
การพัฒนาผลิตภัณฑ์ต้นแบบแบคทีเรียกำจัดลูกน้ำยุง สูตรอัดเม็ดและประสิทธิภาพการใช้เพื่อควบคุม ยุงรำคาญชนิดคิวเล็กซ์ ควินเคอฟาซซิเอตัส สายพันธุ์ธรรมชาติพื้นที่ชายแดนไทย

อุรุยากร จันท์แสง นิตยา เมธาวณิชพงศ์ จิตติ จันท์แสง นันทพร ผลสุวรรณ พรธิดา เพชรสุวรรณ
พรชัย วิริยะศรานนท์ ดนาพร สารพฤษ และบัลลังก์ อุปพงษ์
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

บทคัดย่อ แบคทีเรียกำจัดลูกน้ำยุงถูกนำมาใช้ควบคุมโรคที่นำโดยพาหะจากปัญหาการติดต่อสารเคมี แบคทีเรียบาซิลลัส ทุริงเยนซิส อีสราเอลเลนซิส (บีทีไอ) และบาซิลลัส สเฟียร์ดิส (บีเอส) มีราคาแพงและบางผลิตภัณฑ์ไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอ การศึกษาครั้งนี้ได้นำแบคทีเรียบีทีไอผงแห้งที่ผลิตขึ้น มีการทดสอบประสิทธิภาพและรายงานผลไปแล้ว มาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์สูตรอัดเม็ด มาทดสอบประสิทธิภาพและความคงทนกับลูกน้ำยุงลายบ้าน จากนั้นนำไปทดสอบด้านความต้านทานของลูกน้ำยุงรำคาญชนิดคิวเล็กซ์ ควินเคอฟาซซิเอตัส สายพันธุ์พื้นที่ชายแดนไทยด้านประเทศเมียนมาร์ ลาว และกัมพูชา ผลการศึกษาได้ผลิตภัณฑ์บีทีไอสูตรอัดเม็ดค่าความแรง 2,150 ITU/mg มีความคงทนควบคุมลูกน้ำยุงลายได้ร้อยละ 100 เป็นเวลา 28 วัน การทดสอบกับลูกน้ำยุงรำคาญพื้นที่ไทย เมียนมาร์ ลาว และกัมพูชา มีความต้านทานอยู่ในช่วง 0.36-1.21, 0.72-1.20 และ 0.92-1.39 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับลูกน้ำสายพันธุ์มาตรฐาน และเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วน ได้ทดสอบความต้านทานของลูกน้ำยุงรำคาญต่อแบคทีเรียบีเอสแบบผงแห้งที่ผลิตขึ้นและเทมโฟสควบคู่กัน พบว่าลูกน้ำยุงรำคาญพื้นที่ชายแดนไทยทั้ง 3 ด้านมีค่าความต้านทานต่อแบคทีเรียบีเอสอยู่ในช่วง 0.87-2.66, 1.99-3.17 และ 3.50-7.03 ต่อเทมโฟส 0.47-3.01, 1.04-1.86 และ 1.07-2.45 เท่า ตามลำดับ ซึ่งแสดงผลเป็นแผนที่ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์

คำสำคัญ: บาซิลลัส ทุริงเยนซิส อีสราเอลเลนซิส (บีทีไอ), บาซิลลัส สเฟียร์ดิส (บีเอส), เทมโฟส, ยุงรำคาญ, แผนที่ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์

Corresponding author E-mail: uruyakorn.c@dmsc.mail.go.th

Received: 4 October 2019

Revised: 5 November 2020

Accepted: 16 November 2020

บทนำ

การควบคุมยุงเป็นมาตรการหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เพื่อตัดวงจรระบาดของโรคที่มียุงเป็นพาหะ การควบคุมยุงทำได้หลายวิธี ประกอบด้วยการใช้สารเคมี การควบคุมทางกายภาพ การจัดการแหล่งเพาะพันธุ์ การให้ความรู้กับประชาชน รวมทั้งการควบคุมทางชีววิธีซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่เป็นที่ยอมรับและถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางเนื่องด้วยปัญหาความเป็นพิษของสารเคมี รวมทั้งปัญหาด้านความต้านทานของยุงพาหะเนื่องจากมีการใช้สารเคมีเป็นจำนวนมากอย่างต่อเนื่องจนทำให้ไม่สามารถควบคุมยุงได้อย่างมีประสิทธิภาพ การควบคุมทางชีววิธี หมายถึงการนำสิ่งมีชีวิตมาใช้ควบคุมสิ่งมีชีวิตอื่น ซึ่งโดยปกติจะเป็นศัตรูทางธรรมชาติที่มีความจำเพาะต่อกัน โดยเป็นได้ทั้งในลักษณะของการเป็นตัวล่า ตัวเบียน และเชื้อโรคทั้งแบคทีเรีย ไวรัสและเชื้อรา ซึ่งพบว่ามีความปลอดภัยเนื่องจากมีความจำเพาะกับชนิดของสิ่งมีชีวิตที่เราต้องการควบคุม⁽¹⁾ การใช้แบคทีเรียกำจัดลูกน้ำยุง ทั้งชนิดบาซิลลัส ทุริงเยนซิส สายพันธุ์อิสราเอลเลนซิส; บีทีไอ (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*; Bti) และบาซิลลัส สเฟียริกัส; บีเอส (*Bacillus sphaericus*; Bsph) เป็นวิธีการหนึ่งที่ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ทั้งการใช้กำจัดลูกน้ำยุงลายในภาชนะขังน้ำในบ้านเรือน และกำจัดลูกน้ำยุงรำคาญโดยนำไปใส่ในแหล่งเพาะพันธุ์ตามธรรมชาติ อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์แบคทีเรียกำจัดลูกน้ำยุงที่มีจำหน่ายมีราคาแพง โดยเฉพาะเมื่อต้องใช้ในปริมาณมากเมื่อมีการระบาดของโรคที่นำโดยยุงพาหะเกิดขึ้น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์มีภารกิจหนึ่งในด้านการวิจัยและพัฒนาองค์ความรู้ทางด้านสาธารณสุข จึงควรมีการพัฒนาการผลิตแบคทีเรียกำจัดลูกน้ำยุงเพื่อให้มีผลิตภัณฑ์ที่สามารถนำมาใช้ช่วยในการควบคุมโรคที่เกิดจากยุง ประกอบกับในปี พ.ศ. 2558 ประเทศไทยและประเทศในอาเซียนอีก 9 ประเทศได้มีการรวมตัวเข้าสู่ประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน และตามแผนแม่บทว่าด้วยความเชื่อมโยงระหว่างกันในอาเซียน ได้ให้ประเทศไทยเป็นศูนย์กลางการคมนาคมของภูมิภาค ซึ่งทำให้มีการเคลื่อนย้ายของประชากรเข้าออกผ่านชายแดนมากขึ้น และส่งผลให้คนไทยมีความเสี่ยงในการเกิดโรคติดต่อข้ามพรมแดนมากขึ้นด้วย โดยมีทั้งโรคติดต่อจากคนสู่คนโดยตรงและโรคติดต่อนำโดยแมลง ได้แก่ โรคเท้าช้างและมาลาเรีย เป็นต้น รวมทั้งได้มีรายงานการตรวจพบเชื้อโรคพยาธิเท้าช้างในแรงงานต่างประเทศเป็นจำนวนมาก โดยในปี พ.ศ. 2557, 2558 และ 2559 มีการตรวจพบผู้มีเชื้อโรคพยาธิเท้าช้างในแรงงานชาวเมียนมาร์ร้อยละ 58.82, 33.30 และ 75.0 จากจำนวนผู้ป่วยที่พบทั้งหมดในประเทศไทยตามลำดับ^(2,3,4) ซึ่งโรคนี้ในประเทศไทยมียุงลายป่าและยุงเสือเป็นพาหะ ขณะที่ในประเทศเมียนมาร์ จีน และอินเดีย มียุงรำคาญชนิดคิวเล็กซ์ ควินควาฟาซิเอตัส (*Culex quinquefasciatus*) เป็นพาหะ ซึ่งยุงรำคาญชนิดนี้ในประเทศไทยเป็นยุงที่มีความชุกชุมสูงและพบได้ทั่วไปโดยมีแหล่งเพาะพันธุ์อยู่ตามแหล่งน้ำที่มีอินทรีย์วัตถุสูง เช่น แหล่งน้ำขัง ท่อระบายน้ำ เป็นต้น หากยุงรำคาญชนิดนี้ได้รับเชื้อโรคพยาธิเท้าช้างจากประชากรที่มีการเคลื่อนย้ายเข้าออกผ่านชายแดน จะทำให้มีโอกาสเป็นยุงพาหะนำโรคดังกล่าวมาสู่ประชาชนคนไทยได้⁽⁵⁾ ดังนั้นเพื่อให้กระทรวงสาธารณสุขมีความพร้อมในการควบคุมยุงรำคาญชนิดนี้ การศึกษาครั้งนี้จึงได้นำแบคทีเรียกำจัดลูกน้ำยุง บีทีไอแบบผงแห้งที่คณะผู้วิจัยได้ผลิตขึ้นและมีการทดสอบประสิทธิภาพรวมทั้งรายงานผลไปเรียบร้อยแล้ว⁽⁶⁾ มาต่อยอดพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัตโนมัติเพื่อให้สะดวกต่อการใช้งาน จากนั้นนำมาทดสอบประสิทธิภาพเบื้องต้นกับยุงลายบ้านสายพันธุ์มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยแสดงผลเป็นค่าความแรง (potency)⁽⁷⁾ และค่าความคงทน (residual effect) ในการควบคุมยุงแบบจำลองธรรมชาติ ซึ่งได้ดำเนินการตามข้อกำหนดของมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ที่ห้องปฏิบัติการได้รับการรับรอง (เลขที่การรับรอง 4016/49) รวมทั้งได้นำมาทดสอบประสิทธิภาพด้านความต้านทาน (resistance) กับลูกน้ำยุงรำคาญชนิดคิวเล็กซ์ ควินควาฟาซิเอตัส ซึ่งเป็นยุงที่ต้องเฝ้าระวังในพื้นที่ชายแดนไทยจากปัญหาดังกล่าว โดยนำตัวอย่างลูกน้ำยุงรำคาญจากแหล่งเพาะพันธุ์ธรรมชาติของทุกจังหวัดในชายแดนประเทศไทยที่ติดกับประเทศเมียนมาร์ ลาว และกัมพูชา รวม 27 จังหวัด มาเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนในห้องปฏิบัติการ และนำลูกน้ำยุงมาทดสอบหาอัตราส่วนความต้านทาน (Resistant Ratio; RR) ต่อผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัตโนมัติโดยเปรียบเทียบกับลูกน้ำยุงรำคาญสายพันธุ์มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นอกจากนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนในด้านการใช้งานของสารควบคุมลูกน้ำยุงที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน ซึ่งได้แก่แบคทีเรียกำจัด

ลูกน้ำยุงชนิดบีเอสและสารเคมีเทมโฟส จึงได้ดำเนินการทดสอบความต้านทานของลูกน้ำยุงรำคาญกับแบคทีเรียกำจัดลูกน้ำยุงบีเอสแบบผงแห้งที่คณะผู้วิจัยได้ผลิตขึ้นเช่นกัน และกับผลิตภัณฑ์เทมโฟสขององค์การเภสัชกรรม (ทรายจีพีโอ-1) โดยบีเอสแบบผงแห้งนี้เป็นการผลิตเบื้องต้นที่จะมีการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป และเนื่องจากปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีข้อมูลดาวเทียมและระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์มาใช้ประโยชน์กับงานทางด้านสาธารณสุข⁽⁸⁾ จึงได้นำผลจากการศึกษามาบูรณาการร่วมกับการใช้เทคโนโลยีสารสนเทศภูมิศาสตร์แสดงผลการศึกษาในลักษณะของแผนที่แสดงพื้นที่และระดับความต้านทานยุงรำคาญคิวเล็กซ์ ควินเคฟาสซิเอตัส ต่อผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอ สูตรอัดเม็ด แบคทีเรียบีเอสแบบผงแห้ง และสารเคมีเทมโฟส รวม 3 แผนที่ ซึ่งการศึกษาครั้งนี้นอกจากได้ผลิตภัณฑ์ต้นแบบแบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ดที่ได้ทดสอบและพบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมยุงทางสาธารณสุขแล้วยังได้ฐานข้อมูลการใช้สารกำจัดลูกน้ำยุงสำหรับควบคุมยุงในพื้นที่บริเวณชายแดนประเทศไทยและมีแนวทางในการบริหารจัดการยุงที่มีความต้านทานต่อสารกำจัดลูกน้ำยุงได้ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียกำจัดลูกน้ำยุง

แบคทีเรียกำจัดลูกน้ำยุงชนิดบีทีไอและบีเอส เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งการเพาะเลี้ยงมีขั้นตอน ประกอบด้วย

การเตรียมหัวเชื้อ ด้วยการใส่เชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียบีทีไอและบีเอสที่คณะผู้วิจัยได้เพาะเลี้ยงและเก็บรักษาไว้ในอาหาร Nutrient agar นำมาเชื้อเชื้อใส่ในอาหารเหลวสำเร็จรูป Nutrient broth (ไมโครไบโอโลยี® เมอร์ค) ปริมาณ 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 23-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นวัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (20 Genesys, Spectronic Unicam) โดยวัดจากความขุ่นของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าเท่ากับ 1 ซึ่งจะได้แบคทีเรียอยู่ในช่วงที่มีการเจริญเติบโตสูงสุด รวมทั้งมีความแข็งแรง เหมาะสำหรับการใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้นเพื่อนำไปเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดที่มีสารอาหารเหมาะสมกับแบคทีเรียบีทีไอและบีเอสในการสร้างสปอร์และฟล็อกโปรตีนที่เป็นพิษต่อลูกน้ำยุงได้ต่อไป

การเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวน ด้วยการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสูตรที่ทำให้ได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงได้⁽⁹⁾ โดยแบคทีเรียบีทีไอใช้อาหารสูตร Peptone Glucose Salt Medium และบีเอสใช้อาหารสูตร Nutrient broth supplemented with salt and yeast extract อย่างละ 100 มิลลิลิตร จากนั้นถ่ายหัวเชื้อที่เตรียมไว้ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงในอาหารเพาะเลี้ยง นำไปเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นแยกตะกอนที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วปั่นล้างตะกอนด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.85 จำนวน 2 ครั้ง โดยใช้น้ำเกลือครั้งละ 150 มิลลิลิตร นำตะกอนเชื้อที่ได้ไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส (FreeZone®, Labconco) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดให้เป็นผงละเอียดในตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow clean bench) บรรจุในขวดและปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การผลิตผลิตภัณฑ์ต้นแบบแบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ด

นำแบคทีเรียบีทีไอแบบผงแห้งที่เพาะเลี้ยงได้มาทดสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อโดยดูจากโคโลนีที่มีลักษณะจำเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (nutrient agar) คือเป็นโคโลนีเดี่ยว มีสีขาวขุ่น ขนาด 5 ถึง 10 มิลลิเมตร ขอบและผิวหน้าไม่เรียบ และผิวหน้ามีลักษณะด้าน⁽¹⁰⁾ จากนั้นนำแบคทีเรียบีทีไอผงแห้งมาผสมกับวัตถุดิบที่ใช้ในการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์อัดเม็ด ในอัตราส่วนที่ผ่านการคำนวณจากสูตรการตอกเม็ดยาที่คิดค้นขึ้น (ทั้งนี้สูตรส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์และกรรมวิธีการผลิตอยู่ระหว่างการยื่นขอจดอนุสิทธิบัตร) นำมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน (เครื่องผสมแบบลูกเต๋า

ขนาดความจุ 10 กิโลกรัม) จากนั้นนำมาขึ้นรูปเป็นผลิตภัณฑ์สูตรอัดเม็ดโดยใช้เครื่องตอกเม็ดยาชนิดหัวตอกเดี่ยว เพื่อให้ได้เม็ดที่มีน้ำหนักประมาณ 1 กรัม/เม็ด มีอัตราการใช้ 1 เม็ดต่อน้ำ 200 ลิตร โดยกระบวนการผลิตมีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการผลิต โดยนำผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ดทุกรุ่นการผลิตมาวิเคราะห์ความคงที่ของค่าความแรง (potency)

การวิเคราะห์ค่าความแรง (potency) ผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ด

เป็นการหาค่าความแรงของผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ดที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุง มีหน่วยเป็น International Toxic Unit (ITU) ต่อ 1 มิลลิกรัมของผลิตภัณฑ์แบคทีเรีย โดยเทียบกับแบคทีเรียบีทีไอมาตรฐานแบบผงแห้ง (เชื้อแบคทีเรียบีทีไอมาตรฐาน รหัสรุ่น บีทีไอ 2-12) ซึ่งมีค่าความแรงของเชื้อบริสุทธิ์อยู่ที่ 24,214 ITU ต่อ 1 มิลลิกรัม ดำเนินการโดยซึ่งผลิตภัณฑ์บีทีไอสูตรอัดเม็ด 5 กรัม ผสมกับน้ำกรองปราศจากเชื้อปริมาณ 100 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้ความเข้มข้นเท่ากับ 50,000 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อใช้เป็นสารละลายตั้งต้น จากนั้นนำสารละลายตั้งต้นมาทดสอบกับลูกน้ำยุงลายสายพันธุ์มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ด้วยวิธีทางชีววิเคราะห์ (bioassay) ซึ่งเบื้องต้นเป็นการทดสอบหาช่วงความเข้มข้นที่ทำให้ลูกน้ำยุงลายตายร้อยละ 0 ถึง 100 โดยนำสารละลายตั้งต้นมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 5 ระดับ แต่ละระดับให้มีความเข้มข้นต่างกัน 10 เท่า เตรียมความเข้มข้นละ 2 ข้ำ และชุดเปรียบเทียบที่ใช้น้ำกรองอีก 2 ข้ำ ใส่ลูกน้ำยุงลายวัย 4 ตอนต้น จำนวน 10 ตัวลงในถ้วยที่บรรจุสารละลายปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อถ้วย บันทึกจำนวนลูกน้ำที่ตายหลังครบ 24 ชั่วโมง จากนั้นดำเนินการทดสอบแบบละเอียด โดยนำช่วงความเข้มข้นเบื้องต้นมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 5 ระดับ แต่ละระดับให้มีความเข้มข้นต่างกัน 2 เท่า เตรียมความเข้มข้นละ 4 ข้ำ และชุดเปรียบเทียบที่ใช้น้ำกรองอีก 4 ข้ำ นำผลทดสอบมาคำนวณหาค่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ดที่ทำให้ลูกน้ำยุงลายตายร้อยละ 50 โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์โพรบิต (probit) และดำเนินการทดสอบโดยวิธีเดียวกันกับแบคทีเรียบีทีไอมาตรฐานแบบผงแห้ง นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าความแรงของผลิตภัณฑ์โดยใช้สูตร

$$\text{ค่าความแรง} = \frac{\text{ค่าความแรงของบีทีไอมาตรฐาน} \times \text{ความเข้มข้นของบีทีไอมาตรฐานที่ทำให้ลูกน้ำยุงตายร้อยละ 50}}{\text{ค่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ดที่ทำให้ลูกน้ำยุงตายร้อยละ 50}}$$

การทดสอบความคงทน (residual) ของผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ด

ทดสอบความคงทนของผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ดกับลูกน้ำยุงลายบ้านสายพันธุ์มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ด้วยวิธีแบบจำลองธรรมชาติ โดยนำถังพลาสติกใส่น้ำปริมาณ 50 ลิตร ใส่ผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ดปริมาณ 0.25 กรัม ซึ่งเทียบเท่ากับอัตราการใช้ของสูตรผลิตภัณฑ์ที่ได้พัฒนาขึ้นคือ 1 เม็ดต่อน้ำ 200 ลิตร จากนั้นใส่ลูกน้ำยุงลายวัย 4 ตอนต้น จำนวน 25 ตัวต่อถัง บันทึกจำนวนลูกน้ำยุงที่ตายหลังครบ 24 ชั่วโมง นำลูกน้ำยุงทั้งที่ตายและรอดชีวิตออกจากถัง ใส่ลูกน้ำใหม่ จำนวน 25 ตัวต่อถังทุกวัน เพื่อติดตามประสิทธิภาพความคงทนของผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ด รวมทั้งมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำร้อยละ 25 ของปริมาณน้ำเริ่มต้นทุกวันเช่นกัน เพื่อเป็นการจำลองการใช้งานนี้ รายงานผลค่าความคงทนเป็นจำนวนวันที่ลูกน้ำยุงยังคงมีการตายร้อยละ 100 โดยการทดสอบกำหนดให้มีภาชนะทดสอบจำนวน 4 ข้ำ และภาชนะเปรียบเทียบที่ไม่มีการใส่ผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ดอีก 4 ข้ำ

การดำเนินการในภาคสนาม

คัดเลือกพื้นที่จังหวัดชายแดนไทย เมียนมาร์ 10 จังหวัด (แม่ฮ่องสอน เชียงราย เชียงใหม่ ตาก กาญจนบุรี เพชรบุรี ราชบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และระนอง) จังหวัดที่ติดกับประเทศลาว 11 จังหวัด (นครพนม พิชณุโลก

อำนาจเจริญ มุกดาหาร เลย อุตรดิตถ์ หนองคาย พะเยา อุบลราชธานี บึงกาฬ และน่าน) และจังหวัดที่ติดกับประเทศกัมพูชา 6 จังหวัด (สุรินทร์ จันทบุรี ศรีสะเกษ ตราด สระแก้ว และบุรีรัมย์) โดยแต่ละจังหวัดคัดเลือกอำเภอที่ติดชายแดนจังหวัดละ 2 อำเภอ และใน 1 อำเภอ คัดเลือก 2 ตำบล เพื่อให้ครอบคลุมและเป็นตัวแทนของจังหวัดชายแดน ขณะเดียวกันวัดพิกัดพื้นที่โดยใช้อุปกรณ์ที่มีระบบการหาตำแหน่งทั่วโลก (GPS) เก็บตัวอย่างลูกน้ำยุงรำคาญวัย 1 ถึงวัยที่ 2 จากแหล่งเพาะพันธุ์ธรรมชาติ นำใส่ภาชนะขวดพลาสติก ติดฉลากแสดงรายละเอียด ได้แก่ วันที่และสถานที่เก็บตัวอย่างลูกน้ำยุง รวมทั้งชนิดของแหล่งเพาะพันธุ์ จากนั้นนำลูกน้ำยุงกลับมาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบค่าความต้านทาน (resistance) ของลูกน้ำยุงรำคาญคิวเล็กซ์ ควินเคฟาสซิเอตัส สายพันธุ์พื้นที่ชายแดน ต่อผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ด แบคทีเรียบีเอสแบบผง และสารเคมีเทมโฟส

ตัวอย่างลูกน้ำยุงรำคาญคิวเล็กซ์ ควินเคฟาสซิเอตัส จากแต่ละพื้นที่ในจังหวัดเดียวกันนำมาเพาะเลี้ยงรวมกันจนถึงระยะตัวเต็มวัยเพื่อเป็นตัวแทนของยุงในจังหวัดนั้น ตัวอย่างยุงตัวเต็มวัยบางส่วนจะนำมาจำแนกชนิดโดยดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสองตา เพื่อตรวจยืนยันว่าเป็นยุงรำคาญชนิดคิวเล็กซ์ ควินเคฟาสซิเอตัส จากนั้นเพาะเลี้ยงต่อเนื่องจนถึงรุ่นที่ 2 และ 3 เพื่อให้ได้จำนวนลูกน้ำยุงที่เพียงพอและมีขนาดลำตัวใกล้เคียงกันสำหรับการทดสอบ นำลูกน้ำยุงรำคาญสายพันธุ์ชายแดนวัย 4 ตอนต้น ดำเนินการทดสอบหาค่าความต้านทานต่อผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ด แบคทีเรียบีเอสแบบผง และสารเคมีเทมโฟส โดยหาค่าความเข้มข้นของสารกำจัดลูกน้ำทั้ง 3 ชนิดที่ทำให้ลูกน้ำยุงรำคาญตายร้อยละ 50 ด้วยการทดสอบแบบเบื้องต้นและการทดสอบแบบละเอียดโดยวิธีทางชีววิเคราะห์เช่นเดียวกับการทดสอบหาค่าความแรงของผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ดตั้งที่กล่าวมาแล้ว บันทึกจำนวนลูกน้ำยุงรำคาญที่ตายหลังครบ 48 ชั่วโมง⁽¹¹⁾ คำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารกำจัดลูกน้ำยุงทั้ง 3 ชนิดที่ทำให้ลูกน้ำยุงรำคาญสายพันธุ์ชายแดนตายร้อยละ 50 โดยใช้โปรแกรมการวิเคราะห์แบบโปรแกรม และดำเนินการทดสอบกับลูกน้ำยุงรำคาญสายพันธุ์มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กับผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ด แบคทีเรียบีเอสแบบผง และสารเคมีเทมโฟส ด้วยวิธีเดียวกันควบคู่ไปด้วย นำค่าความเข้มข้นของสารกำจัดลูกน้ำยุงทั้ง 3 ชนิดที่ทำให้ลูกน้ำยุงรำคาญตายร้อยละ 50 มาคำนวณหาค่าความต้านทานของลูกน้ำยุงรำคาญสายพันธุ์ชายแดนเปรียบเทียบกับลูกน้ำยุงรำคาญสายพันธุ์มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยใช้สูตร

$$\text{ค่าความต้านทาน} = \frac{\text{ค่าความเข้มข้นของสารกำจัดลูกน้ำยุงที่ทำให้ลูกน้ำยุงสายพันธุ์ชายแดนตายร้อยละ 50}}{\text{ค่าความเข้มข้นของสารกำจัดลูกน้ำยุงที่ทำให้ลูกน้ำยุงสายพันธุ์มาตรฐานตายร้อยละ 50}}$$

ทั้งนี้ การทดสอบค่าความแรงและความต้านทานมีการควบคุมคุณภาพโดยกำหนดให้อุณหภูมิห้องทดสอบอยู่ที่ 25 ± 2 องศาเซลเซียส น้ำที่ใช้ทดสอบมีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 6.8 ถึง 7.2

การจัดทำแผนที่ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์แสดงพื้นที่และระดับความต้านทานของยุงรำคาญคิวเล็กซ์ ควินเคฟาสซิเอตัส สายพันธุ์ชายแดน

นำค่าพิกัดพื้นที่ที่ได้มีการเก็บตัวอย่างลูกน้ำยุงรำคาญมาวิเคราะห์ร่วมกับข้อมูลค่าความต้านทานของลูกน้ำยุงต่อแบคทีเรียกำจัดลูกน้ำยุงทั้ง 2 ชนิด และสารเคมีเทมโฟส ทำแผนที่ด้วยระบบสารสนเทศทางภูมิศาสตร์โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์และแสดงผลข้อมูลชั้นสูง (Arc GIS, ลิขสิทธิ์กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์) เพื่อดูสภาพแวดล้อมและนำมาซ้อนทับกับแผนที่จากกรมแผนที่ทหาร (ลิขสิทธิ์กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์)

ผล

การวิเคราะห์ค่าความแรงและความคงทนของผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัตโนมัติ

จากการวิเคราะห์ค่าความแรงและการทดสอบความคงทนของผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัตโนมัติกับ
ลึกลงน้ำยุงลายบ้านสายพันธุ์มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย พบว่าผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัตโนมัติที่ได้มี
การพัฒนาขึ้นครั้งนี้มีค่าความแรง 2,150 ITU ต่อ 1 มิลลิกรัมของผลิตภัณฑ์ และมีความคงทนควบคุมลึกลงน้ำยุงลายให้
มีการตายได้ร้อยละ 100 เป็นเวลา 28 วัน เมื่อจำลองการใช้งานโดยมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำร้อยละ 25 ทุกวันตลอดการศึกษา

การดำเนินการเก็บตัวอย่างลึกลงน้ำยุงรำคาญคิวเล็กซ์ ควินเคฟาสซิเอตัส ในภาคสนาม

สามารถสำรวจและเก็บตัวอย่างลึกลงน้ำยุงรำคาญจากแหล่งเพาะพันธุ์ธรรมชาติได้ครบทุกจังหวัดของพื้นที่
ชายแดนประเทศไทยทั้ง 3 ด้าน รวมทั้งได้พิกัดพื้นที่ที่มีการเก็บตัวอย่างลึกลงน้ำยุงรวมทั้งสิ้นจำนวน 108 พื้นที่และ
จุดพิกัด และตัวอย่างลึกลงน้ำยุงเมื่อนำกลับมาเพาะเลี้ยง พบว่าเป็นยุงรำคาญชนิดคิวเล็กซ์ ควินเคฟาสซิเอตัส ทั้งหมด

การทดสอบค่าความต้านทานของลึกลงน้ำยุงรำคาญคิวเล็กซ์ ควินเคฟาสซิเอตัส สายพันธุ์ชายแดน

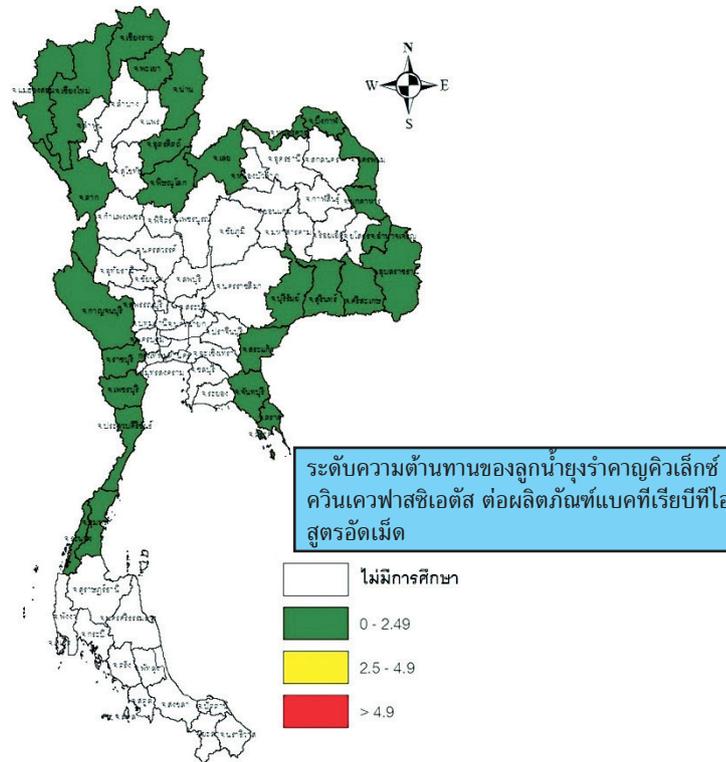
ผลการศึกษา ได้ค่าความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์แบคทีเรียกำจัดลึกลงน้ำยุงบีทีไอสูตรอัตโนมัติ แบคทีเรียบีเอส
แบบผงแห้ง และสารเคมีเทมีฟอส ที่ทำให้ลึกลงน้ำยุงรำคาญคิวเล็กซ์ ควินเคฟาสซิเอตัส สายพันธุ์ชายแดน ในแต่ละ
การทดสอบตายร้อยละ 50 และเมื่อนำค่าความเข้มข้นมาคำนวณหาระดับความต้านทานของลึกลงน้ำยุงรำคาญในแต่ละ
จังหวัด โดยเปรียบเทียบกับลึกลงน้ำยุงรำคาญสายพันธุ์มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย พบว่าลึกลงน้ำยุงรำคาญในพื้นที่
ชายแดนทั้ง 3 ด้านติดกับประเทศเมียนมาร์ ลาว และกัมพูชา มีระดับความต้านทานต่อผลิตภัณฑ์แบคทีเรียกำจัดลึกลงน้ำ
บีทีไอสูตรอัตโนมัติอยู่ในช่วง 0.36-1.21, 0.72-1.20 และ 0.92-1.39 เท่า ในขณะที่ความต้านทานต่อแบคทีเรียบีเอส
แบบผงแห้งอยู่ในช่วง 0.87-2.66, 1.99-3.17 และ 3.50-7.03 เท่า ส่วนความต้านทานต่อสารเคมีเทมีฟอส พบว่ามี
ความใกล้เคียงกับความต้านทานต่อผลิตภัณฑ์แบคทีเรียกำจัดลึกลงน้ำยุงบีทีไอสูตรอัตโนมัติ คือมีความต้านทานอยู่ในช่วง
0.47-2.65, 1.04-1.86 และ 1.07-2.45 เท่า ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

การจัดทำแผนที่ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์แสดงพื้นที่และระดับความต้านทานของลึกลงน้ำยุงรำคาญคิวเล็กซ์ ควินเคฟาสซิเอตัส สายพันธุ์พื้นที่ชายแดน

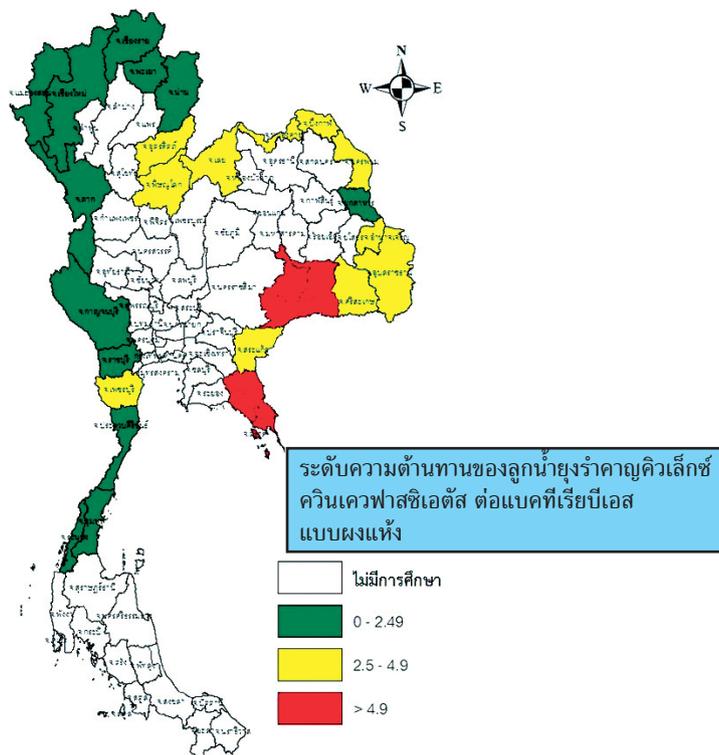
ดำเนินการถ่ายโอนข้อมูลพิกัดพื้นที่ศึกษาจำนวน 108 จุด ของ 27 จังหวัด ลงในโปรแกรมคอมพิวเตอร์
ที่ได้เตรียมไว้ จากนั้นได้นำมาวิเคราะห์ร่วมกับข้อมูลความต้านทานของลึกลงน้ำยุง จัดทำเป็นแผนที่ด้วยระบบสารสนเทศ
ทางภูมิศาสตร์ โดยใช้โปรแกรม Arc GIS ที่ซ้อนทับกับแผนที่จากกรมแผนที่ทหาร จะได้เป็นสถานการณ์ความ
ต้านทานของลึกลงน้ำยุงรำคาญคิวเล็กซ์ ควินเคฟาสซิเอตัส สายพันธุ์พื้นที่ชายแดนไทยต่อผลิตภัณฑ์แบคทีเรียกำจัดลึกลงน้ำ
บีทีไอสูตรอัตโนมัติ บีเอสแบบผงแห้ง และสารเคมีเทมีฟอส (ภาพที่ 1-ภาพที่ 3) โดยการ制图แผนที่ดังกล่าวใช้เกณฑ์
พิจารณาขององค์การอนามัยโลก⁽¹²⁾ หากค่าความต้านทานของแมลงต่อสารเคมีกำจัดแมลงสูงกว่า 10 เท่า แสดงว่า
แมลงสร้างความต้านทานต่อสารกำจัดแมลงชนิดนั้นสูงมาก จึงได้จัดลำดับค่าความต้านทานเป็น 3 ระดับ โดยใช้สี
ในการแสดงค่าเป็นระดับต่ำ ปานกลาง และสูง ตามมาตรฐานสากลที่ใช้ คือ สีเขียว (0.0-2.49 เท่า : ระดับต่ำ), สีเหลือง
(2.50-4.99 เท่า : ระดับปานกลาง) และสีแดง (ความต้านทาน > 4.99 เท่า : ระดับสูง) โดยผลการศึกษาครั้งนี้ไม่พบ
ระดับที่สูงมาก (10 เท่า)

ตารางที่ 1 ระดับความต้านทานของลูกน้ำยุงรำคาญคิวเล็กซ์ ควินควาฟาสซิเอตัส สายพันธุ์ชายแดนไทย ด้านประเทศเมียนมาร์ ลาว และกัมพูชา เปรียบเทียบกับลูกน้ำยุงรำคาญสายพันธุ์มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ต่อผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอสูตรอัดเม็ด แบคทีเรียบีเอสแบบผงแห้ง และสารเคมีเทมีฟอส

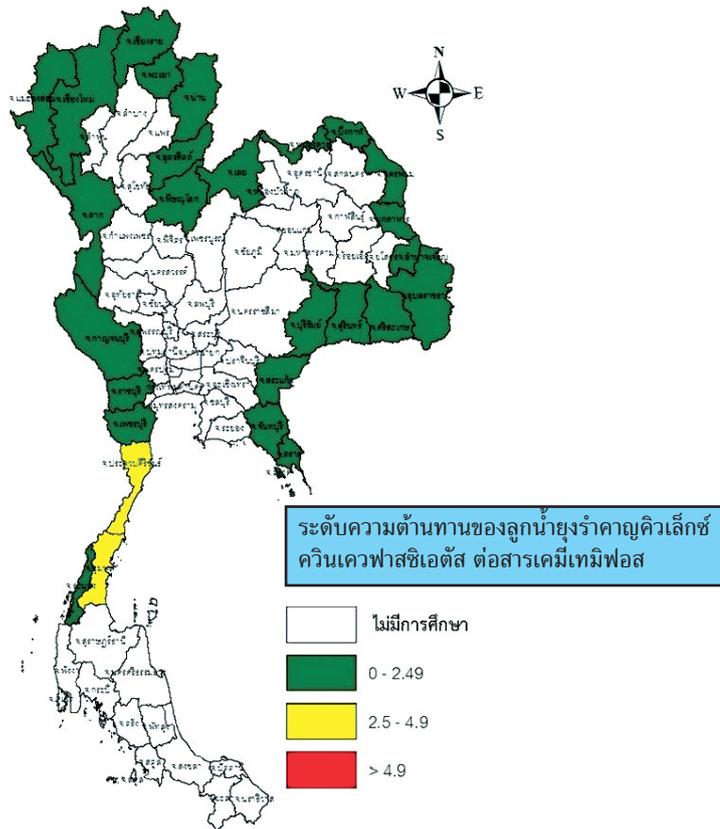
จังหวัดชายแดน ที่ติดต่อกับประเทศ	จังหวัดชายแดน	ความต้านทาน ต่อบีทีไอ สูตรอัดเม็ด		ความต้านทาน ต่อบีเอส แบบผง		ความต้านทาน ต่อสารเคมี เทมีฟอส
		จังหวัด	จังหวัด	จังหวัด	จังหวัด	
เมียนมาร์	ประจวบฯ	0.360	เชียงใหม่	0.872	เชียงราย	0.467
	เพชรบุรี	0.407	กาญจนบุรี	0.912	ตาก	1.225
	ชุมพร	0.452	แม่ฮ่องสอน	1.007	เพชรบุรี	1.475
	ระนอง	0.575	ชุมพร	1.042	เชียงใหม่	1.480
	แม่ฮ่องสอน	0.637	ระนอง	1.047	กาญจนบุรี	1.712
	ราชบุรี	0.800	ราชบุรี	1.380	แม่ฮ่องสอน	1.937
	ตาก	0.897	ตาก	1.652	ราชบุรี	2.065
	เชียงใหม่	0.937	ประจวบฯ	1.567	ระนอง	2.455
	เชียงราย	1.077	เชียงราย	1.765	ประจวบฯ	2.645
	กาญจนบุรี	1.207	เพชรบุรี	2.657	ชุมพร	3.005
ลาว	นครพนม	0.72	น่าน	1.99	หนองคาย	1.04
	พิษณุโลก	0.76	พะเยา	2.09	พะเยา	1.26
	อำนาจเจริญ	0.83	มุกดาหาร	2.40	น่าน	1.26
	มุกดาหาร	0.85	อุบลราชธานี	2.54	เลย	1.31
	เลย	0.89	หนองคาย	2.55	มุกดาหาร	1.35
	อุดรดิตถ์	0.92	อุดรดิตถ์	2.57	อุบลราชธานี	1.48
	หนองคาย	0.95	บึงกาฬ	2.58	อุดรดิตถ์	1.50
	พะเยา	1.01	อำนาจเจริญ	2.71	บึงกาฬ	1.55
	อุบลราชธานี	1.05	เลย	2.87	พิษณุโลก	1.64
	บึงกาฬ	1.12	นครพนม	3.01	อำนาจเจริญ	1.77
	น่าน	1.20	พิษณุโลก	3.17	นครพนม	1.86
กัมพูชา	สุรินทร์	0.92	สระแก้ว	3.50	บุรีรัมย์	1.07
	จันทบุรี	1.05	ศรีสะเกษ	3.67	ตราด	1.18
	ศรีสะเกษ	1.21	ตราด	5.37	สุรินทร์	1.60
	ตราด	1.30	จันทบุรี	5.74	ศรีสะเกษ	2.10
	สระแก้ว	1.31	สุรินทร์	7.03	จันทบุรี	2.38
	บุรีรัมย์	1.39	บุรีรัมย์	8.47	สระแก้ว	2.45



ภาพที่ 1 แผนทีภูมิศาสตร์สารสนเทศแสดงพื้นที่และระดับความต้านทานของลูงน้ำยุงรำคาญชนิดควิเล็กซ์ ควินควฟาสซิเอตัส ทีเก็บจากพื้นที่ 27 จังหวัดช่ายแดนไทย เมียนมาร์ ลาว และกัมพูชา ต่อผลิถัณฑ์แบคทีเรียกำจัถลูงน้ำยุงปีทีไอสู่อัตเม็ด



ภาพที่ 2 แผนทีภูมิศาสตร์สารสนเทศแสดงพื้นที่และระดับความต้านทานของลูงน้ำยุงรำคาญชนิดควิเล็กซ์ ควินควฟาสซิเอตัส ทีเก็บจากพื้นที่ 27 จังหวัดช่ายแดนไทย เมียนมาร์ ลาว และกัมพูชา ต่อแบคทีเรียกำจัถลูงน้ำยุงปีเอสแบบผงแห่ง



ภาพที่ 3 แผนที่ภูมิศาสตร์สารสนเทศแสดงพื้นที่และระดับความต้านทานของลูกน้ำยุงรำคาญชนิดคิวเล็กซ์ ควินควาฟาซีเอตัส ที่เก็บจากพื้นที่ 27 จังหวัดชายแดนไทย เมียนมาร์ ลาว และกัมพูชา ต่อสารเคมีกำจัดลูกน้ำยุงเทมปีฟอส

วิจารณ์

แบคทีเรียกำจัดลูกน้ำยุงบีทีไอได้รับการรับรองจากองค์การอนามัยโลกว่ามีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยงเมื่อนำมาใช้ใส่ในภาชนะเก็บกักน้ำในบ้านเรือนเพื่อกำจัดลูกน้ำยุง⁽¹⁾ โดยยุงส่วนใหญ่ที่มักกัดคนเลือดจะเป็นยุงรำคาญชนิดคิวเล็กซ์ ควินควาฟาซีเอตัส ซึ่งออกหากินในเวลาากลางคืน มีแหล่งเพาะพันธุ์อยู่ตามแหล่งน้ำที่มีอินทรีย์วัตถุสูง เช่น แหล่งที่มีน้ำขังเป็นเวลานาน ท่อระบายน้ำ เป็นต้น และยุงลายบ้านที่กัดคนเลือดในเวลากลางวัน ซึ่งมีแหล่งเพาะพันธุ์เป็นน้ำสะอาดตามภาชนะเก็บกักน้ำในบ้านเรือน เมื่อสารเคมีกำจัดแมลงถูกนำมาใช้เป็นเวลานาน มีผลทำให้แมลงรวมทั้งยุงสร้างความต้านทาน การนำเชื้อโรคมานำมาใช้เพื่อควบคุมยุงตามวิธีการทางชีววิธีมีทั้งการใช้แบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อรา โดยพบว่าการใช้แบคทีเรียมีข้อดีกว่าการใช้ไวรัสหรือเชื้อรา โดยเฉพาะแบคทีเรียชนิดบาซิลลัส ทูริงเยนซิส สายพันธุ์ฮิสตราเอลเลนลิส (บีทีไอ) เนื่องจากสามารถสร้างเอนโดทอกซินที่พบว่ามีประสิทธิภาพสูงและมีความจำเพาะในการฆ่าลูกน้ำยุง แบคทีเรียบีทีไอจึงได้ถูกพัฒนาให้อยู่ในสูตรและรูปแบบต่างๆ ทั้งแบบผง แบบอัดเม็ด และแบบของเหลว ตามวัตถุประสงค์ของการใช้ เช่น แอฟริกาซึ่งเป็นภูมิภาคที่มีปัญหาโรคมาลาเรียนำโดยยุงก้นปล่อง ได้ใช้แบคทีเรียแบบผงแห้งทั้งชนิดบีทีไอและบีเอสนำมาผสมกันแล้วใส่ในแหล่งเพาะพันธุ์ ซึ่งพบว่าสามารถลดจำนวนยุงได้อย่างมีนัยสำคัญ⁽¹³⁾ ส่วนในมลรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้มีการใช้บีทีไอควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญชนิดเดียวกับที่มีการศึกษาในครั้งนี้ โดยใช้สูตรแบบฉีดพ่น ซึ่งพบว่ายุงมีอัตราการตายแต่จะลดลงเป็นส่วนส่วนกับระยะเวลาของการฉีดพ่น⁽¹⁴⁾ ในขณะที่ผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีไอที่ผลิตขึ้นในครั้งนี้เป็นสูตรแบบอัดเม็ดที่ทำให้สะดวกต่อการใช้งานทั้งในแหล่ง

เพาะพันธุ์ยุงลายที่เป็นภาชนะเก็บกักน้ำในบ้านเรือนและแหล่งเพาะพันธุ์ยุงรำคาญ โดยเม็ดบีทีไอจะมีน้ำหนักมากกว่าแบบคที่เรียสูตรแบบผงจึงสูญสลายได้ช้ากว่า โดยทั้งนี้ได้มีการทดสอบประสิทธิภาพกับยุงลายสายพันธุ์มาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทยในด้านค่าความแรงและความคงทน รวมทั้งได้ทดสอบด้านความต้านทานกับยุงรำคาญชนิดคิวเล็กซ์ ควินควาฟาซิเอตัส สายพันธุ์พื้นที่ชายแดน ที่มีโอกาสเป็นยุงพาหะนำโรคเท้าช้างจากประชากรที่มีการเคลื่อนย้ายเข้าออกผ่านชายแดนซึ่งอาจนำโรคดังกล่าวมาสู่ประชาชนคนไทยได้⁽¹⁵⁾ โดยปกติการดูประสิทธิภาพของบีทีไอในการฆ่าลูกน้ำยุงจะวัดเป็นค่าความแรง ซึ่งมีรายงานการใช้แบบคที่เรียบีทีไอแบบเม็ดละเอียดละลายน้ำมีค่าความแรง 4,000 ITU ต่อ 1 มิลลิกรัมของผลิตภัณฑ์ มีอัตราการใช้ 0.27-0.53 ปอนด์ต่อเอเคอร์ เพื่อควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญชนิดคิวเล็กซ์ ควินควาฟาซิเอตัส แล้วพบว่าสามารถควบคุมลูกน้ำยุงได้ 7-12 วัน⁽¹⁶⁾ ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ต้นแบบแบบคที่เรียบีทีไอสูตรแบบอัดเม็ดที่ผลิตได้ในครั้งนี้มีค่าความแรง 2,150 ITU ต่อมิลลิกรัมของผลิตภัณฑ์ ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพเพียงพอและมีความคงทนควบคุมลูกน้ำยุงลายให้มีการตายได้ร้อยละ 100 เป็นเวลา 28 วัน ในสภาวะจำลองธรรมชาติที่มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำร้อยละ 25 ของน้ำเดิมทุกวันตลอดการทดสอบ และสามารถนำไปใช้ควบคุมยุงรำคาญคิวเล็กซ์ ควินควาฟาซิเอตัส สายพันธุ์พื้นที่ชายแดนไทยได้ เนื่องจากลูกน้ำยุงมีความต้านทานไม่เกิน 1.39 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับลูกน้ำยุงรำคาญสายพันธุ์มาตรฐานกรมวิทยาศาสตร์การแพทย ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับต่ำตามเกณฑ์การพิจารณาขององค์การอนามัยโลก⁽¹²⁾ และเนื่องจากแบบคที่เรียกำจัดลูกน้ำยุงบีเอสและสารเคมีเทมิฟอสเป็นสารกำจัดลูกน้ำที่มีการใช้อยู่ในปัจจุบันเช่นกัน การศึกษาครั้งนี้จึงได้ผลิตแบบคที่เรียบีเอสแบบผงแห้งเป็นเบื้องต้นด้วย เพื่อที่จะพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบผลิตภัณฑ์ต่อไป รวมทั้งนำสารเคมีเทมิฟอส (ทรายจีพีไอ-1) ผลิตภัณฑ์ขององค์การเภสัชกรรม มาทดสอบประสิทธิภาพกับลูกน้ำยุงรำคาญคิวเล็กซ์ ควินควาฟาซิเอตัส ควบคู่กันเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วนสำหรับใช้ควบคุมลูกน้ำยุงทางสาธารณสุข ซึ่งพบว่าลูกน้ำยุงรำคาญมีความต้านทานต่อแบบคที่เรียบีเอสสูงกว่าแบบคที่เรียบีทีไอ (8.47 เท่า) สอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่พบความต้านทานของลูกน้ำยุงรำคาญชนิดนี้ต่อแบบคที่เรียบีเอส ทั้งลูกน้ำยุงสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการซึ่งได้มีการเพาะเลี้ยงไว้และสายพันธุ์ภาคสนามที่เก็บจากประชากรยุงในสภาพธรรมชาติ⁽¹⁷⁾ ส่วนเทมิฟอส ลูกน้ำยุงเริ่มมีความต้านทาน (3.0 เท่า) ในบางพื้นที่ เช่นเดียวกับการศึกษาในประเทศตุนีเซียที่ยุงรำคาญชนิดนี้มีความชุกชุมสูง โดยพบว่าลูกน้ำยุงมีความต้านทานต่อเทมิฟอสอยู่ในช่วง 1.34 ถึง 114 เท่า⁽¹⁸⁾ และโดยที่การนำเทคโนโลยีสารสนเทศศาสตร์มาใช้กับงานหลาย ๆ ด้านรวมทั้งทางด้านสาธารณสุข เช่น การเตือนภัยไข้เลือดออกในประเทศไทย⁽¹⁹⁾ และการหาพื้นที่เสี่ยงต่อการเกิดมาลาเรียในพื้นที่ไทย-ลาว และไทย-กัมพูชา⁽²⁰⁾ ซึ่งเช่นเดียวกับการศึกษาครั้งนี้ที่แสดงผลความต้านทานของลูกน้ำยุงรำคาญคิวเล็กซ์ ควินควาฟาซิเอตัส ที่เก็บจากพื้นที่ชายแดนไทย 27 จังหวัดต่อสารกำจัดลูกน้ำยุง 3 ชนิด ในลักษณะของแผนที่ระบบสารสนเทศศาสตร์

สรุป

การศึกษาครั้งนี้ได้ผลิตผลิตภัณฑ์ต้นแบบแบบคที่เรียกำจัดลูกน้ำยุงชนิดบีทีไอสูตรอัดเม็ดที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ มีประสิทธิภาพและความคงทนในการควบคุมยุงลายบ้านเพื่อใช้เป็นผลิตภัณฑ์ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทยช่วยสนับสนุนการควบคุมไข้เลือดออก (จากเดิมมีผลิตภัณฑ์ลักษณะเช่นนี้ แต่ได้มีการถ่ายทอดเทคโนโลยีไปแล้ว โดยผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่ผลิตขึ้นมาใหม่มีการเปลี่ยนแปลงสูตรส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์) และได้มีการผลิตแบบคที่เรียกำจัดลูกน้ำยุงบีเอสแบบผงแห้งเบื้องต้นซึ่งจะพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป รวมทั้งได้ข้อมูลการนำแบบคที่เรียบีทีไอสูตรอัดเม็ดไปใช้ควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญในพื้นที่ชายแดนไทยได้อย่างเหมาะสม ซึ่งแสดงผลเป็นแผนที่ภูมิศาสตร์สารสนเทศ คือสามารถใช้แบบคที่เรียบีทีไอในจังหวัดชายแดนไทยกับประเทศเมียนมาร์ ลาว และกัมพูชา (มีค่าความต้านทานของลูกน้ำยุงรำคาญสายพันธุ์ชายแดนต่ำ คือ อยู่ในช่วง 0.36-1.21, 0.72-1.20 และ 0.92-1.39 เท่า) ส่วนแบบคที่เรียบีเอสไม่ควรนำมาใช้ควบคุมยุงรำคาญในพื้นที่ชายแดนด้านกัมพูชา เนื่องจากยุงในบางพื้นที่มี

ความต้านทานสูงขึ้น 8.47 เท่า ส่วนพื้นที่ชายแดนไทยลาว มี 3 จาก 11 จังหวัด คือ พะเยา น่าน และมุกดาหาร ที่ยังสามารถใช้แบคทีเรียบีเอสควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญได้ ส่วนจังหวัดที่เหลือถึงแม้ค่าความต้านทานอยู่ในระดับปานกลาง ถ้านำแบคทีเรียบีเอสมาใช้ต้องใช้ในปริมาณที่มากขึ้นและต้องใช้ควบคู่กับวิธีควบคุมอื่นๆ หรือหมุนเวียนไปใช้วิธีควบคุมอื่นแทนเพื่อป้องกันยุงเกิดความต้านทานที่สูงขึ้นไปอีก ในขณะที่สารเคมีที่มีฟอสสามารถนำไปใช้ได้ เช่นเดียวกับแบคทีเรียบีทีโอ อย่างไรก็ตามยังขาดข้อมูลของชายแดนภาคใต้ที่ยังไม่สามารถดำเนินการศึกษาได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติและกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่สนับสนุนงบประมาณการวิจัย ขอขอบคุณนางเลาจนา เขาวนาดิศัย อดีตผู้ทรงคุณวุฒิด้านวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์การแพทย์ (ชีววิทยา) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่เป็นต้นแบบในผลิตแบคทีเรียกำจัดลูกน้ำยุง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ฝ่ายศึกษาควบคุมแมลงทางชีววิธี กลุ่มกีฏวิทยาทางการแพทย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่มีส่วนช่วยการศึกษาวิจัยครั้งนี้ให้มีความสำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. WHO. *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) in drinking-water, background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. Geneva: World Health Organization; 2009.
2. สำนักระบาดวิทยา. โรคเท้าช้าง. ใน: สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค ประจำปี 2557. นนทบุรี: กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2558. หน้า 41-42.
3. สำนักระบาดวิทยา. โรคเท้าช้าง. ใน: สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค ประจำปี 2558. นนทบุรี: กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2559. หน้า 45-46.
4. สำนักระบาดวิทยา. โรคเท้าช้าง. ใน: สรุปรายงานการเฝ้าระวังโรค ประจำปี 2559. นนทบุรี: กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2560. หน้า 45-46.
5. Tritteraprapab S, Kanjanopas K, Suwannadabba S, Sangprakarn S, Poovorawan Y, Scott AL. Transmission of the nocturnal periodic strain of *Wuchereria bancrofti* by *Culex quinquefasciatus*: establishing the potential for urban filariasis in Thailand. *Epidemiol Infect* 2000; 125(1): 207-12.
6. Chansang U, Methawanitpong N, Saraprug D, Phetsuwan P, Ponsuwan N, Wiriyasaronont P. Development of larvicidal *Bacillus thuringiensis var. israelensis* by the Thai NIH and its comparison to *Bacillus sphaericus* and temephos in a selection experiment with the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Int J Appl Microbiol Biotechnol Res* 2020; 8(5): 58-65.
7. Dulmage HT, Correa JA, Gallegos-Morales G. Potential for improved formulation of *Bacillus thuringiensis israelensis* through standardization and fermentation development. In: de Barjac H, Sutherland DJ, editors. Bacterial control of mosquitoes and black flies. London: Rutgers University Press, 1990. p. 110-133.
8. Raclou V, Ramsey R, Tong S, Hu W. Surveillance of dengue fever virus: a review of epidemiological models and early warning systems. *PLoS Negl Trop Dis* 2012; 6(5): e1648. 9 pages.

9. Chohanadisai L, Methawanitphong N, U-mai N. Effectiveness of bacterial larvicide products from Thai strain *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. In: Ngo DB, Akhuest RJ, Dean DH, editors. *Biotechnology of Bacillus thuringiensis*. Hanoi: Science and Technic Publishing House 2005. p. 365-382.
10. Buchanan RE, Gibbons NE, editors. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 8th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1974.
11. WHO. Bioassay method for the titration of *Bacillus sphaericus* preparations with RB 80 standard. In: *Informal consultations on the development of Bacillus sphaericus as a microbial larvicide*. Geneva: World Health Organization; 1985. p. 20-21.
12. WHO. *Instruction for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides*. Geneva: World Health Organization; 1981.
13. Kahindi SC, Muriu S, Derua YA, Wang X, Zhou G, Lee MC, et al. Efficacy and persistence of long-lasting microbial larvicides against malaria vectors in western Kenya highlands. *Parasit Vectors* [serial online] 2018. Jul [cited 2020 Jun 22]; 11(1): [10 screens]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6069807>.
14. Dunford JC, Stoops CA, Estep AS, Britch SC, Richardson AG, Walker TW, et al. SR450 and Superhawk XP applications of *Bacillus thuringiensis israelensis* against *Culex quinquefasciatus*. *J Am Mosq Control Assoc* 2014; 30(3): 191-8.
15. Tritteraprapab S, Nuchprayoon I, Porksakorn C, Poovorawan Y, Scott AL. High prevalence of *Wuchereria bancrofti* infection among Myanmar migrants in Thailand. *Ann Trop Med Parasitol* 2001; 95(5): 535-8.
16. Su T, Mulla MS. Field evaluation of new water-dispersible granular formulations of *Bacillus thuringiensis* ssp. *israelensis* and *Bacillus sphaericus* against *Culex* mosquitoes in microcosms. *J Am Mosq Control Assoc* 1999; 15(3): 356-65.
17. Zahiri NS, Su T, Mulla MS. Strategies for the management of resistance in mosquitoes to the microbial control agent *Bacillus sphaericus*. *J Med Entomol* 2002; 39(3): 513-20.
18. Tabbabi A, Daaboub J, Laamari A, Cheikh RB, Feriani M, Boubaker C, et al. Evaluation of resistance to temephos insecticide in *Culex pipiens pipiens* larvae collected from three districts of Tunisia. *Afr Health Sci* 2019; 19(1): 1361-7.
19. Xu Z, Bambrick H, Yakob L, Devine G, Lu J, Frentiu FD, et al. Spatiotemporal patterns and climatic drivers of severe dengue in Thailand. *Sci Total Environ* 2019; 656: 889-901.
20. วัชรพงษ์ แสงนิล, จารุวรรณ วงบุตดี. การประยุกต์ใช้ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์ เพื่อจำแนกพื้นที่เสี่ยงต่ออุบัติการณ์โรคมาลาเรียในเขตพื้นที่ชายแดนไทย-ลาว-กัมพูชา จังหวัดศรีสะเกษ และจังหวัดอุบลราชธานี. *วารสารสาธารณสุขศาสตร์* 2557; 44(3): 260-72.

Development of the Tablet Bacterial Larvicide Formulation and the Effectiveness against Thai-border Population Strains of the Mosquito *Culex quinquefasciatus*

Uruyakorn Chansang Nittaya Methawanitpong Chitti Chansang Nuntaporn Phonsuwan
Porntida Petsuwan Pornchai Wiriyasaranont Danaporn Saraprug
and Ballang Uppapong

National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT Bacterial larvicides have been used for vector control according to the problems of insecticide resistance and environmental residual effect. Available larvicides *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti) and *Bacillus sphaericus* (Bsph) are expensive and some of them are not effective enough to control mosquito larvae. This study was carried out to produce tablet Bti which was extended from the previous study on the production of powder Bti. The preliminary trials for effectiveness of the tablet Bti were performed for the potency and simulated field residual effect against standard strain *Aedes aegypti* larvae. Then the tablet Bti was evaluated for the resistance of *Culex quinquefasciatus* larvae which was collected from 27 provinces located at 3 Thai borders along Myanmar, Laos and Cambodia. The results showed that the tablet Bti has potency 2,150 ITU/mg product and covered 28-day residual in simulated field conditions. The resistance of mosquitoes from the 3 areas to tablet Bti were 0.36-1.21, 0.72-1.20 and 0.92-1.39 fold, respectively when compared to standard strain of mosquito. In order to obtain the adequate data on larvicide using for public health mosquito control program, the tests were run in parallel to the field strain of *Culex* mosquito to the initial powder Bsph produced in the same laboratory and commercial temephos. It was found that the mosquitoes from the 3 borders showed the RR to Bsph at 0.87-2.66, 1.99-3.17 and 3.50-7.03, and to temephos at 0.47-3.01, 1.04-1.86 and 1.07-2.45 fold, respectively. These initiated data were presented as the GIS map construction.

Keywords: *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti), *Bacillus sphaericus* (Bsph), Temephos, *Cx. quinquefasciatus*, GIS map