทำลายพิษด้วยปฏิกิริยา hydrolysis ด้วยการจับและตัดที่ พันธะ ester (ester bonds) ของสารเคมีได้เป็นเมแทบอไลต์ (metabolite) ที่ไม่เป็นพิษ ละลายน้ำได้มากขึ้น และถูกขับถ่ายออกนอกร่างกาย เอนไซม์ชนิดนี้จึงมีบทบาทสำคัญในการทำลายพิษของสารเคมีที่มีองค์ประกอบของ ester linkages ซึ่งได้แก่สารเคมีในกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส คาร์บาเมต และไพรีทรอยด์ (Brogdon and McAllister, 1998; Saelim *et al.*, 2005; Yaicharoen *et al.*, 2005) ด้วยเหตุนี้ เอนไซม์ esterase จึงมีบทบาททำให้เกิดความต้านทานข้ามต่อสารเคมีในกลุ่มดังกล่าวได้ ซึ่งจากผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการเกิดความต้านทานข้ามระหว่างที่มีฟอสและไพรีทรอยด์สังเคราะห์สามารถเกิดขึ้นได้ไม่เพียงเฉพาะในยุงระยะลูกน้ำ (Wirth and Georgiou, 1999; Rodriguez *et al.*, 2002) เท่านั้น แต่ยังสามารถเกิดความต้านทานข้ามต่อสารเคมีฆ่าแมลงระหว่างระยะลูกน้ำ (ที่มีฟอส) และตัวเต็ม

วัย (เคลด้าเมทริน) ได้เช่นกัน อย่างไรก็ตาม ความต้านทานต่อที่มีฟอสที่เพิ่มขึ้นในลูกน้ำยุงลายบ้านรุ่นต่างๆ ไม่ทำให้ยุงตัวเต็มวัยมีความต้านทานต่อเพอร์เมทรินมากขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากยุงลายบ้านจากพื้นที่ที่นำมาทำการศึกษา มีความต้านทานต่อเพอร์เมทรินสูงอยู่แล้วด้วยกลไกความต้านทานอย่างอื่น ดังนั้น การเพิ่มขึ้นของการทำงานของเอนไซม์เพื่อทำลายพิษ อาจไม่เพียงพอที่จะเสริมฤทธิ์ของกลไกความต้านทานที่มีอยู่ จึงไม่ทำให้ยุงมีความต้านทานต่อสารเคมีเพิ่มมากขึ้นจากเดิม

สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายบ้านต่อที่มีฟอส และอัตราการน็อก-ดาวน์ของยุงตัวเต็มวัยต่อเคลด้าเมทรินนั้น ยังไม่สามารถอธิบายได้ในการศึกษานี้ เนื่องจากความต้านทานต่อการน็อก-ดาวน์ของยุงตัวเต็มวัยต่อสารเคมีไพรีทรอยด์สังเคราะห์นั้น เกิดจากการเปลี่ยนแปลงบริเวณตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับการออกฤทธิ์ของสารเคมีฆ่าแมลง ซึ่งเรียกโดยทั่วไปว่าน็อก-ดาวน์รีซิสแทนซ์ (knock-down resistance; kdr) (Brogdon and McAllister, 1998; Prapanthadara *et al.*, 2002; Brengues *et al.*, 2003) ซึ่งมีผลทำให้ความไวของเซลล์ประสาทต่อสารเคมีลดลง การสร้างความต้านทานแบบนี้ควบคุมโดยยีน (gene) ที่เรียกว่า ยีน kdr (kdr-type resistance mechanism) ซึ่งเป็นกลไกที่ต่างกับการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเอนไซม์ ดังนั้น สาเหตุของความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตายและการน็อก-ดาวน์ ของยุงลายบ้านในระยะลูกน้ำและตัวเต็มวัยนี้ ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในลำดับต่อไป

ที่มีฟอส (ในรูปของสารเคลือบเม็ดทราย, ทรายอะเบท) เป็นสารเคมีที่ใช้ในการกำจัดลูกน้ำยุงลายในประเทศไทยมาเป็นเวลานานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2510 (Jurjevskis and Stiles, 1978) โดยมีอัตราการใช้คือ 1 กรัมต่อน้ำ 10 ลิตร คิดเป็นปริมาณสารออกฤทธิ์ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (1 ppm) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัด





ลูกน้ำยุงลายบ้าน การใช้ในอัตราส่วนนี้จะมีฤทธิ์ในการกำจัดลูกน้ำได้ประมาณ 3 เดือน อย่างไรก็ตาม ความสะดวกและการแพร่หลายในการใช้ทรายอะเบทโดยประชาชนทั่วไป อาจทำให้เกิดการใช้งานอย่างไม่ถูกต้อง เช่น การใช้ในอัตราส่วนที่ต่ำกว่ามาตรฐาน หรือการใช้ทรายอะเบทเป็นเวลามากกว่า 3 เดือน โดยไม่มีการใส่เพิ่มเติม เป็นต้น ซึ่งจะทำให้มีความเข้มข้นของที่มีฟอสคำกว่าระดับที่สามารถกำจัดลูกน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ อันเป็นสาเหตุที่ทำให้ลูกน้ำรอดชีวิตและเกิดการพัฒนาความต้านทานต่อที่มีฟอสขึ้นได้ โดยผลการศึกษารั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่า การที่ลูกน้ำมีความต้านทานต่อที่มีฟอสจะทำให้เกิดการพัฒนาความต้านทานข้ามต่อเดลด้าเมทรินในยุงตัวเต็มวัยได้ ดังนั้นการใช้ทรายอะเบทอย่างระมัดระวังจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งเพื่อป้องกันการเกิดความต้านทานข้ามดังกล่าว การรณรงค์ให้ประชาชนตระหนักถึงความสำคัญในการใช้ทรายอะเบทอย่างถูกวิธีเพื่อการกำจัดลูกน้ำอย่างมีประสิทธิภาพนั้น ควรได้รับความใส่ใจจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง การปล่อยให้มีการใช้ทรายอะเบทอย่างไม่ถูกต้อง อาจก่อให้เกิดปัญหาต่อการควบคุมกำจัดยุงลายบ้านทั้งระยะลูกน้ำและตัวตัวเต็มวัยขึ้นได้ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานสาธารณสุขอำเภอเมืองพิษณุโลก จังหวัดพิษณุโลก สำหรับข้อมูลระดับวิทยาของโรคไข้เลือดออกในเขตพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก คุณศิริณญา พวงศรี, คุณพนิดา จำนงจิตต์ และคุณอัสนี จินอ่ำ สำหรับความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างลูกน้ำยุงลาย และการทดสอบในห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

- Ahmad I, Astari S, Tan M. Resistance of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in 2006 to pyrethroid insecticides in Indonesia and its association with oxidase and esterase levels. Pak J Biol Sci 2007; 10 (20): 3688-92.
- Bregues C, Hawkes NJ, Chandre F, *et al.* Pyrethroid and DDT cross-resistance in *Aedes aegypti* is correlated with novel mutations in the voltage-gated sodium channel gene. Med Vet Entomol 2003; 17(1): 87-94.
- Brogdon WG, McAllister JC. Insecticide resistance and vector control. Emerg Infect Dis 1998; 4(4): 605-13.
- Chareonviriyaphap T, Aum-aung B, Ratanatham S. Current insecticide resistance patterns in mosquito vectors in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1999; 30(1): 184-94.
- Che-Mendoza A, Penilla RP, Rodriguez DA. Insecticide resistance and glutathione S-transferases in mosquitoes: a review. African J Biotech 2009; 8(8): 1386-97.
- Jirakanjanakit N, Rongnoparut R, Saengtharatip S, Chareonviriyaphap T, Duchon S, Bellec C, Yoksan S. Insecticide susceptible/resistance status in *Aedes (Stegomyia) aegypti* and *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Diptera: Culicidae) in Thailand during 2003-2005. J Econ Entomol 2007b; 100(2): 545-50.
- Jirakanjanakit N, Saengtharatip S, Rongnoparut P, Duchon S, Bellec C, Yoksan S. Trend of temephos resistance in *Aedes (Stegomyia)* mosquitoes in Thailand during 2003-2005. Environ Entomol 2007a; 36(3): 506-11.





- Jurjevskis I, Stiles AR. Summary review of larvicides (for mosquitoes) tested at stage IV/V field trials 1964-1977. Document WHO/VBC/78.668. Geneva: World Health Organization, 1978.
- Macoris ML, Andrighetti MT, Takaku L, Glasser CM, Garbeloto VC, Bracco JE. Resistance of *Aedes aegypti* from the state of Sao Paulo, Brazil, to organophosphate insecticides. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003; 98(5): 703-8.
- Mazzarri MB, Georghiou GP. Characterization of resistance to organophosphate, carbamate, and pyrethroid insecticides in field population of *Aedes aegypti* from Venezuela. J Am Mosq Control Assoc 1995; 11(3): 315-22.
- Montella IR, Martins AJ, Viana-Medeiros PF, Lima JB, Braga IA, Valle D. Insecticide resistance mechanisms of Brazilian *Aedes aegypti* populations from 2001 to 2004. Am J Trop Med Hyg 2007; 77(3): 467-77.
- Nimmannitya S. Dengue haemorrhagic fever in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1987; 18 (3): 291-4.
- Paeporn P, Komalamisra N, Deesin V, Rongsriyam Y, Eshita Y, Thongrunkiat S. Temephos resistance in two forms of *Aedes aegypti* and its significance for the resistance mechanism. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2003; 34(4): 786-92.
- Paeporn P, Supaphathom K, Sathantriphop S, Mukkhun P, Sangkitporn S. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* in Tsunami-affected Areas in Thailand. Dengue Bull 2005; 29: 210-3.
- Ponlawat A, Scott JG, Harrington LC. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* across Thailand. J Med Entomol 2005; 42(5): 821-5.
- Prapanthadara L, Promtet N, Koottathep S, Somboon P, Suwonkerd W, Mccarroll L, Hemingway J. Mechanisms of DDT and permethrin resistance in *Aedes aegypti* from Chiang Mai, Thailand. Dengue Bull 2002; 26: 185-9.
- Rattanarithkul R, Panthusiri P. Illustrated keys to the medically important mosquitoes of Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1994; 25 (suppl 1): 1-66.
- Rodriguez MM, Bisset JA, Fernandez D. Levels of insecticide resistance and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from some Latin American countries. J Am Mosq Control Assoc 2007; 23: 420-9.
- Rodriguez MM, Bisset J, Ruiz M, Soca A. Cross-resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides induced by selection with temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba. J Med Entomol 2002; 39(6): 882-8.
- Rozendaal JA. Vector control. Methods for use by individuals and communities. Geneva: World Health Organization, 1997: 132-3.
- Rutledge LC, Ward RA, Gould DJ. Studies on the feeding response of mosquitoes to nutritive solutions in a new membrane feeder. Mosq News 1964; 24: 407-19.
- Saelim V, Brogdon WG, Rojanapremsuk J, Suvannadabba S, Pandii W, Jones JW, Sithiprasasna R. Bottle and biochemical assays on temephos resistance in *Aedes*





- aegypti* in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2005; 36(2): 417-25.
- Somboon P, Prapanthadara LA, Suwonkerd W. Insecticide susceptibility tests of *Anopheles minimus* s.l., *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Culex quinquefasciatus* in northern Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2003; 34(1): 87-93.
- Sornpeng W, Pimsamarn S, Akksilp S. Resistance to temephos of *Aedes aegypti* Linnaeus larvae (Diptera: Culicidae). J Health Sci 2009; 18(5): 650-4.
- Thanispong K, Sathantriphop S, Chareonviriyaphap T. Insecticide resistance of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* in Thailand. J Pesticide Sci 2008; 33(4): 351-6.
- Wirth MC, Georgiou GP. Selection and characterization of temephos resistance in a population of *Aedes aegypti* from Tortola, British Virgin Islands. J Am Mosq Control Assoc 1999; 15(3): 315-20.
- World Health Organization. (1998). Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces. Report of the WHO Informal Consultation, 28-30 September 1998, WHO/HQ, Document WHO/CDS/CPC/MAL/98.12 Geneva: World Health Organization, 1998.
- Yaicharoen R, Kiatfuengfoo R, Chareonviriyaphap T, Rongnoparut P. Characterization of deltamethrin resistance in field populations of *Aedes aegypti* in Thailand. J Vector Ecol 2005; 30(1): 144-50.

