

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงสำรวจ (Survey Research) เรื่องการศึกษาความหนาแน่นและช่วงเวลาของการกัดของยุง *Culex quinquefasciatus*, Say และยุง *Aedes aegypti* (Linnaeus) ใน อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น มีวิธีการดำเนินการวิจัยและวัสดุ-เครื่องมือ คือ

3.1 วิธีการ

3.1.1 เลือกพื้นที่และหมู่บ้าน

3.1.2 ทามแผนผังบ้านของหมู่บ้าน

3.1.3 สุ่มเลือกบ้านเพื่อทำการจับยุง

3.1.4 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

3.1.5 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้

3.1.6 ระยะเวลาในการดำเนินงาน

3.2 วัสดุ-เครื่องมือ

3.1 วิธีการ

3.1.1 เลือกพื้นที่และหมู่บ้าน

พื้นที่ที่ทำการสำรวจได้เลือกพื้นที่ของอำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่นโดยแบ่งเป็น 2 พื้นที่ คือในเขตและนอกเขตเทศบาล ที่ตั้งของหมู่บ้านที่ได้เลือกศึกษาดังแสดงในรูปที่ 3.1

ก) พื้นที่ในเขตเทศบาลได้เลือกหมู่บ้านจำนวน 1 หมู่บ้าน คือ หมู่บ้านหรือชุมชนสามเหลี่ยม หมู่ที่ 16 ต.ในเมือง อ.ในเมือง จ.ขอนแก่น ตั้งอยู่ในเขตเทศบาลนครขอนแก่น ถ.ศรีมหารัษฎ์ อ.เมือง จ.ขอนแก่น มีจำนวนบ้าน 426 หลังคาเรือน มีประชากรทั้งหมด 1,505 คน ลักษณะโดยทั่วไปของชุมชนเป็นชุมชนที่มีบ้านเรือนตั้งอยู่อย่างหนาแน่น ระบบการระบายน้ำเสียไม่ดีพอ ทำให้มีการกักขังของน้ำที่สกปรก (ดังรูปที่ 3.2)

ข) พื้นที่นอกเขตเทศบาลเลือกหมู่บ้านจำนวน 1 หมู่บ้าน คือ หมู่บ้านหนองน้ำเกลี้ยง หมู่ที่ 3 ต.สราญ อ.เมือง จ.ขอนแก่น ตั้งอยู่บนถนนมิตรภาพ (A12) ห่างจากเทศบาลนครขอนแก่น 13 กิโลเมตร ทางทิศเหนือ มีจำนวนบ้าน 92 หลังคาเรือน มีประชากร

ทั้งหมด 475 คน ลักษณะโดยทั่วไปของหมู่บ้าน เป็นหมู่บ้านชนบทบ้านเรือนตั้งอยู่กระจัดกระจาย การระบายน้ำเสียตามบ้านพักอาศัยมักเป็นไปโดยธรรมชาติ คือ น้ำซึมซับลงไปในดิน ไม่มีการกักขังของน้ำสปรก (ดังรูปที่ 3.3)

3.1.2 ทาแผนผังบ้านของหมู่บ้าน

ทาแผนผังบ้านทั้ง 2 หมู่บ้านที่เลือก คือหมู่บ้านสามเหลี่ยม หมู่ที่ 16 ต.โนนเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น และหมู่บ้านหนองน้ำเกลี้ยง หมู่ที่ 3 ต.สราญ อ.เมือง จ.ขอนแก่น แผนผังของหมู่บ้าน ดังแสดงในภาคผนวกที่ 1 ก. และ 1 ข.

3.1.3 สุ่มเลือกบ้านเพื่อทาการจับยุง

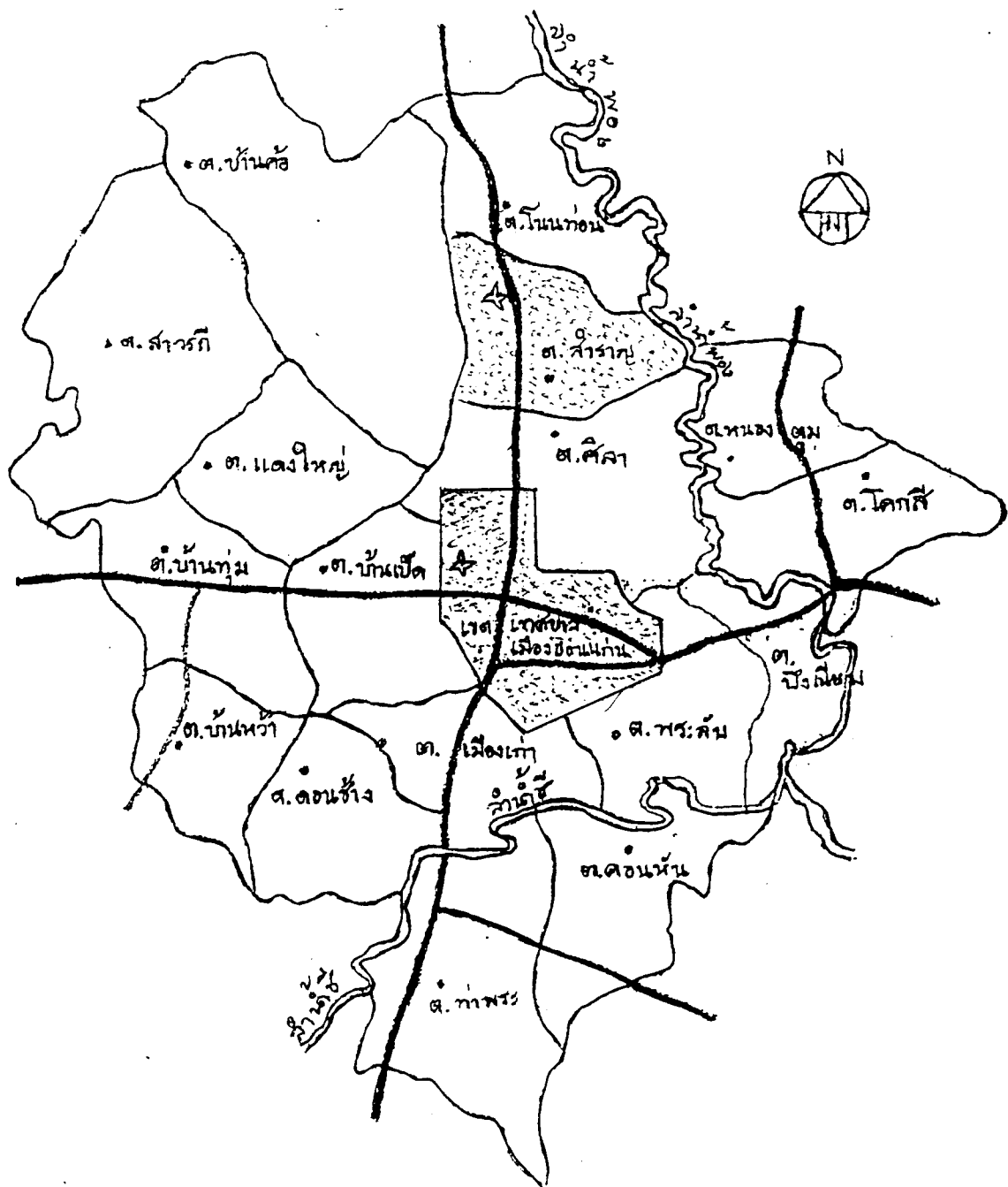
ในแต่ละหมู่บ้านที่เลือกมานั้น ทาการสุ่มเลือกบ้านโดยวิธีการ Simple Random Sampling สำหรับการจับยุง *Ae.aegypti* ซึ่งจับในเวลากลางวัน ในแต่ละหมู่บ้านสุ่มเลือกบ้าน 24 หลัง โดยบ้านที่สุ่มเลือกได้นั้นต้องห่างกันอย่างน้อยมีบ้านคั่นอยู่ 1 หลัง ทั้งนี้เพราะว่ายุง *Ae. aegypti* เป็นยุงที่อาศัยอยู่และเพาะขยายพันธุ์ภายในบ้านเท่านั้น เมื่อทาการจับยุงไปได้ประมาณ 20 นาที ยุงชนิดนี้ที่อยู่ภายในบ้านเข้ามากัดดูดเลือด ก็จะถูกจับจนหมดไปจากบ้านหลังนั้น จึงต้องทาการย้ายไปจับบ้านอื่นต่อไปเรื่อยๆ ดังนั้นภายในเวลา 1 ชั่วโมงจะจับยุง 2 บ้าน (ใช้เวลาจับยุงบ้านละ 20 นาที และใช้เวลาเดินทาง, เตรียมวัสดุอุปกรณ์ในการจับยุงบ้านละ 10 นาที) ดังนั้นจึงใช้บ้านทั้งหมดจำนวน 24 หลัง ในการจับยุงตั้งแต่เวลา 06.00-18.00 น. และในการจับยุงทุกครั้งตลอดการศึกษา จะใช้บ้านหลังเดิม และสำหรับการจับยุง *Cx. quinquefasciatus* ซึ่งจับในเวลากลางคืน ในแต่ละหมู่บ้านสุ่มเลือกบ้านเพียง 1 หลัง ทั้งนี้เพราะยุงชนิดนี้จะอาศัยและแพร่ขยายพันธุ์ตามแหล่งน้ำที่สกปรก ซึ่งอยู่ภายนอกบ้าน และจะบินเข้ามากัดดูดเลือดภายในบ้าน ดังนั้นการจับยุงชนิดนี้จึงใช้บ้านเพียง 1 หลัง ก็เพียงพอ

3.1.4 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

การเก็บรวบรวมข้อมูล มีวิธีการดังนี้

3.1.4.1 วิธีการจับยุง

ในบ้านที่สุ่มเลือกของแต่ละพื้นที่ หรือหมู่บ้านที่เลือกศึกษาจะทาการจับ



รูปที่ 3.1 แผนที่แสดงที่ตั้งของชุมชน (หมู่บ้าน) ที่ทำการศึกษา



รูปที่ 3.2 ลักษณะของหมู่บ้านที่อยู่ในเขตเทศบาล



รูปที่ 3.3 ลักษณะของหมู่บ้านที่อยู่นอกเขตเทศบาล

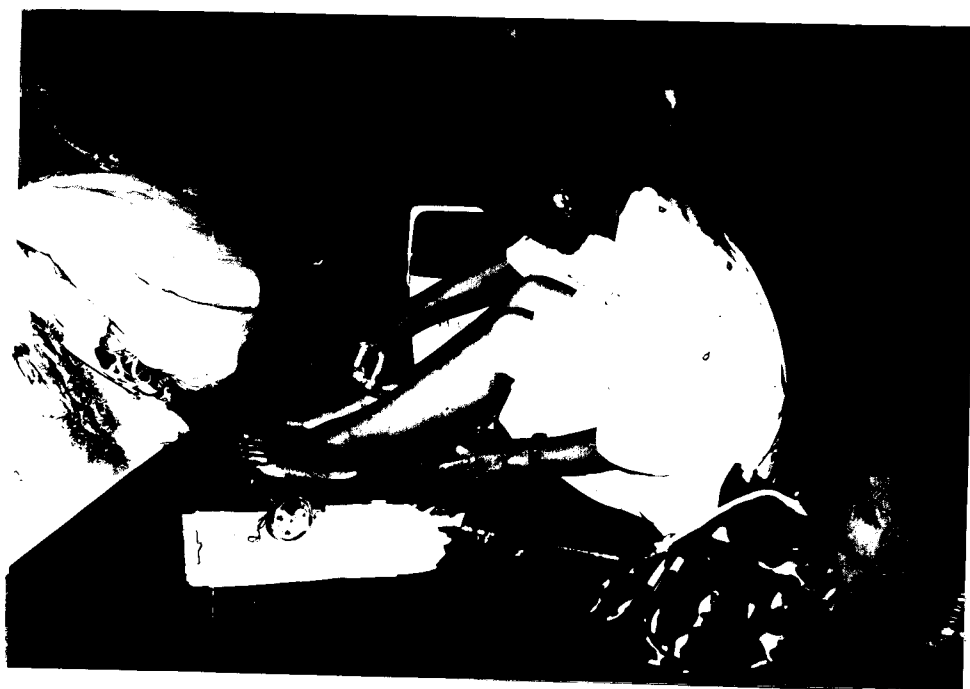
ยุงเดือนละ 2 ครั้ง คือ สัปดาห์ที่ 1 และสัปดาห์ที่ 3 ของแต่ละเดือนจนครบ 1 ปี เริ่มตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2537 จนถึงเดือนตุลาคม 2538 ในการจับยุงแต่ละครั้งจะจับตลอด 24 ชั่วโมง โดยจะแยกจับ 2 เวลา คือ เวลากลางวันเริ่มตั้งแต่เวลา 06.00 น. จนถึงเวลา 18.00 น. เป็นการจับยุง *Ae. aegypti* โดยใช้เวลาจับบ้านละ 20 นาที (จับ 2 บ้าน/ชั่วโมง) และเวลากลางคืนเริ่มตั้งแต่เวลา 18.00 น. จนถึงเวลา 06.00 น. ของวันรุ่งขึ้น เป็นการจับยุง *Cx. quinquefasciatus* โดยจับเพียงบ้านเดียวตลอดคืน การจับยุงจะจับภายในบ้าน (indoor) โดยวิธี Human-bait trap (WHO, 1992) คือจับยุงโดยใช้คนเป็นเหยื่อล่อ ในการศึกษาครั้งนี้ใช้คน 1 คน ไปนั่งอยู่ในบ้านเมื่อมียุงมาเกาะที่ผิวหนังก็จะใช้หลอดจับยุงครอบตัวยุงไว้แล้วใช้สาลี่อุดหลอดจับยุง ในกรณีที่ไม่มียุงหรือเวลากลางคืน คนที่จับยุงจะใช้ไฟฉายส่องดูแล้วใช้หลอดจับยุงครอบตัวยุงไว้แล้วใช้สาลี่อุดหลอดจับยุง (ภาพแสดงวิธีการจับยุงดังแสดงในรูปที่ 3.4) ยุงที่จับได้ในแต่ละชั่วโมงเก็บแยกไว้ภายในหลอดจับยุงแล้วนำไปแช่ในกระดิกน้ำแข็ง ทั้งนี้เพราะความเย็นจากน้ำแข็งจะช่วยป้องกันไม่ให้เกิดการพัฒนาของรังไข่ยุง หลังจากเสร็จสิ้นการจับแต่ละครั้ง จะนำยุงไปวินิจฉัยแยกชนิดและเลือกเอาเฉพาะยุง *Cx. quinquefasciatus* และยุง *Ae. aegypti* เพศเมียไปชำแหละที่ห้องปฏิบัติการของภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3.1.4.2 การวินิจฉัยเพื่อแยกชนิดของยุง

นำยุงที่จับได้ มาวินิจฉัยชนิดของยุง ด้วยการฆ่ายุงด้วย chloroform แล้วนำมาตรวจภายใต้กล้อง stereomicroscope โดยใช้หลักการ การตรวจวินิจฉัยของ สุภัทร สุจริต (2531), อรุณกร จันทรแสง และคณะ (2536) และ Rattanarithikul (1982) นับจำนวนเฉพาะยุง *Cx. quinquefasciatus* และยุง *Ae. aegypti* เพศเมียบันทักผลลงในแบบฟอร์มรายงานการจับยุง (แบบฟอร์มรายงานการจับยุง ดังแสดงในภาคผนวกที่ 2)

3.1.4.3 การชำแหละยุงเพื่อตรวจดูว่ายุงนั้นเคยวางไข่ (Parous) หรือยังไม่เคยวางไข่ (Nulliparous)

หลังจากที่ตรวจแยกชนิดและนับจำนวนยุงตัวเมียของยุง *Cx. quinquefasciatus* และยุง *Ae. Aegypti* แล้วนำยุงมาชำแหละเพื่อตรวจดูว่ายุงนั้นเคยวาง



รูปที่ 3.4 แสดงวิธีการจับขงโดยวิธี Human bait trap

ไข่ (parous) หรือ ไม่เคยวางไข่ (nulliparous) โดยวิธีของ Detinova (1962), WHO (1975) และ กองมาลาเรีย กรมควบคุมโรคติดต่อ (2531) ซึ่งมีรายละเอียดตามลำดับขั้น คือ

ก) ใช้เข็มสำหรับชำแหละยุงตัดปีกและขาของยุงออกไปแล้วนำยุงนอนหงายในหยดน้ำกลั่นบนสไลด์

ข) นำสไลด์ในข้อ ก) ไปวางบนแท่น Stereomicroscope ด้วยกำลังขยายของกล้อง 40 เท่า ใช้เข็มผ่ายุงที่จับด้วยมือซ้ายกดที่อกของยุงใช้เข็มผ่ายุงที่จับด้วยมือขวาคลิบส่วนท้องบริเวณปล้องที่ 7 ของยุง แล้วค่อย ๆ ดึงอวัยวะภายในของยุงออกมา ส่วนที่จะออกมาจากปล้องท้องของยุงจะมีท่อขับถ่าย รังไข่ และกระเพาะของยุง

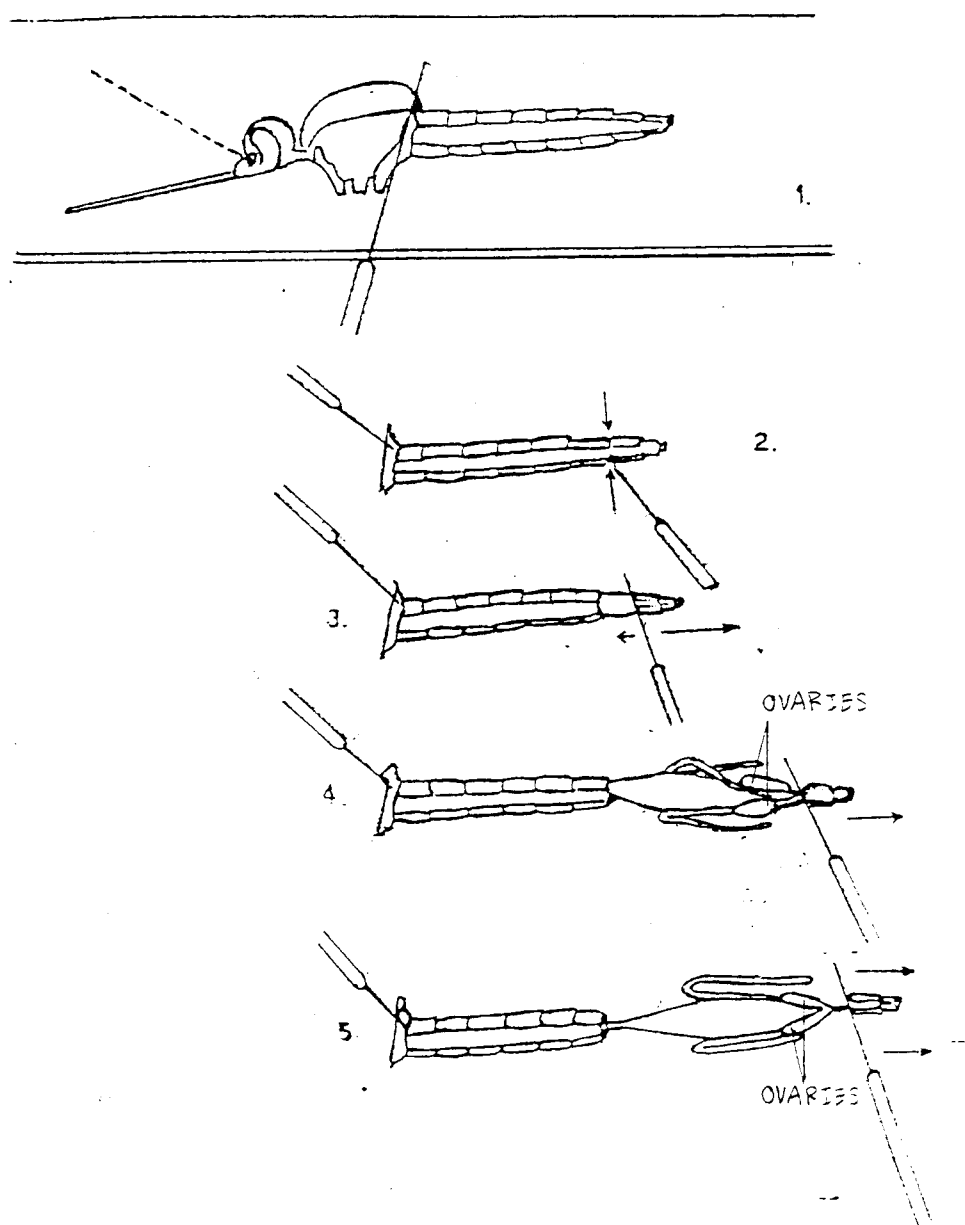
ค) แยกอวัยวะส่วนอื่นออกจากรังไข่ของยุง แล้วนำสไลด์ไปตรวจด้วยกล้อง Compound microscope ด้วยกำลังขยาย 100 เท่า เพื่อดูระยะของรังไข่ของยุงว่าในระยะไหน ซึ่งรังไข่ที่จะตรวจดูว่ายุงนั้นเคยวางไข่ (Parous) หรือไม่เคยวางไข่ (Nulliparous) นั้นจะต้องเป็นรังไข่ที่อยู่ในระยะ 1-2 เท่านั้น ส่วนรังไข่ที่อยู่ในระยะ 3-5 นั้นไข่จะเจริญเติบโตมากและบังแสงจนหมดลมพวย (Tracheole) จึงทำให้การตรวจผิดพลาดได้ (การแยกรังไข่ระยะต่าง ๆ ของยุง ดังภาคผนวกที่ 3)

ง) วางสไลด์ที่มีรังไข่ของยุงที่อยู่ในระยะ 1-2 ในถาดเพื่อทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 ชั่วโมง

จ) หลังจากนั้นจึงนำมาตรวจด้วยกล้อง Compound microscope อีกครั้งด้วยกำลังขยาย 400 เท่า เพื่อดูว่าเป็นยุงนั้นเคยวางไข่ (Parous) หรือไม่เคยวางไข่ (Nulliparous) โดยอาศัยการตรวจดูความเปลี่ยนแปลงของหลอดลมพวย (Tracheole) ที่ไปเลี้ยงรังไข่ คือยุงที่เคยวางไข่ (Parous) ส่วนปลายของหลอดลมพวยจะเหี่ยวยาวออกไปเป็นเส้นเล็ก ๆ ส่วนยุงที่ไม่เคยวางไข่มาก่อน (Nulliparous) ส่วนปลายของหลอดลมพวยจะขมวดเป็นมวนที่เรียกว่า skeins

ภาพแสดงวิธีการชำแหละยุงเพื่อดูรังไข่ ดังแสดงในรูปที่ 3.5 และภาพแสดงรังไข่ของยุงที่เคยวางไข่ (Parous) ดังแสดงในรูปที่ 3.6 และยุงที่ไม่เคยวางไข่ (Nulliparous) ดังแสดงในรูปที่ 3.7

ฉ) บันทึกผลการตรวจลงในแบบฟอร์มรายงานการผ่ารังไข่ยุง (ดังแสดงในภาคผนวกที่ 4)



รูปที่ 3.5 แสดงวิธีการชำแหละยุงเพื่อดูรังไข่

(HWO, 1975)



รูปที่ 3.6 แสดงรังไข่ของยุงที่เคยวางไข่แล้ว (Parous)
(ยุง *Cx. quinquefasciatus*) (กำลังขยาย 400 เท่า)



รูปที่ 3.7 แสดงรังไข่ของยุงที่ไม่เคยวางไข่ (Nulliparous)
(ยุง *Cx. quinquefasciatus*) (กำลังขยาย 400 เท่า)

3.1.4.4 ข้อมูลด้านภูมิอากาศ

ได้บันทึก อุณหภูมิ และ ความชื้น ในแต่ละชั่วโมงที่ทำการจับยุงด้วย เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น ซึ่งอยู่ในเครื่องเดียวกัน (เครื่องหมายการค้า Barigo) สำหรับปริมาณน้ำฝนได้ขอข้อมูลจากสถานีตรวจอากาศขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

3.1.5 การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้

3.1.5.1 หาค่า Biting density (ความหนาแน่นของยุงที่กัด หรือจำนวนยุง กัดต่อคนต่อชั่วโมง)

หาค่า Biting density ในแต่ละชั่วโมงของวันและแต่ละเดือนของ ยุง *Cx. quinquefasciatus* และยุง *Ae. aegypti* ทั้งในชุมชน (หมู่บ้าน) ที่อยู่ในและ นอกเขตเทศบาลนครขอนแก่น

ใช้สถิติ T-test เปรียบเทียบ Biting density ในแต่ละชั่วโมง ของวันและแต่ละเดือนของยุง *Cx. quinquefasciatus* ระหว่างชุมชน (หมู่บ้าน) ที่อยู่ใน กับนอกเขตเทศบาลนครขอนแก่น โดยใช้ critical value $p = 0.05$

ใช้สถิติ T-test เปรียบเทียบ Biting density ในแต่ละชั่วโมง ของวัน และแต่ละเดือนของยุง *Ae. aegypti* ระหว่างชุมชน (หมู่บ้าน) ที่อยู่ในกับนอกเขต เทศบาลนครขอนแก่น โดยใช้ critical value $p = 0.05$

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้คอมพิวเตอร์โปรแกรม PANACEA 2

3.1.5.2 หาค่า Biting rhythm or cycle (ช่วงเวลาของการกัด)

หาค่า Biting rhythm or cycle ของยุงที่เข้ามากัดในแต่ละ ชั่วโมง โดยแสดงเป็นจำนวนร้อยละ จากจำนวนยุงที่เข้ามากัดทั้งหมดในตอนกลางคืนของยุง *Cx. quinquefasciatus* และในตอนกลางวันของยุง *Ae. aegypti* ในชุมชน (หมู่บ้าน) ที่อยู่ในและนอกเขตเทศบาลนครขอนแก่น

3.1.5.3 หาค่า Parous rate (อัตราส่วนการกัดของยุง (Parous))

หาค่า Parous rate ของยุง *Cx. quinquefasciatus* และยุง *Ae. aegypti* ในแต่ละชั่วโมงของวันและแต่ละเดือน ในชุมชน (หมู่บ้าน) ที่อยู่ในและนอก เขตเทศบาลนครขอนแก่น โดยแสดงเป็นอัตราส่วนร้อยละของยุงที่ฆ่าและตรวจทั้งหมดในแต่ละ ชั่วโมงของวันและแต่ละเดือน

3.1.5.4 หาความสัมพันธ์

ใช้สถิติ Multiple regression โดยวิธี Stepwise (วิเชียร เกตุสิงห์, 2534; ศิริชัย พงษ์วิชัย, 2534; ธวัชชัย งามสันติวงศ์, 2538) วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่าง Biting density กับอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝน ของ ยุง *Cx. quinquefasciatus* และยุง *Ae. aegypti* ทั้งในชุมชน (หมู่บ้าน) ที่อยู่ในและนอกเขตเทศบาลนครขอนแก่น โดยใช้ critical value $p = 0.05$

ใช้สถิติ Multiple regression วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่าง Parous rate กับอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝนของยุง *Cx. quinquefasciatus* และยุง *Ae. aegypti* ทั้งในชุมชน (หมู่บ้าน) ที่อยู่ในและนอกเขตเทศบาลนครขอนแก่น โดยใช้ critical value $p = 0.05$

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้คอมพิวเตอร์โปรแกรม SPSS/PC+

3.1.6 ระยะเวลาในการดำเนินงาน

ดำเนินการติดต่อประสานงานเพื่อเลือกพื้นที่ และท่านสมนังหมู่บ้านทั้งในเขตเทศบาลและนอกเขตเทศบาลจากที่สุ่มได้ เริ่มตั้งแต่เดือน กันยายน 2537 ถึงเดือนตุลาคม 2537 ทำการจับยุงและการศึกษาในยุง ตั้งแต่เดือน พฤศจิกายน 2537 ถึงเดือนตุลาคม 2538 จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ข้อมูล และ เขียนรายงาน

3.2 วัสดุ - เครื่องมือ

3.2.1 แบบบันทึกการศึกษายุงรายวัน

(ดังรายละเอียดในภาคผนวกที่ 2)

3.2.2 อุปกรณ์

- หลอดเก็บยุง (test-tube ขนาด 20 x 150 มม.)
- สาลี่
- ไฟฉาย และ ถ่านไฟฉาย
- เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น ยี่ห้อ Barigo
- กระจกใส่น้ำแข็ง และ น้ำแข็ง
- กล้อง Compound microscope
- กล้อง Stereo microscope
- โคมไฟ
- เข็มสำหรับชำแหละยุง
- แผ่นสไลด์
- Petridisc
- กล้องเก็บสไลด์

3.2.3 สารเคมี

- Chloroform
- 70 % alcohol
- Distiled water