

คุณลักษณะความไวของยุงลายบ้านต่อสารเคมีและประสิทธิภาพ
ของสารเคมีประเภทฉีดพ่นหมอกควันในการกำจัดยุงลายบ้าน
ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงจากจังหวัดจันทบุรี

Insecticide susceptibility characterization and efficacy of
insecticides for thermal space spray application against
insecticide-resistant *Aedes aegypti* (L.) from Chanthaburi province

ภูเบศร์ ยะอัมพันธ์¹

สุนัยนา สาทันไตรภพ¹

พงศกร มุขขันธุ์¹

พรณเกษม แผ่พร¹

วรรณภา ฤทธิสนธิ์²

¹สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

²สำนักงานควบคุมป้องกันโรคที่ 6 ชลบุรี

Phubeth Ya-umphan¹

Sunaiyana Sathantriphop¹

Pongsakorn Mukkhun¹

Pungasem Paeporn¹

Wanapa Ritthison²

¹National Institute of Health,

Department of Medical Sciences

²Office of Disease Prevention and Control,

Region 6 Chonburi

DOI: 10.14456/dcj.2021.84

Received: November 18, 2020 | Revised: May 30, 2021 | Accepted: May 30, 2021

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความไวของลูกน้ำและตัวเต็มวัยยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ต่อสารเคมีและศึกษาระดับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการทำลายฤทธิ์ของสารเคมีในยุงลายบ้านจากพื้นที่หมู่ 2 ต.ปอวี อ.มะขาม จ.จันทบุรี รวมถึงศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมี จำนวน 8 ชนิด ประเภทฉีดพ่นแบบหมอกควันต่อยุงลายบ้านในพื้นที่ศึกษาเปรียบเทียบกับยุงลายบ้านจากห้องปฏิบัติการ (NIH strain) ซึ่งมีความไวต่อสารเคมี โดยวิธีมาตรฐานจากองค์การอนามัยโลก cage Bio-assay method ในสภาพจำลองธรรมชาติ ผลการศึกษาความไวของลูกน้ำยุงลายบ้านจันทบุรีต่อสาร Temephos ที่ระดับความเข้มข้น 0.012 มิลลิกรัมต่อลิตร พบความไวของลูกน้ำยุงลายบ้านในระดับต่ำ มีอัตราการตายเท่ากับ ร้อยละ 13.50 สำหรับความไวของยุงลายบ้านจันทบุรีระยะตัวเต็มวัยต่อสารเคมีทดสอบในกลุ่ม Pyrethroids จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ Cyfluthrin 0.15%, Deltamethrin 0.05%, Cypermethrin 0.05%, Lambda-cyhalothrin 0.03% และ Permethrin 0.25% พบว่ายุงลายบ้านมีความไวระดับต่ำ มีอัตราการตายที่ 24 ชั่วโมง ระหว่าง ร้อยละ 0-7.80 และมีความไวระดับต่ำต่อสาร Pirimiphos-methyl 0.21% ซึ่งเป็นสารเคมีในกลุ่ม organophosphates โดยมีอัตราการตาย ร้อยละ 0 การศึกษาระดับเอนไซม์ทำลายฤทธิ์ของสารเคมีกำจัดแมลงในยุงลายบ้าน พบว่าค่าเฉลี่ยระดับของเอนไซม์ Esterase และ mixed function oxidases ของยุงลายบ้านจันทบุรีมีค่าสูง โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) เมื่อเทียบกับยุงลายบ้านจากห้องปฏิบัติการ ในขณะที่

ที่ค่าเฉลี่ยของเอนไซม์ Acetylcholinesterase ของยุงลายบ้านจันทบุรียังคงอยู่ในระดับต่ำและไม่มี ความแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับยุงลายบ้านจากห้องปฏิบัติการ การทดสอบประสิทธิภาพการฉีดพ่นหมอกควันด้วยสารเคมีในกลุ่ม Pyrethroids จำนวน 7 สูตร และสารเคมีในกลุ่ม organophosphates จำนวน 1 สูตร ด้วยเครื่องพ่นหมอกควันชนิดสะพายไหล่ ที่อัตราการใช้สูงสุดที่องค์การอนามัยโลกแนะนำ พบว่าสารเคมีทดสอบในกลุ่ม Pyrethroids สามารถทำให้ยุงลายบ้านจันทบุรีตายเพียงร้อยละ 0–6.70 ในขณะที่ Pirimiphos-methyl พบอัตราการตายของยุงลายบ้านจันทบุรีเท่ากับ ร้อยละ 99.7 (อัตราการใช้ 200 กรัมต่อเฮกตาร์) และมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงประสิทธิภาพของสาร Pirimiphos-methyl ฉีดพ่นหมอกควันที่อัตราการใช้ 20, 50, 75 และ 100 กรัมต่อเฮกตาร์ พบอัตราการตายของยุงลายบ้านจันทบุรีเท่ากับร้อยละ 13.70, 41.70, 54.80 และ 97.70 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการตายของยุงลายบ้านจันทบุรีที่อัตราการใช้ 100 และ 200 กรัมต่อเฮกตาร์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ดังนั้นจากผลการวิจัยนี้พบว่าสาร Pirimiphos-methyl ที่อัตราการใช้ 100 กรัมต่อเฮกตาร์ สามารถเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่มีประสิทธิภาพในการนำไปใช้ฉีดพ่นควบคุมและกำจัดยุงลายในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคไข้เลือดออก โดยเฉพาะในพื้นที่ที่ยุงลายมีการพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม Pyrethroids

ติดต่อผู้พิมพ์ : ภูเบศร์ ยะอัมพันธ์

อีเมล : phubeth.y@dmisc.mail.go.th

Abstract

The objectives of this study were to investigate insecticide susceptibility of larvae and adults and levels of enzymes associated with insecticide detoxification in adults of *Aedes aegypti* population from Moo 2, Tambon Patthawi, Amphoe Makham, Chanthaburi Province. Additionally, the efficacy of eight insecticide formulations used for thermal fogging application were evaluated under simulated field conditions against a laboratory insecticide-susceptible strain (NIH) and an insecticide-resistant field population of *Ae. aegypti* using the World Health Organization (WHO) cage bioassay method. Susceptibility testing using standard WHO methodology, showed Chanthaburi population larvae were highly resistant (13.5% mortality) to temephos (0.012 mg/L). *Aedes aegypti* female adults were also highly resistant to five synthetic pyrethroids: cyfluthrin 0.15%, deltamethrin 0.05%, cypermethrin 0.05%, lambdacyhalothrin 0.03%, and permethrin 0.25%, with final 24-hr mortality ranging between 0–7.8% and one organophosphate, pirimiphos-methyl 0.21% with 0% mortality. Biochemical assays of Chanthaburi adult *Ae. aegypti* had increased non-specific esterases and mixed function oxidases (MFO). Significant differences in elevated esterases and MFO activity were found between field population and NIH strain ($p<0.001$). While there was no significant difference in mean acetylcholinesterase enzymatic activities between field and reference mosquitoes. For indoor space spraying of pyrethroid (7 formulations) and organophosphate (1 formulation) insecticides applied by a handheld thermal fogger at the maximum WHO-recommended dosage, low mortality (0–6.7%) were observed in Chanthaburi population after exposure to each pyrethroid while very high mortality (99.7%) was observed for pirimiphos-methyl (200g/ha), indicating complete susceptibility. Furthermore, the efficacy of pirimiphos-methyl using four serial doses: 20, 50, 75, and 100 g/ha resulted in 13.7, 41.7, 54.8, and 97.7% final mortality, respectively. No significant difference was found in mosquito mortality between pirimiphos-methyl 100 and 200 g/ha ($p>0.05$). This study indicates that pirimiphos-methyl at an operational

dosage of 100g/ha can be considered a viable alternative to control *Ae. aegypti*, especially in the areas where mosquitoes have developed resistance to pyrethroid insecticides.

Correspondence: Phubeth Ya-umphan

E-mail: phubeth.y@dmsc.mail.go.th

คำสำคัญ

ยุงลายบ้าน, การต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง, การควบคุมพาหะนำโรคไข้เลือดออก, การฉีดพ่นหมอกควัน

Keywords

Aedes aegypti, Insecticide resistance, Dengue vector control, Thermal fogging

บทนำ

โรคไข้เลือดออกเป็นโรคติดต่อมาโดยแมลงที่ยังเป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทย โดยมียุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) เป็นพาหะหลักในการนำโรค ในปัจจุบันกลวิธีหลักในการควบคุมโรคไข้เลือดออกคือการควบคุมและกำจัดยุงลายพาหะนำโรค และลูกน้ำยุงลาย ได้แก่ การปิดภาชนะกักเก็บน้ำด้วยฝาปิด เพื่อป้องกันไม่ให้ยุงลายเข้าไปวางไข่ การกำจัดแหล่งเพาะพันธุ์ยุงลายโดยการปล่อยปลากินลูกน้ำ หรือใช้ทรายกำจัดลูกน้ำลงในภาชนะขังน้ำ เป็นต้น สำหรับการควบคุมและกำจัดยุงลายตัวเต็มวัย ได้แก่ ใช้ไม้ตียุง ใช้น้ำผสมน้ำสบู่หรือผงซักฟอก ฉีดพ่นให้ถูกตัวยุง และการพ่นเคมีกำจัดยุงตัวเต็มวัยด้วยวิธีการพ่นแบบฟุ้งกระจาย (space spray) เป็นต้น สำหรับการฉีดพ่นสารเคมีด้วยเครื่องพ่นหมอกควัน (thermal fogger) เป็นวิธีควบคุมยุงลายที่มีใช้ในหน่วยงานสาธารณสุขอย่างแพร่หลายและยังเป็นมาตรการเร่งด่วนเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการระบาดของโรคในวงกว้าง วิธีการนี้จะช่วยลดจำนวนยุงลายที่มีเชื้อไข้เลือดออกได้อย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ต้องอาศัยเจ้าหน้าที่ที่มีความรู้ความเชี่ยวชาญทั้งด้านการใช้เครื่องพ่นและสารเคมี รวมถึงความรู้ด้านชีววิทยาของยุง เพื่อให้การควบคุมยุงพาหะเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพและได้ผลสัมฤทธิ์มากที่สุด สารเคมีที่ใช้ควบคุมกำจัดแมลงหลักๆ แบ่งเป็น 4 กลุ่ม คือ organochlorines (OC), organophosphates (OP), carbamates (CA) และ pyrethroids (PY) โดยเฉพาะในกลุ่ม PY ได้มีการนำมาใช้ในการฉีดพ่นหมอกควันเพื่อควบคุมยุงลายตัวเต็มวัยอย่างต่อเนื่องและแพร่หลาย เนื่องจากค่อนข้างมีความ

ปลอดภัยต่อมนุษย์และสลายได้เร็วในสิ่งแวดล้อม แต่มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงสูง แม้ใช้ในอัตราความเข้มข้นต่ำ⁽¹⁾ อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีกำจัดแมลงชนิดเดียว หรือสารเคมีที่มีกลไกการออกฤทธิ์ (mode of action) เดียวกันติดต่อกันเป็นเวลานานอาจส่งผลให้ยุงลายสร้างความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงชนิดนั้นๆ และทำให้การควบคุมประชากรยุงเป็นไปได้ยากยิ่งขึ้น จึงก่อให้เกิดการระบาดของโรค มีการรายงานว่ายุงลายในหลายพื้นที่ของประเทศไทยมีการสร้างความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มต่างๆ ที่ใช้ในการฉีดพ่นควบคุมยุง⁽²⁻⁴⁾ และในบางพื้นที่ยุงลายมีการสร้างความต้านทานต่อสารเคมีได้หลายกลุ่ม (multiple resistance) จึงทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมยุงพาหะนำโรคไข้เลือดออกโดยวิธีฉีดพ่นฟุ้งกระจายนั้นลดลง⁽⁵⁾ กลไกการสร้าง ความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงโดยทางชีวเคมี (biochemical resistance) ที่สำคัญ มี 2 กลไกหลัก ได้แก่ 1) การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ที่ทำลายฤทธิ์ของสารเคมีกำจัดแมลง (metabolic-based resistance) ซึ่งกลุ่มของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการทำลายฤทธิ์ของสารเคมีกำจัดแมลง (detoxifying enzymes) ได้แก่ Esterases, Cytochrome P450 monooxygenases หรือ mixed function oxidases (MFO) และ Glutathione S-transferases และ 2) การเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งการออกฤทธิ์เมื่อมีสารเคมีกำจัดแมลงเข้าไปจับ (target site insensitivity) ซึ่งกลไกเหล่านี้เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของ voltage-gated sodium channels, Gamma-aminobutyric acid (GABA) receptors และ acetyl cholinesterases⁽⁶⁾ การศึกษาถึงกลไกการสร้าง

ความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงของยุงลายมีความสำคัญอย่างยิ่งในการวางแผนออกแบบการควบคุมยุงลายพาหะ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความไวต่อสารเคมีกำจัดแมลงของลูกน้ำและยุงลายบ้าน ตัวเต็มวัยและศึกษาระดับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการทำลายฤทธิ์ของสารเคมีกำจัดแมลงของยุงลายบ้านจากจังหวัดจันทบุรี รวมถึงศึกษาประสิทธิภาพและอัตราการใช้ที่เหมาะสมของสารเคมีประเภทฉีดพ่น

หมอกควัน เพื่อเป็นแนวทางในการฉีดพ่นเพื่อควบคุมยุงลายบ้านที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง โดยชนิดของสารเคมีและความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาวิจัยนี้ได้คัดเลือกให้สอดคล้องกับการเฝ้าระวังความต้านทานสารเคมีกำจัดแมลงของยุงพาหะนำโรคของกรมควบคุมโรค⁽⁷⁾ และตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO)⁽⁸⁻⁹⁾ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของสารเคมีสำหรับการทดสอบหาความไวของยุงลายต่อสารเคมีกำจัดแมลง (WHO susceptibility test) โดยกรมควบคุมโรคและองค์การอนามัยโลก, อัตราการใช้สารเคมีสำหรับการฉีดพ่นแบบพุ้งกระจายประเภทหมอกควัน (WHO for thermal fogging) และการจำแนกประเภทความอันตรายของสารเคมี

กลุ่ม	สารเคมี	WHO Susceptibility test		WHO for Thermal fogging		การจำแนก ประเภทความ อันตราย** ⁽⁹⁾
		กรมควบคุมโรค	WHO	สารเคมี	WHO 2006 ⁽⁹⁾	
		2562* ⁽⁷⁾	2016 ⁽⁸⁾		(grams per hectare)	
OP	Fenitrothion	1%	1%	Fenitrothion	250–300 g/ha	II
	Malathion	5%	0.8%	Malathion	500–600 g/ha	III
	Pirimiphos-methyl	–	0.21%	Pirimi-	180–200 g/ha	III
	Temephos	0.003, 0.006, 0.012, 0.02 mg/l.		phos-methyl		
PY	Cyfluthrin	0.15%	0.15%	Cyfluthrin	1–2 g/ha	II
	Deltamethrin	0.03%, 0.05%, 0.15%, 0.30%	0.03%	Deltamethrin	0.5–1.0 g/ha	II
	Lambdacyha	0.03%	0.03%	Lambdacyha	1.0 g/ha	II
	lothrin			lothrin		II
	Permethrin	–	0.25%	Permethrin	10 g/ha	U
	Etofenprox	0.50%	0.50%	Etofenprox	10–20 g/ha	
	Alphacyper	0.03%	0.03%			
	methrin					
	Bifenthrin	0.09%				
	Cypermethrin	0.22%				

* รายงานการทดสอบความไวของยุงพาหะนำโรค ปี 2562 กองโรคติดต่อมาโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

** II = อันตรายนปานกลาง, III = อันตรายเล็กน้อย, U = ไม่น่าจะก่อให้เกิดอันตรายเฉียบพลันในการใช้งานปกติ

วัสดุและวิธีการศึกษา

รูปแบบการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (experimental study) โดยการทดสอบความไวต่อสารเคมีกำจัดแมลงและศึกษาระดับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการทำลาย

ฤทธิ์ของสารเคมีกำจัดแมลงของยุงลายบ้านในห้องปฏิบัติการ และศึกษาประสิทธิภาพและอัตราการใช้ที่เหมาะสมของสารเคมีประเภทฉีดพ่นหมอกควัน เพื่อใช้ในการควบคุมยุงลายบ้านสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง ในสภาพจำลองธรรมชาติ (simulate field

evaluation: caged bioassay)

วัสดุอุปกรณ์และแหล่งทดสอบ

1. ยุงทดสอบ

1.1) ยุงลายบ้านสายพันธุ์ที่ไวต่อสารเคมี
กำจัดแมลง

- ยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ
(National Institute of Health (NIH) strain)

นำไข่ยุง ใส่ลงในถาดพลาสติกที่มีน้ำ
สะอาด รอจนกระทั่งลูกน้ำฟักออกมาจากไข่ จากนั้นเลี้ยง
ลูกน้ำด้วยอาหารปลา จนกระทั่งลูกน้ำกลายเป็นตัวโม่ง
และเก็บตัวโม่งใส่ถ้วยพลาสติก นำไปใส่ไว้ในกรงเพื่อให้
เป็นตัวยุง พร้อมทั้งใส่ขวดเล็ก ๆ ที่มีแสงสลัวๆ
สารละลายน้ำตาล 10% และทำการคัดตัวเต็มวัย เพศเมีย
อายุ 3-5 วัน สำหรับนำไปทดสอบ

1.2) ยุงลายบ้านจากภาคสนาม

- ยุงลายบ้านสายพันธุ์จันทบุรี พื้นที่
หมู่ 2 ต.ปอวิ อ.มะขาม จ.จันทบุรี (พิกัด 12° 42' 19"
N, 102° 14' 12" E)

ออกภาคสนามเก็บลูกน้ำยุงลายบ้านใน
พื้นที่จังหวัดจันทบุรี แล้วนำมาเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการ
ของฝ่ายศึกษาควบคุมแมลงโดยใช้สารเคมี สถาบันวิจัย
วิทยาศาสตร์สาธารณสุข จนได้ตัวเต็มวัย คัดเลือกเฉพาะ
ที่เป็นยุงลายบ้าน นำไปให้กินเลือดหนู เพื่อให้ได้ไข่
ยุงลายบ้านรุ่นที่ 1 นำไข่ยุงรุ่นที่ 1 ที่ได้ไปแช่น้ำให้ไข่ฟัก
และเลี้ยงต่อจนได้ยุงตัวเต็มวัย คัดเลือกยุงลายบ้าน
เพศเมีย อายุ 3-5 วัน นำไปทดสอบ

2. กระดาษชุบสารเคมี

กระดาษชุบสารเคมี 6 ชนิด ที่ระดับความ
เข้มข้นตามค่า diagnostic concentration ที่องค์การ
อนามัยโลกกำหนด ซื้อมาจาก Universiti Sains Malaysia
Penang, Malaysia ร่วมกับองค์การอนามัยโลก ได้แก่
Cyfluthrin 0.15%, Deltamethrin 0.05%, Cyperme-
thrin 0.05%, lambda cyhalothrin 0.03%, Permethrin
0.25% และ Pirimiphos-methyl 0.21%

3. ชุดทดสอบเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการทำลายฤทธิ์ ของสารเคมีกำจัดแมลง

Rapid screening kits ต่อเอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่
esterase, mixed function oxidase และ acetyl cholin-
esterase จาก Institute for Medical Research (IMR),
Ministry of Health, Malaysia ร่วมกับองค์การ
อนามัยโลก

4. สารทดสอบ

- สารเคมี technical grade ได้แก่ temephos
156.25 ppm จาก Universiti Sains Malaysia Penang,
Malaysia ร่วมกับองค์การอนามัยโลก, Alphacyperme-
thrin 97.34%, Cyfluthrin 95%, Cypermethrin 92%,
Deltamethrin 98%, Lambda cyhalothrin 97.25%,
Permethrin 94%, Primiphos-methyl 90%, และ Zeta
Cypermethrin 90%

- เตรียมสารละลายเคมี temephos ให้ได้ความ
เข้มข้นสุดท้าย 0.012 มิลลิกรัม/ลิตร (ค่า WHO diag-
nostic concentration) สำหรับการทดสอบหาระดับความ
ไวต่อสารเคมีต่อลูกน้ำ โดยใช้ 95% ethanol alcohol เป็น
ตัวทำละลาย และเตรียมสารละลายเคมี Alphacyperme-
thrin 2.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (% weight per
volume: % w/v), cyfluthrin 2% w/v, cypermethrin
2.5% w/v, deltamethrin 1% w/v, Lambda Cyhalo-
thrin 1% w/v, permethrin 10% w/v, Pirimi-
phos-methyl 20% w/v, และ Zeta Cypermethrin 2.5%
w/v โดยเจือจางสาร technical grade ของสารเคมีด้วย
ตัวทำละลาย solvesso 100 เพื่อใช้สำหรับการทดสอบ
ประสิทธิภาพของสารเคมีสำหรับฉีดพ่นแบบฟุ้งกระจาย
ประเภทหมอกควัน

5. แผ่นสไลด์เคลือบด้วยแมกนีเซียมออกไซด์

การเก็บละอองบนแผ่นสไลด์เคลือบ
แมกนีเซียมออกไซด์เพื่อประเมินคุณภาพของการพ่น
แบบฟุ้งกระจาย⁽¹⁰⁾ เตรียมโดยนำแผ่นสไลด์ขนาด 25.4
x 76.2 มิลลิเมตร มาเช็ดทำความสะอาดด้วยผ้าสะอาด
แล้วนำมาวางบนแท่นเผาสไลด์ โดยใช้สไลด์จำนวน
4 แผ่นต่อการรมเขม่า 1 ครั้ง จากนั้นเตรียม
ชุดแมกนีเซียมออกไซด์ ขนาดความยาวประมาณ
10 เซนติเมตร จับปลายข้างหนึ่งด้วยปากคีบ และจุดไฟ

ที่ปลายอีกข้างหนึ่ง แล้วนำเข้าไปได้แผ่นสไลด์แผ่นแรก ด้านในสุด ให้ต่ำลงมาประมาณ 2.5 เซนติเมตร ทำการรูดเข้ามาให้เคลือบแผ่นสไลด์อย่างสม่ำเสมอ นำแผ่นสไลด์ที่ผ่านการเคลือบแมกนีเซียมออกไซด์แล้ว เก็บไว้ในกล่องสไลด์ (slide box) เพื่อนำไปใช้เก็บตัวอย่างละอองสารเคมี หลังการทดสอบฉีดพ่นหมอกควันนำสไลด์ที่ผ่านการเก็บละอองแล้วมาวางบนแท่นวางสไลด์ใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจสอบดูละอองสารเคมี

6. พื้นที่ทดสอบการฉีดพ่นหมอกควัน แบบจำลองธรรมชาติ

ศาลาวัด (พื้นที่ขนาด 118 ตารางเมตร) ของวัดดิ่งชัน เลขที่ 300 ถนนชักพระ แขวงคลองชักพระ เขตตลิ่งชัน จังหวัดกรุงเทพมหานคร (พิกัด 13° 46' 43" N, 100° 27' 27" E)

วิธีการทดสอบ

1. การทดสอบความไวของลูกน้ำยุงลายบ้าน ต่อสารเคมี temephos

เติมสารละลาย temephos ที่ความเข้มข้น 0.012 มิลลิกรัม/ลิตร ลงในบีกเกอร์ที่มีน้ำสะอาด 250 มิลลิลิตร คัดเลือกลูกน้ำยุงลายระยะ 3 (ตอนปลาย) หรือ ระยะ 4 (ตอนต้น) โดยใช้กระชอนขนาดเล็กตักใส่บีกเกอร์ บีกเกอร์ละ 25 ตัว จำนวน 4 บีกเกอร์ รวมเป็น 100 ตัว พร้อมชุดเปรียบเทียบ (control) นำบีกเกอร์ทดสอบวางไว้ในที่อุณหภูมิห้อง 30 ± 5 องศาเซลเซียส ปล่อยให้ลูกน้ำสัมผัสกับสารละลาย temephos 0.012 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คำนวณอัตราการตายของลูกน้ำยุงลายหลังสัมผัสสารเคมีครบ 24 ชั่วโมง และใช้เกณฑ์การตัดสินระดับความไวตามเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก⁽⁸⁾ ดังนี้

- อัตราการตายร้อยละ 98-100 หมายถึง ลูกน้ำยุงลายมีความไวต่อสารเคมีระดับสูง
- อัตราการตายร้อยละ 90-97 หมายถึง ลูกน้ำยุงลายมีความไวต่อสารเคมีระดับปานกลาง
- อัตราการตายน้อยกว่าร้อยละ 90 หมายถึง ลูกน้ำยุงลายมีความไวต่อสารเคมีระดับต่ำ

2. การทดสอบหาความไวของยุงลายต่อสารเคมีกำจัดแมลง

เตรียมยุงลายบ้าน เพศเมีย อายุ 3-5 วัน ไม่กินเลือด จำนวน 25 ตัว ใส่ในกระบอกพักยุง (holding tube) แล้วนำกระดาดชุบสารเคมีใส่ลงในกระบอกทดสอบ (exposure tube) ประกอบกระบอกพักกับกระบอกทดสอบเข้าด้วยกัน เป่าจากกระบอกพักให้เข้าไปสัมผัสกับกระดาดชุบสารเคมีที่อยู่ด้านในของกระบอกทดสอบ บันทึกจำนวนยุงที่หยายท้อง ทุกๆ 10 นาที จนครบเวลาทดสอบ 1 ชั่วโมง ถ่ายยุงกลับไปกระบอกพัก แล้วนำไปเลี้ยงต่อ โดยวางสำลีชุบสารละลายน้ำตาล 10% ไว้ด้านบนของกระบอกพัก เพื่อเป็นอาหารของยุง บันทึกผลการตายเมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมง ดำเนินการทดสอบ 4 ซ้ำ พร้อมชุดเปรียบเทียบ (control) และใช้เกณฑ์การตัดสินระดับความไวตามเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก⁽⁸⁾ ดังนี้

- S (Sensitivity) หมายถึง ยุงมีความไวต่อสารเคมีทดสอบในระดับสูง โดยมีอัตราการตายอยู่ระหว่างร้อยละ 98-100
- T (Tolerance) หมายถึง ยุงมีความไวต่อสารเคมีทดสอบในระดับปานกลาง โดยมีอัตราการตายอยู่ระหว่างร้อยละ 90-97
- R (Resistance) หมายถึง ยุงมีความไวต่อสารเคมีทดสอบในระดับต่ำ โดยมีอัตราการตายน้อยกว่าร้อยละ 90

3. การทดสอบระดับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการทำลายฤทธิ์ของสารเคมีกำจัดแมลง

หลักการของชุดทดสอบเอนไซม์ Esterase และ mixed function oxidase คือ ในกรณีที่ยุงมีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงโดยใช้กลไกการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ ปริมาณของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นจะเปลี่ยน substrate เป็น product ที่มากขึ้น ทำให้สีของตัวอย่งมีค่าเข้มข้น สำหรับชุดทดสอบเอนไซม์ Acetyl Cholin-esterase คือ ในกรณีที่ยุงมีความต้านทานต่อสารเคมีโดยใช้กลไกการเปลี่ยนแปลงของตำแหน่งการออกฤทธิ์เมื่อมีสารเคมีกำจัดแมลงเข้าไปจับ เอนไซม์ acetyl cholin-

esterase จะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างทำให้สารเคมีไม่สามารถจับเอนไซม์ได้ ซึ่งทำให้เอนไซม์ยังคง active อยู่ ซึ่งสามารถเปลี่ยน substrate เป็น product ที่สีเข้มขึ้น การทดสอบโดยนำยุงลายบ้าน เพศเมีย อายุ 3-5 วัน ไม่กินเลือด มาทำการบดด้วยสารละลาย buffer ของชุดทดสอบเอนไซม์แต่ละชนิด จำนวน 1 ตัว/1 หลอด นำสารละลายจากการบดยุงลาย หยดลงในหลุม microplate ดำเนินการหาค่าสารละลายต่างๆ ตามขั้นตอนที่ระบุมาในชุดทดสอบของแต่ละเอนไซม์ จนเสร็จสิ้นขั้นตอนในการพัฒนาสีของตัวอย่างทดสอบ จากนั้นนำไปวัดค่าความดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ค่าความยาว คลื่นแสงดังนี้ esterase และ mixed function oxidase ที่ 620 นาโนเมตร (nanometre: nm) และ Acetyl Cholinesterase ที่ 405 nm ค่าที่วัดได้จะเป็นค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) หรือ optical density (OD)

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีสำหรับฉีดพ่นแบบฟุ้งกระจายประเภทหมอกควันในการกำจัดยุงลายบ้านสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง

ผสมสารเคมีกับน้ำมันดีเซลให้มีความเข้มข้นตามอัตราการใช้ดังนี้ Alpha Cypermethrin 2.5 กรัม/เฮกตาร์, Cyfluthrin 2 กรัม/เฮกตาร์, cypermethrin 2.5 กรัม/เฮกตาร์, deltamethrin 1 กรัม/เฮกตาร์, Lambda Cyhalothrin 1 กรัม/เฮกตาร์, Permethrin 10 กรัม/เฮกตาร์, Zeta Cypermethrin 2.5 กรัม/เฮกตาร์ และ Abbott's formula:

$$\text{อัตราการตายที่แท้จริง} = \frac{\text{อัตราการตายของยุงในชุดทดสอบ} - \text{อัตราการตายของยุงในชุดเปรียบเทียบ}}{100 - \text{อัตราการตายของยุงในชุดเปรียบเทียบ}} \times 100$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

คำนวณหาอัตราการตายของลูกน้ำและยุงตัวเต็มวัยที่ 24 ชั่วโมงหลังการทดสอบ สำหรับการทดสอบความไวของลูกน้ำและยุงลายต่อสารเคมีกำจัดแมลงและการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีสำหรับฉีดพ่นแบบฟุ้งกระจายประเภทหมอกควันในการกำจัดยุงลายบ้านสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง และหาค่าเฉลี่ย (mean) การดูดกลืนแสงหรือค่าเฉลี่ย OD สำหรับการศึกษาระดับเอนไซม์

Pirimiphos-methyl 200, 100, 75, 50 และ 20 กรัม/เฮกตาร์ ตรวจวัดอัตราการไหล (flow rate) ของน้ำยาเคมีเพื่อหาระยะเวลาในการฉีดพ่น จากนั้นนำกรงยุงที่ทำจากลวดตาข่าย รูปทรงกระบอกขนาด 4.5 X 14 เซนติเมตร ที่มียุงลายทดสอบจำนวน 10 ตัว/กรง โดยใช้ยุงลายสายพันธุ์จันทบุรีและสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการสายพันธุ์ละ 10 กรง นำไปแขวนบนสแตนดาร์ดที่วางอยู่ในตำแหน่งต่าง ๆ ของห้องทดสอบ (ศาลา วัดตลิ่งชัน) จำนวน 10 จุด โดยห่างจากจุดพ่นสารเคมีเป็นรัศมีระหว่าง 5-10 เมตร พร้อมวางแผ่นสไลด์ที่เคลือบด้วยแมกนีเซียมออกไซด์ด้านบนของสแตนดาร์ด ทำการฉีดพ่นสารเคมีที่อัตราฉีดพ่นตามที่กำหนดและเริ่มจับเวลาให้แมลงสัมผัสผลของเคมีนาน 30 นาที บันทึกอุณหภูมิและความชื้นในขณะทำการทดสอบ หลังจากครบเวลาทดสอบ 30 นาที เปิดหน้าต่างประตูระบายควันสารเคมีเก็บยุงทดสอบใส่ในภาชนะสะอาด นับจำนวนยุงทดสอบที่หายท้อง (knockdown) วางสำลิจับสารละลายน้ำตาล 10% บนภาชนะใส่ยุงและนำไปเลี้ยงต่อที่อุณหภูมิห้องและบันทึกผลการตายที่ 24 ชั่วโมง ดำเนินการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ พร้อมชุดเปรียบเทียบ (control)

ในการทดสอบหากพบยุงในชุดเปรียบเทียบมีการตายอยู่ระหว่าง ร้อยละ 5-20 ให้ปรับอัตราการตายของยุงด้วย Abbott's formula⁽¹¹⁾ แต่ถ้ายุงตายมากกว่าร้อยละ 20 ให้ทำการทดสอบใหม่

ที่เกี่ยวข้องในการทำลายฤทธิ์ของสารเคมีกำจัดแมลงของยุงลาย

การวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาความแตกต่างของระดับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการทำลายฤทธิ์ของสารเคมีกำจัดแมลงของยุงลายโดยใช้วิธี Independent-Samples t-test และความแตกต่างของอัตราการตายของยุงหลังสัมผัสกับสารเคมีฉีดพ่นแบบฟุ้งกระจายแต่ละชนิดโดยใช้วิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

ผลการศึกษา

1. การทดสอบความไวของลูกน้ำยุงลายบ้าน ต่อสารเคมี temephos

การทดสอบความไวของลูกน้ำยุงลายบ้านจากจังหวัดจันทบุรีพบว่า ลูกน้ำมีระดับความไวต่อสารเคมี temephos ระดับต่ำ โดยมีอัตราการตายร้อยละ 13.50 เปรียบเทียบกับยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ (NIH strain) มีอัตราการตาย ร้อยละ 100.00

2. การทดสอบความไวของยุงลายบ้านต่อสารเคมีกำจัดแมลง

ตารางที่ 2 ระดับความไวต่อสารเคมีชนิดต่าง ๆ ของยุงลายบ้านจากจังหวัดจันทบุรี

สารเคมี	กลุ่มสารเคมี	ความเข้มข้น	ร้อยละการตายของยุงที่ 24 ชั่วโมงหลังการทดสอบ	ระดับความไวต่อสารเคมีของยุงทดสอบ*
Cyfluthrin	PY	0.15%	7.80	R
Deltamethrin	PY	0.05%	2.90	R
Cypermethrin	PY	0.05%	2.00	R
Lambda cyhalothrin	PY	0.03%	0	R
Permethrin	PY	0.25%	0	R
Pirimiphos-methyl	OP	0.21%	0	R

* R (resistance) หมายถึง ยุงมีความไวต่อสารเคมีทดสอบในระดับต่ำ โดยมีอัตราการตายน้อยกว่าร้อยละ 90

3. การทดสอบระดับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการทำลายฤทธิ์ของสารเคมีกำจัดแมลง

ผลการวิเคราะห์เอนไซม์ esterase พบว่าค่าเฉลี่ย OD ของยุงลายจังหวัดจันทบุรีและยุงลายสายพันธุ์มาตรฐานห้องปฏิบัติการ (NIH strain) มีค่าเท่ากับ 2.59 และ 0.71 ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์เอนไซม์ mixed function oxidase พบว่าค่าเฉลี่ย OD ของจังหวัดจันทบุรีและยุงลายสายพันธุ์มาตรฐานห้องปฏิบัติการ มีค่าเท่ากับ

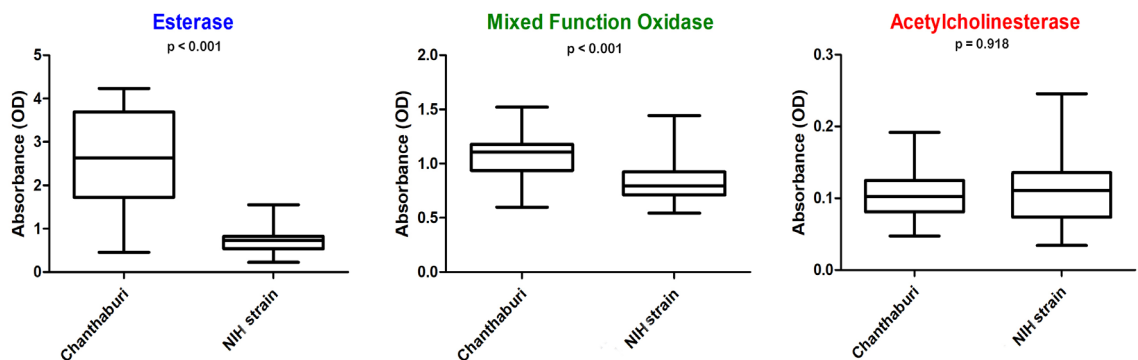
การทดสอบความไวของยุงลายบ้านจากจังหวัดจันทบุรี กับกระดาดชุบสาร Cyfluthrin 0.15%, Deltamethrin 0.05%, Cypermethrin 0.05%, Lambda Cyhalothrin 0.03%, Permethrin 0.25% และ Pirimiphos-methyl 0.21% จากองค์การอนามัยโลก พบว่ายุงลายบ้านมีอัตราการตายร้อยละ 7.80, 2.90, 2.00, 0, 0 และ 0 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายุงลายมีการสร้างต้านทานต่อสารเคมีทุกชนิดที่ทดสอบ ดังแสดงในตารางที่ 2

1.07 และ 0.85 ตามลำดับ ซึ่งค่าเฉลี่ย OD ของเอนไซม์ทั้งสองชนิดของยุงลายจังหวัดจันทบุรีมีค่าสูง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) เมื่อเทียบกับยุงลายสายพันธุ์มาตรฐานห้องปฏิบัติการ สำหรับเอนไซม์ Acetyl cholinesterase พบว่าค่าเฉลี่ย OD ของยุงลายจังหวัดจันทบุรีและยุงลายสายพันธุ์มาตรฐานจากห้องปฏิบัติการอยู่ในระดับต่ำไม่แตกต่างกัน ($p = 0.918$) ดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 1

ตารางที่ 3 ระดับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการทำลายฤทธิ์ของสารเคมีกำจัดแมลง (ค่าเฉลี่ย OD) ของยุงลายจากจังหวัดจันทบุรีและยุงลายสายพันธุ์มาตรฐานห้องปฏิบัติการ (NIH strain) ที่มีความไวต่อสารเคมีกำจัดแมลง

ยุงลายบ้าน	เอนไซม์								
	Esterase (N=30)*			Mixed Function Oxidase (N=30)			Acetylcholinesterase (N=20)		
	Mean OD	SD	95 % Confidence intervals	Mean OD	SD	95 % Confidence intervals	Mean OD	SD	95 % Confidence intervals
จันทบุรี	2.59	1.16	2.17-3.00	1.07	0.22	0.99-1.15	0.11	0.04	0.09-0.13
NIH-Lab	0.71	0.26	0.62-0.80	0.85	0.22	0.77-0.93	0.11	0.05	0.09-0.13

*N=จำนวนยุงที่ทดสอบ



ภาพที่ 1 การกระจาย Box plot ของค่า Absorbance หรือค่า Optical density (OD) ของเอนไซม์ (a) esterase, (b) mixed function oxidase และ (c) acetylcholinesterase ของยุงลายจากจังหวัดจันทบุรีเปรียบเทียบกับยุงลายสายพันธุ์มาตรฐานห้องปฏิบัติการ (NIH strain) ที่มีความไวต่อสารเคมีกำจัดแมลง

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี สำหรับฉีดพ่นแบบฟุ้งกระจายประเภทหมอกควันในการกำจัดยุงลายบ้านสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีสำหรับฉีดพ่นแบบฟุ้งกระจายประเภทหมอกควันในการกำจัดยุงลายบ้านสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง โดยสารเคมีที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ Permethrin (10 กรัม/เฮกตาร์), Cypermethrin (2.5 กรัม/เฮกตาร์), Lambda cyhalothrin (1 กรัม/เฮกตาร์), Deltamethrin (1 กรัม/เฮกตาร์), Cyfluthrin (2 กรัม/เฮกตาร์) และ Pirimiphos-methyl (200 กรัม/เฮกตาร์) ซึ่งเป็นอัตราการใช้สูงสุดตามคำแนะนำขององค์การ

อนามัยโลก ทดสอบฉีดพ่นหมอกควันในสภาพจำลองธรรมชาติ พบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดยุงลายบ้านสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงจากจังหวัดจันทบุรีได้ ร้อยละ 0.30, 1.00, 1.30, 4.00, 6.70 และ 99.70 ตามลำดับ สำหรับสาร alphacypermethrin และ Zeta cypermethrin ที่อัตราการใช้ 2.5 กรัม/เฮกตาร์ พบว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดยุงลายบ้านสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงจากจังหวัดจันทบุรีได้ ร้อยละ 5.30 และ 5.70 ตามลำดับ ในขณะที่ยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ (NIH strain) พบว่ามีอัตราการตาย ร้อยละ 100.00 หลังการสัมผัสกับสารเคมีทดสอบทุกชนิด

สำหรับสารเคมีกลุ่ม OP คือ Pirimiphos-methyl ได้ถูกนำมาทดสอบเพิ่มเติมที่ชุดอัตราการใช้ที่น้อยกว่า อัตราการใช้สูงสุด (200 กรัม/เฮกตาร์) เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดยุงลายบ้าน สายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงจากจังหวัดจันทบุรี พบว่าที่อัตราการใช้ 100, 75, 50 และ 20 กรัม/เฮกตาร์มีประสิทธิภาพในการกำจัดยุงลายบ้าน สายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงจากจังหวัดจันทบุรีได้ ร้อยละ 97.70, 54.80, 41.70 และ 13.70 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4 ผลการตรวจสอบตัวอย่างละอองเคมีจากเครื่องพ่นที่ฉีดพ่นสารไปสู่เป้าหมายแมลงพาหะบนแผ่นสไลด์เคลือบด้วยแมกนีเซียมออกไซด์พบว่าทุกตำแหน่งที่วางกรงยุงทดสอบมีละอองจากสารเคมีที่ฉีดพ่นตกกระทบบน สไลด์ซึ่งแสดงให้เห็นว่าละอองสารเคมีจากเครื่องพ่นได้

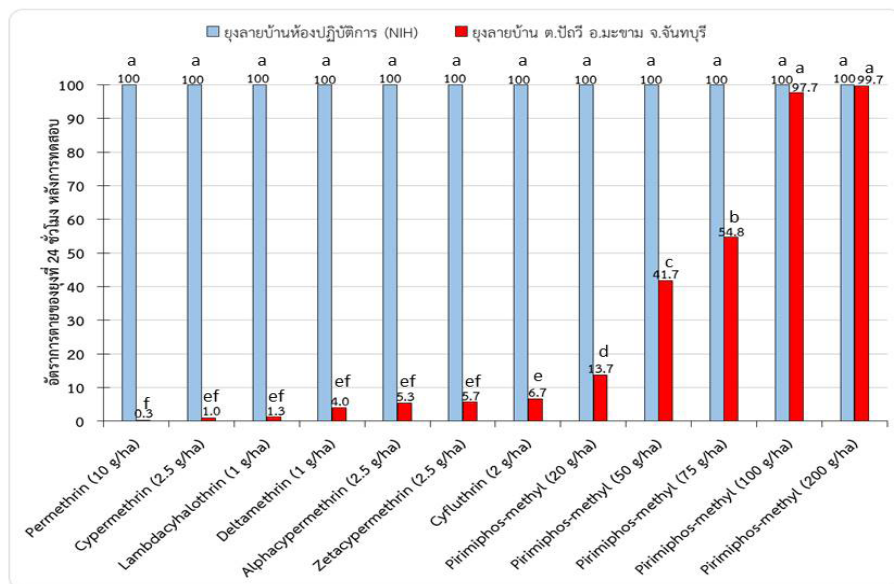
ฉีดพ่นสารไปสู่แมลงเป้าหมาย

เมื่อเปรียบเทียบอัตราการตายที่ 24 ชั่วโมง หลังการสัมผัสสารเคมี พบว่าสารเคมีในกลุ่ม pyrethroids มีผลทำให้ยุงลายบ้านสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงจากจังหวัดจันทบุรีตายในระดับต่ำ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีในกลุ่ม organophosphates คือ Pirimiphos-methyl การเปรียบเทียบอัตราการตายของยุงลายบ้านจันทบุรีต่อสาร pirimiphos-methyl ที่อัตราการใช้ 100 และ 200 กรัมต่อเฮกตาร์ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) และพบว่ามีผลทำให้ยุงลายบ้านสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงจากจังหวัดจันทบุรีตายสูง (ร้อยละ 97.70–99.70) ไม่แตกต่างจากยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ ดังแสดงในภาพที่ 2

ตารางที่ 4 อัตราการตายที่เวลา 24 ชั่วโมงของยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ และยุงลายบ้าน หมู่ 2 ต.ปิลิว อ.มะขาม จ.จันทบุรี หลังการทดสอบฉีดพ่นสารเคมีแบบฟุ้งกระจายประเภทหมอกควัน

สารเคมี	กลุ่มสารเคมี	อัตราการใช้ (กรัม/เฮกตาร์)	ร้อยละการตายของยุง ที่ 24 ชั่วโมงหลังการทดสอบ	
			ยุงลายบ้านสายพันธุ์ ห้องปฏิบัติการ	ยุงลายบ้าน หมู่ 2 ต.ปิลิว อ.มะขาม จ.จันทบุรี
Permethrin	PY	10*	100	0.30
Cypermethrin	PY	2.5*	100	1.00
Lambdacyhalothrin	PY	1*	100	1.30
Deltamethrin	PY	1*	100	4.00
Alphacypermethrin	PY	2.5	100	5.30
Zetacypermethrin	PY	2.5	100	5.70
Cyfluthrin	PY	2*	100	6.70
Pirimiphos-methyl	OP	20	100	13.70
Pirimiphos-methyl	OP	50	100	41.70
Pirimiphos-methyl	OP	75	100	54.80
Pirimiphos-methyl	OP	100	100	97.70
Pirimiphos-methyl	OP	200*	100	99.70

* อัตราการใช้สูงสุดตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก



ภาพที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบอัตราการตายที่ 24 ชั่วโมงของยุงลายบ้านห้องปฏิบัติการ (NIH strain) และยุงลายบ้าน หมู่ 2 ต.ป.อ. อ.มะขาม จ.จันทบุรี หลังการทดสอบฉีดพ่นสารเคมีชนิดต่าง ๆ แบบฟุ้งกระจายประเภทหมอกควัน (ตัวอักษร a, b, c, d, e และ f ที่เหมือนกันในแต่ละชนิดของสารเคมี แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%, Duncan's new multiple range test)

วิจารณ์

จากผลการศึกษาความไวของลูกน้ำยุงลายต่อสารเคมีกำจัดแมลง พบว่า ลูกน้ำยุงลายจากพื้นที่ศึกษาในจังหวัดจันทบุรี มีการสร้างภูมิต้านทานในระดับสูง ต่อสาร temephos ที่ความเข้มข้น 0.012 มิลลิกรัม/ลิตร (diagnostic dose) อย่างไรก็ตามในการใช้งานเพื่อควบคุมลูกน้ำในพื้นที่ จะใช้ความเข้มข้นของสาร temephos ที่อยู่ในรูปของทรายกำจัดลูกน้ำ ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ temephos 1% w/w คือ 1 ppm ซึ่งมีความเข้มข้นสูงกว่า diagnostic dose 83.3 เท่า การสร้างภูมิต้านทานต่อสาร temephos ของลูกน้ำยุงลายบ้านพบว่าการรายงานในหลายพื้นที่ของประเทศไทย Manop Sae-ung และคณะ (2020)⁽¹²⁾ ได้รวบรวมข้อมูลระหว่างปี 2542-2562 พบว่ายุงลายบ้าน 73 พื้นที่จาก 206 พื้นที่ศึกษาที่มีความต้านทานต่อสาร temephos ในขณะที่ยุงลายสวน (*Aedes albopictus*) มีเพียง 3 พื้นที่จาก 11 พื้นที่ศึกษาที่มีความต้านทานต่อสาร temephos ในระดับต่ำ รวมถึงประเทศเพื่อนบ้านอย่างพม่า ลาว กัมพูชา มาเลเซีย

และสิงคโปร์ พบทั้งยุงลายบ้านและยุงลายสวนมีความต้านทานต่อสารชนิดนี้ ประเทศไทยมีการใช้ทรายเคลือบสารเคมี temephos ในการกำจัดลูกน้ำยุงลายบ้านตั้งแต่ปี 2493 และมีการรายงานความต้านทานของลูกน้ำยุงลายบ้านต่อสาร temephos ครั้งแรกในกรุงเทพฯ เมื่อปี 2529⁽¹³⁾ จึงเป็นไปได้ว่าลูกน้ำยุงลายบ้านได้รับสาร temephos อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานและลูกน้ำยุงลายอาจเกิดการพัฒนาความต้านทานข้าม (cross-resistance) จากการใช้สารเคมี PY หรือสารเคมีอื่น ๆ ในกลุ่ม OP ในการควบคุมยุงลายตัวเต็มวัยและ/หรือแมลงอื่น ๆ รวมถึงแมลงทางการเกษตร⁽¹⁴⁾ การติดตาม และประเมินความต้านทานของลูกน้ำยุงลายต่อสารเคมีที่ใช้ในพื้นที่อย่างสม่ำเสมอ รวมถึงการปรับเปลี่ยนวิธีการควบคุมกำจัดลูกน้ำโดยใช้สารกำจัดลูกน้ำชนิดอื่น ๆ แทนการใช้สาร temephos เช่น แบคทีเรียกำจัดลูกน้ำ (*Bacillus thuringiensis israelensis*) หรือสารยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลง (insect growth regulator) รวมถึงมาตรการผสมผสานในการกำจัดลูกน้ำยุงลายด้วยวิธีอื่น ๆ มีความ

จำเป็นเพื่อป้องกันการสร้างความต้านทานของลูกน้ำในพื้นที่ต่อสาร temephos ที่เพิ่มมากขึ้น ผลการศึกษาความไวของยุงลายต่อสารเคมีกำจัดแมลงพบว่ายุงลายมีความต้านทานต่อสารเคมีทดสอบในกลุ่ม PY ทุกชนิด รวมถึงสารเคมีกลุ่ม OP คือสาร Pirimiphos-methyl 0.21% ที่ใช้ทดสอบ จากการสอบถามข้อมูลในพื้นที่ศึกษาพบว่ามีการใช้สาร deltamethrin ในการฉีดพ่นควบคุมกำจัดยุงลายเป็นระยะเวลาต่อเนื่องนานหลายปี รวมทั้งในพื้นที่ศึกษา คือ หมู่ 2 ต.ปัทวิ อ.มะขาม จ.จันทบุรี ซึ่งพบว่าพื้นที่ส่วนใหญ่มีการทำสวนผลไม้เป็นจำนวนมาก เช่นทุเรียน เงาะ และมังคุด เป็นต้น พื้นที่สวนผลไม้เหล่านี้มักเป็นพื้นที่ที่อยู่ใกล้เคียงหรือติดติดกับบ้านเรือนที่อยู่อาศัย ชาวบ้านในพื้นที่มีการใช้สารเคมีหลากหลายชนิด เช่น Cypermethrin, Chlorpyrifos, Pirimiphos-methyl, Lambda cyhalothrin และ fipronil เป็นต้น เพื่อใช้ในการฉีดพ่นกำจัดแมลงทางการเกษตร จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ยุงลายในพื้นที่ศึกษาเกิดการพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่าง ๆ ได้ จากรายงานของวิชัย สติมัย (2010)⁽¹⁵⁾ พบว่าหน่วยงานองค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นในเขตจังหวัดภาคตะวันออก มีการใช้สารเคมีในการพ่นควบคุมยุงลาย ร้อยละ 100 ของทั้งหมด 9 จังหวัดที่ทำการศึกษ สารเคมีหลักที่ใช้มี 2 กลุ่ม คือกลุ่ม OP และกลุ่ม PY โดยสารเคมีที่นิยมใช้มากที่สุดในการพ่นกำจัดยุงระยะตัวเต็มวัย คือ cypermethrin ผลการศึกษาความไวต่อสารเคมีกำจัดแมลงของยุงลายบ้านในพื้นที่ 4 จังหวัด ได้แก่ สระแก้ว ระยอง จันทบุรี และตราด พบว่า ยุงลายทั้ง 4 จังหวัด มีความต้านทานต่อ Permethrin 0.75%, Lambda cyhalothrin 0.05%, Cyfluthrin 0.15% และ Deltamethrin 0.05% แต่ยุงลายยังมีความไวระดับสูงต่อ Malathion 5% และ Fenitrothion 5%

การศึกษาระดับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการทำลายฤทธิ์ของสารเคมีกำจัดแมลงพบว่ายุงลายจากพื้นที่ศึกษาในจังหวัดจันทบุรีมีระดับเอนไซม์ Esterase และ mixed function oxidase ในระดับสูง เมื่อเทียบกับยุงลายสายพันธุ์มาตรฐานห้องปฏิบัติการ (NIH strain) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในประเทศลาวที่พบว่ายุงลายบ้านสายพันธุ์

ธรรมชาติ (natural field strains) สร้างความต้านทานต่อ Permethrin และ Deltamethrin มีระดับเอนไซม์ esterase และ oxidase ในระดับสูงเมื่อเทียบกับยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ⁽¹⁶⁾ เอนไซม์กลุ่ม esterase นี้เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการทำลายโมเลกุลของสารฆ่าแมลงทำให้แมลงสามารถย่อยสลายหรือกำจัดสารพิษ (detoxification) จากสารฆ่าแมลงได้สูงขึ้น มักพบในแมลงที่มีความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงกลุ่ม PY กลุ่ม OP และกลุ่ม CA⁽¹⁷⁾ สำหรับเอนไซม์ mixed function oxidase เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างความต้านทานต่อสารเคมีข้ามระหว่างสารกลุ่ม OC เช่นสาร dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) และสารในกลุ่ม PY เนื่องจากมีกลไกการออกฤทธิ์เดียวกัน⁽¹⁷⁾ ในขณะที่ผลการวิเคราะห์เอนไซม์ acetylcholinesterase ที่เป็นเอนไซม์ยับยั้งการทำงานของสารสื่อประสาท Acetyl choline ซึ่งเป็นบริเวณเป้าหมายการออกฤทธิ์ของสารฆ่าแมลงกลุ่ม OP และกลุ่ม CA ของยุงลายบ้าน พบว่าค่าเฉลี่ย OD อยู่ในระดับต่ำ แสดงว่าเอนไซม์ยังคงมีความไว (sensitive) ต่อสารฆ่าแมลงในกลุ่ม OP อยู่ อาจเป็นไปได้ว่าการฉีดพ่นควบคุมกำจัดยุงลายของพื้นที่ศึกษามีการใช้สารเคมีกลุ่ม PY เป็นหลัก จึงทำให้ยุงลายยังคงมีความไวสูงต่อสารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่ม OP และ CA

จากข้อมูลศึกษาวิจัยแสดงให้เห็นว่ายุงลายจากพื้นที่ศึกษาเป็นยุงลายสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะสารในกลุ่ม PY เมื่อนำประชากรยุงลายกลุ่มนี้มาศึกษาเพิ่มเติมถึงความต้านทานต่อสารเคมีฉีดพ่นแบบฟุ้งกระจายประเภทหมอกควันในสภาพจำลองธรรมชาติ พบว่าสารเคมีในกลุ่ม PY ทั้งหมดที่ทดสอบมีประสิทธิภาพที่ไม่เพียงพอในการกำจัดยุงลายบ้านสายพันธุ์ต้านทานสารเคมีกำจัดแมลง แต่การศึกษาวิจัยพบว่าสารเคมีทดสอบที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในกำจัดยุงลายบ้านสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง คือสาร Pirimiphos-methyl ที่อัตราการใช้ 100 และ 200 กรัม/เฮกตาร์ สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์เอนไซม์ที่พบว่ายุงลายในพื้นที่ศึกษาไม่ได้ใช้กลไกการต่อต้าน Acetyl cholinester-

ase เป็นหลัก ดังนั้นสารเคมี Pirimiphos-methyl ในกลุ่ม OP ยังคงสามารถใช้ควบคุมยุงลายในพื้นที่ศึกษาได้ สาร Pirimiphos-methyl ที่อัตราการใช้ 100 กรัม/เฮกตาร์ เป็นอัตราการใช้ที่ต่ำที่สุด สำหรับสาร OP เดียวที่ยังคงมีประสิทธิภาพสูงในควบคุมยุงลายบ้านที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงโดยให้ผลทดสอบไม่แตกต่างจากอัตราการใช้สูงสุดที่องค์การอนามัยโลกแนะนำ คือ 200 กรัม/เฮกตาร์ สำหรับผลการศึกษาคความไวของยุงลายต่อสารเคมีกำจัดแมลงที่พบว่ายุงลายมีความต้านทานต่อสารเคมี Pirimiphos-methyl 0.21% เนื่องด้วยความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบดังกล่าวเป็นความเข้มข้นที่มาจากการทดสอบกับยุงก้นปล่อง (*Anopheles spp.*) และถูกใช้เป็นความเข้มข้นทดสอบชั่วคราว (tentative dose) สำหรับการทดสอบยุงลายบ้าน⁽⁸⁾ จึงเป็นไปได้ที่จะพบว่ายุงลายจากพื้นที่มีระดับความไวต่อสารเคมีทดสอบในระดับต่ำจากการทดสอบโดยการสัมผัสกับกระดาดชุปสาร Pirimiphos-methyl 0.21% แต่พบว่าสารดังกล่าวยังคงมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดยุงลายจากการทดสอบโดยการฉีดพ่นแบบฟุ้งกระจาย และจากผลการศึกษาที่พบว่าลูกน้ำยุงลายมีการสร้างความต้านทานในระดับสูงต่อสาร temephos แต่ยังคงมีความไวต่อสาร Pirimiphos-methyl เมื่อฉีดพ่นควบคุมที่อัตราการใช้ 100 หรือ 200 กรัม/เฮกตาร์ แสดงให้เห็นว่ายุงลายในพื้นที่ศึกษายังคงไม่มีการสร้างความต้านทานข้ามเกิดขึ้นระหว่าง temephos กับ Pirimiphos-methyl อย่างชัดเจน แม้ว่าจะเป็นสารเคมีในกลุ่ม OP เหมือนกัน ในประเทศสิงคโปร์โครงการควบคุมพาหะนำโรคไข้เลือดออกได้มีการเปลี่ยนกลุ่มสารเคมีที่ไม่ใช่กลุ่ม PY เพื่อควบคุมยุงลายที่มีความต้านทานสารต่อ Permethrin (PY) โดยเลือกใช้สาร Pirimiphos-methyl (OP) ซึ่งพบว่าสารนี้มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมยุงลายที่มีความต้านทานต่อสาร permethrin⁽¹⁸⁾ อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนกลุ่มสารเคมีในการฉีดพ่นควบคุมยุงลายตัวเต็มวัยในทางสาธารณสุข อาจไม่ได้ทำให้ปัญหาการสร้างความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม PY ของยุงลายหมดไป เนื่องจากสาเหตุส่วนหนึ่งเป็น

ผลมาจากการใช้ผลิตภัณฑ์พร้อมใช้กำจัดแมลงในบ้านเรือน ซึ่งผลิตภัณฑ์ประเภทนี้มักจะมีสารในกลุ่ม PY เป็นสารออกฤทธิ์สำคัญ จึงทำให้เกิดกลไกการสร้างความต้านทานข้ามระหว่างกลุ่มของสารเคมีได้⁽¹⁸⁻¹⁹⁾ ดังนั้นการใช้ผลิตภัณฑ์พร้อมใช้เหล่านี้ต้องมีการใช้อย่างระมัดระวังและควรใช้เท่าที่จำเป็น ข้อมูลในการศึกษาวิจัยครั้งนี้มีความน่าสนใจในการพิจารณาสาร Pirimiphos-methyl สำหรับให้เป็นทางเลือกในการฉีดพ่นควบคุมและกำจัดยุงลาย โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคไข้เลือดออกและยุงลายในพื้นที่ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีในกลุ่ม PY และควรมีการตรวจสอบการสร้างความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในการควบคุมยุงลายพาหะอย่างต่อเนื่องรวมถึงควรมีการสลับหมุนเวียนการใช้สารเคมีกำจัดแมลงที่มีกลไกการออกฤทธิ์แตกต่างกัน เพื่อเป็นการป้องกันการสร้างความต้านทานในยุงลายพาหะในพื้นที่ การศึกษาวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงกลไกการสร้างความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงของยุงลายพาหะในพื้นที่ รวมถึงได้ทราบชนิดสารเคมีและอัตราการใช้ที่มีประสิทธิภาพในการฉีดพ่นแบบหมอกควันเพื่อควบคุมกำจัดยุงลายบ้านที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงในสภาพจำลองธรรมชาติ อย่างไรก็ตามการฉีดพ่นสารเคมีในสภาพการปฏิบัติงานจริง ยังคงมีปัจจัยต่างๆ ที่อาจทำให้ประสิทธิภาพในการฉีดพ่นควบคุมยุงลายลดลง และสารเคมีที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นสูตรสารเดี่ยว ซึ่งสูตร PY เดี่ยวยังคงประสิทธิภาพไม่เพียงพอสำหรับควบคุมยุงลายพาหะในพื้นที่ศึกษา การศึกษาเพิ่มเติมที่กำลังดำเนินการต่อไป เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงในสูตรผสมต่างๆ เช่น PY+สารเสริมฤทธิ์ (synergist) เช่น Piperonyl butoxide (PBO), OP+PY และ OP+PY+สารเสริมฤทธิ์ โดยหาอัตราการใช้ที่ต่ำที่สุด แต่ยังคงมีประสิทธิภาพสูงในควบคุมยุงลายบ้านที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง รวมถึงการทดสอบสารเคมีกำจัดแมลงสูตรต่างๆ ในภาคสนาม (field test) เพื่อเป็นการประเมินและยืนยันผลการศึกษา และเพื่อเป็นทางเลือกในการเลือกใช้สารเคมีในการฉีด

พันควบคุมกำจัดยุงพาหะที่เป็นสาเหตุของการระบาดของโรคไข้เลือดออกให้ได้ผลดีที่สุดที่แท้จริง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้อำนวยการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้การสนับสนุนการดำเนินงานวิจัย ขอขอบคุณฝ่ายพิพิธภัณฑสถานและอนุกรมวิธานและสนับสนุนงานกีฏวิทยา ที่ให้การสนับสนุนยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการสำหรับใช้ในการทดสอบ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และชาวบ้าน หมู่ 2 ต.ป้อมวิ อ.มะขาม จ.จันทบุรี ที่ให้การอนุเคราะห์ในการเข้าเก็บตัวอย่างลูกน้ำยุงและให้ข้อมูลเกี่ยวกับการใช้สารเคมีกำจัดแมลงในพื้นที่ศึกษา ขอขอบคุณบริษัทเคมฟลิต จำกัด บริษัทวินเวฟซัพพลาย จำกัด บริษัทโฟรท์เคม เทรตติ้ง จำกัด และบริษัทเชอร์วูด คอร์ปอเรชั่น (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) ที่สนับสนุนสารเคมี Technical grade สำหรับใช้ในการทดสอบ ขอขอบคุณและขอแสดงความอาลัยแด่ Dr. Michael J. Bangs นักวิจัยและที่ปรึกษาของ Public Health & Malaria Control Department, International SOS, Kuala Kencana, Papua, Indonesia อาจารย์ผู้เป็นที่รักยิ่งของลูกศิษย์ ในการให้คำปรึกษาและตรวจแก้ไขบทคัดย่อภาษาอังกฤษ รวมทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ฝ่ายศึกษาควบคุมแมลงโดยใช้สารเคมีและบุคคลที่ไม่ได้เอ่ยนาม ที่มีส่วนช่วยในการศึกษาวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Alejandra MS, Jesus OV. Chemical control of *Aedes aegypti*: a historical perspective. Rev Costarr Salud Pública. 2013;22:68–75.
- Chareonviriyaphap T, Bangs MJ, Suwonkerd W, Kongmee M, Corbel V, Ngoen-Klan R. Review of insecticide resistance and behavioral avoidance of vectors of human diseases in Thailand. Parasites & Vectors. 2013;6(1):280–308.
- Sirisopa P, Thanispong K, Chareonviriyaphap T, Juntarajumnong W. Resistance to synthetic pyrethroids in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand. Kasetsart J (Nat Sci.) 2014;48:577–86.
- Amelia-Yap ZH, Chen CD, Sofian-Azirun M, Low VL. Pyrethroid resistance in the dengue vector *Aedes aegypti* in Southeast Asia: present situation and prospects for management. Parasites & Vectors. 2018;11(1):332.
- Isabelle D, Veronique T, Pascal G, Jean I, Romuald C, Romain G. Multiple insecticide resistance in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) populations compromises the effectiveness of dengue vector control in French Guiana. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2011;106(3):346–52.
- Suraporn S. Mechanism of insecticide resistance to insect. Prawarun Agr J. 2019;16(1):34–48. (in Thai)
- Division of vector borne diseases, Department of disease control, Ministry of public health, THAILAND [Internet]. 2020. [cited 2020 Oct 19]. Available from: <https://drive.google.com/drive/folders/1iWq0H64kdUDVwXaB-zQGKzXka281PVdrm>
- World Health Organization. Monitoring and managing insecticide resistance in *Aedes mosquito* populations Interim guidance for entomologists. Geneva: World Health Organization; 2016.
- World Health Organization. Pesticides and their application for the control of vectors and pests of public health importance. Geneva: World Health Organization; 2006.
- World Health Organization. Guidelines for

- efficacy testing of insecticides for indoor and outdoor ground- applied space spray applications. Geneva: World Health Organization; 2009.
11. Abbott WS. A method for computing the effectiveness of an insecticide. 1925. J Am Mosq Control Assoc. 1987;3(2):302-3.
 12. Saeung M, Ngoen-Klan R, Thanispong K, Muenworn V, Bangs MJ, Chareonviriyaphap T. Susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) to Temephos in Thailand and surrounding countries. J Med Ent. 2020;57(4):1207-20.
 13. Chareonviriyaphap T, Aum-Aung B, Ratana-tham S. Current insecticide resistance patterns in mosquito vectors in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth. 1999;30(1):184-94.
 14. Corbel V, Durot C, Achee NL, Chandre F, Coulibaly MB, David JP, et al. Second WIN International Conference on “Integrated approaches and innovative tools for combating insecticide resistance in vectors of arboviruses”, October 2018, Singapore. Parasites & Vectors. 2019;12(1):331.
 15. Satimai W. The study of using and insecticide resistant in the Eastern Thailand. J Vec-borne Dis. 2010;7:18-30.
 16. Marcombe S, Fustec B, Cattel J, Chonephetsarath S, Thammavong P, Phommavan N, et al. Distribution of insecticide resistance and mechanisms involved in the arbovirus vector *Aedes aegypti* in Laos and implication for vector control. PLoS Negl Trop Dis. 2019;13(12):e0007852.
 17. Fonseca-González I, Quiñones ML, McAllister J, Brogdon WG. Mixed-function oxidases and esterases associated with cross-resistance between DDT and lambda-cyhalothrin in *Anopheles darlingi* Root 1926 populations from Colombia. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104(1):18-26.
 18. Ping LT, Yatiman R, Gek LPS. Susceptibility of adult field strains of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Singapore to pirimiphos-methyl and permethrin. J Am Mosq Control Assoc. 2001 ;17(2):144-6.
 19. Hilary R, Joseph B, Nongkran L, William CB. Insecticide resistance in dengue vectors. TropI-KA.net [Internet]. 2010. [cited 2020 Oct 19];1:0-0. Available from: <<http://journal.tropika.net/scielo.php?>