



Susceptibility of *Anopheles maculatus* and *An. minimus* to Synthetic Pyrethroid by WHO Test and Biochemical Assay Technique

Piyaporn Wangroongsarb¹, Prasan KanKaew², Suchart Patipong¹,
Veeraphol Phothijiti¹, Ratana Sithiprasasna²

¹ Bureau of Vector-borne Disease, Department of Disease Control, Ministry of Public Health;

² Department of Entomology, US Army Medical Component, AFRIMS, Bangkok, Thailand

Abstract

Malaria is an important epidemic arthropod-borne disease, recognized as a public-health problem by the Thai Ministry of Public Health (MOPH). Vector control using insecticides is considered an effective tool in the Thai Malaria Control Program. Since 1996, the Thai MOPH has been using pyrethroids, *ie*, deltamethrin and permethrin, rather than organochlorines to control anopheline mosquitoes. The Bureau of Vector-borne Disease, MOPH, has routinely used a WHO test kit to assess the insecticide susceptibility of anophelines. This experimental comparative study of the WHO test kit and biochemical assay test was conducted to ascertain the susceptibility of major malaria vectors to synthetic pyrethroid. The two mosquito species used were wild *Anopheles maculatus* collected from Uthai Thani Province, and *An. minimus* collected from Tak, Chumphon, and Surat Thani provinces during the period May-July 2005. The study aimed to assess the distribution of field populations of *An. minimus* and *An. maculatus* and their insecticide susceptibility using the WHO test kit and the biochemical assay test, and to evaluate the potential usefulness of the biochemical assay test compared with the WHO test kit, as a potential monitoring tool in vector-control programs.

The results of testing *An. maculatus* from Uthai Thani and *An. minimus* from Tak and Chumphon showed up to 98% mortality by WHO test kit, and thus no resistance according to WHO standards. The results of the biochemical assay testing of *An. maculatus* from Uthai Thani and *An. minimus* from Surat Thani, Chumphon, and Tak were compared with those for two laboratory colonies, both MOPH and AFRIMS. It was interpreted that the *An. maculatus* from Uthai Thani and *An. minimus* from Chumphon and Tak had the same susceptibility to the pyrethroid as found with the WHO test kit. The biochemical assay is a promising new technique for detection and assessment. However, in this study, only a small number of mosquitoes were tested. Continuous large-scale studies should be conducted to determine provisional susceptibility thresholds for use in monitoring the effects of control strategies on vector mosquito resistance.

Keywords: *Anopheles maculatus*, *An. minimus*, pyrethroid, WHO, biochemical assay technique, Thailand

บทนำ

การควบคุมยุงพาหะไข้มาลาเรียถือเป็นมาตรการหนึ่งในการป้องกันโรคไข้มาลาเรีย และยังเป็นวิธีที่ใช้การควบคุมการ

แพร่ระบาดของโรคได้ด้วย สารเคมีที่ใช้ในการควบคุมไข้มาลาเรีย ของสำนักโรคติดต่ออันตรายและสำนักงานป้องกันควบคุมโรค ทั้ง 12 แห่ง จัดอยู่ในกลุ่มออร์แกนอคลอ

ไรด์ (Organochloride) [1] อย่างไรก็ตาม ใน พ.ศ. 2539 จนถึงปัจจุบันสำนักโรคติดต่อมาโดยแมลงได้มีนโยบายให้เปลี่ยนมาใช้สารสังเคราะห์ในกลุ่มไพเรทรอยด์ (Pyrethroid) เนื่องจากมีรายงานจากองค์การอนามัยโลกว่า มียุงพาหะมาลาเรียในบางประเทศ มีความต้านทานต่อสารกำจัดแมลงในกลุ่มออร์แกโนคลอไรด์แล้ว [2,3] เช่น ยุง *An. sinensis* ในประเทศจีน [4] ยุง *An. annularis* ในประเทศเนปาล ยุง *An. maculatus* และ ยุง *An. culicifacies* ในประเทศภูฏาน ยุง *An. sundaicus* และ ยุง *An. kiliensis* ในประเทศอินโดนีเซีย รวมทั้งยุง *An. funestus* ในประเทศแอฟริกาใต้ด้วย [5] นอกจากนี้ยังมีอีกหลายๆ ประเทศที่ประสบกับปัญหานี้เช่นเดียวกัน อีกทั้งสารเคมีดังกล่าวมีฤทธิ์ตกค้างในธรรมชาตินานนับสิบปี ทำให้มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมระยะยาว

สำนักโรคติดต่อมาโดยแมลง มีบทบาทหน้าที่ในการประเมินและติดตามความไวของยุงต่อสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในพ่นบ้านเรือนด้วยสารเคมีดีแทมทรีน และชุบมุ้งด้วยสารเพอร์มิทรีนในพื้นที่เสี่ยงต่อการเกิดโรคเพื่อควบคุมยุงพาหะนำมามีมาลาเรีย โดยวิธีการทดสอบด้วยกระดาษชุบสารเคมีขององค์การอนามัยโลก (WHO test) ทุกปีจากทีมเจ้าหน้าที่กักตัก แต่ในปัจจุบันหลายพื้นที่ที่มีการศึกษาต้องประสบกับปัญหาอุปสรรคหลายประการ อาทิเช่น จำนวนยุงในภาคสนามที่จับมาใช้ทดสอบไม่เพียงพอเพราะต้องใช้จำนวนยุงอย่างต่ำ 100 ตัวต่อ 1 การทดสอบสารเคมีในหนึ่งพื้นที่ ทำให้การออกปฏิบัติงานบางครั้งไม่ประสบความสำเร็จและต้องสุ่มเปลี่ยนพื้นที่อยู่เสมอๆ ข้อมูลที่ได้จึงขาดความต่อเนื่อง ทำให้เกิดการสูญเสียเวลาและงบประมาณ และอีกประการคือกระดาษชุบสารเคมีต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศและมีอายุใช้งานสั้นเพียง 1 ปีเท่านั้น ดังนั้นสำนักโรคติดต่อมาโดยแมลงจึงได้ร่วมมือกับสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหารฝ่ายสหรัฐ เพื่อศึกษาหาเทคนิคหรือแนวทางใหม่ๆ ที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในงานเฝ้าระวังสถานการณ์ระดับความไวของยุงต่อสารเคมีกำจัดแมลงต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อประเมินระดับความไวของยุงกันปล่องต่อสารเคมีกำจัดแมลงไพเรทรอยด์ที่ใช้ในการควบคุมไข้มาลาเรียด้วยวิธีองค์การอนามัยโลกและวิธีชีวเคมี
2. เพื่อเปรียบเทียบผลของการทดสอบความไวของยุงกันปล่องต่อสารเคมีกำจัดแมลงไพเรทรอยด์ระหว่างวิธีองค์การอนามัยโลกและวิธีชีวเคมี

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. การเก็บตัวอย่างยุงกันปล่องที่เป็นพาหะหลักนำโรคมาลาเรียในพื้นที่ 4 จังหวัด คือจังหวัดตาก อุทัยธานี ชุมพร และสุราษฎร์ธานี โดยดำเนินการเก็บตัวอย่างยุงในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึงเดือนสิงหาคม 2548

1.1 เลือกพื้นที่ที่เป็นแหล่งที่มีการติดเชื้อมาลาเรียสูง เพราะจะเป็นกลุ่มบ้านที่มีการควบคุมโรค โดยจะมีประวัติการใช้สารเคมีในการควบคุมยุงโดยการพ่นบ้านหรือชุบมุ้ง และมีผลการสำรวจพบยุงกันปล่อง *Anopheles* spp.

1.2 คัดเลือกและกำหนดบ้านที่ใช้เป็นจุดจับยุงจำนวน 4 หลัง โดยให้มีคนจับยุงนอกบ้าน หลังละ 2 คนโดยใช้วัวเป็นเหยื่อล่อ

1.3 เวลาปฏิบัติการจับยุงตั้งแต่ 19.00-24.00 น.

1.4 นำยุงใส่กรงยุงโดยมีอาหาร (น้ำหวานและวิตามิน) เพื่อเลี้ยงยุงให้แข็งแรง

1.5 วินิจฉัยคัดแยกชนิดยุงได้ 2 ชนิดคือ ยุง *An. minimus* และ *An. maculatus* จากนั้นนำยุงส่วนหนึ่งนำมาทดสอบกับกระดาษชุบสารเคมี อีกส่วนหนึ่งนำมาทดสอบด้วยวิธี biochemical assay โดยนำยุงใส่กรงเพื่อเลี้ยงยุงให้แข็งแรง แล้วนำยุงส่งตรวจในห้องปฏิบัติการ

2. การทดสอบยุงด้วยกระดาษชุบสารเคมีขององค์การอนามัยโลกจำนวน 2 ชนิด [6] คือ

Permethrin 0.75% และ Deltamethrin 0.05% โดยนำยุง *An. minimus* จำนวน 15-20 ตัวสัมผัสกับกระดาษชุบสารเคมีแต่ละชนิดดังกล่าวตาม 1 ชั่วโมงตามวิธีการขององค์การอนามัยโลก จากนั้นนำยุงมาเลี้ยงด้วยน้ำหวานและวิตามินต่ออีก 24 ชั่วโมงเพื่อดูผลการอยู่รอดของยุงแล้วจดบันทึกไว้ ส่วนยุง *An. maculatus* ก็ทำการทดสอบด้วยวิธีดังกล่าวเช่นกัน

3. การทดสอบยุงด้วยวิธีชีวเคมีในห้องปฏิบัติการของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหารตาม protocol ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร [7,8]

ผลการศึกษา

ในการศึกษาวิจัยนี้ ได้ศึกษาจากพื้นที่ที่มีการแพร่เชื้อตลอดปี (A1) และพื้นที่ที่มีการแพร่เชื้อบางฤดูกาล (A2) ใน 4 จังหวัด คือ จังหวัดอุทัยธานี ตาก ชุมพร และสุราษฎร์ธานี ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีมาตรการในการควบคุมยุงพาหะมาลาเรียโดยการชุบมุ้งด้วยสารเคมีเพอร์มิทรีน และพ่นบ้านด้วยสารเคมีดีแทมทรีน สารเคมีไบเฟโนทรีนเป็นประจำทุกปี [1] พื้นที่ดังกล่าวเป็นท้องที่เพาะปลูกทางเกษตรกรรม เช่น สวนผัก สวนปาล์ม สวนทุเรียน เป็นต้น จึงมีการใช้สารเคมีฆ่าแมลงทางเกษตรด้วยเช่น กรัสม็อคโซน ยุงที่จับได้เป็นยุงกันปล่อง 2 ชนิดคือ *An. maculatus* จำนวน 155 ตัว และ *An. minimus* จำนวน 425 ตัว ดังแสดงในตารางที่ 1

1. ผลการศึกษาความไวของยุงกันปล่องด้วยวิธีองค์การอนามัยโลก พบว่า

1.1 การทดสอบความไวของยุง *An. maculatus* ในจังหวัดอุทัยธานี ต่อสารเคมีเพอร์มิทรีน พบว่า ยุงมีอัตราตายร้อยละ 97.7 (ตารางที่ 2) ส่วนการทดสอบยุง *An. minimus* ในจังหวัดตาก และชุมพร ต่อสารเคมีเพอร์มิทรีน พบว่า

อัตราตายของยุงร้อยละ 100 และ 100 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

1.2 ในการทดสอบยุง *An. minimus* ในจังหวัดชุมพร ต่อสารเคมีเดลต้ามีทริน พบว่า อัตราตายของยุงร้อยละ 100 ดังแสดงในตารางที่ 2

1.3 ส่วนยุง *An. minimus* ที่จับได้จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี ไม่ได้ทำการทดสอบ เนื่องจากมีจำนวนน้อยไม่เพียงพอสำหรับการทดลอง

1.4 นอกจากนี้ยังได้ทำการทดสอบยุง *An. minimus* ในห้องเลี้ยงแมลงสำนักโรคติดต่อมาโดยแมลง ต่อสารเคมีเพอร์มีทริน พบว่า อัตราตายของยุงเท่ากับร้อยละ 100 เช่นกัน ส่วนยุง *An. minimus* และ *An. maculatus* ในห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร ก็พบว่ามีอัตรา

ตายของยุงเท่ากับร้อยละ 100 และ 100 ตามลำดับ

2. ผลการศึกษาความไวของยุงก้นปล่องด้วยวิธีชีวเคมี พบว่า

2.1 การทดสอบความไวของ *An. maculatus* ในจังหวัดอุทัยธานีเปรียบเทียบกับยุง *An. maculatus* ในห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร ซึ่งถือเป็นกลุ่ม control เนื่องจากเป็นยุงที่จับจากพื้นที่แล้วนำมาเลี้ยงในห้องเลี้ยงแมลงหลายรุ่นอายุ (F10+) แล้ว จึงไม่มีโอกาสได้สัมผัสกับสารเคมีฆ่าแมลงใดๆ ในสิ่งแวดล้อม ผลการทดสอบพบว่า ค่า OD ของเอ็นไซม์ Non Specific Esterase (NSE) และ Mixed Functional Oxidase (MFO) ของยุงที่จับได้ มีการกระจายเป็นรูปโค้งเบ้ซ้ายเช่นเดียวกับยุง กลุ่ม control ใน

ตารางที่ 1 ชนิดและจำนวนของยุงในพื้นที่ศึกษา 4 จังหวัด

ชนิดยุงที่จับได้	จำนวน (ตัว)	พื้นที่ศึกษา	ท้องที่	สารเคมีที่ใช้
<i>An. maculatus</i>	155	อำเภอบ้านไร่ จังหวัดอุทัยธานี	พื้นที่ A1	ชุบมุ้งด้วยสารเคมีเพอร์มีทริน
<i>An. minimus</i>	127	อำเภอแม่ระมาด จังหวัดตาก	พื้นที่ A1	พ่นบ้านด้วยสารเคมีไบเฟนทริน และชุบมุ้งด้วยสารเคมีเพอร์มีทริน
<i>An. minimus</i>	272	อำเภอสวี จังหวัดชุมพร	พื้นที่ A2	พ่นบ้านด้วยสารเคมีเดลต้ามีทริน
<i>An. minimus</i>	26	อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี	พื้นที่ A1	พ่นบ้านด้วยสารเคมีเดลต้ามีทริน

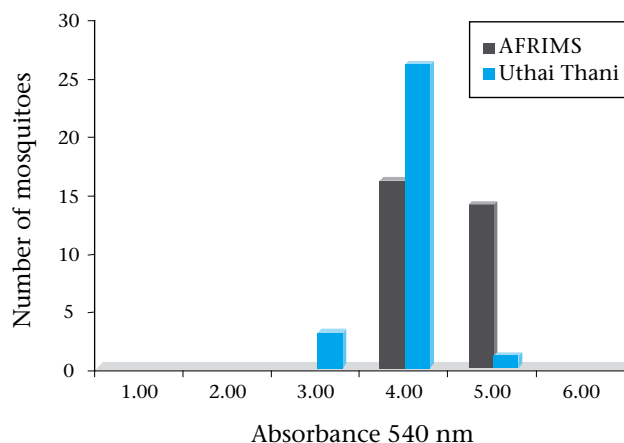
ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความไวของยุงต่อสารเคมีกำจัดแมลงด้วยวิธีองค์การอนามัยโลก

ชนิดยุงที่ทดสอบ	จังหวัด	สารเคมี	เวลาทดสอบ (นาที)	จำนวนยุงที่ทดสอบ	อัตราตาย (%)
<i>An. maculatus</i>	อุทัยธานี	Permethrin 0.75%	60	125	97.7
<i>An. minimus</i>	ตาก	Permethrin 0.75%	60	100	100
		Permethrin 0.75%	60	115	100
		Deltamethrin 0.05%	60	100	100
	สุราษฎร์ธานี	จำนวนยุงมีน้อย (20ตัว) ไม่พอแก่การทดสอบ	-	-	-
<i>An. minimus</i> (control)	ในห้องเลี้ยงแมลงสำนักโรคติดต่อมาโดยแมลง	Permethrin 0.75%	60	120	100
	ในห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยฯ	Permethrin 0.75%	60	120	100
<i>An. maculatus</i> (control)	ในห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยฯ	Permethrin 0.75%	60	120	100

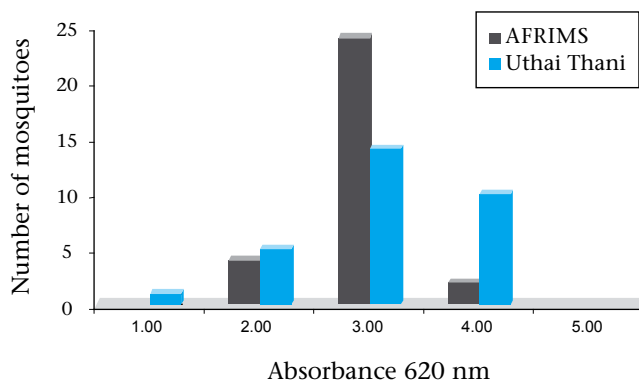
ห้องเลี้ยงแมลงจากสถาบันวิจัยฯ โดยมีค่า OD สูงสุดและต่ำสุดของเอ็นไซม์ NSE ของยุง *An. maculatus* ในจังหวัดอุทัยธานีอยู่ระหว่าง 3.98-2.64 เมื่อเทียบกับค่า OD สูงสุดและต่ำสุดของเอ็นไซม์ ของยุง control ในห้องเลี้ยงแมลงอยู่ระหว่าง 4.83-3.16 และค่า OD สูงสุดและต่ำสุดของเอ็นไซม์ MFO ของยุง *An. maculatus* ในจังหวัดอุทัยธานีอยู่ระหว่าง 3.76-0.87 เมื่อเทียบกับค่า OD สูงสุดและต่ำสุดของเอ็นไซม์ ของยุง control ในห้องเลี้ยงแมลงอยู่ระหว่าง 3.25-1.71 ตามลำดับ เมื่ออ่านค่าที่ความยาวคลื่นของแสงเท่ากับ 540 nm และ 620 nm ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 1, 2 และตารางที่ 3

2.2 ส่วนการทดสอบยุง *An. minimus* ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ชุมพร เปรียบเทียบกับยุง *An. minimus* (control) ในห้องเลี้ยงแมลงสำนักฯ และห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยฯ พบว่า ค่า OD ของเอ็นไซม์ NSE และ MFO มีค่ากระจายแตกต่าง แต่ค่า OD สูงสุดและต่ำสุดของเอ็นไซม์

NSE ของยุง *An. minimus* ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ชุมพร และ ดากอยู่ระหว่าง 1.88-0.59, 2.76-1.18 และ 3.34-0.68 เมื่อเทียบกับค่า OD สูงสุดและต่ำสุดของเอ็นไซม์ยุง control ในห้องเลี้ยงแมลงและห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยฯ อยู่ระหว่าง 1.91-0.53 และ 3.32-2.64 ส่วนค่า OD สูงสุดและต่ำสุดของเอ็นไซม์ MFO ของยุงในจังหวัดสุราษฎร์ธานี และชุมพร อยู่ระหว่าง 4.74-.27 และ 3.96-1.06 เทียบกับค่า OD สูงสุดและต่ำสุดของเอ็นไซม์ฯ ยุง control ในห้องเลี้ยงแมลงและห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยฯ อยู่ระหว่าง 4.05-1.21 และ 3.22-1.39 ตามลำดับ เมื่ออ่านค่าที่ความยาวคลื่นของแสงเท่ากับ 540 nm และ 620 nm ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3 และรูปที่ 3, 4 อย่างไรก็ตามจะเห็นว่าค่า OD สูงสุดของเอ็นไซม์ NSE ของยุงในห้องเลี้ยงแมลงสำนักฯ และห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยฯ แตกต่างกันมากเนื่องจากยุงที่จับมาเลี้ยงเป็นยุงที่คนละพื้นที่คนละจังหวัดกัน คือจังหวัดสระบุรี และจังหวัดเชียงใหม่



รูปที่ 1 การกระจายของค่า Optical density ของเอ็นไซม์ Non Specific Esterase (NSE) ในยุง *An. maculatus* จังหวัดอุทัยธานี เปรียบเทียบกับยุงในห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร



รูปที่ 2 การกระจายของค่า Optical density ของเอ็นไซม์ Mixed Functional Oxidase (MFO) ในยุง *An. maculatus* จังหวัดอุทัยธานี เปรียบเทียบกับยุงในห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร

ตารางที่ 3 ค่าต่ำสุด และค่าสูงสุดของ OD ของเอ็นไซม์ NSE, MFO ในยุง *An. maculatus* และยุง *An. minimus* ด้วยการตรวจวิธีชีวเคมี

ชนิดของยุง	จังหวัด	OD Non Specific Esterase			OD Mixed Functional Oxidase		
		ค่าสูงสุด	ค่าต่ำสุด	Mean $\pm$ SD	ค่าสูงสุด	ค่าต่ำสุด	Mean $\pm$ SD
<i>An. maculatus</i>	อุทัยธานี	3.984	2.645	3.277 $\pm$ 0.30	3.762	0.874	2.511 $\pm$ 0.74
<i>An. maculatus</i> (control)	ในห้องเลี้ยงแมลง สถาบันวิจัยฯ	4.833	3.165	3.899 $\pm$ 0.36	3.258	1.714	2.411 $\pm$ 0.36
<i>An. minimus</i>	สุราษฎร์ธานี	1.884	0.596	1.045 $\pm$ 0.30	4.744	2.275	3.370 $\pm$ 0.69
	ชุมพร	2.768	1.182	2.033 $\pm$ 0.52	3.962	1.063	2.150 $\pm$ 0.54
	ตาก	3.347	0.682	2.191 $\pm$ 0.80	-	-	-
<i>An. minimus</i> (control)	ในห้องเลี้ยงแมลง สำนักโรคติดต่อ นำโดยแมลง	1.916	0.535	0.996 $\pm$ 0.40	4.053	1.210	2.988 $\pm$ 0.61
	ในห้องเลี้ยงแมลง สถาบันวิจัยฯ	3.320	2.643	3.025 $\pm$ 0.24	3.225	1.397	2.594 $\pm$ 0.41

หมายเหตุ ยุง *An. minimus* จังหวัดตากไม่สามารถตรวจเอ็นไซม์ MFO เนื่องจากยุงมีเลือดเต็มท้อง โปรตีนในเลือดจะมีผลทำให้การตรวจเอ็นไซม์ MFO มีค่าผิดพลาด จึงไม่ได้ทำการทดสอบ

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

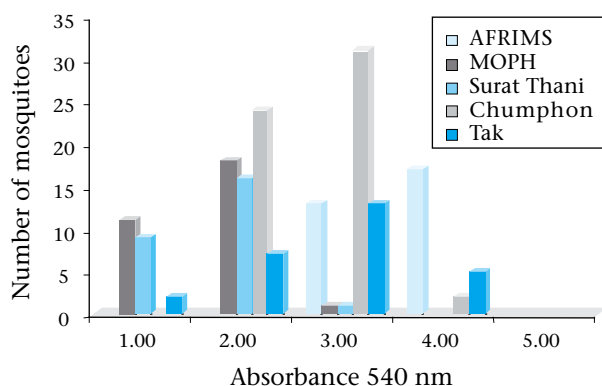
1. จากผลการศึกษาความไวของยุงก้นปล่องด้วยวิธีองค์การอนามัยโลก พบว่า ยุง *An. maculatus* จังหวัดอุทัยธานี และยุง *An. minimus* จังหวัดตาก และชุมพร มีอัตราตาย ร้อยละ 97.7 และ 100 และ 100 ตามลำดับ เมื่อสัมผัสกับสารเคมีเพอร์มีทริน ซึ่งมีผลตรงกับรายงานผลการทดสอบความไวของยุง *An. minimus* จังหวัดตากจากรายงานประจำปี 2545 กองมาลาเรีย พบมีอัตราตายร้อยละ 100 แสดงว่า ยุง *An. maculatus* จังหวัดอุทัยธานี และ *An. minimus* จังหวัดตาก และชุมพรยังมีความไวต่อสารเคมีเพอร์มีทรินสูง เมื่อใช้หลักเกณฑ์ในการประเมินผลการทดสอบความไวของยุงจากองค์การอนามัยโลก [9,10]

ส่วนยุง *An. minimus* จังหวัดชุมพร พบว่ามีอัตราตายร้อยละ 100 เมื่อสัมผัสกับสารเคมีเดต้ามีทรินแสดงว่า ยุง *An. minimus* ก็มีความไวต่อสารเคมีเดต้ามีทรินสูงเช่นกัน ซึ่งมีผลใกล้เคียงกับรายงานผลการทดสอบความไวของยุงพาหะมาลาเรียจากรายงานประจำปี 2541 กองมาลาเรีย [1,9] พบมีอัตราตายร้อยละ 98.6

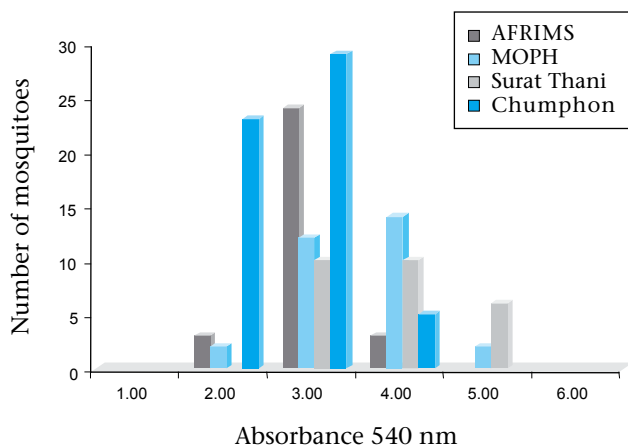
2. จากการทดสอบความไวของยุง *An. maculatus* และ *An. minimus* ด้วยวิธีชีวเคมี โดยใช้การเปรียบเทียบกับยุงที่อยู่ในห้องเลี้ยงแมลงสำนักฯ และห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยฯ เพราะเนื่องจากยังไม่มีข้อมูลที่แสดงว่า ยุง

An. maculatus และ *An. minimus* ในประเทศไทยดื้อต่อสารเคมีกลุ่มไพรีทรอยด์ จึงไม่สามารถหาค่า OD ของเอ็นไซม์ NSE และ MFO ที่เป็นจุดตัดระหว่างค่า OD ของเอ็นไซม์ NSE และ MFO ของยุงที่ดื้อต่อสารเคมี กับค่า OD ของเอ็นไซม์ NSE และ MFO ของยุงที่ไวต่อสารเคมีกลุ่มไพรีทรอยด์ แต่ในการศึกษานี้ได้นำยุง *An. maculatus* ที่เลี้ยงในห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร และ *An. minimus* ในห้องเลี้ยงแมลงสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง นำมาทดสอบความไวด้วยวิธีองค์การอนามัยโลก ซึ่งแสดงผลว่ายุง *An. maculatus* และ *An. minimus* ในห้องเลี้ยงแมลงทั้ง 2 แห่งมีความไวต่อสารเคมีเพอร์มีทรินในกลุ่มไพรีทรอยด์เช่นกัน ดังนั้นค่า OD ของเอ็นไซม์ NSE และ MFO ของยุง *An. maculatus* และ *An. minimus* ในห้องเลี้ยงแมลงทั้ง 2 แห่งที่ได้จากการทดสอบความไวด้วยวิธีชีวเคมีก็ได้พิสูจน์ว่ามีค่าความไวต่อสารเคมีกลุ่มไพรีทรอยด์ในเกณฑ์เดียวกัน จึงได้นำยุง *An. maculatus* ในห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร และ *An. minimus* ในห้องเลี้ยงแมลงสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง มาศึกษาเปรียบเทียบกับยุง *An. maculatus* ในจังหวัดอุทัยธานี *An. minimus* ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ชุมพร และตาก

2.1 จากการศึกษาทดสอบความไวของยุง *An. maculatus* ในจังหวัดอุทัยธานีด้วยวิธีชีวเคมี ส่วนใหญ่ค่า



รูปที่ 3 การกระจายของค่า Optical density ของเอ็นไซม์ NSE ในยุง *An. minimus* จังหวัดสุราษฎร์ธานี ชุมพร ตาก เปรียบเทียบกับยุงในห้องเลี้ยงแมลงสำนักโรคติดต่ออันตราย โดยแมลง และห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร



รูปที่ 4 การกระจายของค่า Optical density ของเอ็นไซม์ MFO ในยุง *An. minimus* จังหวัดสุราษฎร์ธานี ชุมพร ตาก เปรียบเทียบกับยุงในห้องเลี้ยงแมลงสำนักโรคติดต่ออันตราย โดยแมลง และห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร [หมายเหตุ ยุง *An. minimus* จังหวัดตากไม่สามารถตรวจเอ็นไซม์ MFO เนื่องจากยุงมีเลือดเต็มท้อง โปรตีนในเลือดจะมีผลทำให้การตรวจเอ็นไซม์ MFO มีค่าผิดพลาด จึงไม่ได้ทำการทดสอบ]

OD สูงสุดของเอ็นไซม์ NSE และ MFO มีค่าไม่แตกต่างจากค่า OD สูงสุดของเอ็นไซม์ยุงในห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยฯ หมายความว่า ยุงในจังหวัดอุทัยธานีมีการสร้างและหลั่งเอ็นไซม์ NSE และ MFO อยู่ในระดับใกล้เคียงกับยุงในห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยฯ แสดงว่ายุง *An. maculatus* ในจังหวัดอุทัยธานีมีความไวต่อสารเคมีสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ในระดับเดียวกันกับยุงในห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยฯ เพราะจากการศึกษาของ Brogdon [11] ในด้าน Detoxification enzymes ของสารเคมีสังเคราะห์ไพรีทรอยด์จะมีผลต่อการหลั่งเอ็นไซม์ NSE และ MFO

ของยุง ดังนั้นถ้ายุงที่มีการต้านทานต่อสารเคมีสังเคราะห์ไพรีทรอยด์จะมีผลทำให้การสร้างเอ็นไซม์ NSE และ MFO ผิดปกติ

2.2. ส่วนยุง *An. minimus* ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ชุมพร และตาก พบว่า ส่วนมากค่า OD สูงสุดของเอ็นไซม์ NSE และ MFO อยู่ในช่วงเดียวกับยุงในห้องเลี้ยงแมลงสำนักฯ และสถาบันวิจัยฯ แสดงว่ายุง *An. minimus* ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี และจังหวัดชุมพรมีการสร้างและหลั่งเอ็นไซม์ NSE และ MFO อยู่ในระดับใกล้เคียงกับยุงในห้องเลี้ยงแมลงสำนักฯ และสถาบันวิจัยฯ ดังนั้นแสดงว่ายุง *An.*

minimus ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ชุมพร และตากมีความไวต่อสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์เช่นเดียวกับยุงในห้องเลี้ยงแมลง เมื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบความไวของยุงกันปล่องทั้งสองวิธีคือ วิธีองค์การอนามัยโลกและวิธี ชีวเคมี จะเห็นว่า ยุง *An. maculatus* จังหวัดอุทัยธานี และ *An. minimus* จังหวัดชุมพร และตาก ที่ทดสอบด้วยวิธีชีวเคมีจะให้ผลตรวจความไวต่อสารเคมีกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์สอดคล้องกับการตรวจด้วยวิธีองค์การอนามัยโลกที่แสดงผลยุงมีความไวต่อสารเคมีชนิดเพอร์มีทรินและสารเคมีชนิดเดลต้ามีทรินในกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์เช่นเดียวกัน แต่วิธีการตรวจด้วยชีวเคมีไม่สามารถตรวจแยกวิเคราะห์ชนิดของสารเคมี ดังนั้น วิธีการตรวจด้วยชีวเคมีถือว่าเป็นวิธีการที่ใช้ในการตรวจวัดแนวโน้มความไวของยุงต่อสารเคมีสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ในระดับเบื้องต้น

ข้อเสนอแนะ

1. ควรดำเนินการศึกษาขยายพื้นที่และดำเนินการศึกษาต่ออย่างต่อเนื่องอย่างน้อย 3 ปี เพื่อจะได้มีข้อมูลที่เพียงพอต่อการวิเคราะห์ และสามารถบ่งชี้ความแตกต่างในแต่ละช่วงเวลาและแต่ละพื้นที่
2. ข้อจำกัดของการศึกษานี้ เป็นการศึกษาเปรียบเทียบการตรวจความไวของยุงด้วยวิธีการตรวจสอบวิธี ซึ่งในแต่ละวิธีก็ต้องใช้จำนวนยุงมาก จึงจำเป็นต้องใช้ยุงจำนวนมากกว่าปกติ แต่ยุงตัวอย่างที่มีชีวิตในธรรมชาติจะหายาก เพราะขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่ต้องเอื้อและไม่เปลี่ยนแปลง และช่วงเวลาของการเก็บตัวอย่าง
3. ข้อจำกัดของวิธีการตรวจด้วยชีวเคมี เป็นวิธีการตรวจวัดเอ็นไซม์ของ Non Specific Esterase และ Mixed Functional Oxidase ในกลุ่มสารเคมีสังเคราะห์ไพรีทรอยด์แต่ไม่สามารถตรวจแยกวิเคราะห์ชนิดของสารเคมี

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณนายแพทย์ชัยพร โรจนวัฒน์ศิริเวช ผู้อำนวยการสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง ที่อนุมัติและให้การสนับสนุนในการดำเนินการวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กีฏวิทยา กลุ่มเทคโนโลยีการควบคุมแมลงนำโรคที่ร่วมปฏิบัติงานเก็บตัวอย่างยุงในภาคสนาม และเจ้าหน้าที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหารที่ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติงานด้านห้องปฏิบัติการด้านชีวเคมี รวมทั้งเจ้าหน้าที่ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลงที่ 11.3 สุราษฎร์ธานี และเจ้าหน้าที่ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลงที่ 11.4 ชุมพร ที่ให้ความ

ร่วมมือและช่วยประสานกับชุมชนในการปฏิบัติภาคสนาม รวมทั้งชาวบ้านทุกคนที่ให้ความสะดวกในปฏิบัติงานเก็บตัวอย่างยุงในเวลากลางคืน

เอกสารอ้างอิง

1. กองมาลาเรีย กระทรวงสาธารณสุข. รายงานประจำปี 2545. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก; 2545.
2. WHO. Report of the WHO informal consultation on the evaluating and testing of insecticide. CTD/WHOPES/IC/96.1.1996.
3. WHO. Operational manual on the application of insecticides for control of the mosquito vectors of malaria and other diseases. CTD/VBC/96.1000 REV.1 1997.
4. Wang J. Resistance to two pyrethroids in *Anopheles sinensis* from Zhejiang, China J Am Mosq Control Assoc. 1999;15:308-11.
5. Hargreaves K, Koekemoer LL, Brooke BD, Hunt RH, Mthembu J, Coetzee M. *Anopheles funestus* resistance to pyrethroid insecticides in South Africa. Med Vet Entomol. 2000;14:181-9.
6. WHO/SEARO. National malaria control programme managers. Report of an intercountry consultative meeting, New Delhi, 20-24 March 1995.
7. Brogdon WG. Biochemical assay resistance detection: an alternative to bioassay. Parasitol Today. 1989;5:56-60.
8. Centers for Disease Control and Prevention, [homepage on the Internet]. Atlanta U.S.A. [updated 2002 May 7] [about 11 screens]. Available from: <http://www.cdc.gov/ncidod/wbt/resistance/assay/microplate/index.htm>
9. กองมาลาเรีย กระทรวงสาธารณสุข. รายงานประจำปี 2541. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด; 2541.
10. WHO. Vector resistance to pesticides. WHO Tech Rep Ser. 818.1992.
11. Brogdon WG, Mc Allister JC. Insecticide resistance and vector control. Emerg Infect Dis. 1998;4:605-13.

Available online at www.ptat.thaigov.net

ความไวของยุงก้นปล่องต่อสารเคมีสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ ด้วยวิธีองค์การอนามัยโลกและวิธีชีวเคมี

ปิยะพร หวังรุ่งทรัพย์¹, ประสาน กานแก้ว², สุชาติ ผาดิพงษ์¹, วีระพล โพธิ์จิตติ¹,
รัตนา สิทธิประศาสน์²

¹ สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข;

² สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหารฝ่ายสหรัฐ กรุงเทพฯ ประเทศไทย

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความไวของยุงก้นปล่องต่อสารเคมีกำจัดแมลงสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ด้วยวิธีองค์การอนามัยโลกและวิธีชีวเคมี และเพื่อเปรียบเทียบผลของการตรวจทั้ง 2 วิธี เพื่อพิจารณาหาเทคนิคใหม่การทดสอบ การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างยุงก้นปล่องที่เป็นพาหะหลักนำโรคมาลาเรียช่วงเดือนพฤษภาคม ถึงเดือนสิงหาคม 2548 ในพื้นที่ 4 จังหวัด คือ จังหวัดตาก อุทัยธานี ชุมพร และสุราษฎร์ธานี แล้วนำมาแยกชนิดของยุงได้ 2 ชนิดคือ *An. maculatus* และ *An. minimus* จากนั้นนำยุงที่จับได้ส่วนหนึ่งทดสอบกับกระดาษชุบสารเคมีขององค์การอนามัยโลกจำนวน 2 ชนิดคือ Permethrin 0.75% และ Deltamethrin 0.05% อีกส่วนหนึ่งนำมาทดสอบด้วยวิธีชีวเคมี ผลการศึกษา โดยการทดสอบความไวของยุงด้วยวิธีองค์การอนามัยโลกพบว่า ยุง *An. maculatus* จังหวัดอุทัยธานี และยุง *An. minimus* จังหวัดตาก และชุมพร มีความไวต่อสารเพอร์มีทริน ส่วน *An. minimus* จังหวัดชุมพร ก็มีความไวต่อสารเดลต้ามีทรินเช่นกัน ส่วนการทดสอบความไวของยุงด้วยวิธีชีวเคมี พบว่า ยุง *An. maculatus* จังหวัดอุทัยธานีมีค่าสูงสุดและต่ำสุดของ OD ของเอ็นไซม์ NSE และ MFO ใกล้เคียงกันกับยุงห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยฯ ส่วนยุง *An. minimus* จังหวัดสุราษฎร์ธานี ชุมพร และตาก มีค่าสูงสุดและต่ำสุดของ OD ของเอ็นไซม์ทั้งสองชนิดดังกล่าวอยู่ในช่วงที่ไม่เกินค่าของเอ็นไซม์ของยุงในห้องเลี้ยงแมลงสำนักฯ และห้องเลี้ยงแมลงสถาบันวิจัยฯ ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบการทดสอบความไวของยุงก้นปล่องด้วยวิธีองค์การอนามัยโลกและวิธีชีวเคมี พบว่าการตรวจทั้งสองวิธีให้ผลที่สอดคล้องกัน ดังนั้น วิธีการตรวจด้วยชีวเคมีถือว่าเป็นวิธีการที่สามารถใช้ตรวจวัดคุณแนวโน้มความไวของยุงต่อสารเคมีสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ในระดับเบื้องต้น แต่การนำมาประยุกต์ใช้และขยายผลในการศึกษาระดับประเทศ ควรจะทำการศึกษาในพื้นที่เพิ่มเติม

ประเด็นสำคัญ: ความไวของยุงก้นปล่อง ไพรีทรอยด์ องค์การอนามัยโลก วิธีชีวเคมี ประเทศไทย