

# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาเพื่อตรวจหาชนิดของเลือดที่ดูดกิน ในยุงกลุ่ม  
Culicine (Diptera: Culicidae) ในจังหวัดสงขลา

Molecular identification of blood meal in Culicine mosquitoes  
(Diptera: Culicidae) in Songkhla province

คณะนักวิจัย

ดร.ธีรกมล เฟื่องสกุล

รศ.ดร.นพ.เผด็จ สิริยะเสถียร

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์  
ประจำปีงบประมาณ 2557 รหัสโครงการ MET570270S

## บทคัดย่อภาษาไทย

ยุงในกลุ่ม Culicine เช่น ยุง *Aedes* spp. ยุง *Culex* spp และ ยุง *Mansonia* spp. เป็นยุงที่มีความสำคัญทางการแพทย์ ซึ่งในปัจจุบันนี้ยังไม่มีวัคซีนที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคติดเชื้อที่มียุงเป็นพาหะนำโรค การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประยุกต์ใช้ความรู้ทางอนุชีววิทยาในการตรวจชนิดเลือดที่ยุงดูดกิน ข้อมูลที่ได้นำไปสู่ความเข้าใจเกี่ยวกับพฤติกรรมการดูดกินเลือดของยุง และการพัฒนากลยุทธ์ในการควบคุมประชากรยุง โดยทำการเก็บตัวอย่างยุงจากพื้นที่จังหวัดสงขลาจำนวน 297 ตัวอย่าง แล้วนำมาทำการสกัดดีเอ็นเอจากเลือดในท้องของยุง จากนั้นทำการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Multiplex PCR โดยใช้ไพรเมอร์ซึ่งออกแบบให้มีความจำเพาะกับ Cytochrome *b* gene เพื่อใช้จำแนกชนิดของดีเอ็นเอของ คน หมู แพะ สุนัข วัว ไก่ และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จะได้ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ออกมา จากนั้นจึงนำไปตรวจสอบด้วยวิธีอิมมูโนโบลอตติ้งโดยใช้แอนติบอดีจำเพาะ ผลการทดลองตรวจหาชนิดของเลือดในตัวยุงลาย *Aedes* spp. พบว่าให้ผลบวกต่อเลือดคน 61.90% สุนัข 2.38% หมู 2.38% ไก่ 0.60% วัว 0.60% มีเลือดสัตว์สองชนิด 4.18% มีเลือดสัตว์สามชนิด 1.20% และมีจำนวน 26.79% ให้ผลลบ ส่วนผลของชนิดเลือดในตัวยุงรำคาญ *Culex* spp. พบว่าให้ผลบวกต่อเลือดไก่ 40.83% คน 10.00% สุนัข 5.00% วัว 4.17% แพะ 1.67% หมู 0.83% มีเลือดสัตว์สองชนิด 8.32% มีเลือดสัตว์สามชนิด 3.32% และมีจำนวน 25.83% ให้ผลลบ การวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ายุง *Aedes* spp. มักมีพฤติกรรมการดูดกินเลือดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมโดยเฉพาะคนเป็นหลัก ส่วนยุง *Culex* spp. ในพื้นที่จังหวัดสงขลาพบว่าชอบดูดกินเลือดของไก่เป็นหลัก ข้อมูลพฤติกรรมการดูดกินเลือดของยุง *Aedes* spp. และยุง *Culex* spp. ในการวิจัยครั้งนี้ทำให้ตระหนักถึงวิธีการป้องกันยุงพาหะนำโรค นอกจากการป้องกันไม่ให้ยุงกัดคนแล้วควรป้องกันสัตว์ชนิดอื่นด้วย

**คำสำคัญ:** Cytochrome *b* gene, Multiplex PCR, *Aedes* spp., *Culex* spp.

## บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Culicine mosquitoes are medical important vector, and there still have not a full effectiveness vaccines to prevent the mosquitoes borne diseases. Therefore, the studies about feeding pattern and disease transmission behavior of mosquitoes are necessary. The objective of this study is to apply molecular biology methods to detect the DNA of mosquito blood meals. Mosquito amount 297 samples were collected from Songkhla province. DNA from blood meal in mosquito's stomach were extracted and amplified DNA with the multiplex PCR technique by using specific primer sets based on mitochondrial cytochrome *b* gene to identify the DNA of human, pig, goat, dog, cow, and chicken. Blood meal results were examined with 2% agarose gel electrophoresis. *Aedes* spp. blood meal results were positive for human, dog, pig, chicken, cow and mixture of 2 hosts DNA at 61.90, 2.38, 2.38, 0.60, 0.60 and 4.18%, respectively, while mixture of 3 hosts DNA at 1.20% and 26.79% of the samples were negative. *Culex* spp. blood meal results were positive for chicken, human, dog, cow, goat, pig and mixture of 2 hosts DNA at 40.83, 10.00, 5.00, 4.17, 1.67, 0.83 and 8.32%, respectively, while mixture of 3 hosts DNA at 3.32% and 25.83% of the samples were negative. This study shows that feeding behaviors of *Aedes* spp. most prefer to human blood. Blood feeding behaviors of *Culex* spp. is majority illustrated in chicken blood. This study makes to be aware of how to prevent mosquito vector. This information leads to understand behavior of mosquitoes foraging, and lead to develop strategies in order to control mosquito population.

**Keywords:** Cytochrome b gene, Multiplex PCR, *Aedes* spp., *Culex* spp.