

ประสิทธิภาพการเสริมฤทธิ์ของไพเพอร์โรนิลบิวทอกไซด์ร่วมกับสารเดลต้าเมทริน ต่อพฤติกรรมตอบสนองการหลีกเลี่ยงและอัตราการตายของยุงลายบ้าน

Synergistic effect of combination deltamethrin and piperonyl butoxide on behavioral avoidance and mortality responses of *Aedes aegypti* L

พรรณเกษม แผ่พร¹Pungasem Paeporn¹สุนัยนา สาทันไตรภพ¹Sunaiyana Sathantripop¹คณัจฉรีย์ ธานิสพงศ์²Kanutcharee Thanispong²ภูเบศร์ ยะอัมพันธ์¹Phubeth Ya-umphan¹พงศกร มุขขันธุ์¹Pongsakorn Mukkhun¹¹สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข¹National Institute of Health,

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

Department of Medical Sciences

²กองโรคติดต่อทางแมลง²Division of Vector-Borne Diseases,

กรมควบคุมโรค

Department of Disease Control

DOI: 10.14456/dcj.2021.69

Received: November 17, 2020 | Revised: April 13, 2021 | Accepted: April 16, 2021

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารเสริมฤทธิ์ piperonyl butoxide (PBO) ร่วมกับสารเคมี deltamethrin ต่อพฤติกรรมหลีกเลี่ยงและการตายของยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) จากอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช และอำเภอเมือง จังหวัดชัยนาท ผลทดสอบความไวต่อกระดาดของยุงลายบ้านต่อสารเคมี deltamethrin 0.03% โดยวิธี susceptibility test ตามมาตรฐานองค์การอนามัยโลก พบว่ายุงลายบ้านจากทั้งสองจังหวัดมีความต้านทานต่อสาร deltamethrin มีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 26.67% (ยุงนครศรีธรรมราช) และ 3.70% (ยุงชัยนาท) ผลทดสอบการเสริมฤทธิ์ของสาร PBO 4% ต่อสารเคมี deltamethrin 0.03% ต่อยุงลายบ้านจากทั้งสองจังหวัด พบว่า เปอร์เซ็นต์การตายของยุงลายบ้านสายพันธุ์ต้านทานต่อสารเคมีจากทั้งสองจังหวัดเพิ่มขึ้น โดยมีการตายเท่ากับ 38.53% (ยุงนครศรีธรรมราช) และ 59.26% (ยุงชัยนาท) สำหรับผลการศึกษาพฤติกรรมหลีกเลี่ยงของยุงลายบ้านสายพันธุ์มาตรฐานที่ไวต่อสารเคมี (Bora Bora strain) และยุงลายบ้านจากจังหวัดนครศรีธรรมราชและชัยนาท ต่อสารเคมี deltamethrin ที่อัตราการใช้ 0.02 g ai/m² และสาร deltamethrin 0.02 g ai/m² ร่วมกับสาร PBO 4.00% โดยใช้ชุดทดสอบ excito-repellency test chamber พบว่าเปอร์เซ็นต์การหนีของยุงทดสอบต่อฤทธิ์ระคายเคืองของสาร deltamethrin เท่ากับ 57.60% สำหรับยุงนครศรีธรรมราช และ 72.90% สำหรับยุงชัยนาท ในขณะที่การหนีของยุงต่อสาร deltamethrin+PBO เท่ากับ 63.30% (ยุงนครศรีธรรมราช) และ 71.70% (ยุงชัยนาท) ยุงลายบ้านสายพันธุ์ Bora Bora มีการหลีกเลี่ยงที่ชัดเจนต่อฤทธิ์ระคายเคืองของสาร deltamethrin และ deltamethrin+PBO เท่ากับ 69.50% และ 67.90% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการหลีกเลี่ยงของยุงทั้ง 3 สายพันธุ์ต่อฤทธิ์

ระคายเคืองระหว่างสารเดี่ยว deltamethrin และสารผสม deltamethrin+PBO พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (log rank test, $p>0.05$) ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าสารเสริมฤทธิ์ 4% PBO สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของสาร deltamethrin ในการทำให้อัตราการตายของยุงลายบ้านที่ต้านทานต่อสารเคมี deltamethrin เพิ่มขึ้นได้ แต่ไม่มีฤทธิ์ทำให้อัตราการหนีของยุงต่อสาร deltamethrin เพิ่มขึ้น

ติดต่อผู้พิมพ์ : พรรณเกษม แผ่พร

อีเมล : pungasem.p@dmsc.mail.go.th

Abstract

This study investigated the effect of piperonyl butoxide (PBO) with deltamethrin against field-collected *Aedes aegypti* from Thung Song district, Nakhon Si Thammarat province and Muang district, Chai Nat province. The World Health Organization (WHO) contact susceptibility test for female adult mosquitoes to 0.03% deltamethrin impregnated papers showed that two field populations of *Ae. aegypti* had exhibited strong resistance to deltamethrin with 26.67% (Nakhon Si Thammarat) and 3.70% (Chai Nat) mortality. Synergistic efficacy of piperonyl butoxide (PBO) 4% combined with deltamethrin 0.03% against both field populations of insecticide-resistant *Ae. aegypti* showed an increase in mortality to 38.53% for Nakhon Si Thammarat and 59.26% for Chai Nat mosquitoes. Behavioral responses of a standard deltamethrin-susceptible laboratory strain (Bora Bora) and both field isolates of *Ae. aegypti* exposed to deltamethrin (0.02 g ai/m^2) and deltamethrin (0.02 g ai/m^2)+PBO (4%) were tested using an excito-repellency test system. Contact irritancy (excitation) escape responses for Nakhon Si Thammarat and Chai Nat mosquitoes to deltamethrin were 57.60 and 72.90%, respectively, while escape responses to deltamethrin+PBO were 63.30 and 71.70%, respectively. The Bora Bora strain also showed marked contact irritancy to deltamethrin and deltamethrin+PBO, 69.50 and 67.90% escape, respectively. There was no significant difference in escape responses to deltamethrin and deltamethrin+PBO among three different *Ae. aegypti* groups (log rank test, $p>0.05$). It was concluded that 4.00% PBO synergist could help improve the efficacy of deltamethrin against deltamethrin-resistant *Ae. aegypti*, but did not induce an increase of escape response in *Ae. aegypti* to deltamethrin.

Correspondence: Pungasem Paeporn

E-mail: pungasem.p@dmsc.mail.go.th

คำสำคัญ

ยุงลายบ้าน, กล้องทดสอบพฤติกรรมการหลีกเลี่ยง, ความไวต่อสารเคมีกำจัดแมลง, เดลต้าเมทรีน, ไพเพอร์โรนิลบิวทอกไซด์

Keywords

Aedes aegypti, excito-repellency test, insecticide susceptibility, deltamethrin, piperonyl butoxide

บทนำ

ประเทศไทยเริ่มมีการใช้สารเคมี deltamethrin ในการฉีดพ่นควบคุมยุงลายพาหะ เพื่อลดการแพร่กระจายของโรคไข้เลือดออก ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2537⁽¹⁾ สาร deltamethrin เป็นสารกลุ่มไพรีทรอยด์ในกลุ่มที่ 2 (type II pyrethroid) เช่นเดียวกับสารเคมี cyfluthrin, cyhalothrin และ cypermethrin โดยสารไพรีทรอยด์ในกลุ่มนี้มีไซยาไนด์ (cyanide) อยู่ในสูตรโครงสร้าง จึงทำให้มีพิษสูงกว่าสารไพรีทรอยด์ในกลุ่มที่ 1 (type I pyrethroid) เช่น allethrin, bifenthrin, tetramethrin และ permethrin เป็นต้น⁽²⁾ สารกลุ่มไพรีทรอยด์มีกลไกการออกฤทธิ์ไปขัดขวางการไหลผ่านเข้าออกของโซเดียมที่ sodium channels ในระบบประสาท ทำให้การสื่อสารประสาทถูกขัดขวางทำให้ระบบประสาททำงานไม่ประสานกัน กล้ามเนื้อเกิดการกระตุก แผลงจะเป็นอัมพาตและตายในที่สุด⁽³⁾ สารกลุ่มไพรีทรอยด์มีความจำเพาะต่อเซลล์ประสาทของแมลง แต่เซลล์ประสาทในสัตว์เลื้อยลูกด้วยนมจะไม่ไวต่อสารกลุ่มนี้ ดังนั้นสารกลุ่มนี้จึงค่อนข้างปลอดภัยต่อคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมเมื่อเทียบกับสารในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและกลุ่มคาร์บาเมต⁽⁴⁾ ปัจจุบันสารเคมีในกลุ่มไพรีทรอยด์เป็นกลุ่มสารเคมีหลักที่ถูกนำมาใช้ฉีดพ่นควบคุมยุงและแมลงที่เป็นพาหะนำโรคต่าง ๆ รวมถึงสาร deltamethrin ซึ่งมีคุณสมบัติในการทำให้ยุงหายท้องได้เร็ว (fast knockdown) และมีฤทธิ์ฆ่ายุง (killing effect) ยังคงเป็นหนึ่งในสารเคมีหลักที่ใช้ควบคุมยุงลายตัวเต็มวัย⁽⁵⁾ โดยองค์การอนามัยโลกได้กำหนดอัตราการใช้สาร deltamethrin ที่ 0.5–1.0 g ai/hectar สำหรับฉีดพ่นแบบพ่นกระจาย (space spray) โดยการพ่นแบบฝอยละเอียด (ULV cold fogging) หรือพ่นแบบหมอกควัน (thermal fogging) ทั้งภายในและภายนอกบ้านเรือน เพื่อควบคุมยุงลาย⁽⁶⁾ ดังเช่นงานวิจัยของ Boubidi SC และคณะ⁽⁷⁾ ศึกษาพบว่าผลิตภัณฑ์กำจัดแมลงประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ deltamethrin 2% w/w EW ฉีดพ่นด้วยเครื่องพ่นหมอกควันสะพายไหล่ (hand-held thermal fogger) ที่อัตราการใช้ 1 g ai/hectar มีประสิทธิภาพดีสามารถลดจำนวนไข่ยุงลายและจำนวน

ยุงลายในเมืองนิซ (Nice) ประเทศฝรั่งเศสได้มากกว่า 90.00% แต่สำหรับประเทศไทยบางพื้นที่พบว่ายุงลายบ้านมีการสร้างความต้านทานหรือดื้อต่อสารเคมีในกลุ่มไพรีทรอยด์รวมทั้งสาร deltamethrin⁽⁸⁻⁹⁾ การใช้สารเสริมฤทธิ์ (synergists) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของสารเคมี โดยสารเสริมฤทธิ์จะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษของสารเคมีแปลกปลอมที่เข้าไปในตัวแมลง⁽¹⁰⁾ สาร piperonyl butoxide (PBO) เป็นสารเสริมฤทธิ์ที่นิยมนำไปใช้ร่วมกับสารกลุ่มไพรีทรอยด์⁽¹¹⁾ เนื่องจากสาร PBO เป็นตัวยับยั้ง (inhibitor) เอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenases และ esterases ซึ่งเอนไซม์สองชนิดนี้เป็นเอนไซม์หลักในการย่อยสลายพิษของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ ยุงที่ดื้อต่อสารกลุ่มไพรีทรอยด์จะพบเอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenases และ esterases ในปริมาณที่สูงขึ้น⁽¹²⁾ ดังเช่นงานวิจัยของ Kongmee M และคณะ⁽¹³⁾ พบว่าการใช้สารเสริมฤทธิ์ PBO สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสาร deltamethrin ในการควบคุมยุงลายบ้านที่ต้านทานต่อสารกลุ่มไพรีทรอยด์ได้ และ Sevana J และคณะ⁽¹⁴⁾ ได้แนะนำให้เติมสาร PBO เข้าไปในสูตรสารเคมีกำจัดแมลงสำหรับฉีดพ่นควบคุมยุงลาย ซึ่งให้ผลดีกว่าการใช้สูตรสารเคมีเดี่ยว ๆ ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาการเสริมฤทธิ์ของสาร PBO ร่วมกับสาร deltamethrin ในการกำจัดยุงลายบ้านที่ต้านทานต่อสารเคมี deltamethrin พร้อมทั้งศึกษาพฤติกรรมการตอบสนองการหลีกเลี่ยงของยุงลายบ้านที่ได้จากภาคสนาม เปรียบเทียบกับยุงลายบ้านสายพันธุ์มาตรฐานห้องปฏิบัติการ Bora Bora ต่อสาร deltamethrin และสารผสม deltamethrin+PBO

วัสดุและวิธีการศึกษา

ยุงทดสอบ

- 1) ยุงลายบ้านสายพันธุ์ที่ไวต่อสารเคมี
 - ยุงลายบ้าน สายพันธุ์มาตรฐานที่ไวต่อสารเคมี (Bora Bora strain)
- 2) ยุงลายบ้านจากภาคสนาม
 - ยุงลายบ้าน จากอำเภอทุ่งสง จังหวัด

นครศรีธรรมราช (ค่าพิกัด GPS 08° 10' N 99° 41' E)
- ยุงลายบ้าน จากอำเภอเมือง จังหวัดชัยนาท
(ค่าพิกัด GPS 015° 10' N 100° 07' E)

นำแผ่นไขยุงใส่ลงในกล่องพลาสติกขนาด 21×35×8.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่มีน้ำสะอาด รोजन กระทั่งลูกน้ำฟักออกมาจากไข่ จากนั้นให้อาหารปลาชนิดเม็ดเพื่อเป็นอาหารให้กับลูกน้ำ โดยให้อาหารในช่วงเช้าและเย็น จนกระทั่งลูกน้ำกลายเป็นตัวโม่งและเก็บตัวโม่งใส่ในถ้วยพลาสติกขนาดเล็ก นำถ้วยพลาสติกที่มีตัวโม่งวางไว้ในกรงยุงขนาด 30×30×30 ลูกบาศก์เซนติเมตร พร้อมทั้งใส่ขวดขนาดเล็กที่มีแท่งสำลีสูดน้ำหวาน รोजน ตัวโม่งลอกคราบเป็นยุงตัวเต็มวัย คัดยุงตัวเต็มวัยเพศเมีย อายุ 3-5 วัน นำไปทดสอบ

สารทดสอบ

- สารเคมีกำจัดแมลง deltamethrin ชนิด technical grade ความเข้มข้น 98%
- สารเสริมฤทธิ์ piperonyl butoxide (PBO) ชนิด technical grade ความเข้มข้น 95%
- ซิลิโคนออยล์ (silicone oil DC556) ชนิด cosmetic grade และ acetone (ACS reagent grade) ผสมในอัตราส่วน 0.66:1.34 สำหรับใช้เป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารละลายเจือจางของสารเคมีกำจัดแมลงและสารเสริมฤทธิ์

เตรียมสารละลายเคมีกำจัดแมลง deltamethrin 0.03% และสารละลาย PBO 4% ด้วยตัวทำละลายผสม silicone oil+acetone สำหรับทดสอบหาความไวของยุงลายต่อสารเคมีและทดสอบสารเสริมฤทธิ์ และเตรียมสารละลายเคมี deltamethrin 0.02 g ai/m² สำหรับทดสอบพฤติกรรมตอบสนองของยุงลายต่อสารเคมี⁽¹⁵⁾

การซุบกระดาศสารเคมี

ตัดกระดาศกรง whatman เบอร์ 1 ให้ได้ขนาด 12×15 ตารางเซนติเมตร ใช้ปิเปตดูดสารละลายเคมีกำจัดแมลง deltamethrin ที่ความเข้มข้น 0.03% (diagnostic dosage หรือ discriminating concentration)⁽¹⁶⁾ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ค่อยๆ หยดสารละลายลงบนแผ่นกระดาศกรงที่ละหยดจนทั่วแผ่น ทิ้งไว้ให้แห้งนาน 24

ชั่วโมง แล้วจึงนำไปทดสอบหาความไวต่อสารเคมีกำจัดแมลงของยุงลายทดสอบ (WHO susceptibility test) และใช้ปิเปตดูดสารละลายสารเสริมฤทธิ์ PBO ที่ความเข้มข้น 4% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ค่อยๆ หยดสารละลายลงบนแผ่นกระดาศกรงขนาด 12×15 ตารางเซนติเมตร ที่ละหยดจนทั่วแผ่น ทิ้งไว้ให้แห้งนาน 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปทดสอบหาประสิทธิภาพของสารเสริมฤทธิ์ร่วมกับกระดาศซุบสาร deltamethrin 0.03%

ตัดกระดาศกรง whatman เบอร์ 1 ให้ได้ขนาด 14.7×17.5 ตารางเซนติเมตร ใช้ปิเปตดูดสารละลายเคมีกำจัดแมลง deltamethrin ที่อัตราการใช้ 0.02 g ai/m² ปริมาตร 2.8 มิลลิลิตร ค่อยๆ หยดสารละลายลงบนแผ่นกระดาศกรงที่ละหยดจนทั่วแผ่น ทิ้งไว้ให้แห้งนาน 24 ชั่วโมง พร้อมทั้งเตรียมกระดาศซุบสารผสม deltamethrin 0.02 g ai/m²+PBO 4% ในอัตราส่วน 1:1 สำหรับนำไปศึกษาพฤติกรรมตอบสนองต่อสารเคมีของยุง (mosquito behavioral test) และใช้กระดาศกรงซุบตัวทำละลาย silicone oil+acetone สำหรับใช้เป็นชุดเปรียบเทียบ (control) ในแต่ละการทดสอบ

การทดสอบแบ่งออกเป็น 3 ส่วน

- การทดสอบหาความไวของยุงลายต่อสารเคมีกำจัดแมลง (WHO susceptibility test)
 - การทดสอบประสิทธิภาพของสารเสริมฤทธิ์ PBO ร่วมกับสารเคมีกำจัดแมลง (synergist test)
 - การศึกษาพฤติกรรมตอบสนองต่อสารเคมีกำจัดแมลงของยุงลาย (mosquito behavioral test)
- การทดสอบหาความไวของยุงลายต่อสารเคมีกำจัดแมลง (WHO susceptibility test)

การทดสอบหาความไวของยุง เป็นการตรวจสอบหาระดับความไว หรือระดับความต้านทานของยุงต่อสารเคมีกำจัดแมลง การทดสอบดำเนินการโดยนำยุงลายบ้าน เพศเมีย อายุ 3-5 วัน ไม่กินเลือด จำนวน 25 ตัว ใส่ในกระบอกพัก (holding tube) ที่มีกระดาศสะอาดม้วนอยู่ด้านใน แล้วนำกระดาศซุบสาร deltamethrin 0.03% ใส่ในกระบอกทดสอบ (exposure tube) ประกอบกระบอกพักกับกระบอกทดสอบเข้าด้วยกัน เป่ายุงจากกระบอกพักให้

เข้าไปสัมผัสกับกระดาษชุบสารเคมีที่อยู่ด้านในของกระบอกทดสอบ นาน 1 ชั่วโมง นับจำนวนยุงที่หงายท้องเมื่อครบเวลา 1 ชั่วโมงของการทดสอบ ถ่ายยุงกลับไปทิ้งที่กระบอกพักแล้วนำไปเลี้ยงต่อ โดยวางสำลีชุบสารละลายน้ำตาล 10% ไว้ด้านที่เป็นตาข่ายของกระบอกพัก เพื่อเป็นอาหารของยุง เช็กผลการตายเมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดสอบ 4 ซ้ำ พร้อมชุดเปรียบเทียบ (control)

หากพบยุงในชุดเปรียบเทียบมีการตายอยู่ระหว่าง 5-20% ให้ปรับการตายของยุงด้วย Abbott's formula⁽¹⁷⁾ แต่ถ้ายุงตายมากกว่า 20% ให้ทำการทดสอบใหม่

Abbott's formula:

% การตายที่แท้จริง =

$$\frac{\% \text{ การตายของยุงในชุดทดสอบ} - \% \text{ การตายของยุงในชุดเปรียบเทียบ}}{100 - \% \text{ การตายของยุงในชุดเปรียบเทียบ}} \times 100$$

การวิเคราะห์ผล

นำข้อมูลการหงายท้องของยุงในแต่ละช่วงเวลาของการทดสอบไปวิเคราะห์หาช่วงเวลาที่ทำให้ยุงหงายท้อง 50% (knockdown time 50 หรือ KT_{50}) และ 95% (KT_{95}) โดยใช้ probit analysis และคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายของยุงทดสอบที่ 24 ชั่วโมงหลังการทดสอบ และแปลผลการทดสอบตามเกณฑ์การประเมินผลความไวของยุงลายต่อสารเคมีขององค์การอนามัยโลก⁽¹⁶⁾

เกณฑ์การตัดสินขององค์การอนามัยโลก

เปอร์เซ็นต์การตายของยุงอยู่ระหว่าง 98-100% หมายถึง ยุงมีความไวต่อสารเคมีระดับสูง (Sensitivity-S)

เปอร์เซ็นต์การตายของยุงอยู่ระหว่าง 90-97% หมายถึง ยุงมีความไวต่อสารเคมีระดับปานกลาง (Tolerance-T)

เปอร์เซ็นต์การตายของยุงน้อยกว่า 90% หมายถึง ยุงมีความไวต่อสารเคมีระดับต่ำหรือต้านทานต่อสารเคมี (Resistance-R)

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเสริมฤทธิ์ PBO ร่วมกับสารเคมีกำจัดแมลง (synergist test)

นำยุงลายบ้าน เพศเมีย อายุ 3-5 วัน ไม่กินเลือด จำนวน 25 ตัว ใส่ในกระบอกพัก ที่มีกระดาษสะอาดอยู่ด้านใน แล้วนำกระดาษชุบสารเสริมฤทธิ์ PBO 4% ใส่ลงในกระบอกทดสอบ ประกอบกระบอกพักกับกระบอกทดสอบเข้าด้วยกัน เป่ายุงจากกระบอกพักให้เข้าไปสัมผัสกับกระดาษชุบสารเสริมฤทธิ์ที่อยู่ด้านในของกระบอกทดสอบ นาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นถ่ายยุงเข้าไปสัมผัสกับกระดาษชุบสารเคมี deltamethrin 0.03% ที่อยู่ในกระบอกทดสอบต่ออีก 1 ชั่วโมง หลังครบเวลา 1 ชั่วโมง นับจำนวนยุงที่หงายท้อง ถ่ายยุงกลับไปทิ้งที่กระบอกพักแล้วนำไปเลี้ยงต่อ โดยวางสำลีชุบสารละลายน้ำตาล 10% ไว้ด้านที่เป็นตาข่ายของกระบอกพัก เพื่อเป็นอาหารของยุง เช็กผลการตายเมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดสอบ 4 ซ้ำ พร้อมชุดเปรียบเทียบ (control)

วิเคราะห์ผล

นำข้อมูลการหงายท้องของยุงในแต่ละช่วงเวลาของการทดสอบไปวิเคราะห์หาช่วงเวลาที่ทำให้ยุงหงายท้อง 50% (knockdown time 50 หรือ KT_{50}) และ 95% (KT_{95}) โดยใช้ probit analysis และนำค่า KT_{50} ของยุงจากภาคสนามที่สัมผัสกระดาษ deltamethrin และกระดาษ deltamethrin+PBO ที่ได้ไปคำนวณหาค่า synergist ratio (SR) พร้อมทั้งนำจำนวนยุงที่ตายหลังครบเวลา 24 ชั่วโมงหลังการทดสอบไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การตายของยุง และทดสอบทางสถิติเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างสาร deltamethrin และ deltamethrin+PBO ด้วย independent t-test ($\alpha=0.05$)

synergist ratio (SR) = KT_{50} ของยุงที่สัมผัสสาร deltamethrin

KT_{50} ของยุงที่สัมผัสสาร deltamethrin+PBO

* ถ้าค่า SR > 1 แสดงว่าสาร PBO ช่วยเสริมฤทธิ์กับสารเคมีทดสอบ⁽¹⁸⁾ และนำค่า KT_{50} ของยุงจากภาคสนามที่สัมผัสกระดาษ deltamethrin และกระดาษ deltamethrin+PBO ที่ได้ไปคำนวณหาความสามารถ

ในการวัดความต้านทาน (resistance suppression) ต่อสารเคมีของยุงทดสอบ⁽¹⁹⁾

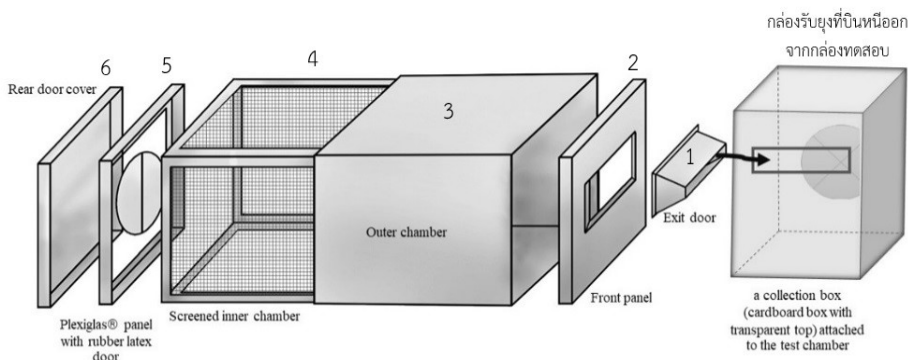
$$\% \text{ suppression in resistance} = \frac{[1 - KT_{50} \text{ of insecticide with PBO}] \times 100}{KT_{50} \text{ of insecticide without PBO}}$$

การศึกษาพฤติกรรมการตอบสนองต่อสารเคมีกำจัดแมลงของยุงลาย (mosquito behavioral test)

ยุงสามารถตอบสนองต่อสารเคมีได้ 3 รูปแบบ คือ ฤทธิ์ไล่ (repellent) โดยยุงจะหลีกเลี่ยงก่อนการสัมผัสสารเคมี ฤทธิ์การระคายเคือง (irritant) ยุงจะหลีกเลี่ยงหลังจากสัมผัสกับสารเคมี และฤทธิ์การเกิดพิษ (toxicant)⁽²⁰⁾

ทำการทดสอบโดยปล่อยยุงลายบ้าน เพศเมีย อายุ 3-5 วัน ที่อดน้ำหวาน นาน 24 ชั่วโมง ใส่เข้าไปในกล่องทดสอบ excito-repellency test chamber ดังภาพ

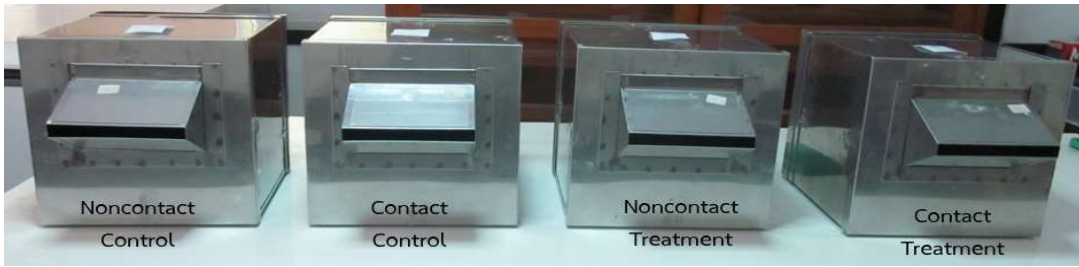
ที่ 1 จำนวน 15 ตัวต่อกล่องทดสอบ ทั้งหมด 4 กล่อง ดังภาพที่ 2 โดยชุดทดสอบแบ่งการทดสอบออกเป็น 2 ส่วน คือ 1) ไม่ให้ยุงทดสอบสัมผัสกับกระดาษสารเคมีได้โดยตรง มีแผ่นมุ้งลวดกัน (repellency test) และ 2) ให้ยุงทดสอบสัมผัสกับกระดาษสารเคมีได้โดยตรง ไม่มีแผ่นมุ้งลวดกัน (irritability test) ดังภาพที่ 3 หลังจากที่ยุงเข้าไปในกล่องทดสอบ ปล่อยยุงปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมภายในกล่อง นาน 3 นาที เปิดช่องทางออกของยุง (exit door) เพื่อให้ยุงสามารถบินหนีออกจากกล่องทดสอบได้ บันทึกจำนวนยุงที่บินหนีออกมาในแต่ละนาที จนครบเวลา 30 นาที บันทึกจำนวนยุงหายท้องและเก็บยุงจากแต่ละกล่องไปเลี้ยงต่อโดยแยกยุงที่บินหนีออกจากกล่องทดสอบกับยุงที่ค้างอยู่ในกล่องทดสอบ เช็ดผลการตายที่ 24 ชั่วโมง การทดสอบทำทั้งหมด 4 ซ้ำ



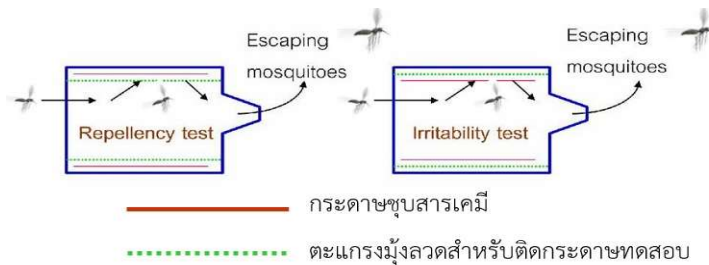
ภาพที่ 1 กล่องทดสอบ excito-repellency (ER) test⁽²¹⁾

กล่องทดสอบ ER มีส่วนประกอบหลัก 6 ส่วน คือ 1. ช่องให้ยุงบินหนีออกจากกล่อง (exit door) 2. ฝาปิดด้านหน้า (front panel) 3. กล่องสแตนเลสด้านนอก (outer chamber) 4. แผ่นมุ้งลวดด้านในสำหรับติด

กระดาษสารเคมี/กระดาษ control (screened inner chamber) 5. ฝาครอบแผ่นอะคริลิกใสมีแผ่นยางตรงกลางมีช่องสำหรับปล่อยยุง (plexiglass holding frame) 6. ฝาปิดด้านหลัง (rear door cover)



ภาพที่ 2 ชุดทดสอบ excito-repellency (ER) test system⁽²²⁾



ภาพที่ 3 กลไกการหลีกหนีของยุงในการทดสอบ noncontact repellency และ contact irritancy⁽²³⁾

การวิเคราะห์ผล

นำข้อมูลของจำนวนยุงที่บินหนีออกจากกล่องไปวิเคราะห์ด้วย Kaplan-Meier survival analysis และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติด้วย log rank test ของจำนวนยุงที่หนีจากสารทดสอบ deltamethrin และ deltamethrin+PBO ในแต่ละช่วงเวลา ด้วยโปรแกรม SAS⁽²⁴⁾

ผลการศึกษา

จากการทดสอบหาความไวของยุงต่อสารเคมี deltamethrin ที่ความเข้มข้น 0.03% (WHO diagnostic dose) พบว่ายุงลายบ้านจากอำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช และอำเภอเมืองจังหวัดชัยนาท มีเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ในระดับต่ำหรือมีความต้านทานต่อสารเคมี deltamethrin โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 26.67% และ 3.70% ตามลำดับ เปรียบเทียบกับยุงลายบ้านสายพันธุ์มาตรฐานที่มีความไวต่อสารเคมี (Bora Bora strain) มีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 100% ดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 4 ได้แสดงเปอร์เซ็นต์ของการหายท้อง (knockdown) ของยุงทดสอบทุก ๆ 10 นาทีในช่วงเวลา

60 นาทีของการทดสอบ สำหรับการทดสอบสารเคมี deltamethrin 0.03% ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ PBO 4% พบว่าใช้เวลาในการทำให้ยุงทดสอบจากทั้งสองจังหวัดหายท้องเร็วขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 5 และทำให้ยุงจากทั้งสองพื้นที่มีเปอร์เซ็นต์การตายเพิ่มขึ้น คือ 38.53% สำหรับยุงลายนครศรีธรรมราช และ 59.26% สำหรับยุงลายชัยนาท ดังแสดงในตารางที่ 2 และเมื่อทดสอบด้วยสถิติ independent t-test พบว่าเปอร์เซ็นต์การตายของยุงชัยนาทที่ 24 ชั่วโมงหลังสัมผัสกับสาร deltamethrin และ deltamethrin+PBO มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.001$) แต่ไม่พบความแตกต่าง ($p=0.1$) ของเปอร์เซ็นต์การตายในยุงนครศรีธรรมราช หลังสัมผัสกับสารทดสอบทั้งสองชนิด เมื่อคำนวณหาค่าการเสริมฤทธิ์ หรือ synergist ratio (SR) ด้วยค่า KT_{50} ของยุงทดสอบต่อสาร deltamethrin และ KT_{50} จากการทดสอบกับสาร deltamethrin+PBO มีค่าเท่ากับ 1.72 สำหรับยุงลายนครศรีธรรมราช และ 2.47 สำหรับยุงลายชัยนาท และเมื่อคำนวณหาความสามารถในการขจัดความต้านทาน (resistance suppression) ต่อสาร deltamethrin หรือทำให้ยุงลายบ้านจากนครศรีธรรมราช

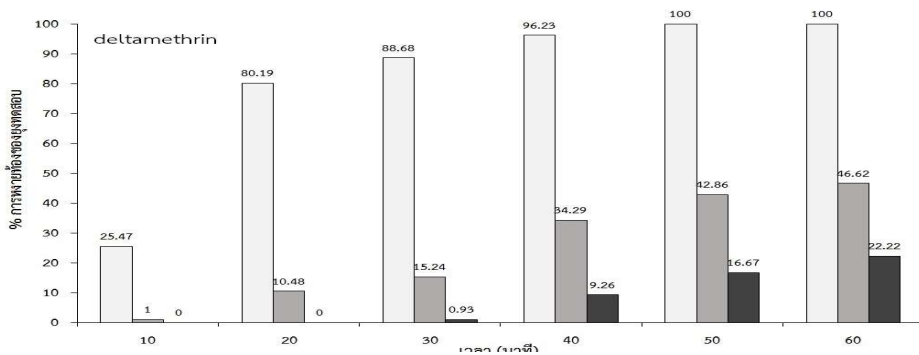
และชัณษาที่มีความต้านทานต่อสาร deltamethrin ลดลง ค่าเท่ากับ 41.85% และ 59.56% ตามลำดับ
หลังใช้สาร deltamethrin ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ PBO มี

ตารางที่ 1 ค่า KT_{50} , KT_{95} และเปอร์เซ็นต์การตายของยุงลายบ้าน เมื่อทดสอบกับกระดาดชุปสาร deltamethrin 0.03%

ยุง	จำนวนยุง ทดสอบ	Knockdown time (นาที)			เปอร์เซ็นต์การตาย ที่ 24 ชั่วโมง
		KT_{50} (95% FL)	KT_{95} (95% FL)	Slope (SE)	
Bora Bora	106	13.96 (10.64-18.33)	36.52 (27.83-47.93)	4.27 (0.33)	100 (S)
อ.ทุ่งสง	105	59.96 (53.36-70.40)	225.63 (162.53-374.49)	2.84 (0.32)	26.67 (R)
จ.นครศรีธรรมราช					
อ.เมือง	108	84.13 (71.90-114.01)	191.90 (134.15-396.02)	4.59 (0.80)	3.7 (R)
จ.ชัณษา					

S (Sensitivity) หมายถึง ยุงมีความไวต่อสารเคมีทดสอบ โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ระหว่าง 98-100%

R (Resistance) หมายถึง ยุงมีความต้านทานต่อสารเคมีทดสอบ โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายน้อยกว่า 90%



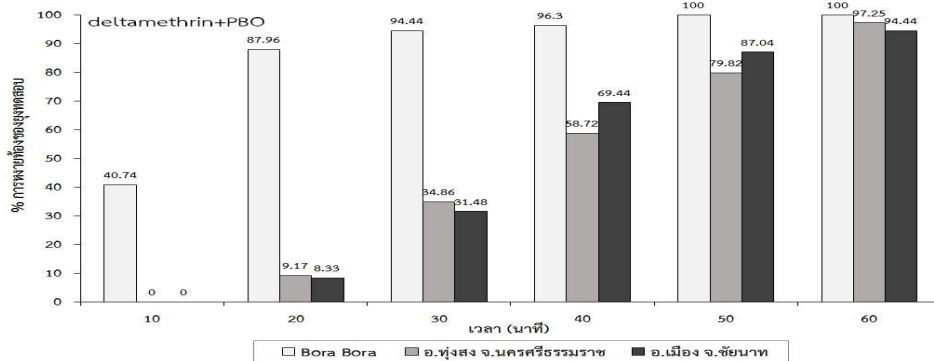
ภาพที่ 4 เปอร์เซนต์การหายท้อง (knockdown) ของยุงลายบ้านจังหวัดนครศรีธรรมราช และจังหวัดชัณษา
เปรียบเทียบกับยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ Bora Bora เมื่อสัมผัสกับกระดาดชุปสาร deltamethrin 0.03%

ตารางที่ 2 ค่า KT_{50} , KT_{95} และเปอร์เซ็นต์การตายที่ 24 ชั่วโมงของยุงลายบ้าน เมื่อสัมผัสกับกระดาดชุปสารเสริมฤทธิ์ PBO 4%
และ กระดาดชุปสาร deltamethrin 0.03% ตามลำดับ

ยุง	จำนวนยุง ทดสอบ	Knockdown time (นาที)			เปอร์เซ็นต์การตาย ที่ 24 ชั่วโมง
		KT_{50} (95% FL)	KT_{95} (95% FL)	Slope (SE)	
Bora Bora	108	11.17 (9.75-12.45)	29.65 (26.38-34.41)	3.88 (0.34)	100 (S)
อ.ทุ่งสง	109	34.87 (33.17-36.56)	65.06 (59.89-72.32)	6.07 (0.44)	38.53 (R)
จ.นครศรีธรรมราช					
อ.เมือง	108	34.02 (32.39-35.62)	60.79 (56.39-66.83)	6.52 (0.46)	59.26 (R)
จ.ชัณษา					

S (Sensitivity) หมายถึง ยุงมีความไวต่อสารเคมีทดสอบ โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ระหว่าง 98-100%

R (Resistance) หมายถึง ยุงมีความต้านทานต่อสารเคมีทดสอบ โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายน้อยกว่า 90%



ภาพที่ 5 เปอร์เซ็นต์การพ่ายท้อ (knockdown) ของยุงลายบ้านจังหวัดนครศรีธรรมราช และจังหวัดชัยนาท เปรียบเทียบกับยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ Bora Bora หลังสัมผัสกับกระดาดชุบสาร PBO 4% และกระดาดชุบสาร deltamethrin 0.03% ตามลำดับ

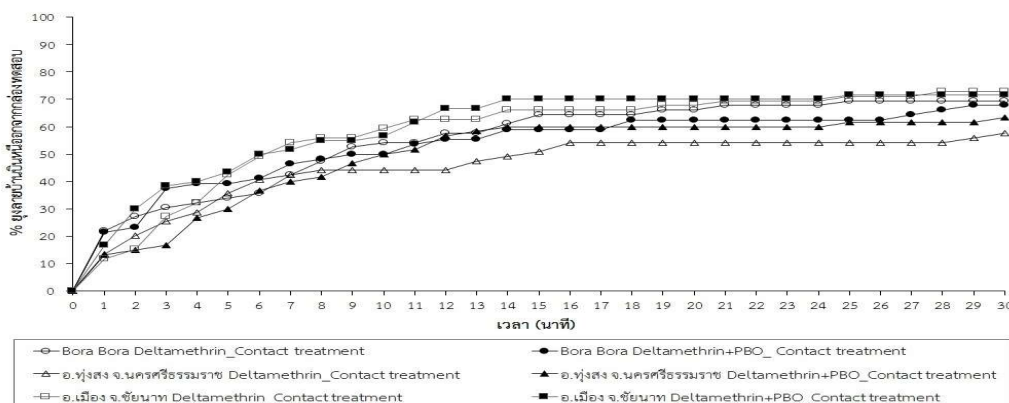
จากการทดสอบพฤติกรรมการตอบสนองของ ยุงลายบ้านสายพันธุ์ภาคสนามจากอำเภอทุ่งสง จังหวัด นครศรีธรรมราช และอำเภอเมือง จังหวัดชัยนาท เปรียบเทียบกับยุงลายสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ Bora Bora ต่อฤทธิ์ไล่ (repellency) โดยไม่ให้สัมผัสกับ กระดาดชุบสารเคมีโดยตรง (มีแผ่นลวดตาข่ายกั้น) และ ฤทธิ์ที่ก่อให้เกิดการระคายเคือง (irritancy) โดยให้ยุง สัมผัสกับกระดาดชุบสารเคมีได้โดยตรง (ไม่มีแผ่นลวด ตาข่ายกั้น) ทดสอบกับกระดาดชุบสาร deltamethrin ที่อัตราการใช้ 0.02 g ai/m^2 และกระดาดชุบสาร deltamethrin 0.02 g ai/m^2 +PBO 4% ผลทดสอบพบว่า ยุงลายทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถตอบสนองต่อฤทธิ์การ ระคายเคืองของสารทดสอบ deltamethrin และ deltamethrin+PBO ได้ดีกว่าฤทธิ์ไล่ โดยยุงลาย Bora Bora บินหนีออกจากกล่องทดสอบที่เป็นการทดสอบฤทธิ์ระคาย เคืองของสาร deltamethrin และสาร deltamethrin+PBO ได้ 69.50% และ 67.90% ตามลำดับ ในขณะที่ยุงลาย นครศรีธรรมราชและชัยนาท บินหนีออกจากกล่องทดสอบ ฤทธิ์ระคายเคืองของสาร deltamethrin ได้ 57.60% และ 72.90% และมีเปอร์เซ็นต์การบินหนีออกจากกล่องที่มี กระดาดชุบสาร deltamethrin+PBO เท่ากับ 63.30% และ 71.70% ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพ ที่ 6 ในขณะที่การทดสอบฤทธิ์ไล่ของสาร deltamethrin และ deltamethrin+PBO พบว่ายุงลายทั้ง 3 สายพันธุ์มี

เปอร์เซ็นต์การบินหนีต่ำอยู่ระหว่าง 6.90–17.90% ดัง แสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 7 และจากการทดสอบการ ตอบสนองโดยการหลีกหนีของยุงต่อสารเคมีทดสอบ พบ ว่ายุงพ่ายท้อหลังการทดสอบครบ 30 นาที เท่ากับ 0% และไม่พบการตายของยุง เมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมงหลัง การทดสอบ

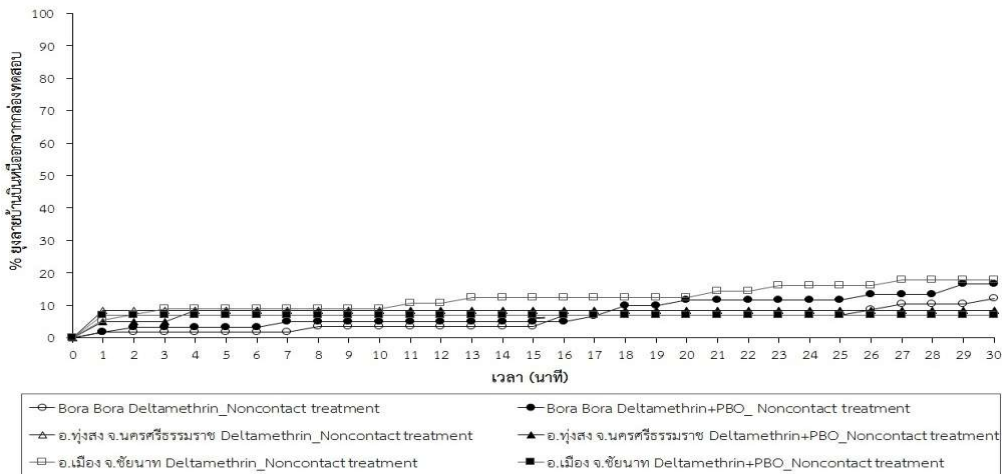
ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของ จำนวนยุงที่บินหนีจากกล่องทดสอบ (treatment) ที่มี กระดาดชุบสารเคมีกับกล่องเปรียบเทียบ (control) โดย ใช้สถิติ log rank test ดังแสดงในตารางที่ 4 สำหรับสาร deltamethrin และตารางที่ 5 สำหรับสาร deltamethrin+PBO พบว่ากล่องที่ให้ยุงสัมผัสกับกระดาดชุบสาร โดยตรง (contact irritancy) มีความแตกต่างกับคู่ง่อง เปรียบเทียบ ($p < 0.0001$) ในขณะที่กล่องทดสอบที่ยุง ไม่ได้สัมผัสกับกระดาดชุบสารโดยตรง (noncontact repellency) กับคู่ง่องเปรียบเทียบไม่มีความแตกต่าง ดังนั้น จะเป็นทางสถิติ ($p > 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบ ระหว่างกระดาดชุบสาร deltamethrin และ deltamethrin+PBO ที่ทดสอบกับยุงลายทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ดังตารางที่ 6 และได้เปรียบ เทียบจำนวนยุงที่บินหนีออกจากกล่องทดสอบ contact irritancy และ noncontact repellency ของสารทดสอบ สองชนิดระหว่างยุงลายทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่าไม่มีความ แตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 3 ผลทดสอบพฤติกรรมการตอบสนองต่อฤทธิ์ระคายเคือง (contact irritancy) และฤทธิ์ไล่ (noncontact repellency) ของสารเคมี deltamethrin ที่อัตราการใช้ 0.02 g ai/m² และสาร deltamethrin 0.02 g/m²+PBO 4% ต่อยุงลายบ้านจากจังหวัดนครศรีธรรมราช และชัยนาท เปรียบเทียบกับยุงลายสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ Bora Bora

ยุง	สารเคมี	ทดสอบ	กล่องทดสอบ (treatment)		กล่องเปรียบเทียบ (control)	
			จำนวนยุงทดสอบ	จำนวนยุงที่บินหนีออกจากกล่อง (%)	จำนวนยุงทดสอบ	จำนวนยุงที่บินหนีออกจากกล่อง (%)
Bora Bora	deltamethrin	contact irritancy	59	41 (69.50)	56	3 (5.40)
		noncontact repellency	58	7 (12.10)	62	4 (6.50)
	deltamethrin+PBO	contact irritancy	56	38 (67.90)	59	7 (11.90)
		noncontact repellency	60	10 (16.70)	58	8 (13.80)
อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช	deltamethrin	contact irritancy	59	34 (57.60)	60	6 (10.00)
		noncontact repellency	59	5 (8.50)	61	2 (3.30)
	deltamethrin+PBO	contact irritancy	60	38 (63.30)	58	5 (8.60)
		noncontact repellency	60	5 (8.30)	59	1 (1.70)
อ.เมือง จ.ชัยนาท	deltamethrin	contact irritancy	59	43 (72.90)	59	8 (13.60)
		noncontact repellency	56	10 (17.90)	60	6 (10.00)
	deltamethrin+PBO	contact irritancy	60	43 (71.70)	61	4 (6.60)
		noncontact repellency	58	4 (6.90)	59	2 (3.40)



ภาพที่ 6 รูปแบบการหลีกเลี่ยงของยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ Bora Bora ยุงลายบ้านภาคสนามจากจังหวัดนครศรีธรรมราช และชัยนาท ในเวลา 30 นาทีของการทดสอบต่อสารเคมี deltamethrin และ deltamethrin+PBO โดยให้สัมผัสกับกระดาษชุบสารเคมีโดยตรง (ฤทธิ์ระคายเคือง : contact irritancy)



ภาพที่ 7 รูปแบบการหลีกหนีของยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ Bora Bora ยุงลายบ้านภาคสนามจากจังหวัดนครศรีธรรมราช และจังหวัดชัยนาท ในช่วงเวลา 30 นาทีของการทดสอบต่อสารเคมี deltamethrin และ deltamethrin+PBO โดยไม่ให้สัมผัสกับ กระดาษชุบสารเคมีโดยตรง (ฤทธิ์ไล่ : noncontact repellency)

ตารางที่ 4 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของจำนวนยุงที่บินหนีจากกล่องทดสอบที่มีกระดาษชุบสาร deltamethrin ระหว่างกล่อง treatment และกล่อง control

ยุง	p-value (กระดาษชุบสาร deltamethrin)*	
	contact treatment vs. contact control	noncontact treatment vs. noncontact control
Bora Bora	<0.0001	0.3099
อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช	<0.0001	0.2247
อ.เมือง จ.ชัยนาท	<0.0001	0.2109

* เปรียบเทียบความแตกต่างจำนวนยุงที่บินหนีจากกล่องทดสอบ ด้วย log rank test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ 5 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของจำนวนยุงที่บินหนีจากกล่องทดสอบที่มีกระดาษชุบสาร deltamethrin+PBO ระหว่างกล่อง treatment และกล่อง control

ยุง	p-value (กระดาษชุบสาร deltamethrin+PBO)*	
	contact treatment vs. contact control	noncontact treatment vs. noncontact control
Bora Bora	<0.0001	0.6761
อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช	<0.0001	0.1004
อ.เมือง จ.ชัยนาท	<0.0001	0.3892

* เปรียบเทียบความแตกต่างจำนวนยุงที่บินหนีจากกล่องทดสอบ ด้วย log rank test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ 6 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของจำนวนยุงที่บินหนีจากกล่องทดสอบที่มีกระดาษชุบสารเคมีระหว่างสาร deltamethrin และสาร deltamethrin+PBO

ยุง	p-value (กระดาษชุบสาร deltamethrin vs. deltamethrin+PBO)*	
	contact treatment	noncontact treatment
Bora Bora	0.8765	0.4796
อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช	0.6445	0.9686
อ.เมือง จ.ชัยนาท	0.8513	0.0831

* เปรียบเทียบความแตกต่างจำนวนยุงที่บินหนีจากกล่องทดสอบ ด้วย log rank test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตารางที่ 7 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของจำนวนยุงบินหนีจากกล่องทดสอบที่มีกระดาษชุบสารเคมี deltamethrin และสาร deltamethrin+PBO ระหว่างยุงลายทั้ง 3 สายพันธุ์

สารเคมี	p-value		
	Bora Bora vs. นครศรีธรรมราช	Bora Bora vs. ชัยนาท	นครศรีธรรมราช vs. ชัยนาท
contact_deltamethrin	0.2253	0.6631	0.1187
noncontact_deltamethrin	0.5559	0.3537	0.1499
contact_deltamethrin+PBO	0.5123	0.5231	0.1912
noncontact_deltamethrin+PBO	0.1955	0.1170	0.7781

* เปรียบเทียบความแตกต่างจำนวนยุงที่บินหนีจากกล่องทดสอบ ด้วย log rank test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

วิจารณ์

สารเคมี deltamethrin เป็นสารกลุ่ม pyrethroid ที่ถูกนำมาใช้ฉีดพ่นควบคุมแมลงและยุงพาหะนำโรค เป็นระยะเวลาานมากกว่า 20 ปี และปัจจุบันสาร deltamethrin ก็ยังเป็นสารเคมีหลักที่ใช้ฉีดพ่นหมอกควัน และละอองฝอยเพื่อกำจัดยุงลายพาหะนำโรคใช้เลือดออก^(1,5) ในหลายจังหวัดของประเทศไทย พบว่าการรายงานการสร้างความต้านทานของยุงลายต่อสาร deltamethrin^(5,9) แต่บางพื้นที่ยุงลายบ้านยังมีความไวต่อสาร deltamethrin เช่น จังหวัดลำพูน ลำปาง ขอนแก่น หนองคาย และอำเภอ กุมภวาปี จังหวัดอุดรธานี เป็นต้น⁽²⁵⁻²⁶⁾ ดังนั้นในบางพื้นที่ สาร deltamethrin ยังสามารถใช้ฉีดพ่นควบคุมยุงลายได้ และมีงานวิจัยของกองโรคติดต่อมาโดยแมลง กรมควบคุมโรค พบว่าสารเสริมฤทธิ์ PBO สามารถทำให้ยุงลายบ้านที่ ต้านทานต่อสาร deltamethrin มีอัตราการตายเพิ่มขึ้น 1-2 เท่า เมื่อมีการนำมาใช้ร่วมกับสาร deltamethrin ดังนั้น จึงมีการแนะนำในการฉีดพ่นควบคุมยุงพาหะนำโรค ใช้เลือดออกด้วยผลิตภัณฑ์เคมีกำจัดแมลงที่มีสารออก

ฤทธิ์ deltamethrin ผสมกับสาร PBO เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ ของสารเคมี deltamethrin ให้มากขึ้น⁽²⁷⁾

Bingham G และคณะ⁽²⁸⁾ รายงานว่าสารเสริมฤทธิ์ PBO สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของสาร deltamethrin ในการกำจัดแมลงได้ โดยสาร PBO จะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ cytochrome P450 และ esterase ซึ่งเป็นเอนไซม์ทำลายพิษ (detoxification enzyme) ที่พบในตัวแมลง และเอนไซม์สองชนิดนี้เป็นเอนไซม์สำคัญที่ไปทำลายพิษของสารกลุ่ม pyrethroid รวมทั้งสาร deltamethrin เช่นเดียวกับการศึกษาทางด้านชีวเคมี (biochemical assay) ของ Yaicharoen R และคณะ⁽²⁹⁾ ได้ศึกษาหาปริมาณเอนไซม์ทำลายพิษในยุงลายบ้านที่ต้านทานต่อสาร deltamethrin พบว่ายุงลายที่ต้านทานต่อสาร deltamethrin จะมีปริมาณเอนไซม์ cytochrome P450 และ esterase ที่สูงกว่ายุงที่มีความไวต่อสารเคมี แต่เมื่อยุงที่มีความต้านทานต่อสารเคมีกลุ่ม pyrethroid ได้สัมผัสกับสาร PBO ยุงเหล่านั้นจะมีความไวต่อสารเคมีเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากสาร PBO จะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์

cytochrome P450 และ esterase ในยุง จึงทำให้สารเคมีสามารถออกฤทธิ์ในการกำจัดยุงที่ต้านทานต่อสารเคมีได้ดีกว่าการใช้สารเคมีแต่เพียงอย่างเดียว⁽³⁰⁾ สำหรับการศึกษาครั้งนี้พบว่ายุงชัณษาที่มีความต้านทานต่อสาร deltamethrin มากกว่ายุงนครศรีธรรมราช แต่หลังจากมีการทดสอบกับสาร deltamethrin ร่วมกับสาร PBO พบว่ายุงชัณษาที่มีเปอร์เซ็นต์การตายเพิ่มขึ้นมากกว่ายุงนครศรีธรรมราช และมีค่า synergist ratio และค่า resistance suppression มากกว่ายุงนครศรีธรรมราช แสดงว่ายุงชัณษาที่ต้านทานต่อสารเคมี deltamethrin อาจเพราะมีปริมาณเอนไซม์ cytochrome P450 เพิ่มขึ้นมาก จึงทำให้ยุงชัณษาตอบสนองได้ดีต่อสาร PBO ซึ่งเป็นตัวยับยั้ง (inhibitor) การทำงานของเอนไซม์ cytochrome P450 ที่สำคัญ ในขณะที่ยุงนครศรีธรรมราชอาจมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณเอนไซม์ cytochrome P450 ที่น้อยกว่ายุงชัณษา จึงทำให้เกิดความต้านทานต่อสาร deltamethrin ในระดับที่น้อยกว่า และอาจจะมีเอนไซม์ตัวอื่นเข้ามาเกี่ยวข้องด้วยในกลไกการต้านทานต่อสารเคมี deltamethrin เช่นเดียวกับที่พบความต้านทานต่อสาร permethrin ในยุงรำคาญ *Culex pipiens* จากประเทศ Tunisia ที่มีเอนไซม์ cytochrome P450 เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่รองในการเกิดการย่อยสลายสาร permethrin⁽³¹⁾ ดังนั้นควรมีการศึกษายืนยันทางด้านชีวเคมีในการตรวจหาปริมาณเอนไซม์ทำลายพิษที่เพิ่มขึ้นในตัวยุงจากทั้งสองจังหวัด การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์เหล่านี้เป็นกลไกการกำจัดสารพิษที่สำคัญ โดยอาศัยขบวนการเมตาโบลิซึม (metabolic detoxification) ซึ่งทำให้ยุงเกิดความต้านทานต่อสารเคมีได้

การศึกษาพฤติกรรมการตอบสนองต่อสารเคมีกำจัดแมลงของยุงลาย พบว่าจากทดสอบทั้งสาร deltamethrin และสารผสม deltamethrin+PBO แสดงฤทธิ์ที่ก่อให้เกิดการระคายเคือง (contact irritancy) ต่อยุงลายบ้านอย่างชัดเจนมากกว่าฤทธิ์ไล่ (noncontact repellency) เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Kongmee M และคณะ⁽¹⁵⁾ พบว่ายุงลายบ้านมีการตอบสนองได้ดีต่อฤทธิ์ระคายเคืองของสาร deltamethrin และ Kongmee M และ

คณะ⁽³²⁾ ยังพบว่าสาร deltamethrin มีฤทธิ์ระคายเคืองต่อยุงกันปล่อง *Anopheles harrisoni* และ *An. minimus* ด้วย แต่ผลการศึกษาพบว่าสาร PBO ไม่มีผลต่อพฤติกรรม การหลีกเลี่ยงของยุงลายบ้านเมื่อนำไปทดสอบร่วมกับสาร deltamethrin อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยทดสอบเปรียบเทียบกับสาร deltamethrin เดี่ยวๆ และสาร PBO เองก็ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่ายุง แต่เป็นสารเสริมฤทธิ์ที่ต้องใช้ร่วมกับสารเคมีโดยมีหน้าที่ไปยับยั้งหรือขัดขวาง (inhibitor) การทำงานของเอนไซม์ทำลายสารพิษในตัวยุง โดยเฉพาะเอนไซม์ cytochrome P450 และ esterase ทำให้สารเคมีมีเวลาในการออกฤทธิ์ต่อยุงได้มากขึ้น⁽³³⁾ จึงนิยมนำไปผสมร่วมกับสารเคมี เพื่อช่วยเพิ่มฤทธิ์ของสารเคมีสำหรับฉีดพ่นควบคุมยุงที่มีการสร้างความต้านทานต่อสารกลุ่ม pyrethroid กองโรคติดต่อ นำโดยแมลง กรมควบคุมโรค ได้ทดสอบการฉีดพ่นฝอยละออง (ULV) ด้วยสาร pyrethroid ผสมร่วมกับสาร PBO ในการควบคุมยุงลายบ้าน ผลทดสอบพบว่าสาร deltamethrin+s-bioallethrin+PBO, zetacypermethrin+tetramethrin+PBO และ lambdacyhalothrin+tetramethrin+PBO สามารถฆ่ายุงลายได้มากกว่าร้อยละ 90.00⁽³⁴⁾ และองค์การอนามัยโลก (World Health Organization)⁽³⁵⁾ ยังได้แนะนำให้ใช้สารในกลุ่ม pyrethroid เช่น permethrin, deltamethrin และ alphacypermethrin เป็นต้น ร่วมกับสารเสริมฤทธิ์ PBO ในการชุบมุ้งเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพมุ้งชุบสารเคมีในการป้องกันยุงกัดและช่วยลดการเกิดโรคที่มียุงเป็นพาหะ

สรุป

การศึกษาพฤติกรรมการตอบสนองในการหลีกเลี่ยงของยุงลายบ้านต่อสาร deltamethrin และสารผสม deltamethrin+PBO พบว่ายุงลายภาคสนามจากทั้งสองพื้นที่ คือ อำเภอยางชุมน้อย จังหวัดศรีสะเกษ และอำเภอเมือง จังหวัดชัยนาท มีการตอบสนองในการหลีกเลี่ยงต่อฤทธิ์ระคายเคือง (contact irritant action) ได้ดีกว่าฤทธิ์ไล่ (noncontact repellent action) แต่การตอบสนองของยุงต่อฤทธิ์ระคายเคืองไม่มีความแตกต่าง

กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างสาร deltamethrin และ deltamethrin+PBO ดังนั้น สาร PBO จึงไม่ได้ช่วยเสริมฤทธิ์สาร deltamethrin ในการทำให้ยุงลายบ้านตอบสนองในการหลีกเลี่ยงต่อสาร deltamethrin เพิ่มขึ้น แต่ผลการศึกษา พบว่าสารเสริมฤทธิ์ PBO สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพสาร deltamethrin ในการกำจัดยุงลายบ้านที่มีความต้านทานต่อสาร deltamethrin ได้ โดยสาร deltamethrin+PBO สามารถลดความต้านทานต่อสาร deltamethrin ของยุงลายบ้านจาก อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช และอำเภอเมือง จังหวัดชัยนาท ได้ระหว่างร้อยละ 41.85–59.56 ดังนั้น สาร PBO จึงสามารถนำไปใช้เป็นอาวุธเสริมประสิทธิภาพของ deltamethrin ในการฉีดพ่นกำจัดยุงลายพาหะนำโรคไข้เลือดออกในพื้นที่ที่ยุงลายมีการสร้างความต้านทานต่อสาร deltamethrin ได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้อำนวยการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้การสนับสนุนงานทดสอบและสิ่งอำนวยความสะดวกตลอดจนสถานที่ที่ใช้ในการทดสอบของฝ่ายศึกษาควบคุมแมลงโดยใช้สารเคมีงานทดสอบทั้งหมดสำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอขอบคุณบริษัท ชีอะโกรเทค จำกัด ที่ให้การสนับสนุนสาร technical grade deltamethrin และบริษัท เคมฟลิท จำกัด ที่สนับสนุนสารเสริมฤทธิ์ technical grade piperonyl butoxide สำหรับใช้ในการทดสอบ และขอขอบคุณ Dr. Michael J. Bangs นักวิจัยและที่ปรึกษาของ Public Health & Malaria Control Department, International SOS, Kuala Kencana, Papua, Indonesia ในการตรวจแก้ไขบทคัดย่อภาษาอังกฤษ

เอกสารอ้างอิง

1. Chuaycharoensuk W, Juntarajumnong T, Boonyuan W, Bangs MJ, Akranakul P, Thammapalo S, et al. Frequency of pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*

(Diptera: culicidae) in Thailand. *J Vector Ecol.* 2011;36:204–12.

2. Soderlund DM. Handbook of pesticide toxicology: Chapter 77 – Toxicology and mode of action of pyrethroid insecticides. 3rd ed. Elsevier Inc. 2010.
3. Haddi K, Tom HVV, Du Y, Valbon WR, Nomura Y, Martins GF, et al. Detection of a new pyrethroid resistance mutation (V410L) in the sodium channel of *Aedes aegypti*: a potential challenge for mosquito control. *Sci Rep.* 2017;7:46549. doi: 10.1038/srep46549.
4. Wananukul W, Sriapha C. Pyrethroids. *P&D Information Bulletin.* 2007;15(3):27–9.
5. Kongmee M, Thanispong K, Sathantriphop S, Sukkanon C, Bangs MJ, Chareonviriyaphap T. Enhanced mortality in deltamethrin-resistant *Aedes aegypti* in Thailand using a piperonyl butoxide synergist. *Acta Trop.* 2019;189:76–83. doi: 10.1016/j.actatropica.2018.09.025.
6. World Health Organization (WHO). Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control : new edition. Geneva: World Health Organization; 2009.
7. Boubidi SC, Roiz D, Rossignol M, Benoit R, Raselli M, Tizon C, et al. Efficacy of ULV and thermal aerosols of deltamethrin for control of *Aedes albopictus* in nice, France. *Parasit. Vectors* 2016;9:597. doi: 10.1186/s13071–016–1881–y.
8. Thanispong K, Sathantriphop S, Chareonviriyaphap T. Insecticide resistance of *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* in Thailand. *J Pestic Sci.* 2008;33:351–6.
9. 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.
10. Bernard CB, Philogne BJ. Insecticide synergists: role, importance, and perspectives. J Toxicol Environ Health. 1993;38:199–223.
 11. Sangba ML, Deketramete T, Wango SP, Kazanji M, Akogbeto M, Ndiath MO. 2016. Insecticide resistance status of the *Anopheles funestus* population in Central African Republic: a challenge in the war. Parasit. Vectors 9, 230. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1510-9>.
 12. Kweka EJ, Mazigo HD, Mapunda G, Yewhalaw D. Piperonyl butoxide: an enhancing arsenal for an Adomant Foe. J Transm Dis Immun. 2017; 1:15.
 13. Kongmee M, Thanispong K, Sathantriphop S, Sukkanon C, Bangs MJ, Chareonviriyaphap T. Enhanced mortality in deltamethrin-resistant *Aedes aegypti* in Thailand using a piperonyl butoxide synergist. Acta Trop. 2019;189:76–83. doi: 10.1016/j.actatropica.2018.09.025.
 14. Sevana J, Sinakom B, Aumaung B. Efficacy of insecticides for *Aedes aegypti* control by ultra-low-volume application in semi-field condition. Bull Med Sci. 2020;62(4):343–51.
 15. Kongmee M, Prabaripai A, Akratanakul P, Bangs MJ, Chareonviriyaphap T. Behavioral responses of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) exposed to deltamethrin and possible implications for disease control. J Med Entomol. 2004;41:1055–63.
 16. World Health Organization (WHO). Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes. Global Malaria Programme, 2nd ed. Geneva: Switzerland; 2016.
 17. Abbott WS. A method for computing the effectiveness of an insecticide. J Am Mosq Control Assoc. 1925;3:302–3.
 18. Matowo J, Kulkarni MA, Mosha FW, Oxborough RM, Kitau JA, Tenu F, et al. Biochemical basis of permethrin resistance in *Anopheles arabiensis* from Lower Moshi, north-eastern Tanzania. Malar J. 2010;9:193.
 19. Thomas A, Kumar S, Pillai MKK. Piperonyl butoxide as a counter measure for deltamethrin-resistance in *Culex quinquefasciatus* say. Entomol. 1991;18:1–10.
 20. 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;6:280. doi:10.1186/1756-3305-6-280.
 21. Sathantriphop S, Paeporn P, Ya-Umphap P, Mukkhun P, Thanispong K, Chansang C, et al. Behavioral Action of Deltamethrin and Cypermethrin in Pyrethroid-Resistant *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): Implications for Control Strategies in Thailand. J Med Entomol. 2020; 57(4):1157–67. doi: 10.1093/jme/tjaa019.
 22. Sathantriphop S, Thanispong K, Sanguanpong U, Achee NL, Bangs MJ, Chareonviriyaphap T. Comparative Behavioral Responses of Pyrethroid-Susceptible and -Resistant *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Populations to Citronella and Eucalyptus Oils. J Med Entomol. 2014;51 (6):1182–91. doi: 10.1603/ME13191.
 23. Paeporn P, Supaphathom K, Sathantriphop S, Chareonviriyaphap T, Yaicharoen R. Behavioural responses of deltamethrin- and permethrin-resistant strains of *Aedes aegypti* when exposed

- to permethrin in an excito-repellency test system. *Dengue Bull.* 2007;31:153-9.
24. SAS. SAS software version 9. SAS Institute Inc. Cary, NC: USA; 2002.
 25. Thanispong K, Pankeaw K, Sukchote P. Insecticide susceptibility resistance status in *Aedes aegypti* L. to insecticides. 2013;8(2):28-43. (in Thai)
 26. Kotitip K, Junsupa J, Madang S, Rurangcharoen K, Suwonkerd W. Susceptibility test of *Aedes aegypti* to Pyrethroid insecticide in 8 Northern provinces of Thailand, 2015-2016. *Lanna Public Health J.* 2018;14(1):13-22.
 27. Ministry of Public Health (MOPH), Thailand, (2017). Vector Borne Disease Annual Report, 2017. Nonthaburi: Division of Vector Borne Disease; 2017. (in Thai)
 28. Bingham G, Field LM, Gunning RV, Delogu G, Borzatta V, Moores GD. Temporal synergism can enhance carbamate and neonicotinoid insecticidal activity against resistant crop pests. *Pest Manag Sci.* 2008;64:81-5.
 29. Yaicharoen R, Kiatfuengfoo R, Chareonviriyaphap T, Rongnoparut P. Characterization of deltamethrin resistance in field populations of *Aedes aegypti* in Thailand. *J Vector Ecol.* 2005;30:144-50.
 30. Corbel V, Stankiewicz M, Bonnet J, Grolleau F, Hougaard JM, Lapied B. Synergism between insecticides permethrin and propoxur occurs through activation of presynaptic muscarinic negative feedback of acetylcholine release in the insect central nervous system. *Neurotoxicology.* 2006;27:508-19.
 31. Tabbabi A, Daaboub J, Cheikh RB, Laamari A, Feriani M, Boubaker C, et al. Resistance status to deltamethrin pyrethroid of *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae) collected from three districts of Tunisia. *Afr Health Sci.* 2018;18(4):1182-8. doi: 10.4314/ahs.v18i4.39.
 32. Kongmee M, Boonyuan W, Achee NL, Prabaripai A, Lerdthusnee K, Chareonviriyaphap T. Irritant and repellent responses of *Anopheles harrisoni* and *Anopheles minimus* upon exposure to bifenthrin or deltamethrin using an excito-repellency system and a live host. *J Am Mosq Control Assoc.* 2012;28:20-9. doi:10.2987/11-6197.1
 33. Kakko I, Toimela T, Tähti H. Piperonyl butoxide potentiates the synaptosome ATPase inhibiting effect of pyrethrin. *Chemosphere.* 2000;40:301-5.
 34. Bureau of Vector-Borne Diseases. Annual Report 2017. Nonthaburi: Bureau of Vector-Borne Diseases; 2017. (in Thai)
 35. World Health Organization (WHO). Conditions for deployment of mosquito nets treated with a pyrethroid and piperonyl butoxide. Geneva: World Health Organization; 2017.