



คู่มือการทดสอบสารเคมี



สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง
กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข
2557

คู่มือการทดสอบสารเคมี

ที่ปรึกษา

นายแพทย์โสภณ	เมฆธน	อธิบดีกรมควบคุมโรค
นายแพทย์โอภาส	การย์กวิณพงศ์	รองอธิบดีกรมควบคุมโรค
นายแพทย์นิพนธ์	ชินานนท์เวช	ผู้อำนวยการสำนักโรคติดต่ออันตรายโดยแมลง

คณะผู้จัดทำ

1. นายแพทย์จิรพัฒน์ ศิริชัยสินธพ
2. นายแพทย์วิชัย สติมัย
3. ศ.ดร.ธีรภาพ เจริญวิริยะภาพ
4. กลิน ศุภปฐม
5. พิษณุวัฒน์ พานารถ
6. สุธีรา พูลถิ่น
7. ดร.คณัจฉรีย์ ธานิสพงศ์
8. ศิริพร ยงชัยตระกูล
9. จิราภรณ์ เสวะนา
10. บุญเสริม อ่วมอ่อง
11. ดร.ปิติ มงคลกลางกูร

ฝ่ายจัดการ

อนันต์	พระจันทร์ศรี
มณจิรา	จันทร์
วราภรณ์	เอมะรุจี

จัดทำโดย

สำนักโรคติดต่ออันตรายโดยแมลง
กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข
www.thaivbd.org

พิมพ์ที่

โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด

ปีที่พิมพ์

สิงหาคม 2557 จำนวน 2,500 เล่ม

คำนิยม

ในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีกำจัดแมลงเพื่อควบคุมยุงอย่างแพร่หลาย ทั้งหน่วยงานที่ผู้ที่มีความชำนาญและหน่วยงานที่ผู้ที่ไม่มีความชำนาญ กอปรกับสารเคมีกำจัดแมลงที่ผลิตออกสู่ท้องตลาดมีหลากหลายผลิตภัณฑ์ ทำให้การใช้กว้างขวางมากยิ่งขึ้น ซึ่งการใช้สารเคมีกำจัดแมลงที่ไม่มีวิธีการประเมินประสิทธิภาพที่เป็นมาตรฐานแล้ว ทำให้ยากต่อการควบคุมคุณภาพหรือประสิทธิภาพในการควบคุมยุง จึงเป็นที่น่ายินดีและจะเป็นประโยชน์ยิ่ง ที่คณะทำงานการจัดทำคู่มือการทดสอบสารเคมี การใช้สารเคมี การใช้เครื่องพ่นสารเคมี ควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลงและการบำรุงรักษา ได้จัดทำมาตรฐานวิธีการทดสอบสารเคมีกับยุง ในรูปแบบคู่มือการทดสอบสารเคมี ที่ได้รวบรวมเทคนิคหรือวิธีการทดสอบที่เป็นมาตรฐาน ครอบคลุมการทดสอบกับผลิตภัณฑ์สารเคมีที่มีออกจำหน่ายในท้องตลาด

เนื่องจากคู่มือการทดสอบสารเคมีฉบับนี้มีความรู้เรื่องวิทยาศาสตร์เป็นพื้นฐาน แต่คณะทำงานฯ ได้ทำให้อยู่ในรูปแบบที่อ่านเข้าใจง่าย ที่สามารถปฏิบัติตามขั้นตอนได้ไม่ยุ่งยาก ผมจึงขอตั้งความหวังว่า คู่มือการทดสอบสารเคมีฉบับนี้ จะได้ส่งเสริมให้หน่วยงานต่างๆ ที่อยู่ในพื้นที่ได้นำไปใช้ประเมินประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลงผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่นำมาใช้ควบคุมยุงในปัจจุบัน และทำให้การควบคุมยุงโดยการใช้สารเคมีกำจัดแมลงประสบผลสำเร็จมากยิ่งขึ้น



(นายแพทย์นิพนธ์ ชินานนท์เวช)

ผู้อำนวยการสำนักโรคติดต่อ นำโดยแมลง

สิงหาคม 2557

คำนำ

การควบคุมยุงพาหะนำโรคในประเทศไทย เป็นมาตรการหนึ่งที่สำคัญในการควบคุมโรคที่นำโดยแมลง เพื่อช่วยลดหรือยับยั้งการแพร่เชื้อให้อยู่ในวงจำกัด และมาตรการหลักที่ใช้ในการควบคุมยุงพาหะนำโรคในปัจจุบันยังคงเป็นการใช้สารเคมีกำจัดแมลง ควบคุมทั้งลูกน้ำและตัวเต็มวัย นอกจากนี้ปัจจุบันยังมีผลิตภัณฑ์สำหรับใช้ควบคุมยุงพาหะนำโรคหลากหลายชนิด กอปรกับการควบคุมยุงพาหะนำโรคไม่ได้ดำเนินการโดยหน่วยงานที่มีผู้ซึ่งมีความรู้ความชำนาญเท่านั้น แต่เป็นการร่วมมือกันหลายหน่วยงาน ซึ่งผู้ดำเนินงานจะมีประสบการณ์ ความรู้ ความชำนาญในการปฏิบัติงานที่แตกต่างกัน ปัจจัยเหล่านี้ อาจจะเป็นปัญหาสำคัญที่ทำให้การควบคุมโรคติดต่อมาโดยแมลงไม่ประสบผลสำเร็จ ดังนั้นเพื่อให้การใช้สารเคมีกำจัดแมลงในการควบคุมยุงพาหะนำโรคมีประสิทธิภาพมากที่สุด จำเป็นต้องมีการประเมินหรือตรวจสอบประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลงที่นำมาใช้ ซึ่งวิธีการตรวจสอบนั้นต้องมีวิธีการทดสอบที่อยู่ภายใต้ระเบียบวิธีการที่ถูกต้อง และเป็นแนวทางเดียวกัน เพื่อให้ได้ผลการทดสอบที่เที่ยงตรง แม่นยำ และเชื่อถือได้ ดังนั้นคณะกรรมการจัดทำคู่มือการทดสอบสารเคมี การใช้สารเคมี การใช้เครื่องพ่นสารเคมีควบคุมโรคติดต่อมาโดยแมลงและการบำรุงรักษา จึงได้จัดทำคู่มือฉบับนี้ขึ้น สำหรับเป็นมาตรฐานการทดสอบสารเคมีกำจัดแมลงในยุงพาหะนำโรค เพื่อใช้ประโยชน์ในทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลง และตรวจสอบการสร้างความต้านทานสารเคมีกำจัดแมลง ในยุงพาหะนำโรค

คณะกรรมการจัดทำคู่มือการทดสอบสารเคมี

สิงหาคม 2557

สารบัญ

บทที่	เรื่อง	หน้า
	การทดสอบในระดับภาคสนาม	
1	การทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีฤทธิ์ตกค้างบนพื้นผิววัสดุ	2
1.1	การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีบนพื้นผิวไม้ โดย ปิติ มงคลกลางกูร	3
1.2	การทดสอบประสิทธิภาพของมุ้งชุบสารเคมี โดย มานิตย์ นาคสุวรรณ	6
1.3	การทดสอบประสิทธิภาพของมุ้งชุบสารเคมีชนิดออกฤทธิ์ยาวนาน โดย ศิริพร ยงชัยตระกูล	9
2.	การทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในการพ่น	12
2.1	การทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในการพ่น สำหรับเครื่องพ่นสะพายไหล/หลัง โดย คณัจฉรีย์ ธานีสงศ์	13
2.2	การทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในการพ่น สำหรับเครื่องพ่นแบบติดยยนต์ โดย คณัจฉรีย์ ธานีสงศ์	16
3.	การทดสอบประสิทธิภาพและฤทธิ์คงทนของสารเคมีกำจัดลูกน้ำยุงลาย โดย บุญเสริม อ่วมอ่อง	20
	การทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ	
4.	การตรวจสอบความต้านทานสารเคมีในยุงพาหะนำโรค	24
4.1	การทดสอบความไวยุงพาหะนำโรคต่อสารเคมีกำจัดแมลงตามวิธีการ ขององค์การอนามัยโลก โดย คณัจฉรีย์ ธานีสงศ์	25
4.2	การทดสอบความไวลูกน้ำยุงลายต่อสารเคมีกำจัดแมลงตามวิธีการของ องค์การอนามัยโลก โดย คณัจฉรีย์ ธานีสงศ์	31
ภาคผนวก	1. แบบฟอร์มการทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีฤทธิ์ตกค้างบนพื้นผิววัสดุ	37
	2. แบบฟอร์มการทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีฤทธิ์ตกค้างบนพื้นผิวมุ้ง	38
	3. แบบฟอร์มการทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในการพ่น	39
	4. แบบฟอร์มการทดสอบความไวยุงพาหะนำโรคต่อสารเคมีกำจัดแมลง	40
	5. แบบฟอร์มการทดสอบความไวลูกน้ำยุงต่อสารเคมีกำจัดแมลง	41
	6. ตารางแสดงความเข้มข้นและเวลาสัมผัสสารเคมี ในการทดสอบความไว ของยุงต่อสารเคมี	42
	7. คำสั่งแต่งตั้งคณะทำงานจัดทำคู่มือการทดสอบสารเคมี การใช้สารเคมี การใช้เครื่องพ่นสารเคมีควบคุมโรคติดต่อฯ โดยแมลงและการบำรุงรักษา	43

คู่มือการทดสอบสารเคมีกำจัดแมลง

โรคติดต่อมาโดยแมลงที่สำคัญในประเทศไทย เช่น โรคไข้เลือดออก โรคไข้ปวดข้อยุงลาย โรคไข้มาลาเรีย โรคเท้าช้างและ โรคไข้สมองอักเสบเจอี ซึ่งโดยส่วนใหญ่ยังไม่มีวัคซีนสำหรับการป้องกัน ยกเว้นโรคไข้สมองอักเสบ เจอี เท่านั้น การป้องกันและควบคุมโรคติดต่อที่นำโดยแมลงของประเทศไทยนอกจากการรักษาผู้ป่วยแล้วการควบคุมแมลงที่เป็นพาหะนำโรคยังเป็นอีกมาตรการหนึ่งและวิธีการนี้สามารถยับยั้งการแพร่ระบาดของโรคได้ดี การควบคุมแมลงพาหะนำโรคส่วนใหญ่จะดำเนินการครอบคลุมพื้นที่เป็นบริเวณกว้าง ดังนั้นการดำเนินจึงต้องดำเนินการโดยหน่วยงานของภาครัฐ

การควบคุมยุงพาหะนำโรคมียหลายวิธีการที่สามารถใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีกำจัดแมลงยังคงเป็นวิธีการหลักในการดำเนินงานควบคุมยุงพาหะนำโรคของประเทศไทย ทั้งการควบคุมในยุงระยะที่เป็นลูกน้ำ หรือการควบคุมในระยะตัวเต็มวัย เช่น การใช้ทรายเคลือบสารเคมีที่มีฟอสหรือสารสังเคราะห์ ควบคุมลูกน้ำ หรือการพ่นสารเคมีแบบฤทธิ์ตกค้าง การพ่นสารเคมีฝอยละอองแบบพุ่ง การชุบมุ้งด้วยสารเคมี ที่ใช้ในการควบคุมยุงในระยะตัวเต็มวัย ทุกวิธีการต่างใช้สารเคมีกำจัดแมลงเป็นหลักเช่นกัน

การใช้สารเคมีกำจัดแมลงสำหรับการควบคุมยุงพาหะนำโรคในบริเวณกว้างนั้นมีทั้งประโยชน์และโทษ กล่าวคือ สารเคมีสามารถควบคุมแมลงเป้าหมายให้ลดลงได้ในเวลาอันรวดเร็วทำให้โรคไม่สามารถแพร่กระจายไปสู่พื้นที่อื่นได้ ในทางตรงกันข้ามหากใช้สารเคมีไม่ถูกต้องหรือไม่มีความรู้ในการใช้อาจก่อให้เกิดผลเสียทั้งต่อสุขภาพและเศรษฐกิจ เช่น มีสารเคมีปนเปื้อนในธรรมชาติจนก่อให้เกิดอันตราย ยุงพาหะนำโรคสร้างความต้านทานต่อสารเคมี หรือมีการนำเข้าสารเคมีจากต่างประเทศมากขึ้น เป็นต้น ดังนั้นการควบคุมยุงพาหะนำโรคด้วยสารเคมีกำจัดแมลงให้เกิดประโยชน์ ได้ประสิทธิภาพ และให้ประสิทธิผลในการควบคุม จึงต้องมีการตรวจสอบประสิทธิภาพของสารเคมี และเข้าใจวิธีการใช้อย่างถูกต้อง นอกจากชนิด รูปแบบ และความเข้มข้นของสารเคมีแต่ละชนิดจะมีความสำคัญแล้ว วิธีการนำไปใช้หรือวิธีการดำเนินการยังต้องเหมาะสมกับประเภทและชนิดของแมลงเป้าหมาย และที่สำคัญการดำเนินงานควบคุมยุงพาหะนำโรคในปัจจุบันเป็นหน้าที่ของหลายหน่วยงาน ซึ่งอาจมีความแตกต่างกันในด้านวิชาการและการปฏิบัติงาน ทำให้การควบคุมยุงพาหะนำโรคไม่ประสบผลสำเร็จ ฉะนั้นควรมีการตรวจสอบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงที่นำมาใช้ในการควบคุมยุงพาหะนำโรค อย่างสม่ำเสมอด้วย วิธีการตรวจสอบที่เป็นมาตรฐาน มีความแม่นยำ น่าเชื่อถือ เป็นที่ยอมรับได้ และเหมาะสมที่สามารถนำไปใช้ในหลายๆสภาพพื้นที่ได้ คู่มือฉบับนี้ได้รวบรวมระเบียบวิธีการต่างๆ ในการทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลงสำหรับเป็นแนวทางนำไปใช้เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพการใช้สารเคมีกำจัดแมลงในการควบคุมยุงพาหะนำโรคทั้งระยะลูกน้ำและระยะตัวเต็มวัย นอกจากนี้ยังได้รวบรวมวิธีการตรวจสอบความต้านทานสารเคมีกำจัดแมลงในยุงพาหะนำโรค สำหรับการหาระดับความไว/ต้านทานเบื้องต้นของยุงพาหะนำโรคชนิดต่างๆต่อสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในพื้นที่ ดังรายละเอียดนี้



บทที่ 1

การทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีฤทธิ์ตกค้างบนพื้นผิววัสดุ

โรคมมาลาเรียเป็นโรคที่สำคัญของประเทศในเขตร้อน การควบคุมยุงพาหะนำโรคเป็นมาตรการหนึ่งในการป้องกันและควบคุมโรค เพื่อลดปริมาณ อายุขัยและการสัมผัสระหว่างคนและยุง วิธีการนี้จะทำให้หยุดวงจรการแพร่ระบาดของโรคลงได้ ในประเทศไทยการใช้สารเคมีกำจัดแมลงสำหรับพ่นฤทธิ์ตกค้างและการใช้สารเคมีชุบมุ้ง เป็นมาตรการหลักที่ใช้เพื่อป้องกันยุงและการแพร่ระบาดของโรคมมาลาเรีย จุดมุ่งหมายของการพ่นแบบฤทธิ์ตกค้างตามผนังบ้านด้วยสารเคมีกำจัดแมลง เพื่อป้องกันยุงก้นปล่องพาหะนำโรคมมาลาเรียเข้ากัดคนในบ้านเช่นเดียวกับการชุบมุ้งด้วยสารเคมีกำจัดแมลง เพื่อป้องกันไม่ให้ยุงเข้ากัดคนขณะตื่นนอนหลับ ทั้งสองวิธีการนี้สารเคมีสามารถไล่หรือป้องกันยุงพาหะนำโรคไม่ให้เข้าไปกัดคนได้ อย่างไรก็ตามสารเคมีกำจัดแมลงจะสามารถฆ่าหรือไล่ยุงได้นั้นขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารเคมีกำจัดแมลงแต่ละชนิด

ปัจจุบันสารเคมีกำจัดแมลงที่นำมาใช้ในพ่นแบบฤทธิ์ตกค้างและชุบมุ้งเป็นสารเคมีในกลุ่มไพรีทรอยด์ เนื่องจากสารเคมีกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทำให้ยุงสลบหรือฆ่ายุงได้ และมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลือดอุ่นน้อย สลายตัวได้เร็ว สารเคมีในกลุ่มไพรีทรอยด์มีหลายชนิด อาทิ เพอร์เมทรินเป็นสารเคมีในกลุ่มไพรีทรอยด์ที่นำมาชุบมุ้งตามการแนะนำขององค์การอนามัยโลก ส่วนสารเคมีในกลุ่มไพรีทรอยด์ตัวอื่นๆ เช่น เดลต้าเมทริน อีโธเฟนพรีออกซีไซฟลูทริน และแลมบ์ดาไซฮาโลทริน ก็มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีแต่ละชนิด แต่ละรูปแบบของสารเคมี ก่อนนำมาใช้ในการพ่นหรือชุบมุ้ง

ในการตรวจสอบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงที่นำไปใช้จำเป็นต้องอยู่ภายใต้วิธีการที่เป็นมาตรฐานเดียวกัน ดังนั้นจึงได้จัดทำวิธีการทดสอบประสิทธิภาพและฤทธิ์คงทนสารเคมีกำจัดแมลงบนพื้นผิววัสดุชนิดต่างๆ ดังนี้



หัวข้อที่ 1.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีบนพื้นผิวไม้

1. **วัตถุประสงค์:** เพื่อทราบประสิทธิภาพและฤทธิ์คงทนของสารเคมีกำจัดแมลงบนพื้นผิวไม้
2. **การคัดเลือกพื้นที่:**
 - 2.1. พื้นที่ทำการทดสอบควรเป็นพื้นที่ที่มีุงพาหะนำโรคหลักอาศัยอยู่หรือมีุงพาหะนำโรคบินเข้ามาหากินในพื้นที่
 - 2.2. มีจำนวนบ้านมากพอที่จะสามารถใช้เป็นบ้านทดสอบ ซึ่งไม่น้อยกว่า 5 หลังคาเรือน และบ้านเปรียบเทียบไม่น้อยกว่า 2 หลังคาเรือน
 - 2.3. พื้นที่ทำการทดสอบ ต้องเป็นพื้นที่ที่ได้รับการยินยอมจากประชาชนในท้องถิ่น
3. **วัสดุและอุปกรณ์:**
 - 3.1. เครื่องพ่นอัดลม แบบสพายหลัง ที่ได้มาตรฐาน หรือเครื่องที่ได้ผ่านการตรวจสอบมาตรฐานจากผู้เชี่ยวชาญก่อนนำมาใช้พ่นสารเคมี
 - 3.2. ให้ใช้กรวยทดสอบ มาตรฐานขององค์การอนามัยโลกและให้แยกกรวยที่ใช้ทดสอบพื้นผิวสารเคมี และกรวยที่ใช้ทดสอบพื้นผิวเปรียบเทียบ (ไม่มีสารเคมี)
 - 3.3. หลอดดูดยุงปลายโค้ง สำหรับใช้ทดสอบพื้นผิวสารเคมี และใช้กับพื้นผิวเปรียบเทียบ (ไม่ใช้ร่วมกัน)
 - 3.4. ยุงสำหรับทดสอบ เป็นยุงก้นปล่องเพศเมีย สายพันธุ์ที่เลี้ยงในห้องเลี้ยงยุงที่มีความไวต่อสารเคมี อายุ 2 – 5 วัน เป็นยุงที่ไม่กินเลือด ให้กินน้ำหวาน 10% จนอิ่ม
 - 3.5. ถ้วยพลาสติกหรือกระดาษ สำหรับใส่ยุง กล่องโฟมเก็บความชื้นหรือกระดิกน้ำคูลเลอร์
 - 3.6. ที่วัดอุณหภูมิ ความชื้น และเทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิสูงสุด - ต่ำสุด
 - 3.7. เทปกาวสองหน้า ตะปูขนาด 1.5 - 2 นิ้ว ค้อน
 - 3.8. นาฬิกาจับเวลา คลิปติดมุ้ง เครื่องเขียน ฯลฯ
 - 3.9. แบบฟอร์มการบันทึกผล (ภาคผนวกที่ 1)
4. **การเตรียมการพ่นสารเคมี:**
 - 4.1. บ้านที่จะใช้ทดสอบจะต้องสร้างด้วยไม้
 - 4.2. บ้านที่จะทำการทดสอบ ต้องมีผู้อยู่อาศัยเป็นประจำ จำนวน 7 หลังคาเรือน โดย 5 หลังคาเรือน จะใช้เป็นบ้านทดสอบ อีก 2 หลังใช้เป็นบ้านเปรียบเทียบ แต่ละบ้านควรกระจายตามจุดต่างๆให้ครอบคลุมและเป็นตัวแทนของหมู่บ้านให้มากที่สุด
 - 4.3. สารเคมีที่นำมาใช้ในการพ่นต้องผ่านการตรวจสอบสารออกฤทธิ์ก่อน ซึ่งการตรวจสอบสารออกฤทธิ์และคุณสมบัติทางกายภาพ ต้องตรวจและรับรองโดยหน่วยงานราชการที่มีหน้าที่รับผิดชอบ หรือเอกชนที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO 17025

- 4.4. เตรียมสารเคมี (ให้คิดปริมาณเป็น มิลลิกรัมของสารเคมี/พื้นที่วัสดุเป็นตารางเมตร) คำนวณสารเคมีที่ใช้ตามขนาดของบ้านที่จะพ่น ความเข้มข้นให้ใช้ตามคำแนะนำของผลิตภัณฑ์พ่นสารเคมีให้ครอบคลุมทุกพื้นผิว
- 4.5. การพ่นสารเคมีต้องทำตามวิธีการองค์การอนามัยโลก (WHO,2003) และผู้ปฏิบัติงาน ต้องเป็นผู้ที่มีความชำนาญในการพ่นสารเคมี ด้วยเครื่องมือพ่นแบบอัดลม หรือเป็นผู้ผ่านการฝึกปฏิบัติจากหน่วยงานที่ได้รับการรับรอง
- 4.6. ผู้ปฏิบัติงานต้องมีอุปกรณ์สำหรับการป้องกันตัวเอง เช่น สวมชุดป้องกันสารเคมี หน้ากาก แว่นตา สวมถุงมือ และรองเท้าย และหลังจากการพ่นให้ทำความสะอาดร่างกาย

5. การเตรียมการทดสอบ:

- 5.1. ติดกรวยทดสอบบนพื้นผิวบ้านที่เป็นไม้ให้แน่น โดยให้ใช้ห้องนอน เป็นห้องสำหรับการทดสอบ
- 5.2. การติดกรวยบนพื้นผิว จะวางกรวยทาบบนผนังตรงตำแหน่งที่เลือก กรวยจะถูกยึดติดกับผนังโดยยางที่รัดพาดระหว่างตะปู 2 ตัว โดยให้หัวของยางคล้องมบนยอดกรวย โดยยอดกรวยอยู่ในหัวของยางและถูกยางกดให้แนบติดผนังไว้ แต่ในกรณีที่ตำแหน่งทดสอบไม่เรียบหรือไม่สามารถใช้วิธีตอกตะปูได้ ต้องใช้เทปกาวฟองน้ำช่วย ต้องระวังอย่าให้มีช่องที่ยุงจะหลุดได้
- 5.3. จุดที่ทำการทดสอบจะต้องคงที่ เป็นจุดเดิมตั้งแต่เริ่มทดสอบจนกระทั่งเสร็จสิ้น และเป็นบ้านหลังเดิม โดยติดกรวยทดสอบ จำนวน 3 กรวยในบ้านแต่ละหลัง
- 5.4. เตรียมยุงเพศเมียใส่ในถ้วยใส่ยุงที่เตรียมไว้ ถ้วยละ 10 ตัว โดยใช้บ้านละ 3 ถ้วย ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมงเพื่อตรวจดูความแข็งแรงก่อนทดสอบ หากมียุงตัวใดมีอาการผิดปกติให้เปลี่ยนยุงตัวใหม่แทน

6. วิธีการทดสอบ

- 6.1. การทดสอบครั้งแรกต้องทำหลังจากฉีดพ่นสารเคมี และหลังจากสารเคมีแห้งดีแล้วทันที
- 6.2. ดูดยุงทั้ง 10 ตัวจากถ้วยใส่ยุงด้วยหลอดดูดยุงปลายโค้ง ใส่ยุงเข้าไปในกรวยทดสอบโดยเบาๆ และต้องระวังไม่ให้ปลายหลอดดูดยุงสัมผัสกับพื้นผิว และปิดกรวยด้วยสำลีเมื่อดึงหลอดดูดยุงออก
- 6.3. ปล่อยยุงสัมผัสพื้นผิวทดสอบนาน 30 นาที ระหว่างปล่อยยุงสัมผัสพื้นผิวสารเคมี ห้ามรบกวนยุง โดยไม่เคาะกรวยทดสอบ และห้ามเคลื่อนไหวกรวยไปมา
- 6.4. เมื่อเสร็จสิ้นการทดลอง ให้ดูดยุงออกจากกรวยทดสอบทันทีอย่างระมัดระวัง เก็บยุงไว้ในถ้วยเลี้ยงยุงที่สะอาดซึ่งมีรายละเอียดกำกับตรงกับกรวยทดสอบ ระวังอย่าให้ปลายหลอดดูดยุงสัมผัสกับพื้นผิวของถ้วยยุง
- 6.5. ดำเนินการทดสอบในกรวยใหม่ต่อไปจนครบทุกอัน



- 6.6. ใช้สาลีชุบน้ำหวาน 10% หมาดๆ วางลงบนถ้วยใส่ยุงแต่ละอัน และนำไปวางในกล่องที่มีความชื้น (พื้นด้านล่างปูด้วยไอซ์แพ็คเพื่อเก็บความชื้นแล้ววางผ้าขนหนูทับ เมื่อบรรจุถ้วยเลี้ยงยุงทั้งหมด เรียบร้อยแล้วให้คลุมด้วยผ้าขนหนูที่ชุบน้ำพอหมาด) ปิดฝาลงพอให้อากาศเข้าออกได้ แล้วนำไปเก็บให้เรียบร้อย
- 6.7. นำกล่องใส่ถ้วยเลี้ยงยุงไว้ในห้องปฏิบัติการ ที่มีอุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้น $70 \pm 10\%$ เลี้ยงยุงไว้ 24 ชั่วโมง พร้อมใส่เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิสูงสุด ต่ำสุดลงไปด้วย
- 6.8. ทำการทดสอบกับบ้านทั้งหมดอย่างน้อย 5 หลัง ในวันเวลาเดียวกัน
- 6.9. การทดสอบทุกครั้งต้องมีบ้านเปรียบเทียบ อย่างน้อย 2 หลังๆ ละ 3 ซ้ำ โดยเป็นบ้านที่ไม่ได้พ่นสารเคมี หรือ อาจเตรียมพื้นผิวที่เป็นไม้ชนิดเดียวกันไปเองก็ได้ และจะต้องทดสอบในเวลาเดียวกันกับการทดสอบบ้านพ่นสารเคมี
- 6.10. ดำเนินการทดสอบทุก 1 เดือน จนกระทั่งครบระยะเวลาของการทดสอบที่กำหนดไว้ หรือ จนกระทั่งอัตราการตายของยุงต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนด

7. การบันทึกผล:

- 7.1. บันทึกข้อมูลสิ่งแวดล้อมต่างๆ เช่น ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ ความชื้น ชนิดพื้นผิว และชนิดยุง พาหะนำโรคในแต่ละพื้นที่
- 7.2. บันทึกชนิดของพื้นผิวที่ทำการทดสอบ
- 7.3. บันทึกคุณลักษณะต่างๆ ของสารเคมี อาทิ ชนิดและรูปแบบของสารเคมี เครื่องพ่นที่ใช้ เป็นต้น
- 7.4. บันทึกอุณหภูมิ ความชื้น ขณะทำการทดสอบและที่ 24 ชั่วโมง
- 7.5. บันทึก จำนวนยุงตายและรอดชีวิต ที่ 24 ชั่วโมง

8. การวิเคราะห์ผลการทดสอบ:

- 8.1. หาค่าเฉลี่ยอัตราการตายของยุงทดสอบทั้งหมด
- 8.2. ในการทดสอบเปรียบเทียบ ถ้ามีอัตราการตายระหว่าง 5 ถึง 20% ให้ปรับค่าอัตราการตายจริง โดยใช้สูตรคำนวณ Abbott formula และถ้าอัตราการตายมากกว่า 20% ต้องทำการทดสอบใหม่

$$\text{Abbott's formula} = \frac{\% \text{ ตายของยุงที่ทดสอบ} - \% \text{ ตายของยุงเปรียบเทียบ}}{100 - \% \text{ ตายของยุงเปรียบเทียบ}} \times 100$$

9. การรายงานผลการทดสอบ:

- อัตราตายเฉลี่ยของยุงทดสอบแต่ละครั้งต้องไม่น้อยกว่า 80% จึงถือว่าสารเคมีที่พ่นบนพื้นผิวไม่ได้ ความเข้มข้นตามที่กำหนดและมีประสิทธิภาพกับยุงเมื่ออยู่ในสภาพธรรมชาติ

หัวข้อที่ 1.2 การทดสอบประสิทธิภาพของมุ้งชุบสารเคมี

1. **วัตถุประสงค์:** เพื่อทราบประสิทธิภาพและฤทธิ์คงทนของสารเคมีกำจัดแมลงบนผ้ามุ้งชุบสารเคมี
2. **การคัดเลือกพื้นที่:**
 - 2.1 มีแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงก้นปล่อง
 - 2.2 ทดสอบบ้านที่อยู่ในพื้นที่ไม่น้อยกว่า 10 หลังคาเรือน และมีบ้านที่เป็นตัวเปรียบเทียบอย่างน้อย 1 หลังคาเรือน
 - 2.3 พื้นที่ที่ทำการทดสอบเป็นพื้นที่ที่ได้รับการยินยอมจากประชาชนในพื้นที่ในการใช้มุ้งชุบสารเคมี
3. **วัสดุและอุปกรณ์:**
 - 3.1 มุ้งทดสอบอาจเป็นมุ้งโพลีเอสเตอร์ โพลีเอทิลีน ฝ้าย หรือไนลอน ที่มีจำนวนช่องโปร่งของมุ้งเท่ากับ 156 -196 ช่อง (mesh) หรือ 12 x 13 ถึง 14 x 14 ช่องต่อตารางนิ้ว และมีขนาดเส้นใยหรือดีเนียร์ (denier) เท่ากับ 70-100 ดีเนียร์
 - 3.2 ใช้กรวยทดสอบตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก และให้แยกกรวยที่ใช้ทดสอบมุ้งชุบสารเคมี และกรวยที่ใช้ทดสอบมุ้งเปรียบเทียบ
 - 3.3 หลอดดูดยุงปลายโค้ง สำหรับทดสอบมุ้งชุบสารเคมี และใช้กับมุ้งเปรียบเทียบ (ไม่ใช้ร่วมกัน)
 - 3.4 ยุงสำหรับทดสอบ เป็นยุงก้นปล่องเพศเมียสายพันธุ์ที่เลี้ยงในห้องเลี้ยงยุง ที่มีความไวต่อสารเคมี อายุ 2 – 5 วัน เป็นยุงที่ไม่กินเลือด ให้กินน้ำหวาน 10% จนอิ่ม
 - 3.5 ถ้วยพลาสติกหรือกระดาษ สำหรับใส่ยุง กล่องโฟมเก็บความชื้นหรือกระดิกน้ำคูลเลอร์
 - 3.6 ที่วัดอุณหภูมิ ความชื้น
 - 3.7 ถุงมือ ถุงพลาสติก กระบอกตวงสารเคมี
 - 3.8 นาฬิกาจับเวลา คลิปติดมุ้ง เครื่องเขียน ฯลฯ
 - 3.9 แบบฟอร์มการบันทึกผล (ภาคผนวกที่ 2)
4. **การเตรียมมุ้งและสารเคมี:**
 - 4.1 มุ้งที่ใช้ทดสอบให้ทำจากเส้นใยเดียวกันและขนาดเท่ากันทั้งการทดลอง
 - 4.2 ห้ามนำมุ้งทดสอบไปตากแดด และไม่ซักระหว่างการทดลอง
 - 4.3 วัดขนาดมุ้งแต่ละหลัง
 - 4.4 สารเคมีที่นำมาชุบมุ้งต้องผ่านการตรวจสอบสารออกฤทธิ์ก่อน ซึ่งการตรวจสอบสารออกฤทธิ์และคุณสมบัติทางกายภาพ ต้องตรวจและรับรองโดยหน่วยงานราชการที่มีหน้าที่รับผิดชอบ หรือเอกชนที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO 17025
 - 4.5 สารเคมีที่นำมาทดสอบเป็นสารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มไพรีทรอยด์
 - 4.6 เตรียมสารเคมี (ให้คิดปริมาณเป็นมิลลิกรัมของสารเคมี/พื้นที่มุ้งเป็นตารางเมตร) คำนวณสารเคมีที่ใช้ตามขนาดของมุ้ง ความเข้มข้นให้ใช้ตามคำแนะนำของผลิตภัณฑ์



5. การเตรียมการทดสอบ:

- 5.1. ชุบมุ้งด้วยสารเคมีตามขั้นตอนดังนี้
 - ตวงสารเคมีกำจัดแมลงลงในน้ำตามปริมาณที่กำหนด ใส่ในภาชนะที่ใช้ในการชุบมุ้งหรือถุงพลาสติก จากนั้นคนหรือเขย่าให้น้ำและสารเคมีกำจัดแมลงละลายรวมเป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน
 - พับมุ้งที่จะชุบให้เรียบร้อย โดยการพับแบบสลับฟันปลา เพื่อให้สารละลายแทรกซึมเข้าไปในเนื้อวัสดุที่ใช้ทำมุ้งได้อย่างทั่วถึง
 - นำมุ้งใส่ลงในภาชนะหรือถุงพลาสติกที่มีสารละลายเตรียมไว้
 - ทำการคลุกเคล้าให้สารละลายเปียกมุ้งทั่วถึงกัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที
 - จากนั้นนำมุ้งที่ชุบสารละลายไปผึ่งในที่ร่ม โดยชั้นแรกให้ผึ่งมุ้งกับพื้นที่ราบ เมื่อมุ้งแห้งพอเหมาะ นำมุ้งไปแขวนราวในที่ร่มได้ ควรระวังอย่าให้มุ้งซ้อนทับกันเป็นปึก
 - เมื่อดามุ้งแห้งดีแล้ว จึงนำไปใช้งานได้
- 5.2. ถุงพลาสติกและซองบรรจุสารเคมีห้ามนำมาใช้อีก และสารละลายที่เหลือ ควรราดในหลุมที่ขุดบนพื้นดิน และกลบหลุมให้เรียบร้อย เมื่อเสร็จสิ้นแล้วทุกครั้ง
- 5.3. เตรียมมุ้งกันปล่องเพศเมีย ใส่ถ้วยสำหรับใส่ยุง ถ้วยละ 10 ตัว จำนวน 5 ถ้วยต่อการทดสอบกับมุ้ง 1 หลัง ทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมงเพื่อดูความแข็งแรงของยุง ก่อนใช้ในการทดสอบ
- 5.4. ในบ้านแต่ละหลังคาเรือนให้แขวนมุ้งทดสอบบ้านละ 1 หลัง ในบริเวณที่สะดวกในการปฏิบัติงาน
- 5.5. ติดกรวยทดสอบบนมุ้งหลังละ 5 กรวย โดยติดที่ด้านข้างมุ้งทั้ง 4 ด้านๆละ 1 กรวย และอีก 1 กรวยบริเวณด้านหลังคามุ้ง การติดกรวยพลาสติกกับพื้นผิวมุ้งต้องไม่ให้มีช่องว่างระหว่างผิวมุ้งและขอบกรวยพลาสติก โดยอาจจะใช้คลิปหนีบกระดาษหรือหนังยางรัดก็ได้

6. วิธีการทดสอบ

- 6.1. การทดสอบมุ้งในครั้งแรก ให้ดำเนินการหลังจากชุบมุ้ง 1 วัน
- 6.2. ควรทดสอบในช่วงเช้า เนื่องจากอุณหภูมิไม่สูงและมีความชื้นสัมพัทธ์สูงอยู่ สภาพที่เหมาะสมต่อการทดสอบคืออุณหภูมิไม่เกิน 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ไม่ต่ำกว่า 60%
- 6.3. ดูดยุงจำนวน 10 ตัว จากถ้วยยุงที่เตรียมไว้ใส่ในกรวยทดสอบอย่างระมัดระวัง และปิดกรวยทดสอบด้วยสำลีพันที่เื่อาหลอดดูดยุงออก
- 6.4. ให้อายุสัมผัสกับมุ้งชุบสารเคมีนาน 3 นาที ระหว่างให้อายุสัมผัสพื้นผิวมุ้งที่ชุบสารเคมี ห้ามรบกวนยุง โดยไม่เคาะกรวยทดสอบ และห้ามเคลื่อนไหวกรวยไปมา
- 6.5. เมื่อครบเวลาที่อายุสัมผัสกับสารเคมี ให้ดูดยุงออกจากกรวยทดสอบอย่างระมัดระวัง นำยุงทั้งหมดใส่ในถ้วยใส่ยุงที่สะอาด ซึ่งมีรายละเอียดกำกับตรงกับกรวยทดสอบ ระวังอย่าให้ปลายหลอดดูดสัมผัสกับพื้นผิวภายในถ้วยใส่ยุง
- 6.6. ดำเนินการทดสอบในกรวยทดสอบอันต่อไป จนครบจำนวนกรวยที่ติดบนมุ้งแต่ละหลัง
- 6.7. นับจำนวนยุงที่สลบในถ้วย 60 นาทีหลังการทดสอบ

- 6.8. ใช้สารชุบน้ำหวาน 10% หมาดๆ วางลงบนถ้วยใส่ยุงแต่ละอัน และนำไปวางในกล่องเก็บยุงรักษาความชื้น(พื้นด้านล่างปูด้วยไอซ์แพ็คแล้ววางผ้าขนหนูทับเมื่อบรรจุถ้วยทั้งหมดเรียบร้อยแล้ว ให้คลุมด้วยผ้าขนหนูที่ชุบน้ำพหามา) ปิดฝาของเพื่อให้อากาศเข้าออกได้ แล้วนำไปเก็บให้เรียบร้อย
- 6.9. นำกล่องใส่ถ้วยเลี้ยงยุงไว้ในห้องปฏิบัติการ ที่มีอุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส และความชื้น $70 \pm 10\%$ เลี้ยงยุงไว้ 24 ชั่วโมง
- 6.10. ทำการทดสอบกับมุ้งทดสอบทั้งหมดอย่างน้อย 10 หลัง ในวันเวลาเดียวกัน
- 6.11. การทดสอบทุกครั้งต้องมีมุ้งเปรียบเทียบ 1 หลัง โดยเป็นมุ้งแบบเดียวกันที่ไม่ได้ชุบสารเคมี และจะต้องทดสอบในเวลาเดียวกันกับการทดสอบมุ้งชุบสารเคมี
- 6.12. ดำเนินการทดสอบอย่างต่อเนื่องและสม่ำเสมอทุก 1 เดือน จนกระทั่งอัตราการตายของยุงต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนด

7. การบันทึกผล:

- 7.1. บันทึกชนิดของผ้ามุ้ง ขนาด รูปทรง สี และจำนวนช่องของมุ้ง
- 7.2. บันทึกคุณสมบัติของสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ ความเข้มข้น รูปแบบ เป็นต้น
- 7.3. บันทึกอุณหภูมิ ความชื้น ในขณะทำการทดสอบและหลังการทดสอบ 24 ชั่วโมง
- 7.4. บันทึกจำนวนยุงที่สลบในถ้วยใส่ยุง 60 นาทีหลังจากทดสอบ
- 7.5. บันทึกจำนวนยุงตายและรอดชีวิตในถ้วยใส่ยุงแต่ละใบที่ 24 ชั่วโมง

8. การวิเคราะห์ผลการทดสอบ:

- 8.1. การตัดสินว่ายุงตาย คือยุงที่ไม่สามารถบินหรือไม่สามารถเกาะผนังถ้วยได้ให้ตัดสินว่า เป็นยุงตายแม้จะยังเคลื่อนไหวได้
- 8.2. หาค่าเฉลี่ยอัตราการตายของยุงที่ทดสอบทั้งหมด
- 8.3. ในการทดสอบเปรียบเทียบ ถ้ามีอัตราการตายระหว่าง 5 ถึง 20% ให้ปรับค่าอัตราการตายจริงโดยใช้ Abbott formula และถ้าอัตราการตายมากกว่า 20% ให้ทำการทดสอบใหม่

$$\text{Abbott's formula} = \frac{\% \text{ ตายของยุงที่ทดสอบ} - \% \text{ ตายของยุงเปรียบเทียบ}}{100 - \% \text{ ตายของยุงเปรียบเทียบ}} \times 100$$

9. การรายงานผลการทดสอบ:

- อัตราตายเฉลี่ยของยุงทดสอบ ต้องไม่น้อยกว่า 80% ตลอดระยะเวลาทำการทดสอบจนถึงวันสุดท้ายตามที่ผลิตภัณฑ์กำหนด จึงถือว่ามุ้งที่ชุบสารเคมีตามความเข้มข้นที่กำหนดมีประสิทธิภาพกับยุงเมื่ออยู่ในสภาพพื้นที่ธรรมชาติ



หัวข้อที่ 1.3 การทดสอบประสิทธิภาพของมุ้งชุบสารเคมีชนิดออกฤทธิ์ยาวนาน

1. **วัตถุประสงค์:** เพื่อทราบประสิทธิภาพและฤทธิ์คงทนของสารเคมีกำจัดแมลงบนผ้ามุ้งชุบสารเคมีแบบออกฤทธิ์ยาวนาน
2. **การคัดเลือกพื้นที่:**
 - 2.1. พื้นที่ที่ดำเนินการทดสอบต้องมีแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงก้นปล่อง
 - 2.2. ทดสอบมุ้งจากบ้านที่อยู่ในพื้นที่ไม่น้อยกว่า 10 หลังคาเรือน และใช้มุ้งธรรมดาเป็นตัวเปรียบเทียบอย่างน้อย 2 หลังหรือ ถ้าใช้ 1 หลังต้องทำการทดสอบ 2 ครั้ง ครั้งละ 50 ตัวรวมเป็น 100 ตัว
 - 2.3. มุ้งที่คัดเลือกมาศึกษาต้องได้รับความยินยอมจากเจ้าของบ้าน
3. **วัสดุและอุปกรณ์:**
 - 3.1. มุ้งทดสอบ เป็นผลิตภัณฑ์มุ้งชุบสารเคมีชนิดออกฤทธิ์ยาวนาน (long-lasting insecticidal mosquito net; LLINs หรือ LNs)
 - 3.2. ให้ใช้ กรวยทดสอบ แบบที่เป็นมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก และให้แยกกรวยที่ใช้ทดสอบมุ้งชุบสารเคมี และกรวยที่ใช้ทดสอบมุ้งเปรียบเทียบ
 - 3.3. หลอดดูดยุงปลายโค้ง สำหรับใช้ทดสอบมุ้งชุบสารเคมี และใช้ทดสอบมุ้งเปรียบเทียบ (ไม่ใช้ร่วมกัน)
 - 3.4. ยุงสำหรับทดสอบ เป็นยุงก้นปล่องเพศเมียสายพันธุ์ที่เลี้ยงในห้องเลี้ยงยุง ที่มีความไวต่อสารเคมีอายุ 2 – 5 วัน ไม่กินเลือด ให้กินน้ำหวาน 10% จนอิ่ม
 - 3.5. ถ้วยพลาสติกหรือกระดาษ สำหรับใส่ยุง
 - 3.6. ที่วัดอุณหภูมิ ความชื้น
 - 3.7. นาฬิกาจับเวลา คลิปติดมุ้ง เครื่องเขียนฯลฯ
 - 3.8. กล้องโฟมเก็บความชื้นหรือกระดิกน้ำคูเลออร์ และไอซ์แพ็ค
 - 3.9. แบบฟอร์มการบันทึกผล (ภาคผนวกที่ 2)
4. **การเตรียมมุ้งสำหรับทดสอบ:**
 - 4.1. ดำเนินการแจกมุ้งชุบสารเคมีชนิดออกฤทธิ์ยาวนาน (LLINs หรือ LNs) ให้ประชาชนกลุ่มทดสอบในพื้นที่ และเลือกมุ้งจากบ้านทดสอบ จำนวนอย่างน้อย 10 หลังคาเรือนๆ ละ 1 หลัง อธิบายวิธีการใช้มุ้ง และการดูแลรักษาที่ถูกต้องให้แก่เจ้าของบ้านที่ร่วมโครงการ
 - 4.2. ทำสัญลักษณ์ที่มุ้ง LLINs /LNs ที่แจกประชาชนทุกหลัง จัดทำบัญชีรายชื่อเจ้าของมุ้ง เพื่อง่ายในการสุ่มสำรวจและติดตามตลอดการทดสอบ
 - 4.3. มุ้งเปรียบเทียบ เป็นมุ้งธรรมดาไม่ชุบสารเคมี จำนวนไม่น้อยกว่า 2 หลัง



5. การเตรียมการทดสอบ:

- 5.1. เตรียมยุงก้นปล่องเพศเมียใส่ถ้วยใส่ยุง จำนวน 5 ถ้วย ถ้วยละ 10 ตัว ต่อการทดสอบกับมุ้ง 1 หลัง ตั้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมงเพื่อดูความแข็งแรงของยุงก่อนใช้ในการทดสอบ
- 5.2. ในบ้านแต่ละหลังคาเรือน ให้แขวนมุ้งทดสอบในบริเวณที่สะดวกในการปฏิบัติงาน
- 5.3. ติดกรวยทดสอบบนมุ้งหลังละ 5 กรวยโดยติดที่ด้านข้างมุ้งทั้ง 4 ด้านๆ ละ 1 กรวย และอีก 1 กรวยบริเวณด้านหลังคามุ้ง การติดกรวยพลาสติกกับพื้นผิวมุ้งต้องไม่ให้มีช่องว่างระหว่างผิวมุ้งและขอบกรวยพลาสติก โดยอาจจะใช้คลิปหนีบกระดาษหรือหนังยาง
- 5.4. ตำแหน่งที่ติดกรวย บนมุ้งแต่ละหลังให้ติดที่ตำแหน่งเดิมทุกครั้งที่ทำกรวยทดสอบในแต่ละครั้ง

6. วิธีการทดสอบ

- 6.1. ควรทดสอบช่วงเช้า เนื่องจากสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการทดสอบและอุณหภูมิขณะทำการทดสอบต้องไม่เกิน 30 องศาเซลเซียส
- 6.2. ดูดยุงจำนวน 10 ตัว จากถ้วยยุงที่เตรียมไว้ ใส่ในกรวยทดสอบอย่างระมัดระวังและปิดกรวยทดสอบด้วยสำลีพันที่ที่เอาหลอดดูดยุงออก
- 6.3. ให้อายุสัมพันธ์กับมุ้งซุสสารเคมีนาน 3 นาที ระหว่างให้อายุสัมพันธ์พื้นผิวมุ้งที่ซุสสารเคมี ห้ามรบกวนยุง โดยไม่เคาะกรวยทดสอบ และห้ามเคลื่อนไหวกรวยไปมา
- 6.4. เมื่อครบเวลาที่อายุสัมพันธ์กับสารเคมี ให้อายุออกจากกรวยทดสอบ อย่างระมัดระวัง นำยุงมาใส่ในถ้วยที่สะอาด สำหรับใช้เลี้ยงยุงซึ่งมีรายละเอียดกำกับตรงกันกับกรวยทดสอบ ระวังอย่าให้ปลายหลอดดูดสัมผัสกับพื้นผิวภายในถ้วยใส่ยุง
- 6.5. ดำเนินการทดสอบในกรวยทดสอบอันต่อไป จนครบจำนวนกรวยที่ติดบนมุ้งแต่ละหลัง
- 6.6. นับจำนวนยุงที่สลบหลังจากดูดยุงใส่ในถ้วยใส่ยุงทันที (ที่ 3 นาที) และที่ 60 นาที หลังการทดสอบ ทำเช่นนี้กับมุ้งทุกหลังจนครบการทดสอบ
- 6.7. ใช้สำลีชุบน้ำหวาน 10 % หมาดๆ วางลงบนถ้วยใส่ยุงแต่ละอัน และนำไปวางในกล่องที่มีความชื้น (พื้นด้านล่างปูด้วยไอซ์แพ็คแล้ววางผ้าขนหนูทับ เมื่อบรรจุถ้วยทั้งหมดเรียบร้อยแล้วให้คลุมด้วยผ้าขนหนูที่ชุบน้ำพอหมาด)
- 6.8. นำกล่องใส่ยุงไว้ในห้องปฏิบัติการ ที่มีอุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้น $70 \pm 10\%$ เลี้ยงยุงไว้ 24 ชั่วโมง
- 6.9. ทำการทดสอบกับมุ้งทดสอบทั้งหมด (อย่างน้อย 10 หลัง) ในวันเวลาเดียวกัน
- 6.10. การทดสอบทุกครั้งต้องมีมุ้งเปรียบเทียบอย่างน้อย 2 หลัง โดยเป็นมุ้งธรรมดาที่ไม่ได้ซุสสารเคมี และจะต้องทดสอบในเวลาเดียวกันกับการทดสอบมุ้งซุสสารเคมี
- 6.11. ดำเนินการทดสอบอย่างต่อเนื่องและสม่ำเสมอทุก 6 เดือนเป็นอย่างน้อย และหลัง 3 ปี ให้ทำการทดสอบทุกเดือน



7. การบันทึกผล:

- 7.1. บันทึกคุณสมบัติของมุ้ง ชนิด ขนาด รูปทรง และสีของมุ้ง
- 7.2. บันทึกอุณหภูมิและความชื้น ในขณะที่ทำการทดสอบ และที่ 24 ชั่วโมง
- 7.3. บันทึกจำนวนยุงที่สลบในถ้วยยุงทันทีหลังจากดูดยุงใส่ในถ้วยใส่ยุง
- 7.4. บันทึกจำนวนยุงสลบ ที่ 60 นาที หลังการทดสอบ และนับจำนวนยุงที่ตายและที่รอดชีวิตที่ 24 ชั่วโมง ทำเช่นนี้กับมุ้งทุกหลังจนครบการทดสอบ

8. การวิเคราะห์ผลการทดสอบ:

- 8.1. การตัดสินว่ายุงตาย คือยุงที่ไม่สามารถบินหรือเกาะผนังถ้วยใส่ยุงได้ให้ตัดสินว่า เป็นยุงตายแม้จะยังเคลื่อนไหวได้
- 8.2. หาค่าเฉลี่ยอัตราการตายของยุงที่ทดสอบทั้งหมด
- 8.3. ในการทดสอบเปรียบเทียบ ถ้ามีอัตราการตายระหว่าง 5 – 20% ให้ปรับค่าอัตราการตายจริง โดยใช้ Abbott formula และถ้าอัตราการตายมากกว่า 20% ผลการทดสอบผิดพลาด ต้องทำการทดสอบใหม่

$$\text{Abbott's formula} = \frac{\% \text{ ตายของยุงที่ทดสอบ} - \% \text{ ตายของยุงเปรียบเทียบ}}{100 - \% \text{ ตายของยุงเปรียบเทียบ}} \times 100$$

9. การรายงานผล:

- อัตราตายเฉลี่ยของยุงทดสอบ ต้องไม่น้อยกว่า 80% ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดสอบตามที่ผลิตภัณฑ์กำหนด จึงถือว่ามุ้งที่ซุบสารเคมีแบบยาวนานมีประสิทธิภาพกับยุงเมื่ออยู่ในสภาพพื้นที่ธรรมชาติ

10. เอกสารอ้างอิง

- World Health Organization. Guidelines on the use of insecticide-treated mosquito nets for the prevention and control of malaria in Africa. WHO Trial Edition, 81 p.
- World Health Organization. 1996. Report of the WHO informal consultation on the Evaluation and testing of insecticides CTD/WHOPES/IC/96.1.
- World Health Organization. 2002. Instruction for treatment and use of insecticide- treated mosquito nets. Use insecticide-treated mosquito nets to sleep in peace-and protect your health (WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2002)
- World Health Organization. 2003. Trial Edition. Malaria Entomology and Vector Control (Learner Guide). WHO/CDS/CPE/SMT/2002.18 Rev.1Part 1: 107 pp.
- World Health Organization. 2006. Guidelines for testing mosquito adulticide for indoor WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.3.
- เข้าถึงเว็บไซต์: <http://www.who.int/whopes/gcdpp/publications/en>. (accessed 20 April 2010).



บทที่ 2

การทดสอบหาประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในการพ่น

การพ่นสารเคมีแบบหมอกควัน (fogging) หรือพ่นฝอยละเอียด (ULV) เป็นมาตรการหลักในการควบคุมยุงพาหะนำโรคไข้เลือดออกในพื้นที่ที่มีการระบาด มีรัศมีการพ่น 100 เมตรรอบพื้นที่การระบาด ซึ่งการพ่นด้วยวิธีนี้ยังใช้พ่นเพื่อการควบคุมยุงก้นปล่องหรือพ่นยุงรำคาญตามแหล่งเกาะพักเช่นกัน ปัจจุบันมีการแข่งขันตลาดการค้าสารเคมีกำจัดแมลงสำหรับการพ่นสูงขึ้น และผลผลิตออกมาในรูปของผลิตภัณฑ์ที่หลากหลายชนิด ที่มีรูปแบบหรือชนิดของสารออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งรูปแบบหรือชนิดของสารเคมีกำจัดแมลงที่ต่างกันจะมีประสิทธิภาพในการควบคุมยุงพาหะนำโรคแต่ละชนิด หรือแต่ละพื้นที่ที่แตกต่างกัน ดังนั้นก่อนการนำสารเคมีรูปแบบต่างๆ ไปใช้ในพื้นที่เป้าหมายจำเป็นต้องทราบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงชนิดต่างๆ แต่ละรูปแบบกับยุงชนิดเป้าหมายในพื้นที่ก่อน หรือแม้กระทั่งสารเคมีกำจัดแมลงในรูปแบบเดิมๆ ที่ใช้ในพื้นที่เดิม ก็ควรมีการตรวจสอบประสิทธิภาพของสารเคมีอย่างสม่ำเสมอ จะทำให้การใช้สารเคมีกำจัดแมลงแบบพ่นมีประสิทธิภาพในการควบคุมยุงชนิดที่เป็นเป้าหมายในพื้นที่ได้

การทดสอบหาประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในการพ่นพ่นในสภาพพื้นที่ธรรมชาติ ต้องวางแผนการศึกษา ให้ชัดเจน โดยคำนึงถึงปัจจัยหลายๆ อย่าง เช่น ชนิดยุงเป้าหมาย สารเคมีกำจัดแมลงและรูปแบบที่จะนำมาใช้ สภาพพื้นที่สำหรับการทดสอบ และการปฏิบัติการที่ได้มาตรฐาน สิ่งเหล่านี้ล้วนเป็นปัจจัยสำคัญที่จะทำให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้อง แม่นยำ ชัดเจน และไม่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย ดังนั้นเพื่อให้การทดสอบอยู่ภายใต้มาตรฐานวิธีการทดสอบเดียวกัน จึงได้จัดทำระเบียบวิธีการทดสอบขึ้นมา 2 รูปแบบ คือการทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในการพ่นสำหรับเครื่องพ่นแบบสะพายไหล่/หลัง และการทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในการพ่นสำหรับเครื่องพ่นแบบติดรถยนต์ ตามขั้นตอนต่อไปนี้

หัวข้อที่ 2.1 การทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในการพ่นสำหรับเครื่องพ่นแบบ สะพายไหล่/หลัง

1. วัตถุประสงค์: เพื่อหาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้กับเครื่องพ่นแบบสะพายไหล่/หลัง
2. การคัดเลือกพื้นที่:
 - 2.1. มีแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงพาหะนำโรคชนิดเป้าหมายในพื้นที่
 - 2.2. ใช้บ้านไม่น้อยกว่า 10 หลังคาเรือน และมีบ้านเปรียบเทียบอย่างน้อย 2 หลังคาเรือน
 - 2.3. ทำการทดสอบในบ้าน และไม่มีผู้อาศัยในขณะทำการทดสอบและหลังการทดสอบอย่างน้อย 30 นาที
 - 2.4. บ้านที่ทำการทดสอบต้องได้รับความยินยอมจากผู้อาศัยก่อนทำการพ่นสารเคมี
3. วัสดุและอุปกรณ์:
 - 3.1. เครื่องพ่นแบบสะพายไหล่/หลัง ต้องเป็นเครื่องพ่นที่ใช้สำหรับการพ่นที่ได้มาตรฐานองค์การอนามัยโลกหรือเป็นเครื่องที่ผ่านการตรวจสอบมาตรฐานจากผู้เชี่ยวชาญด้านการใช้เครื่องพ่นสารเคมี
 - 3.2. กรงยุงทดสอบเป็นกรงรูปทรงยาว หรือทรงกระบอก ที่ปลายด้านหนึ่งเปิดกว้าง (เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 9 เซนติเมตร) สามารถใส่ยุงเข้าออกได้สะดวก เช่น กรงใส่ยุงที่ทำด้วยโครงลวดโลหะ ขนาด 12.5x 6.5x6.5 เซนติเมตร
 - 3.3. ผ้ามุ้งสำหรับครอบกรงใส่ยุงควรเป็นผ้าที่มีผิวเรียบ ขนาดช่องประมาณ 1.2 x 1.2 มิลลิเมตร ถึง 1.6 x 1.6 มิลลิเมตรเพื่อให้ละอองสารเคมีสามารถผ่านเข้าไปได้สะดวกไม่ควรใช้ผ้ามุ้งที่มีขนาดของช่องน้อยกว่า 1.2 ตารางมิลลิเมตร
 - 3.4. เชือกสำหรับผูกปลายผ้ามุ้งและใช้แขวน
 - 3.5. ยุงสำหรับทดสอบ เป็นยุงลายเพศเมียสายพันธุ์ที่เลี้ยงในห้องเลี้ยงยุง ที่มีความไวต่อสารเคมี อายุ 2 – 5 วัน ไม่กินเลือด ให้กินน้ำหวาน 10% จนอิ่ม
 - 3.6. ถ้วยพลาสติก/กระดาษ หรือกรงสำหรับใส่ยุง กล่องโฟมเก็บความชื้นหรือกระดิกน้ำคูลเลอร์
 - 3.7. หลอดดูดยุง ให้ใช้แยกกันสำหรับกรงยุงทดสอบสารเคมี และกรงยุงเปรียบเทียบ
 - 3.8. อุปกรณ์ป้องกันตัว เช่น หน้ากาก ถุงมือ แวนตา หมวก และชุดป้องกันสารเคมี เป็นต้น
 - 3.9. นาฬิกาจับเวลา ไอซ์แพ็ค ที่วัดอุณหภูมิ ความชื้น เป็นต้น
 - 3.10. แบบฟอร์มการบันทึกผล (ภาคผนวกที่ 3)
4. การพ่นสารเคมี
 - 4.1. สารเคมีที่จะนำมาทดสอบต้องผ่านการตรวจสอบสารออกฤทธิ์ ซึ่งการตรวจสอบสารออกฤทธิ์และคุณสมบัติทางกายภาพ ต้องตรวจและรับรองโดยหน่วยงานราชการที่มีหน้าที่รับผิดชอบ หรือเอกชนที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO 17025

- 4.2. ให้ใช้ความเข้มข้นที่แนะนำสำหรับการพ่นและเป็นรูปแบบสำหรับใช้กับเครื่องพ่นแบบสะพายไหล่/หลัง
- 4.3. ผู้ปฏิบัติการพ่น ต้องเป็นผู้ที่มีความชำนาญในการพ่นสารเคมี ด้วยเครื่องมือพ่นแบบสะพายไหล่/หลัง หรือเป็นผู้ผ่านการฝึกปฏิบัติจากหน่วยงานที่ได้รับการรับรอง และต้องมีอุปกรณ์สำหรับการป้องกันตัวเอง เช่น สวมชุดป้องกันสารเคมี หน้ากาก แว่นตา สวมถุงมือ และรองเท้าว และหลังจากการพ่นให้ทำความสะอาดร่างกาย
- 4.4. การพ่นสารเคมีต้องพ่นให้ได้มาตรฐาน พ่นในช่วงเวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสม ประมาณ 25 – 30 องศาเซลเซียส
- 4.5. การเตรียมบ้านสำหรับการพ่นหมอกควัน และการพ่นฝอยละออง
 - ทำการพ่นในบ้าน
 - บ้านปิดหน้าต่าง
 - เริ่มพ่นจากชั้นบนลงมา ชั้นล่างสุด
 - พ่นจากห้องที่อยู่ใต้อันสุด เริ่มด้านหลังห้อง มากกลางห้อง และตรงประตู แล้วจึงปิดประตูห้อง
 - ลักษณะการพ่น ให้เดินถอยหลัง โดยมีหัวพ่นให้อยู่ด้านหน้า
 - พ่นแต่ละห้องให้เสร็จก่อนย้ายไปห้องอื่น
 - ให้เครื่องพ่นอยู่ในลักษณะเอียงให้ปลายปากท่อเครื่องพ่นอยู่ในแนว 45 องศา
 - เปิดน้ำยาพร้อมสายปลายท่อเป็นมุม 180 องศา เดินถอยหลังช้าๆ จนถึงประตูที่เปิดไว้
 - เมื่อเห็นควันเต็มห้องแล้วปิดน้ำยาพร้อมกับปิดประตู ทิ้งไว้ประมาณ 10– 20 นาที
 - คนและสัตว์เลี้ยงต้องอยู่นอกบ้านอย่างน้อย 30 นาทีหลังการพ่น

5. การเตรียมการทดสอบ:

- 5.1. เตรียมยุงสำหรับทดสอบในวันที่ปฏิบัติงานให้พร้อม
- 5.2. เตรียมกรงยุงโดยใช้ผ้ามุ้งครอบโครงลวดที่เป็นกรง มัดปลายด้านหนึ่งให้หลวมๆ สำหรับเป็นที่ใส่ยุงเข้าไปในกรง
- 5.3. คูดยุงใส่ในกรงที่เตรียมไว้กรงละ 20 – 25 ตัว และเมื่อใส่ยุงจนครบจำนวน ใช้เชือกผูกผ้ามุ้งให้แน่นโดยให้ติดกับโครงลวดมากที่สุด ไม่ให้ผ้ามุ้งครอบกรงยุงหลวมหรือหย่อนเกินไป

6. วิธีการทดสอบ

- 6.1. ก่อนการพ่นสารเคมีให้นำกรงยุงที่เตรียมไว้ไปแขวนในบ้านที่สุ่มเลือกไว้ บ้านทุกหลังที่แขวนกรงยุงต้องปิดหน้าต่าง และบ้านแต่ละหลังควรมีกรงยุงทดสอบอย่างน้อย 3 กรง
- 6.2. บ้านที่ทดสอบควรเป็นบ้านที่มีหลายห้อง ในการทดสอบ ยกเว้นห้องครัวให้นำกรงยุงอย่างน้อย 1 กรงไปแขวนไว้ที่กลางห้อง สูงจากพื้นประมาณ 1– 1.5 เมตร และแขวนอีกอย่างน้อย 2 กรง ไว้ในบริเวณต่างๆ ที่เป็นแหล่งเกาะพักของยุงชนิดเป้าหมาย



- 6.3. การพ่นสารเคมี ต้องแน่ใจว่าทุกห้องได้รับสารเคมีในความเข้มข้นตามที่ผลิตภัณฑ์กำหนดและอัตราการไหลของสารเคมีได้มาตรฐานตามคุณสมบัติของเครื่องพ่นที่ใช้ ตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก
- 6.4. ให้ยุงในกรงสัมผัสกับสารเคมีนาน 60 นาที
- 6.5. ครบเวลา 60 นาที เปิดหน้าต่าง ประตูบ้านออก และนำกรงยุงออกจากบ้าน มาบริเวณที่ไม่มี การพ่นสารเคมี ผู้ที่เข้าไปนำยุงออกมาต้องมีการสวมอุปกรณ์ป้องกันสารเคมีให้ครบถ้วน นับจำนวนยุงที่ตกอยู่บนพื้นกรง (ยุงสลบ) และให้นำยุงทั้งหมดออกจากกรง อย่างระมัดระวังใส่ในถ้วยที่สะอาด หรือกรงใหม่ ถ้วยใส่ยุงหรือกรงแต่ละอันต้องติดรายละเอียดตรงตามกรงยุงทดสอบแต่ละกรง
- 6.6. ใช้สาลีชุบน้ำหวาน 10% ปีบหมาดๆ วางลงบนถ้วยใส่ยุงหรือกรงแต่ละอัน และนำไปวางในกล่องเก็บความชื้น (พื้นด้านล่างปูด้วยไอซ์แพ็คแล้ววางผ้าขนหนูทับ เมื่อบรรจุถ้วยทั้งหมดเรียบร้อยแล้ว ให้คลุมด้วยผ้าขนหนูที่ชุบน้ำพองหมาด)
- 6.7. นำกล่องใส่ยุงไว้ในห้องปฏิบัติการ ที่มีอุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้น $70 \pm 10\%$ เลี้ยงยุงไว้ 24 ชั่วโมง
- 6.8. ทำการทดสอบพร้อมกันให้เสร็จอย่างน้อย 10 หลังคาเรือน และมีบ้านสำหรับเป็นบ้านเปรียบเทียบอย่างน้อย 2 หลังคาเรือน

7. การบันทึกผล:

- 7.1. บันทึกอุณหภูมิ ความชื้นในบ้าน ก่อนและหลังการพ่น และที่ 24 ชั่วโมง
- 7.2. บันทึกคุณลักษณะต่างๆ ของสารเคมี รุ่น และประเภทเครื่องพ่นที่ใช้ในการพ่น
- 7.3. บันทึกจำนวนยุงสลบในกรงยุงทดสอบแต่ละใบ ที่ 60 นาที เมื่อครบเวลาที่ให้ยุงสัมผัสกับสารเคมี
- 7.4. บันทึกจำนวนยุงที่ตายและรอดชีวิตในถ้วยใส่ยุงหรือกรงแต่ละอันที่ 24 ชั่วโมง

8. การวิเคราะห์ผลการทดสอบ:

- 8.1. หาอัตราการตายของยุงในแต่ละกรง
- 8.2. หาค่าเฉลี่ยอัตราการตายของยุงที่ใช้ทดสอบทั้งหมด
- 8.3. ในการทดสอบชุดเปรียบเทียบ ถ้ามีอัตราการตายระหว่าง 5 – 20% ให้ปรับค่าอัตราการตายจริง โดยใช้ Abbott formula และถ้าอัตราการตายมากกว่า 20% ผลการทดสอบผิดพลาด ต้องทำการทดสอบใหม่

$$\text{Abbott's formula} = \frac{\% \text{ ตายของยุงที่ทดสอบ} - \% \text{ ตายของยุงเปรียบเทียบ}}{100 - \% \text{ ตายของยุงเปรียบเทียบ}} \times 100$$

9. การรายงานผล:

- อัตราการตายเฉลี่ยของยุงที่ทดสอบทั้งหมดไม่น้อยกว่า 90% จึงถือว่าการพ่นที่ความเข้มข้นตามกำหนดมีประสิทธิภาพในการควบคุมยุงในพื้นที่ได้

หัวข้อที่ 2.2 การทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ในการพ่น สำหรับเครื่องพ่นแบบ ติตรถยนต์

1. วัตถุประสงค์: เพื่อหาประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลง ที่ใช้กับเครื่องพ่นแบบติตรถยนต์
2. การคัดเลือกพื้นที่:
 - 2.1 มีแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงพาหะนำโรคชนิดเป้าหมายในพื้นที่
 - 2.2 พื้นที่ทดสอบเป็นชุมชนขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ ซึ่งมีจำนวนบ้านไม่น้อยกว่า 10 หลังคาเรือน และมีพื้นที่สำหรับเปรียบเทียบอยู่ในบริเวณใกล้เคียง ที่ห่างออกไปไม่น้อยกว่า 500 เมตร
 - 2.3 เป็นการพ่นนอกบ้าน
 - 2.4 เป็นพื้นที่ที่ได้รับความยินยอมจากผู้ที่อยู่อาศัยรอบบริเวณที่ทำการทดสอบ
3. วัสดุและอุปกรณ์:
 - 3.1 เครื่องพ่นแบบติตรถยนต์ ต้องเป็นเครื่องพ่นที่ใช้สำหรับการพ่น ที่ได้มาตรฐานองค์การอนามัยโลก หรือเป็นเครื่องที่ผ่านการตรวจสอบมาตรฐานจากผู้เชี่ยวชาญก่อนนำมาใช้พ่นสารเคมี
 - 3.2 กรงยุงควรเป็นกรงรูปทรงยาว หรือทรงกระบอก ที่ปลายด้านหนึ่งเปิดกว้าง (เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 9 เซนติเมตร) สามารถใส่ยุงและถ่ายยุงออกได้โดยที่ยุงไม่บอบช้ำ เช่น กรงใส่ยุงที่ทำด้วยโครงลวดโลหะขนาด 12.5 x 6.5 x 6.5 เซนติเมตร
 - 3.3 ฝ้ามุ้งสำหรับครอบกรงใส่ยุงควรเป็นผ้าที่มีผิวเรียบ ขนาดช่องประมาณ 1.2 x 1.2 มิลลิเมตร ถึง 1.6 x 1.6 มิลลิเมตร เพื่อที่ละอองสารเคมีจะสามารถผ่านเข้าไปได้สะดวกไม่ควรใช้ฝ้ามุ้งที่มีขนาดของช่องน้อยกว่า 1.2 ตารางมิลลิเมตร
 - 3.4 เชือกสำหรับผูกปลายฝ้ามุ้งและใช้แขวน
 - 3.5 ยุงสำหรับทดสอบ เป็นยุงลายเพศเมียสายพันธุ์ที่เลี้ยงในห้องเลี้ยงยุง ที่มีความไวต่อสารเคมี อายุ 2 – 5 วัน ไม่กินเลือด ให้กินน้ำหวาน 10% จนอิ่ม
 - 3.6 ถ้วยพลาสติก/กระดาษหรือกรง สำหรับใส่ยุง กล่องโฟมเก็บความชื้นหรือกระติกน้ำคูเลอร์
 - 3.7 หลอดดูดยุง ให้แยกใช้สำหรับกรงยุงทดสอบและกรงยุงเปรียบเทียบ
 - 3.8 นาฬิกาจับเวลา ไอซ์แพ็ค ที่วัดอุณหภูมิ ความชื้น
 - 3.9 เครื่องวัดความเร็ว และทิศทางลม
 - 3.10 แบบฟอร์มการบันทึกผล (ภาคผนวกที่ 3)
4. การพ่นสารเคมี
 - 4.1 ชนิดหรือรูปแบบของสารเคมี ที่จะนำมาทดสอบต้องผ่านการตรวจสอบสารออกฤทธิ์ ซึ่งการตรวจสอบสารออกฤทธิ์และคุณสมบัติทางกายภาพ ต้องตรวจและรับรองโดยหน่วยงานราชการที่มีหน้าที่รับผิดชอบ หรือเอกชนที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO 17025

- 4.2. ใช้ความเข้มข้นที่แนะนำในการพ่น และเป็นรูปแบบสำหรับใช้กับเครื่องพ่นแบบติตรถยนต์แต่ละประเภท
- 4.3. ผู้ปฏิบัติงาน ต้องเป็นผู้ที่มีความชำนาญในการพ่นสารเคมี ด้วยเครื่องมือพ่นแบบติตรถยนต์ หรือเป็นผู้ผ่านการฝึกปฏิบัติจากหน่วยงานที่ได้รับการรับรองและต้องมีอุปกรณ์สำหรับการป้องกันตัวเอง เช่น สวมชุดป้องกันสารเคมี หน้ากาก แว่นตา สวมถุงมือ และรองเท้าว และหลังจากการพ่นให้ทำความสะอาดร่างกาย
- 4.4. การพ่นสารเคมีต้องพ่นให้ได้มาตรฐาน พ่นในช่วงเวลา อุณหภูมิ และความเร็วลมที่เหมาะสมเช่น พ่นช่วงเช้า (ไม่ควรเกิน 2 ชั่วโมงหลังพระอาทิตย์ขึ้น) หรือใกล้เวลาพระอาทิตย์ตกจนถึงมีด อุณหภูมิจะอยู่ในช่วงประมาณ 25 – 30 องศาเซลเซียส ความเร็วลมโดยประมาณ 3.6 – 15 กิโลเมตร/ชั่วโมง
- 4.5. การเตรียมบ้านสำหรับพ่นหมอกควัน
- ทำการพ่นนอกบ้าน โดยเปิดประตูและหรือหน้าต่างไว้
 - ถ้าบ้านติดถนนมากและถนนแคบต้องวางเครื่องพ่นให้หัวพ่นหรือปลายกระบอกพ่นออกด้านท้ายรถ
 - ถ้าบ้านอยู่ห่างจากถนน และถนนกว้าง รถต้องขับอยู่ชิดขอบถนนด้านใต้ลม
 - หันปลายกระบอกพ่นไปทางด้านใต้ลมท้ายรถยนต์เฉียงข้าง
 - ปากกระบอกพ่นอยู่แนวราบหรือกุดลงทำมุม 15 องศา กับแนวราบ ขึ้นอยู่กับความเร็วกระแสลมขณะนั้น
 - หากมีความเร็วกระแสลมเข้ามาจนถึงไม่มีกระแสลมให้ปลายกระบอกพ่นอยู่แนวราบ จากการคาดคะเนกระแสลมความเร็วเกินกว่า 5 กิโลเมตรต่อชั่วโมงให้ปลายกระบอกพ่นกุดลงทำมุม 15 องศา กับแนวราบ
 - ควบคุมอัตราความเร็วของรถพ่นประมาณ 6 กิโลเมตรต่อชั่วโมง (100 เมตรต่อนาที)
- 4.6. การเตรียมบ้านสำหรับการพ่นฝอยละออง
- ทำการพ่นนอกบ้าน โดยเปิดประตูและหรือหน้าต่างไว้
 - ถ้าบ้านติดถนนและถนนแคบต้องวางเครื่องพ่นให้หัวพ่นหรือปลายกระบอกพ่นออกด้านท้ายรถ
 - ถ้าบ้านอยู่ห่างจากถนน และถนนกว้าง รถต้องขับอยู่ชิดขอบถนนด้านใต้ลม
 - หัวพ่นหันไปทางด้านใต้ลม (ข้างถนน) ยกขึ้นทำมุม 15-30 องศา กับแนวราบ ขึ้นอยู่กับความเร็วกระแสลมขณะนั้น
 - หากมีความเร็วกระแสลมเข้ามาจนถึงไม่มีกระแสลมให้หัวพ่นทำมุม 30 องศา กับแนวราบ จากการคาดคะเนกระแสลมความเร็วเกินกว่า 5 กิโลเมตรต่อชั่วโมงให้หัวพ่นทำมุม 15 องศา กับแนวราบ

5. การเตรียมการทดสอบ:

- 5.1. เตรียมยุงสำหรับทดสอบ ในวันที่ปฏิบัติงาน
- 5.2. เตรียมกรงยุงโดยใช้ผ้ามุ้งครอบโครงลวดที่เป็นกรง มัดปลายด้านหนึ่งให้หลวมๆ สำหรับเป็นที่ใส่ยุงเข้าไปในกรง
- 5.3. คูดยุงใส่ในกรงที่เตรียมไว้กรงละ 20 – 25 ตัว และเมื่อใส่ยุงจนครบจำนวน ใช้เชือกผูกผ้ามุ้งให้แน่นโดยให้ติดกับโครงลวดมากที่สุด ไม่ให้ผ้ามุ้งครอบกรงยุงหลวมหรือหย่อนเกินไป

6. วิธีการทดสอบ

- 6.1. ก่อนการพ่นสารเคมีให้นำกรงยุงที่เตรียมไว้ไปแขวนในพื้นที่ที่จะพ่นสารเคมีโดยแขวนกรงยุงให้อยู่ในลักษณะที่สามารถสัมผัสผลของสารเคมีได้ทุกทิศทาง กรงยุงอยู่ในระดับความสูงจากพื้นดินประมาณ 1.5 เมตร และอยู่ใต้ลมของทิศทางพ่น โดยมียาระยะห่างจากที่พ่นในระยะต่างๆ คือ ที่ระยะ 25, 50, 75 และ 100 เมตรตามลำดับ แต่ละระยะประกอบด้วยแถวอย่างน้อย 3 แถว โดยให้แต่ละแถวห่างกันประมาณ 10 เมตร และในแต่ละแถวให้แขวนกรงยุงอย่างน้อย 3 กรง
- 6.2. ขณะพ่นสารเคมีต้องควบคุมความเร็วรถยนต์ให้มีความเร็วสม่ำเสมอ ความเร็วรถประมาณ 12 กิโลเมตรต่อชั่วโมง และควบคุมอัตราการไหลของสารเคมี ตามมาตรฐานของเครื่องพ่นที่ใช้ รถวิ่งอยู่ใต้ลมขนานไปกับพื้นที่ที่แขวนกรงยุง
- 6.3. ให้อายุสัมผัสกับสารเคมีที่พ่น 15 นาทีโดยพ่นตามระยะเวลาที่กำหนด และให้บันทึกเวลาที่ให้ยุงสัมผัสกับสารเคมีที่พ่น
- 6.4. เมื่อครบเวลาที่สัมผัสกับสารเคมีให้นำกรงยุงที่แขวนไว้ ออกมาจากบริเวณที่มีการพ่นสารเคมี ไปในพื้นที่ที่ไม่มีสารเคมี ผู้ปฏิบัติงานที่เข้าไปนำยุงออกมาต้องมีการสวมอุปกรณ์ป้องกันสารเคมีให้ครบถ้วน และนับจำนวนยุงที่สลบในแต่ละกรง
- 6.5. นำยุงออกจากกรงทันที อย่างรวดเร็วและระมัดระวังไม่ให้ยุงบอบช้ำ ใส่ในถ้วยที่สะอาดสำหรับเลี้ยงยุง หรือกรงยุงกรงใหม่ และกำกับรายละเอียดให้ตรงกับยุงทดสอบแต่ละกรง เลี้ยงยุงไว้ด้วยน้ำหวาน 10% (ใช้สาหร่ายเป็นก้อนเล็กๆ ชุมน้ำหวาน บีบให้หมด วางบนถ้วยหรือกรงเลี้ยงยุงแต่ละอัน) และนำไปวางรวมกันในกล่องที่มีความชื้น (พื้นด้านล่างปูด้วยไอซ์แพ็คแล้ววางผ้าขนหนูทับ เมื่อบรรจุถ้วยทั้งหมดเรียบร้อยแล้วให้คลุมด้วยผ้าขนหนูที่ชุบน้ำพอหมาด)
- 6.6. นำกล่องใส่ยุงมาไว้ในห้องปฏิบัติการ ที่มีอุณหภูมิ 27 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้น $70 \pm 10\%$ เลี้ยงยุงไว้ 24 ชั่วโมง
- 6.7. มีพื้นที่สำหรับเปรียบเทียบอย่างน้อย 1 พื้นที่ เป็นพื้นที่ที่ไม่มีสารเคมี ต้องเป็นพื้นที่ที่อยู่เหนือลม ห่างออกไปอย่างน้อย 500 เมตรและแขวนกรงยุงทดสอบอย่างน้อย 3 กรงในพื้นที่เปรียบเทียบ

7. การบันทึกผล:

- 7.1. บันทึกสภาพอากาศทั่วไปในพื้นที่ขณะพ่น เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ความเร็วลม และทิศทาง
- 7.2. บันทึกสภาพพื้นที่ทั่วไป เช่น โครงร่างของสิ่งปลูกสร้าง ประเภทของพืชที่ปลูกในพื้นที่ เป็นต้น
- 7.3. บันทึกคุณลักษณะต่างๆ ของสารเคมี ชนิดเครื่องพ่นที่ใช้ ความเร็วรถขณะพ่น อัตราการไหลของสารเคมี เป็นต้น
- 7.4. บันทึกเวลาที่ให้ยุงสัมผัสกับสารเคมี
- 7.5. บันทึกจำนวนยุงสลบ ที่ 15 นาทีเมื่อครบเวลาที่ยุงสัมผัสสารเคมี และนับจำนวนยุงสลบ ที่ 60 นาทีหลังการทดสอบ
- 7.6. บันทึกอุณหภูมิ ความชื้นที่ 24 ชั่วโมง และนับจำนวนยุงตายและรอดชีวิตในถ้วยใส่ยุงหรือกรงเลี้ยงยุงแต่ละอัน

8. การวิเคราะห์ผลการทดสอบ:

- 8.1. หาอัตราการตายของยุงในแต่ละกรง
- 8.2. หาค่าเฉลี่ยอัตราการตายของยุงในแต่ละระยะ
- 8.3. ในการทดสอบเปรียบเทียบ ถ้ามีอัตราการตายระหว่าง 5 – 20% ให้ปรับค่าอัตราตายจาก Abbott formula และถ้าอัตราการตายของชุดเปรียบเทียบมากกว่า 20% ต้องทำการทดสอบใหม่

$$\text{Abbott's formula} = \frac{\% \text{ ตายของยุงที่ทดสอบ} - \% \text{ ตายของยุงเปรียบเทียบ}}{100 - \% \text{ ตายของยุงเปรียบเทียบ}} \times 100$$

9. การรายงานผล:

- อัตราการตายเฉลี่ยไม่น้อยกว่า 90% ที่ระยะ 25, 50 และ 75 เมตร จึงถือว่าการพ่นที่ความเข้มข้นตามกำหนดมีประสิทธิภาพในการควบคุมยุงในพื้นที่ธรรมชาติ

10. เอกสารอ้างอิง

- Bonds, J. A. S., M. Greer, J. Coughlin and V. Patel. 2010. Caged mosquito bioassay: Studies on Cage exposure pathways, effects of mesh on pesticide filtration and mosquito containment. *J. Am. Mosq. Control Assc.* 26(1): 50 – 56.
- World Health Organization. 2003. Space sprays application of insecticides for vector and public health pest control- a practitioner's guide. Geneva, World health Organization, (WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2003.5)
- World Health Organization. 2009. Guidelines for efficacy testing of insecticides for indoor and outdoor ground-applied space spray applications. Control of neglected tropical disease WHO pesticide evaluation scheme, World health Organization. (WHO/HTM/NTD/WHOPES/2009.2)

บทที่ 3

การทดสอบประสิทธิภาพและฤทธิ์คงทนของสารเคมีกำจัดลูกน้ำยุงลาย

เมื่อเกิดการระบาดของไข้เลือดออกในพื้นที่ นอกจากการพ่นสารเคมีกำจัดแมลงเพื่อควบคุมยุงพาหะนำโรครอบบริเวณที่มีการระบาดแล้ว การใช้สารกำจัดลูกน้ำเป็นมาตรการเสริมการควบคุมอีกทางหนึ่ง ซึ่งการควบคุมลูกน้ำเป็นวิธีการที่ทำได้ง่ายและหากมีการดำเนินการเป็นประจำอย่างต่อเนื่องจะสามารถช่วยลดความหนาแน่นของประชากรยุงลงได้ ในปัจจุบันได้รณรงค์ให้ควบคุมยุงลายพาหะนำโรคไข้เลือดออกในระยาลูกน้ำมากขึ้น โดยเน้นให้ประชาชนมีส่วนร่วมในการดำเนินงาน ด้วยการใช้หลาย ๆ วิธีร่วมกัน และในวิธีการหนึ่งที่ใช้อย่างกว้างขวางคือ การใช้สารเคมีกำจัดลูกน้ำ จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มีผลิตภัณฑ์สารกำจัดลูกน้ำออกมาจำหน่ายในท้องตลาดหลากหลายประเภท ซึ่งมีทั้งรูปแบบ และสารออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน เช่น สารกำจัดลูกน้ำที่เป็นสารเคมีกำจัดแมลง สารกำจัดลูกน้ำที่เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลง หรือสารกำจัดลูกน้ำที่เป็นเชื้อชีวินทรีย์ เป็นต้น ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านั้นต่างมีกลไกออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน มีการใช้ที่แตกต่างกัน ผู้ใช้เองอาจเกิดความสับสน ความไม่มั่นใจในประสิทธิภาพ มีการใช้ที่ยุงยาก หรือมีการใช้อย่างไม่ถูกวิธี อาจก่อให้เกิดปัญหาเรื่องประสิทธิภาพในการควบคุม ดังนั้นการตรวจสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์สารกำจัดลูกน้ำ ที่มีขายตามท้องตลาด จะเป็นพื้นฐานที่สามารถช่วยให้การควบคุมลูกน้ำยุงลายประสบความสำเร็จได้ เพื่อให้วิธีการทดสอบอยู่ภายใต้มาตรฐานการทดสอบเดียวกัน จึงได้จัดทำระเบียบวิธีการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์สารกำจัดลูกน้ำยุงลาย ตามขั้นตอนต่อไปนี้

- วัตถุประสงค์:** เพื่อหาประสิทธิภาพและฤทธิ์คงทนของสารเคมีที่ใช้ทดสอบตามอัตราที่กำหนดต่อลูกน้ำยุงลาย
- การคัดเลือกพื้นที่:**
 - เป็นพื้นที่ที่มีแหล่งเพาะพันธุ์หรือหากินของยุงลาย
 - จำนวนบ้านที่ทดสอบต้องไม่น้อยกว่า 12 หลังคาเรือน โดยทดสอบจำนวนอย่างน้อย 10 หลังคาเรือนและบ้านเปรียบเทียบกับอย่างน้อย 2 หลังคาเรือน
 - บ้านที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีเป็นบ้านที่เจ้าของบ้านให้ความยินยอม
- วัสดุและอุปกรณ์:**
 - ภาชนะที่ใช้ทดสอบเป็นโอ่งดินเผาหรือปูน หรือซีเมนต์ ขนาด 50 - 200 ลิตร
 - ผ้ามุ้ง หรือตาข่ายที่สามารถป้องกันยุงได้
 - สารเคมีที่ใช้ทดสอบ ต้องวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์ก่อน ซึ่งการตรวจสอบสารออกฤทธิ์และคุณสมบัติทางกายภาพ ต้องตรวจและรับรองโดยหน่วยงานราชการที่มีหน้าที่รับผิดชอบ หรือ

เอกชนที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO 17025 แล้วจึงนำไปทดสอบประสิทธิภาพ รูปแบบสารออกฤทธิ์ต้องเหมาะสมต่อการนำไปใช้ควบคุมลูกน้ำยุงลาย

- 3.4 ลูกน้ำยุงทดสอบให้ใช้ลูกน้ำยุงลายบ้านหรือยุงลายสวน เป็นลูกน้ำยุงที่เลี้ยงจากห้องปฏิบัติการ ใช้ลูกน้ำระยะที่ 3
- 3.5 อุปกรณ์/กระดาษ สำหรับวัดค่า PH ของน้ำ

4. การเตรียมการทดสอบ:

- 4.1. เตรียมโถงดินเผา/ปูน หรือซีเมนต์ ที่ใช้เป็นภาชนะทดสอบนำเข้าไปตั้งในบ้านเรือน โดยตั้งบริเวณที่มีร่มเงา และมีหลังคาปกคลุม วางโถงเพื่อการทดสอบอย่างน้อยบ้านละ 2 โถง ระหว่างที่ตั้งทิ้งไว้ให้ปิดภาชนะด้วยผ้ามุ้งหรือมุ้งตาข่ายไว้ตลอดเวลาป้องกันยุงลงไปวางไข่ ผ้ามุ้งหรือตาข่ายต้องมีรูสามารถปิด-เปิดเพื่อสอดหลอดดูดเข้าไปดูดตัวยุงออกมาได้
- 4.2. เติมน้ำประปาให้เกือบเต็มโถงโดยต่ำกว่าขอบโถงประมาณ 1 นิ้ว ทิ้งไว้อย่างน้อย 24 ชั่วโมงเพื่อให้คลอรีนระเหยออกไป ปิดภาชนะด้วยผ้ามุ้งหรือมุ้งตาข่ายไว้ตลอดเวลา
- 4.3. ก่อนวันที่ทดสอบ 1 วัน ให้ใส่สารเคมีตามอัตราการใช้ที่กำหนด โดยคำนวณจากปริมาณน้ำในโถง ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดสารเคมีลงในโถงทดสอบที่เตรียมไว้ปิดภาชนะด้วยผ้ามุ้งหรือมุ้งตาข่ายไว้ตลอดเวลา
- 4.4. ในวันที่ทำการทดสอบ ก่อนการนำไปทดสอบไม่เกิน 6 ชั่วโมง ให้เตรียมลูกน้ำยุงลายจำนวน 25 ตัวใส่ถ้วยขนาด 200 มิลลิลิตร ปริมาณน้ำ 100 - 200 มิลลิลิตร เตรียมจำนวนถ้วยลูกน้ำยุงตามจำนวนโถงที่จะทดสอบ และโถงที่ทำการเปรียบเทียบ ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาทีเพื่อตรวจสอบความสมบูรณ์แข็งแรง หากพบลูกน้ำยุงที่ไม่แข็งแรงสมบูรณ์ให้ดูดลูกน้ำยุงตัวใหม่มาเปลี่ยน

5. วิธีการทดสอบ:

- 5.1. หลังจากใส่สารเคมีตามอัตราที่กำหนด 1 วัน นำลูกน้ำยุงที่เตรียมไว้ค่อย ๆ เติลงในโถง
- 5.2. การทดสอบสารยับยั้งการเจริญเติบโต หรือแบคทีเรีย ต้องใส่อาหารลูกน้ำลงไปเล็กน้อยเนื่องจากต้องตรวจผลการทดสอบหลายวัน
- 5.3. ตลอดการทดสอบ โถงที่ใช้ทดสอบต้องปิดคลุมด้วยผ้ามุ้งหรือตาข่ายที่ยุงไม่สามารถบินเข้าออกได้ ผู้รดให้แน่นและโถงที่ใช้ทดสอบจะไม่นำน้ำออกไปใช้ หลังการทดสอบลูกน้ำยุงและอ่านผลการทดสอบเสร็จสิ้น (ในแต่ละครั้ง) เติมน้ำลงไปให้อยู่ในปริมาณเท่าเดิม เนื่องจากจะมีน้ำที่สามารถระเหยเองตามธรรมชาติทำให้ระดับน้ำลดลง
- 5.4. ทำการทดสอบกับโถงที่เป็นตัวเปรียบเทียบจำนวน 2 โถงในวันเดียวกัน
- 5.5. ทำการทดสอบทุก 2 สัปดาห์จนกว่าอัตราการตายจะต่ำกว่าร้อยละ 90 สำหรับสารกำจัดลูกน้ำหรืออัตราการยับยั้งการเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยต่ำกว่าร้อยละ 90 สำหรับสารยับยั้งการเจริญเติบโต

6. การบันทึกและอ่านผลการทดสอบ

6.1. บันทึกอุณหภูมิ น้ำ ความเป็นกรด-ด่าง ตะไคร่น้ำ/พีชีน้ำ และศัตรูธรรมชาติของลูกน้ำยุง

6.2. บันทึกจำนวนตายของลูกน้ำ/ตัวโม่่ง ดังนี้

- กลุ่มสารกำจัดแมลงที่ออกฤทธิ์เร็ว เช่น เทมีฟอส นับจำนวนตายที่ 24 ชั่วโมง
- แบคทีเรียกำจัดลูกน้ำ นับจำนวนตายที่ 48 ชั่วโมง
- สารยับยั้งการเจริญเติบโต นับจำนวนตาย/จำนวนคราบลูกน้ำ ที่ 3 และ 7 วัน

6.3. วิธีการอ่านผลการทดสอบ

6.3.1 กลุ่มสารกำจัดแมลงที่ออกฤทธิ์เร็ว (เช่น กลุ่มออการ์โนฟอสเฟต และแบคทีเรียกำจัดลูกน้ำ)

- หากระหว่างการทดลองลูกน้ำเจริญไปเป็นตัวโม่่งจะไม่นับเป็นจำนวนทดสอบ และหากการทดลองเปรียบเทียบ (control) เป็นตัวโม่่งมากกว่า 10% การทดลองนั้นล้มเหลว ต้องทำการทดลองใหม่
- ในการทดสอบเปรียบเทียบ ถ้ามีอัตราการตายระหว่าง 5 – 20% ให้ปรับค่าอัตราตายจริง โดยใช้ Abbott formula และถ้าอัตราการตายมากกว่า 20% ผลการทดสอบผิดพลาด ต้องทำการทดสอบใหม่

$$\text{Abbott's formula} = \frac{\% \text{ ตายของยุงที่ทดสอบ} - \% \text{ ตายของยุงเปรียบเทียบ}}{100 - \% \text{ ตายของยุงเปรียบเทียบ}} \times 100$$

- การตัดสินใจว่าลูกน้ำยุงตาย ถ้าลูกน้ำยุงที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ขึ้นลงได้ให้ตัดสินใจตาย แม้ว่ายังคงเคลื่อนไหวได้

6.3.2 กลุ่มสารที่ออกฤทธิ์ช้า เช่น สารยับยั้งการเจริญเติบโต

- การตัดสินใจว่าลูกน้ำยุงตาย ถ้าลูกน้ำยุงที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ขึ้นลงได้ให้ตัดสินใจตาย แม้ว่ายังคงเคลื่อนไหวได้
- การตัดสินใจว่าตัวโม่่งตาย ถ้าตัวโม่่งที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ขึ้นลงได้ให้ตัดสินใจตาย แม้ว่ายังคงเคลื่อนไหวได้
- จำนวนเจริญเป็นตัวเต็มวัยของลูกน้ำยุงให้นับจากจำนวนคราบตัวโม่่งที่ออกเป็นตัวเต็มวัยหรือนับจากจำนวนตัวเต็มวัยที่เกิดขึ้นก็ได้
- หากอัตราการเจริญเป็นตัวเต็มวัยของลูกน้ำยุงการทดสอบเทียบเทียบ (Control) ต่ำกว่าร้อยละ 80 การทดสอบผิดพลาดต้องทำการทดสอบใหม่
- บันทึกจำนวนลูกน้ำยุงที่ตาย จำนวนตัวโม่่งที่ตาย จำนวนคราบตัวโม่่งที่ออกเป็นตัวเต็มวัย หลังการทดสอบ 3 และ 7 วัน คำนวณหาอัตราการยับยั้งการเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยจากสูตร

$$IE (\%) = 100 - \frac{T}{C} \times 100$$

IE= อัตราการยับยั้งการเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย

T= เปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นตัวเต็มวัยของลูกน้ำยุงทดสอบ

C= เปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นตัวเต็มวัยของลูกน้ำยุงเปรียบเทียบ

IE= adult emergence inhibition

T= percentage survival or emergence in treated batches

C= percentage survival or emergence in the control

7. การวิเคราะห์ผลการทดสอบ:

7.1 กลุ่มสารกำจัดแมลงที่ออกฤทธิ์เร็ว

- การพิจารณาประสิทธิภาพสารเคมี ลูกน้ำยุงตายไม่น้อยกว่าร้อยละ 90 ตามระยะเวลาของผลิตภัณฑ์นั้น

7.2 กลุ่มสารที่ออกฤทธิ์ช้า เช่น สารยับยั้งการเจริญเติบโต

- การพิจารณาประสิทธิภาพสารเคมี อัตราการยับยั้งการเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 90

8. เอกสารอ้างอิง

- World Health Organization. 1975. Manual on Practical Entomology in Malaria Part II: Method and Techniques. WHO, Geneva. 191 p.
- World Health Organization.1996. Report of the WHO Informal Consultation on the evaluation and testing of insecticides. WHO, Geneva. 69 p.
- World Health Organization.2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. WHO, Geneva. 39 p.
- Mulla M.S.,*et al.* 2003. Laboratory and field evaluation of novaluron, a new acylurea insect growth regulator, against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) **J. Vector Ecol.** 241- 254.
- Mulla M. S., *et al.* 2004. Procedures for the evaluation of field efficacy of slow-release formulations of larvicides against *Aedes aegypti* in water-storage containers. **J.Am. Mosq. Control Assoc.** 20(1): 64-73.
- Thavara U., *etal.* 2007.Simulated field evaluation of the efficacy of two formulations of diflubenzuron, a chitin synthesis inhibitor against larvae of *Aedes aegypti* (L) (Diptera: Culicidae) in water-storage containers. **Southeast Asian J.Trop. Med. Public Health.** 38(2): 269 – 275.

บทที่ 4

การตรวจสอบความต้านทานสารเคมีในยุงพาหะนำโรค

การควบคุมยุงพาหะนำโรคด้วยการใช้สารเคมีกำจัดแมลงตามโครงการควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลงนั้น สิ่งหนึ่งที่ต้องคำนึงถึงคือประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดแมลงที่ใช้ ปัจจุบันนี้มีสารเคมีที่สำคัญ 4 กลุ่ม คือออร์กาโนคลอรีน ออร์กาโนฟอสเฟต คาร์บาเมต และไพรีทรอยด์สังเคราะห์ ซึ่งการใช้สารเคมีกำจัดแมลงเหล่านี้อย่างต่อเนื่อง เป็นเวลานานจะเป็นสิ่งกระตุ้นให้แมลงมีการพัฒนาความต้านทาน ทำให้ยากต่อการควบคุม อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีกำจัดแมลงเพื่อควบคุมประชากรยุงพาหะนำโรคให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดปัญหายังเป็นวิธีการที่ให้ผลอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะพื้นที่ที่เกิดโรคระบาด ดังนั้นเพื่อให้การใช้สารเคมีกำจัดแมลงควบคุมยุงพาหะนำโรคที่มีประสิทธิภาพ และชะลอการสร้างความต้านทาน จึงต้องมีระบบการตรวจสอบการสร้างความต้านทานของยุงพาหะนำโรคในพื้นที่ที่มีการใช้สารเคมีกำจัดแมลงอย่างต่อเนื่องและสม่ำเสมอ

การตรวจสอบการสร้างความต้านทานสารเคมีกำจัดแมลงในแมลงมีหลายวิธีการ มีทั้งการตรวจในเบื้องต้น หรือในเชิงลึกเพื่อดูถึงกลไกการสร้างความต้านทาน แต่ละวิธีมีความยุ่งยาก ซับซ้อน และแตกต่างกัน สำหรับวิธีการตรวจสอบความต้านทานฯ ในเบื้องต้น เป็นการหาระดับความไวต่อสารเคมีกำจัดแมลง ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีการที่ทำให้ทราบความต้านทานฯ ในเบื้องต้นของแมลงได้ จึงเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการตรวจสอบการสร้างความต้านทานของยุงพาหะนำโรคต่อสารเคมีกำจัดแมลงที่นำมาใช้ในโครงการควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลง เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนการเลือกใช้วิธีการควบคุมยุงพาหะนำโรคให้มีประสิทธิภาพ

วิธีการตรวจสอบการสร้างความต้านทานฯที่สามารถดำเนินการได้สะดวก และใช้ได้ในพื้นที่พร้อมๆกัน คือ วิธีการทดสอบความไวตามวิธีมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก โดยอาศัยหลักการให้ยุงสัมผัสกับสารเคมีในความเข้มข้นระดับวินิจฉัยที่ถูกกำหนดเป็นมาตรฐาน (Diagnostic concentration) ดังนั้นเพื่อให้วิธีการทดสอบอยู่ภายใต้มาตรฐานการทดสอบเดียวกัน จึงได้จัดทำระเบียบวิธีการทดสอบความไวตามมาตรฐานองค์การอนามัยโลก ตามขั้นตอนต่อไปนี้

หัวข้อที่ 4.1 การทดสอบความไวของพาหะนำโรคต่อสารเคมีกำจัดแมลงตามวิธีการขององค์การอนามัยโลก

1. วัตถุประสงค์: เพื่อหาระดับความไว/ความต้านทานของยุงพาหะนำโรคต่อสารเคมีกำจัดแมลง
2. การคัดเลือกพื้นที่:
 - 2.1. พื้นที่ที่มีประชากรยุงพาหะนำโรคเป้าหมายอาศัยอยู่
 - 2.2. พื้นที่มีการใช้สารเคมีกำจัดแมลงในการควบคุมยุงพาหะนำโรคอย่างต่อเนื่อง
 - 2.3. พื้นที่มีการระบาดของโรคติดต่อนำโดยแมลง
 - 2.4. พื้นที่ที่ไม่ประสบผลสำเร็จในการควบคุมยุงพาหะนำโรคด้วยสารเคมีกำจัดแมลง
3. วัสดุอุปกรณ์:
 - 3.1. กระจกพลาสติกทรงกลมสูง 12.5 เซนติเมตรรัศมี 4.4 เซนติเมตร ปลายทั้งสองด้าน มีลักษณะเปิดเป็นเกลียวหมุนซึ่งประกอบด้วยกระจกทดสอบที่มีจุดสีแดงกำกับอยู่ปลายด้านหนึ่ง สำหรับใส่กระดาษชุบสารเคมีและกระจกพลาสติกที่มีจุดสีเขียวอยู่ปลายด้านหนึ่ง เป็นกระจกสำหรับเปรียบเทียบและกระจกเก็บยุงก่อนและหลังจากการทดสอบ
 - 3.2. ฝาปิดเกลียวพร้อมตาข่ายสำหรับป้องกันยุง
 - 3.3. ฝาเลื่อนปิด-เปิดที่ด้านบนเป็นเส้นแถบสีเขียวและด้านล่างเป็นเส้นแถบสีแดงฝาเลื่อนจะมีกรวยสำหรับสวมหลอดพลาสติกกลมได้ทั้ง 2 ด้าน
 - 3.4. ห่วงกลม เป็นเส้นลวดแข็ง ขนาดเท่ากับเส้นผ่าศูนย์กลางของหลอดพลาสติกห่วงกลมชนิดโลหะทองแดงสำหรับใช้หนีบกระดาษทดสอบในหลอดพลาสติกที่มีจุดสีแดงและห่วงโลหะสีเงินสำหรับหนีบกระดาษเปรียบเทียบในหลอดที่มีจุดสีเขียว
 - 3.5. กระดาษชุบสารเคมีที่มีความเข้มข้นตามที่องค์การอนามัยโลกกำหนด
 - 3.6. ถ้วยพลาสติกหรือกระดาษสำหรับใส่ยุง ฝามุ้ง กล่องเก็บยุง ฝาชหนู สำลี
 - 3.7. หลอดดูดยุงชนิดปลายโค้งหรือปลายตรงหรือหลอดแก้ว
 - 3.8. นาฬิกาจับเวลา เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น
 - 3.9. แบบฟอร์มการบันทึกผล (ภาคผนวกที่ 4)
4. การเก็บตัวอย่างยุง:
 - 4.1 การเก็บตัวอย่างยุงก้นปล่อง (WHO, 2013)
 - ยุงก้นปล่องสำหรับการทดสอบให้ใช้ยุงตัวเต็มวัยที่จับจากพื้นที่เป้าหมาย และต้องจับยุงก้นปล่องให้ได้ปริมาณที่มาก จึงควรใช้หลายวิธีร่วมกัน เช่น ใช้คนเป็นเหยื่อ จับยุงกัดสัตว์ จับยุงเกาะพัก เป็นต้น
 - เก็บยุงโดยใช้หลอดดูดยุงหรือ หลอดแก้วและใส่ในถ้วยสำหรับใส่ยุง (ภาชนะสำหรับใส่ยุงอาจจะใช้ถ้วยพลาสติก ปริมาตร 120 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

- นำยุงก้นปล่องที่จับได้ในแต่ละวันรวมกันในถ้วยใส่ยุง ไม่ควรเกิน 25 ตัว/ถ้วย ให้สำลีชุบน้ำหวาน 10% ปีบพอหมาดวางบนถ้วยใส่ยุงแต่ละใบ และวางไว้ในกล่องที่มีที่รองก้นมด ใช้ผ้าชุบน้ำคลุมกล่องเพื่อให้ความชื้น
- จำแนกชนิดยุงก้นปล่อง แยกใส่ในถ้วยใส่ยุง ถ้วยละ 20 – 25 ตัว
- ก่อนการทดสอบ 1 วันก่อนควรเลี้ยงเพื่อดูความแข็งแรงของยุง
- ถ้ามียุงไม่พอสําหรับทดสอบให้เสร็จภายในเวลาเดียวกัน ให้ทำการทดสอบซ้ำต่อไปในวันต่อมา และอยู่ภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกัน
- ในกรณีที่จับตัวเต็มวัยไม่เพียงพอสำหรับการทดสอบ ให้เก็บลูกน้ำและดักแด้ จากแหล่งเพาะพันธุ์หลายๆ แหล่งที่อยู่รอบๆบริเวณที่ทำการศึกษานํามาเลี้ยงในห้องเลี้ยงแมลงเพื่อทำการทดสอบต่อไป

4.2 การเก็บตัวอย่างยุงลาย

- ยุงลายที่ใช้ในการทดสอบ ให้ใช้ลูกน้ำและดักแด้จากพื้นที่ศึกษา และนำมาขยายปริมาณในห้องเลี้ยงแมลง
- การเก็บลูกน้ำและดักแด้ในพื้นที่ศึกษา ควรเก็บจากภาชนะต่างๆ ที่อยู่ในพื้นที่ให้ครอบคลุมพื้นที่เป้าหมาย(ในรัศมี 1 กิโลเมตร) และให้ได้จำนวนลูกน้ำหรือดักแด้พอที่จะให้เป็นตัวแทนของประชากรยุงในพื้นที่ได้ (อย่างน้อย 3000 ตัว)
- คัดแยกลูกน้ำและดักแด้ เฉพาะชนิดที่เป็นลูกน้ำยุงลายเก็บรวมในขวดขนาดใหญ่ (ขวดน้ำพลาสติกปริมาตร 1.5 ลิตร) ที่มีน้ำสะอาดในปริมาณน้ำที่เหมาะสม ในขวดแต่ละใบไม่ควรมีลูกน้ำหนาแน่นจนเกินไป ใส่อาหารสำหรับเลี้ยงลูกน้ำไปในแต่ละขวด ให้ปริมาณเพียงพอแต่ละวัน และปิดปากขวดด้วยผ้ามุ้งวางขวดใส่ลูกน้ำในกล่องที่มีช่องพอดีกับขนาดขวด
- ส่วนที่เป็นดักแด้ให้แยกเก็บในภาชนะเก็บดักแด้ หรือภาชนะขนาดใหญ่ที่มีผ้ามุ้งปิด
- ขนย้ายลูกน้ำหรือดักแด้ไปเลี้ยงในห้องเลี้ยงแมลง วิธีการขนย้ายต้องทำด้วยความระมัดระวังไม่ควรวางไว้ในที่มีอากาศร้อน หรือด้านหลังของรถเพราะจะทำให้ลูกน้ำได้รับความกระทบกระเทือน

5 การยุงในห้องเลี้ยงแมลง:

5.1 การเลี้ยงยุงก้นปล่อง

- ลูกน้ำและดักแด้ยุงก้นปล่องที่เก็บมาจากพื้นที่ ให้เลี้ยงในน้ำที่นำมาจากแหล่งเพาะพันธุ์ จนเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย
- จำแนกชนิดยุงตัวเต็มวัยหลังจากลอกคราบออกจากดักแด้ แยกใส่ถ้วยเก็บยุง 20 – 25 ตัว ให้สำลีชุบน้ำหวาน 10% ปีบพอหมาด วางบนถ้วยใส่ยุงแต่ละใบ รอการทดสอบ
- ยุงที่ยังไม่ทดสอบ ให้เก็บไว้ในกรงเลี้ยงยุงขนาดเล็ก ให้แท่งสำลีชุบน้ำหวานใส่ในกรงเลี้ยงยุง และควบคุมความชื้น

5.2 การเลี้ยงยุงลาย

- นำลูกน้ำที่อยู่ในขวด เทลงในภาตเลี้ยงยุงในห้องเลี้ยงยุงแยกตามประชากร ให้อาหาร และปิดฝาภาตป้องกันการปะปนของยุงประชากรอื่น ในภาตที่มีดักแด้ ให้เก็บดักแด้ใส่ถ้วยแล้วนำไปใส่กรงเลี้ยงยุง
- เก็บดักแด้ในภาตเลี้ยงใส่กรงทุกวัน จนกระทั่งยุงเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยทั้งหมด
- จำแนกชนิดยุงลายบ้านและยุงลายสวน แยกใส่ในกรงเลี้ยงยุง ให้แห้งสำลิจับน้ำหวาน 10% ใส่ในกรงเลี้ยงยุง และควบคุมความชื้น รอกการทดสอบ
- ถ้าตัวเต็มวัยแต่ละชนิด/ประชากร มีปริมาณไม่เพียงพอสำหรับการทดสอบ ให้ใส่รวมในกรงขนาดใหญ่ ให้แห้งสำลิจับน้ำหวาน 10% ใส่ในกรงเลี้ยงยุงรอกการเลี้ยงเพื่อขยายปริมาณ
- หลังจากยุงตัวสุดท้ายที่ลอกคราบออกมา (ระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงลูกน้ำจนถึงระยะตัวเต็มวัยไม่ควรเกิน 7 วัน) ประมาณ 3 - 4 วัน จึงให้ยุงกินเลือดหนู
- ประมาณ 2 วันหลังจากยุงกินเลือด ให้นำถ้วยวางไข่ วางในกรงยุง สำหรับให้ยุงวางไข่ ไม่แนะนำใส่ถ้วยวางไข่เข้าไปทันทีหลังจากยุงกินเลือดเสร็จ ยุงที่กินเลือดเต็มท้องจะไม่สามารถบิน หรือเกาะแน่นได้ และยุงมีโอกาสตกลงไปในน้ำได้
- ยุงที่ใช้สำหรับทดสอบสามารถใช้รุ่นแรก (F_0) จนถึงรุ่นที่ 3 (F_3)

6 การเตรียมยุงสำหรับทดสอบ

6.1 การเตรียมยุงกันปล่อง (WHO, 2013)

- ยุงกันปล่องที่จับจากพื้นที่ ใช้ยุงเพศเมียที่ผ่านการกินเลือด (blood fed) กรณียุงไม่เพียงพอให้ใช้ยุงที่กินเลือดและไม่กินเลือดทดสอบรวมกัน แต่ต้องทราบจำนวนที่แน่ชัดของยุงทั้งสอง และแยกบันทึกจำนวนตายตามสถานะภาพของยุงที่นำมาทดสอบ
- ยุงทดสอบที่ได้จากลูกน้ำและดักแด้ ให้ใช้ยุงเพศเมียอายุ 3 - 5 วันหลังจากลอกคราบ เป็นยุงที่ไม่กินเลือด ให้กินน้ำหวาน 10% จนอิ่ม
- เตรียมยุงใส่ถ้วยใส่ยุง ถ้วยละ 20 - 25 ตัว
- กรณีการทดสอบแต่ละสารเคมีมียุงไม่เพียงพอ ให้ทดสอบต่อเนื่องให้เสร็จภายใน 7 วัน
- ทดสอบกับยุงอย่างน้อย 120 - 150 ตัว

6.2 การเตรียมยุงลาย

- ยุงที่จะทดสอบเป็นรุ่นที่ได้จากพื้นที่ (F_0) ให้จำแนกชนิดยุงก่อนที่จะทดสอบ โดยใช้ยุงเพศเมียอายุ 2-5 วัน เป็นยุงที่ไม่กินเลือด ให้กินน้ำหวาน 10% จนอิ่ม
- ยุงทดสอบที่เป็นยุงรุ่นที่ 1-3 (F_1 - F_3) ให้ใช้ยุงเพศเมียอายุ 2-5 วัน (ถ้าเป็นไปได้ให้ใช้ยุงอายุวันเดียวกันทำการทดสอบ) เป็นยุงที่ไม่กินเลือด ให้กินน้ำหวาน 10% จนอิ่ม ควรทดสอบให้ครบทุกซ้ำในวันเดียวกัน
- เตรียมยุงใส่ในถ้วยใส่ยุง ถ้วยละ 20 - 25 ตัว
- ยุงแต่ละประชากรที่ใช้ในการทดสอบกับสารเคมีละอย่างน้อย 100 ตัว (WHO, 1981, 1998)

7. วิธีการทดสอบความไว (WHO susceptibility test):

7.1 เตรียมกระบอบอก holding

- ใช้กระดาษขาว (12 x 15 เซนติเมตร) บุด้านในของกระบอบอกพลาสติกที่มีจุดสี่เหลี่ยม (holding tube) แต่ละอันตามจำนวนที่ทดสอบ ยึดกระดาษทั้งสองด้านด้วยห่วงโลหะสีเงินอย่าให้เกิดช่องว่างระหว่างกระดาษกับกระบอบอกพลาสติก เพื่อป้องกันไม่ให้ยุงเข้าไปหลบซ่อน ปิดปลายกระบอบอกด้านหนึ่งด้วยฝาเกลียวที่มีตาข่ายป้องกันยุงปลายอีกด้านต่อเข้ากับฝาเลื่อน ปิด-เปิดด้านที่มีเส้นแถบสีเหลี่ยม วางกระบอบอกพลาสติกที่เตรียมเสร็จไว้พื้นที่เรียบ

7.2 ปล่อยุงเข้ากระบอบอก holding

- ดูดยุงจากถ้วยเก็บยุงแต่ละถ้วยใส่ในกระบอบอกพลาสติกด้านจุดสี่เหลี่ยม แต่ละอัน แล้วปรับฝาเลื่อนให้อยู่ในตำแหน่งปิด วางกระบอบอกพลาสติกที่มียุงให้อยู่ในแนวตั้งในสภาพที่มีแสงสลัว ประมาณ 60 นาที เพื่อให้ยุงปรับตัวเข้ากับสภาพภายในกระบอบอกพลาสติก (holding tube)

วิธีการเตรียมยุงใส่ในกระบอบอกพลาสติก : ดึงฝาเลื่อนปิด-เปิด ออกมาให้รูกกลมเล็กอยู่ในตำแหน่งเปิด ใช้สำลีปิดที่รูกกลมเล็กไว้หลวมๆ ใช้หลอดดูดยุง ดูดยุงเพศเมียจากถ้วยใส่ยุง และดูดยุงไม่เกิน 10 ตัวต่อครั้ง ดึงสำลีที่ปิดไว้ออก และเป่ายุงเข้าไปในกระบอบอกพลาสติกอย่างเบาๆ และปิดสำลีไว้ป้องกันยุงออก ทำจนครบจำนวน 25 ตัว เอาสำลีออกและเลื่อนฝาปิด-เปิด มาที่ตำแหน่งปิด

- ติดกระดาษกำกับรายละเอียดบนกระบอบอก holding แต่ละอัน เช่น ชนิดยุง ชื่อสารเคมี ความเข้มข้น ประชากรยุง วันที่ทดสอบ เป็นต้น

7.3 เตรียมกระบอบอกทดสอบ

- กระดาษชุบสารเคมี ความเข้มข้นที่ต้องทดสอบและเวลาให้ยุงสัมผัสกับสารเคมีในกระบอบอกทดสอบ รายละเอียดในตารางที่ 1
- เตรียมกระบอบอกชุดเปรียบเทียบ โดยบุกระบอบอกพลาสติกที่มีจุดสี่เหลี่ยมที่เหลือด้วยกระดาษเปรียบเทียบ ยึดกระดาษด้วยห่วงโลหะสีเงินปิดด้านปลายกระบอบอก 1 ด้าน
- เตรียมกระบอบอกชุดทดสอบ กระบอบอกพลาสติกที่มีจุดสีแดงโดยบุด้วยกระดาษชุบสารเคมีโดยให้ด้านที่มีตัวอักษรอยู่ด้านนอก ยึดกระดาษด้วยห่วงโลหะทองแดง ปิดปลายกระบอบอกหนึ่งด้านด้วยฝาเกลียวที่มีตาข่ายป้องกันยุง

7.4 เมื่อครบเวลา 60 นาที นำกระบอบอกชุดเปรียบเทียบที่เตรียมไว้ต่อเชื่อมกับฝาเลื่อนด้านที่มีเส้นแถบแดงของกระบอบอกพลาสติกที่มีจุดสี่เหลี่ยมมุมกลีวยให้แน่น ทำให้ครบทุกคู่ วางตั้งไว้ จากนั้นให้ทำเช่นเดิมกับกระบอบอกชุดทดสอบจนครบ แยกชนิดสารเคมี และประชากร

7.5 เลื่อนแผ่นเลื่อนปิด-เปิด ให้อยู่ในตำแหน่งเปิด (รูขนาดใหญ่ของฝาเลื่อนปิด-เปิดจะเท่ากับเส้นผ่าศูนย์กลางของกระบอบอกพลาสติกทั้งสอง) จากนั้นยกกระบอบอกพลาสติกเข้าหาแสง และเป่าเบาๆ จากกระบอบอกด้านที่เป็นจุดสี่เหลี่ยม ให้ยุงบินไปที่กระบอบอกที่อยู่ตรงกันข้ามให้หมดแล้วปรับฝา

เลื่อนให้อยู่ตำแหน่งปิด และถอดกระบอกลวดพลาสติกที่มีจุดสีเขียวออกการเป่ายุงเข้ากระบอกลวดทดสอบให้เริ่มทำในชุดเปรียบเทียบก่อน และทำที่ละอันจนครบทั้งหมด

- 7.6 กระบอกลวดพลาสติกที่มีจุดสีเขียว เมื่อถอดออกจากกระบอกลวดที่เป็นกระบอกลวดทดสอบ (exposure tube) ให้วางไว้คู่กัน เพื่อป้องกันการสลับที่
- 7.7 เมื่อเป่ายุงจากกระบอกลวดที่เป็น holding ไปยังกระบอกลวดทดสอบ ทั้งสองชุด เสร็จเรียบร้อย ให้กดนาฬิกาเริ่มจับเวลา
- 7.8 วินาทีแรกที่เริ่มจับเวลา ให้เช็คสภาพความแข็งแรงของยุงในแต่ละหลอดทดสอบอย่างรวดเร็ว ถ้าพบว่ามียุงตายให้บันทึกเป็นจำนวนยุงที่ตายก่อนการทดสอบ และให้นำไปลบออกจากจำนวนยุงทั้งหมดที่ทำการทดสอบ
- 7.9 ลักษณะการวางกระบอกลวดพลาสติกทั้งชุดเปรียบเทียบและชุดทดสอบขณะที่ให้ยุงสัมผัสกับกระดาษทดสอบ ให้วางกระบอกลวดในแนวตั้ง ให้ยุงสัมผัสกับกระดาษทดสอบตามเวลามาตรฐานที่กำหนดไว้ตามชนิดของสารเคมีและชนิดยุง
- 7.10 เมื่อครบเวลาทดสอบของสารเคมีแต่ละชนิด บันทึกจำนวนยุงที่ตกอยู่บนแผ่นฝาเลื่อนปิด-เปิดก่อนจึงนำกระบอกลวดที่มีจุดสีเขียวชุดเดิมมาเชื่อมต่อ และย้ายยุงทั้งหมด(ทั้งที่มีชีวิตและสลบ)จากกระบอกลวดชุดเปรียบเทียบและชุดทดสอบมาที่กระบอกลวดพลาสติกด้านที่มีจุดสีเขียวปิดฝาเลื่อนให้เรียบร้อย และถอดกระบอกลวดชุดเปรียบเทียบและชุดทดสอบมาออก
- 7.11 วางสำลีสับบน้ำหวาน 10% บีบพองมาดลงบนตาข่ายปิดกระบอกลวด holding แต่ละอัน นำมาไว้ในห้องที่ไม่มีสารเคมี และมีอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้น $70 \pm 10\%$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 7.12 กระบอกลวดพลาสติกชุดทดสอบ เมื่อทดสอบเสร็จให้นำกระดาษทดสอบออกจากเก็บในกล่องเก็บกระดาษกล่องเดิม นำกระดาษทดสอบเก็บที่ความเย็นปกติของตู้เย็น ไม่ควรให้กระดาษทดสอบอยู่ในกระบอกลวดพลาสติก สำหรับกระดาษทดสอบที่เป็นสารเคมีไพรีทรอยด์ไม่ควรใช้มากกว่า 5 ครั้ง (WHO, 1998)
- 7.13 ล้างทำความสะอาดกระบอกลวดทดสอบ แยกล้างระหว่างชุดเปรียบเทียบและชุดทดสอบโดยล้างในน้ำไหล 1 – 2 ครั้ง ก่อนแช่ไว้ในน้ำยาสำหรับล้างสารเคมี 1 คืน หลังจากนั้นให้ทำความสะอาด และผึ่งให้แห้ง
- 7.14 ทำการทดสอบจำนวน 4 ซ้ำเป็นอย่างน้อย ในยุงแต่ละประชากร และแต่ละสารเคมีและทุกซ้ำต้องมีตัวเปรียบเทียบ

8. การบันทึกผล

- 8.1 บันทึกอุณหภูมิ และความชื้นในห้องทดสอบขณะที่ทำการทดสอบ และเมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมง
- 8.2 นับจำนวนยุงสลบ ที่ตกบนฝาเลื่อนปิด-เปิด เมื่อครบเวลา 60 นาทีที่ให้ยุงสัมผัสกับกระดาษชุบสารเคมี

8.3 ในการทดสอบกับสารเคมีไพรีทรอยด์ให้บันทึกจำนวนยุงที่สลบในกระบอกทดสอบแต่ละอัน ทุก 10 นาที

8.4 นับจำนวนยุงที่ตายและจำนวนที่รอดชีวิตทั้งหมดในกระบอกทดสอบแต่ละกระบอก ที่ 24 ชั่วโมง

9. การวิเคราะห์ผลการทดสอบ

- หาอัตราการตายของยุง ที่ 24 ชั่วโมง ถ้าในการทดสอบครั้งนั้นพบว่ายุงในหลอดเปรียบเทียบกับตายอยู่ระหว่าง 5 – 20% ให้ปรับค่าโดยใช้ Abbott' s formula และถ้าพบว่าตัวเปรียบเทียบตายมากกว่า 20% ให้ถือว่าการทดสอบล้มเหลวต้องทำการทดสอบใหม่

$$\text{Abbott's formula: } \frac{\% \text{ ตายของยุงที่สัมผัสสารเคมี} - \% \text{ ตายของยุงชุดเปรียบเทียบ}}{100 - \% \text{ อัตราตายของยุงชุดเปรียบเทียบ}} \times 100$$

- การวิเคราะห์ข้อมูลยุงตายและยุงอื่นๆ จะใช้เกณฑ์ของ WHO ปี 1998 ซึ่งมีการปรับปรุงใหม่จากเอกสารขององค์การอนามัยโลก ในปี 1981 เนื่องจากต้องปรับให้สอดคล้องกับปริมาณการใช้สารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มไพรีทรอยด์ในการควบคุมกำจัดแมลงทางการแพทย์ที่มากขึ้น
- เกณฑ์สำหรับยุงลายและยุงอื่นๆ ตาม WHO ปี 1998 มีดังนี้
 - อัตราตาย 98– 100% : ยุงไวต่อสารเคมี
 - อัตราตาย 80 – 97% : คาดว่ายุงอาจจะต้านทานต่อสารเคมี ต้องการการยืนยันผลอีกครั้ง
 - อัตราตาย <80% : ยุงต้านทานต่อสารเคมี
- เกณฑ์สำหรับก้นปล่อง ตาม WHO ปี 2013 มีดังนี้
 - อัตราตาย 98– 100% : ยุงไวต่อสารเคมี
 - อัตราตาย 90 – 97% : คาดว่ายุงอาจจะต้านทานต่อสารเคมี ต้องการการยืนยันผลอีกครั้ง
 - อัตราตาย <90% : ยุงต้านทานต่อสารเคมี
- ในการทดสอบกับสารไพรีทรอยด์ ให้คำนวณค่ายุงสลบที่เวลา 50 (KDT₅₀) และ 95 นาที(KDT₉₅) โดยการคำนวณหา regression line ในกระดาศ log probit หรือใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในการวิเคราะห์ probit analysis

10. รายงานผล:

- อัตราตายของยุงในสารเคมีทดสอบแต่ละชนิด ในพื้นที่ต่างๆ
- ระดับการสร้างความต้านทานสารเคมีของยุงพาหะนำโรคในพื้นที่
- สถานภาพความต้านทานสารเคมีของยุงแต่ละชนิดในแต่ละพื้นที่
- ค่าอัตราการสลบของยุงที่ 50 และ 95 นาที (KDT₅₀ และ KDT₉₅)



หัวข้อที่ 4.2 การทดสอบความไวของลูกน้ำยุงลายต่อสารเคมีกำจัดแมลงตามวิธีขององค์การอนามัยโลก

1. วัตถุประสงค์: เพื่อหาระดับความไว/ความต้านทานของลูกน้ำยุงลายต่อสารเคมีที่มีฟอส
2. การคัดเลือกพื้นที่:
 - 2.1. พื้นที่ทดสอบมีประชากรยุงพาหะชนิดเป้าหมายในพื้นที่
 - 2.2. พื้นที่มีการระบาดของโรคไข้เลือดออก
 - 2.3. พื้นที่ที่มีการใช้สารกำจัดลูกน้ำทรายที่มีฟอสเป็นประจำ
 - 2.4. พื้นที่ที่ไม่ประสบผลสำเร็จในการใช้สารเคมีกำจัดแมลงควบคุมลูกน้ำยุงลาย
3. วัสดุและอุปกรณ์:
 - 3.1. ถ้วยพลาสติกขนาดความจุ 400 มิลลิลิตร หรือบีกเกอร์ขนาด 400 มิลลิลิตร
 - 3.2. ถ้วยพลาสติกขนาดความจุประมาณ 200 มิลลิลิตร สำหรับเตรียมลูกน้ำ
 - 3.3. กระชอนเตรียมลูกน้ำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 ซม.
 - 3.4. สารละลายที่มีฟอส (Temephos kit) หรือสารเคมีที่มีฟอส (technical grade)
 - 3.5. Auto pipette ขนาด 1000 ไมโครลิตร 2 อันสำหรับชุดเปรียบเทียบ และสำหรับชุดทดสอบหรือ pipette ขนาด 1 มิลลิลิตร
 - 3.6. Micro tip ขนาด 1000 ไมโครลิตร
 - 3.7. แท่งแก้วคนสาร
 - 3.8. แบบฟอร์มการบันทึกผล (ภาคผนวกที่ 5)
4. การเก็บตัวอย่างยุง:
 - 4.1. การเก็บลูกน้ำและดักแด้ในพื้นที่เป้าหมาย ควรเก็บจากภาชนะต่างๆ ที่อยู่ในพื้นที่ให้ครอบคลุมพื้นที่เป้าหมายในรัศมี 1 กิโลเมตร และให้ได้จำนวนลูกน้ำหรือดักแด้มากพอที่จะให้เป็นตัวแทนของประชากรยุงในพื้นที่ได้ (อย่างน้อย 3000 ตัว)
 - 4.2. คัดแยกลูกน้ำและดักแด้ เฉพาะชนิดที่เป็นลูกน้ำยุงลายเก็บรวมในขวดขนาดใหญ่ (ขวดน้ำพลาสติก ปริมาตร 1.5 ลิตร) ที่มีน้ำสะอาดในปริมาณน้ำที่เหมาะสม ในขวดแต่ละใบไม่ควรมีลูกน้ำหนาแน่นจนเกินไป ใส่อาหารสำหรับเลี้ยงลูกน้ำไปในแต่ละขวด ให้ปริมาณเพียงพอแต่ละวัน และปิดปากขวดด้วยผ้ามุ้งวางขวดใส่ลูกน้ำในกล่องที่มีช่องพอดีกับขนาดขวด
 - 4.3. ส่วนที่เป็นดักแด้ให้แยกเก็บในภาชนะเก็บดักแด้หรือภาชนะขนาดใหญ่ที่มีผ้ามุ้งปิด
 - 4.4. ขนย้ายลูกน้ำหรือดักแด้ไปเลี้ยงในห้องเลี้ยงแมลงวิธีการขนย้ายต้องทำด้วยความระมัดระวัง ไม่ควรวางไว้ในที่มีอากาศร้อน หรือด้านหลังของรถเพราะจะทำให้ลูกน้ำได้รับความกระทบกระเทือน

5. การเลี้ยงลูกน้ำยุงลาย:

- 5.1 นำลูกน้ำที่อยู่ในขวด เทลงในภาตเลี้ยงยุงในห้องเลี้ยงยุงแยกตามประชากร ให้อาหาร และปิดฝาภาตป้องกันการปะปนจากยุงประชากรอื่น ในภาตที่มีดักแด้ ให้เก็บดักแด้ใส่ถ้วยแล้วนำไปใส่กรงเลี้ยง
- 5.2 เก็บดักแด้ในภาตเลี้ยงใส่กรงทุกวัน จนกระทั่งยุงเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยทั้งหมด
- 5.3 จำแนกชนิดยุงลายบ้านและยุงลายสวน แยกใส่ในกรงเลี้ยงยุง ให้แท่งสำลิจับน้ำหวาน 10% ใส่ในกรงเลี้ยงยุง และควบคุมความชื้น
- 5.4 หลังจากยุงตัวสุดท้ายที่ลอกคราบออกมา (ระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงลูกน้ำจนถึงระยะตัวเต็มวัยไม่ควรเกิน 7 วัน) ประมาณ 3 – 4 วัน จึงให้ยุงกินเลือดหนู ครั้งละ 30 นาที ติดต่อกัน 2 วัน
- 5.5 ประมาณ 2 วันหลังจากยุงกินเลือด ให้นำถ้วยวางไข่ วางในกรงยุง สำหรับให้ยุงวางไข่ ไม่ควรใส่ถ้วยวางไข่เข้าไปทันทีหลังจากยุงกินเลือดเสร็จ ยุงที่กินเลือดเต็มท้องจะไม่สามารถบิน หรือเกาะแน่นได้ ยุงมีโอกาสตกลงไปในน้ำได้
- 5.6 ลูกน้ำสำหรับการทดสอบความไว ใช้ลูกน้ำวัย 3 ตอนปลายหรือวัย 4 ตอนต้น

6. การเตรียมการทดสอบ:

- 6.1 เตรียมน้ำสะอาดปริมาตร 225 มิลลิลิตร ใส่ในถ้วยทดสอบลูกน้ำที่มีขนาดความจุ 400 มิลลิลิตร ตามจำนวนที่ต้องทดสอบ
- 6.2 เตรียมสารละลายที่มีฟอสที่จัดซื้อจากห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองจากองค์การอนามัยโลก เจือจางด้วย *absolute ethyl alcohol* ให้มีความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตัวอย่างเช่น หากสารที่มีฟอสจากองค์การอนามัยโลกมีความเข้มข้น 156.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผสมกับ *absolute ethyl alcohol* อัตราส่วนปริมาตร 1 : 51) โดยปริมาตรสารละลายที่เตรียมไม่ควรเกิน 60 มิลลิลิตร หรือเพียงพอต่อการใช้ไม่เหลือมาก) สารเคมีที่เตรียมไว้ หากเหลือใช้ไม่หมดให้เก็บรักษาในตู้เย็นชั้นวางปกติ โดยไม่แช่แข็ง
- 6.3 เตรียมน้ำสะอาด ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ในถ้วยเตรียมลูกน้ำ ตามจำนวนที่ต้องทดสอบ
- 6.4 ดูดลูกน้ำยุงลาย วัย 3 ตอนปลาย หรือลูกน้ำวัย 4 ตอนต้น ใส่ในกระชอนลูกน้ำและล้างให้สะอาดแล้วใส่ในถ้วยเตรียมลูกน้ำ ถ้วยละ 25 ตัวจนครบจำนวน ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที

7. การทดสอบความไว (Laval susceptibility test):

- 7.1 ใช้ pipette ดูดสารละลายที่มีฟอส ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม/ลิตร ที่เตรียมไว้ตามข้อ 6.2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในถ้วยทดสอบลูกน้ำที่เตรียมไว้แต่ละถ้วยทดสอบที่มีน้ำสะอาดปริมาตร 225 มิลลิลิตร สำหรับถ้วยทดสอบลูกน้ำที่เป็นชุดเปรียบเทียบ ให้เติมเอทิลแอลกอฮอล์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายที่มีฟอส
- 7.2 ใช้แท่งแก้วคนให้สารละลายผสมเป็นเนื้อเดียวกับน้ำ ภายในประมาณ 15 – 30 นาที ให้เทลูกน้ำที่เตรียมไว้ในถ้วย ลงใน ถ้วยทดสอบแต่ละอัน อย่างเบาๆระวังไม่ให้ลูกน้ำติดที่ขอบถ้วยคนเบาๆด้วยแท่งแก้ว
- 7.3 ทิ้งให้ลูกน้ำสัมผัสกับสารละลายที่มีฟอสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 7.4 การทดสอบยุงแต่ละประชากร ให้ทำการทดสอบอย่างน้อย 4 ซ้ำ(ลูกน้ำอย่างน้อย 100 ตัว) และทุกซ้ำต้องมีตัวเปรียบเทียบ

8. การบันทึกผล:

- 8.1 บันทึกอุณหภูมิ ขณะทดสอบและที่ 24 ชั่วโมง
- 8.2 บันทึกจำนวนลูกน้ำที่ตายและรอดชีวิตที่ 24 ชั่วโมง
- 8.3 บันทึกจำนวนดักแด้ในถ้วยทดสอบแต่ละอัน

9. การวิเคราะห์ผลการทดสอบ:

- 9.1 หาอัตราการตายของยุง ที่ 24 ชั่วโมง ถ้าในการทดสอบครั้งนั้นพบว่ายุงในหลอดเปรียบเทียบตายอยู่ระหว่าง 5 – 20% ให้ปรับค่าอัตราการตายจริง โดยใช้ Abbott' s formula และถ้าพบว่าตัวเปรียบเทียบ (control) ตายมากกว่า 20% ให้ถือว่าการทดสอบล้มเหลวต้องทำการทดสอบใหม่

$$\text{Abbott's formula: } \frac{\% \text{ ตายของยุงที่สัมผัสสารเคมี} - \% \text{ ตายของยุงชุดเปรียบเทียบ}}{100 - \% \text{ ตายของยุงชุดเปรียบเทียบ}} \times 100$$

- 9.2 หากระหว่างการทดลองลูกน้ำเจริญไปเป็นตัวโม่จะไม่นับเป็นจำนวนทดสอบ และหากการทดลองเปรียบเทียบ (control) เป็นตัวโม่มากกว่า 10% การทดลองนั้นล้มเหลวต้องทำการทดลองใหม่
- 9.3 เกณฑ์ของ WHO ปี 1998 มีดังนี้
 - อัตราตาย 98– 100% : ยุงไวต่อสารเคมี
 - อัตราตาย 80– 97% : คาดว่ายุงอาจจะต้านทานต่อสารเคมี ต้องการการยืนยันผลอีกครั้ง
 - อัตราตาย <80% : ยุงต้านทานต่อสารเคมี

10. การรายงานผล:

- อัตราตายของยุงแต่ละประชากร
- ระดับความไว/ความต้านทานของลูกน้ำยุงลายแต่ละพื้นที่

11. เอกสารอ้างอิง:

- Abbot W.S. 1925. A method of commuting the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- World Health Organization. 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitos to organocholine, organophosphosphate and carbamate insecticides establishment of the base-line. **WHO/VBV/81.80.**
- World Health Organization. 1986. Resistance of vectors and reservoirs of disease to pesticides: tenth report of the WHO expert committee on vector biology and control. Technical report series No. 737.

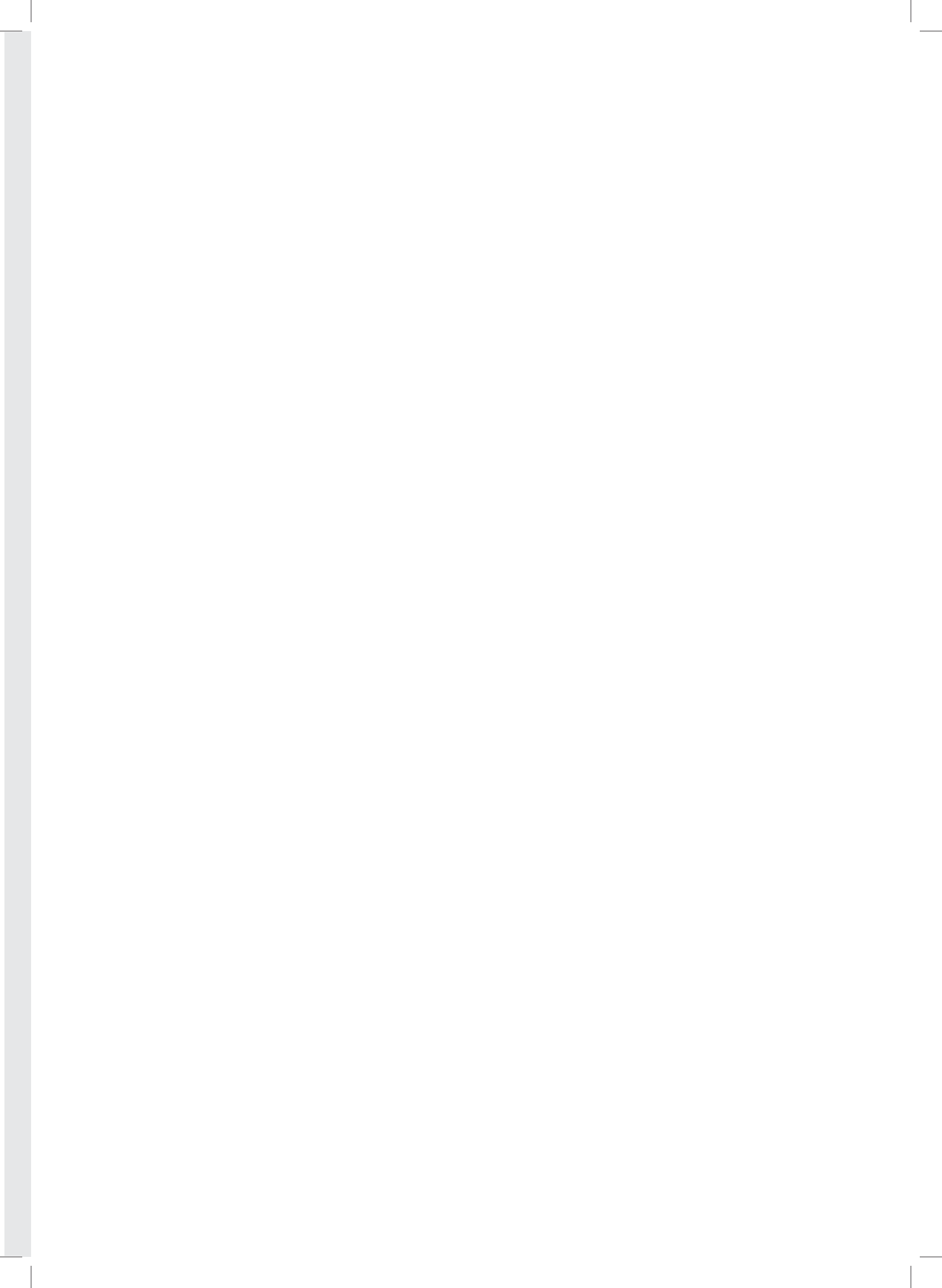
- World Health Organization. 1992. Vector resistance to pesticides. Fifteenth report of the WHO expert committee on vector biology and control. WHO Technical Report Series 818. WHO Geneva. 68 pp.
- World Health Organization. 1998. Test procedure for insecticide resistance monitoring in malaria vectors, bio-efficacy and persistence of insecticides on treated surfaces. **WHO/CDS/CPC/ MAL/ 98.12.**
- World Health Organization. 2013. Test procedures for insecticide resistance monitoring in malaria vector mosquitoes. Printed by the WHO Document Production Services, Geneva, Switzerland

หมายเหตุ

¹ ซึ่งเป็นค่า diagnostic dosage สำหรับลูกน้ำยุงลายบ้านและยุงลายสวน ที่มีการปรับปรุงใหม่ในการประชุม Vector resistance to pesticides ครั้งที่ 15 ซึ่งได้ปรับปรุงจากข้อมูลเดิมที่ได้จากการประชุมของ WHO expert committee, 1985 (WHO, 1986)



ภาคผนวก



กรมควบคุมโรค

รายงานผลการทดสอบ Bioassay cone test

Wall surface

สคร. ที่.....

Record of bioassay cone test

(2555)

*จังหวัด.....อำเภอ.....ตำบล.....หมู่ที่.....ชื่อกลุ่มบ้าน.....

พื้นที่เก็บตัวอย่าง A1 A2 B1 B2 Geo-coordinates X :.....Y :.....zone.....ทดสอบครั้งที่.....

วันที่ทดสอบ.....ชนิดยุง.....อายุยุง.....วัน สารเคมีที่พ่น.....ความเข้มข้น.....วันที่พ่น.....

พื้นผิวทดสอบ ไม้ ไม้ไผ่ คอนกรีต หญ้าแฝก ใบจาก/มะพร้าว อื่นๆ ระบุ.....

เวลาที่ยุงสัมผัสสารเคมี.....นาที่ อุณหภูมิ.....°C ความชื้นสัมพัทธ์.....% ผู้ทดสอบ.....

บ้านหลังที่ (บ้านเลขที่)	กรวยที่	ตำแหน่งที่ติดกรวย	จำนวนยุงทดสอบ	ที่ 24 ชั่วโมง		
				จำนวนตาย	อัตราการตาย (%)	อัตราการตายจริง**
	1					
	2					
	3					
	รวม					
	ค่าเฉลี่ย					
	1					
	2					
	3					
	รวม					
	ค่าเฉลี่ย					
	1					
	2					
	3					
	รวม					
	ค่าเฉลี่ย					
	1					
	2					
	3					
	รวม					
	ค่าเฉลี่ย					

* เป็นที่ตั้งของพื้นที่ที่ดำเนินทดสอบ

** เป็นอัตราการตายที่ได้จากการคิดค่าจาก Abbot formula

กรมควบคุมโรค

รายงานผลการทดสอบ Bioassay cone test

Net surface

สคร. ที่.....

Record of bioassay cone test

(2555)

*จังหวัด.....อำเภอ.....ตำบล.....หมู่ที่.....ชื่อหมู่บ้าน.....

พื้นที่เก็บตัวอย่าง A1 A2 B1 B2 Geo-coordinates X :.....Y :.....zone.....ทดสอบครั้งที่.....

วันที่ทดสอบ.....ชนิดยุง.....อายุยุง.....วัน สารเคมีที่ซูป.....ความเข้มข้น.....วันที่ซูป.....

ประเภทของมุ้งซูป มุ้ง IBN ชนิดผ้ามุ้ง โพลีเอสเตอร์ โพลีเอทิลีน ฝ้าย ไนล่อน มุ้ง LLIN

เวลาที่ยุงสัมผัสสารเคมี.....นาที่ อุณหภูมิ.....°C ความชื้นสัมพัทธ์.....% ผู้ทดสอบ.....

มุ้งหลังที่	ขนาดมุ้ง	กรวย ที่	จำนวนยุง ทดสอบ	จำนวนยุงที่ knockdown		ที่ 24 ชั่วโมง		หมายเหตุ
				3 นาที**	60 นาที	จำนวนตาย	อัตราการตาย (%)	
		1						
		2						
		3						
		4						
		5						
		รวม						
		1						
		2						
		3						
		4						
		5						
		รวม						
		1						
		2						
		3						
		4						
		5						
		รวม						
		1						
		2						
		3						
		4						
		5						
		รวม						

* เป็นที่ตั้งของ พื้นที่เก็บตัวอย่างมุ้ง

** นับจำนวนยุงสลบที่ 3 นาที เมื่อครบเวลาให้ยุงสัมผัสกับมุ้งซูปสารเคมี

กรมควบคุมโรค

รายงานผลการทดสอบ Cage Bioassay

Cage (2555)

สคร. ที่.....

Record of cage bioassay

*จังหวัด.....อำเภอ.....ตำบล.....หมู่ที่.....ชื่อกลุ่มบ้าน.....
 วันที่ทดสอบ.....พื้นที่ทดสอบ ชุมชนบ้านอาศัย ชุมชนอาคารพาณิชย์ ชุมชนบ้านจัดสรร ชุมชนแออัด ชุมชนเขตชนบท
 ชนิดเครื่องพ่น หมอกควันสะพายไหล ULV สะพายหลัง หมอกควันดิตรอยนต์ ULV ดิตรอยนต์ ประเภทหัวฉีด.....
 ชนิดสารเคมี.....อัตราการผสม/ประเภทการผสม..... เวลาเริ่ม.....เวลาสิ้นสุด.....รวมเวลาที่พ่น.....นาที
 ชนิดยุง.....สายพันธุ์ ธรรมชาติ ห้องปฏิบัติการ อายุ.....วัน พ่น ในบ้าน นอกบ้าน เวลาที่ยุงสัมผัสสารเคมี.....นาที
 อุณหภูมิ.....°C ความชื้นสัมพัทธ์.....% ความเร็วกระแสลม.....กม./ชม. อัตราความเร็วรถยนต์.....กม./ชม. ผู้ทดสอบ.....

Control/พื้นที่/ บ้าน	แถว/ ห้อง	กรง ที่	ตำแหน่ง/ ระดับกรง (ม.)	จำนวนยุง ทดสอบ	จำนวนยุงสลบ**		ที่ 24 ชั่วโมง		หมายเหตุ
					15 นาที	60 นาที	จำนวนตาย	อัตราการตาย (%)	

* พื้นที่ของสถานที่งานที่ดำเนินการพ่น หรือพื้นที่เก็บตัวอย่างยุง (กรณีนำมาทดสอบในห้องปฏิบัติการ)
 ** นับจำนวนยุงสลบในกรงทดสอบที่ 15 นาทีและที่ 60 นาทีเมื่อครบเวลาที่ยุงสัมผัสกับสารเคมีในการทดสอบเครื่องพ่นแบบดิตรอยนต์ และแบบสะพายไหล/หลัง ตามลำดับ และนับจำนวนยุงสลบที่ 60 นาทีหลังการทดสอบในการทดสอบเครื่องพ่นแบบดิตรอยนต์

กรมควบคุมโรค

รายงานผลการทดสอบ ความไว

Adult susceptibility

สคร. ที่.....

Record of susceptibility test

(2553)

*จังหวัด.....อำเภอ.....ตำบล.....หมู่ที่.....ชื่อหมู่บ้าน.....

พื้นที่เก็บตัวอย่าง เทศบาลนคร เทศบาลเมือง เขตชนบท Geo-coordinates X :Y :zone.....วันที่ทดสอบ.....ชนิดยุง..... ตัวเต็มวัย อายุยุง.....วัน ครั้งที่ใช้กระดาษ.....

เวลาที่ยุงสัมผัสสารเคมี.....นาที่ อุณหภูมิ.....°C ความชื้นสัมพัทธ์.....% ผู้ทดสอบ.....

Control/สารเคมี (% ความเข้มข้น)	ซ้ำ ที่	จำนวนยุง ทดสอบ	จำนวนยุงที่สลบ(knockdown)**						ที่ 24 ชั่วโมง	
			10 นาที	20 นาที	30 นาที	40 นาที	50 นาที	60 นาที	จำนวนตาย	อัตราการตาย (%)
	1									
	2									
	3									
	4									
	รวม									
	1									
	2									
	3									
	4									
	รวม									
	1									
	2									
	3									
	4									
	รวม									
	1									
	2									
	3									
	4									
	รวม									
	1									
	2									
	3									
	4									
	รวม									

* เป็นที่ตั้งของพื้นที่เก็บตัวอย่าง

** นับจำนวนยุงที่สลบทุก 10 นาที ในการทดสอบกับสารเคมี pyrethroid สารเคมีในกลุ่มอื่นให้นับจำนวนยุง knockdown ที่ 60 นาที

กรมควบคุมโรค

รายงานผลการทดสอบความไว

Larval susceptibility

สคร. ที่.....

Record of susceptibility test

(2553)

* จังหวัด.....อำเภอ.....ตำบล.....หมู่ที่.....ชื่อหมู่บ้าน.....
 พื้นที่เก็บตัวอย่าง เทศบาลนคร เทศบาลเมือง เขตชนบท Geo-coordinates X : Y : zone.....
 วันที่ทดสอบ.....ชนิดลูกน้ำ..... ลูกน้ำวัย.....สารเคมีที่ใช้ทดสอบ.....
 เวลาที่ลูกน้ำสัมผัสสารเคมี.....นาที่ อุณหภูมิ.....°C ความชื้นสัมพัทธ์.....% ผู้ทดสอบ.....

Control/สารเคมี (% ความเข้มข้น)	ซ้ำที่	จำนวนที่ ทดสอบ	ที่ 24 ชั่วโมง	
			จำนวนตาย	อัตราตาย(%)

* เป็นที่ตั้งของพื้นที่เก็บตัวอย่าง

ตารางที่ 1 ความเข้มข้น (Discriminating Concentration) และเวลาสัมผัสสารเคมี ในการทดสอบความไวของยุงต่อสารเคมี (WHO/CDS/CPC/MAL/98.12/ WHO Technical Report Series 818.)

กลุ่ม	ชนิดสารเคมีกำจัดแมลง	<i>Anophelines</i>	<i>Aedes aegypti</i>	<i>Culex quinquefasciatus</i>
Organochlorines	DDT	4%	4% ^a	4% ^b
Organophosphates	Malathion	5%	0.8%	5%
	Fenitrothion	1%	-	1% ^d
Carbamates	Bendiocarb	0.1%	-	-
	Propoxur	0.1%	0.1%	0.1% ^c
Pyrethroids	alphacypermethrin	0.05	-	-
	Cyfluthrin	0.15%	-	-
	Deltamethrin	0.05%	-	0.025%
	cypermethrin	0.05	-	-
	Etofenprox	0.5%	-	-
	Lambdacyhalothrin	0.05% ^e	0.03%	0.025%
	Permethrin	0.75%	0.25%	0.25%

^aสัมผัสสารเคมีนาน 30 นาที

^bสัมผัสสารเคมีนาน 4 ชั่วโมง

^cสำหรับ *Anophe lessacharovi* สัมผัสสารเคมีนาน 2 ชั่วโมง

^d0.1 % สำหรับ *An. sacharovi*

^eสัมผัสสารเคมีนาน 2 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 ความเข้มข้น (Discriminating Concentration) และเวลาสัมผัสสารเคมี ในการทดสอบความไวของลูกน้ำยุงต่อสารเคมี (WHO/CDS/CPC/MAL/98.12/ WHO Technical Report Series 818.)

ชนิดยุง	สารเคมีที่มีฟอส (มก./ลิตร)
<i>Anopheles</i>	0.250
<i>Aedes aegypti</i>	0.012
<i>Aedes albopictus</i>	0.012
<i>Culex quinquefasciatus</i>	0.002

สำเนา

คำสั่งกรมควบคุมโรค
ที่ ๑๘๖๕ / ๒๕๕๕

เรื่อง แต่งตั้งคณะทำงานจัดทำคู่มือการทดสอบสารเคมี การใช้สารเคมี
การใช้เครื่องพ่นสารเคมีควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลงและการบำรุงรักษา

เพื่อให้การจัดทำคู่มือการทดสอบสารเคมี การใช้สารเคมี การใช้เครื่องพ่นสารเคมีควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลงและการบำรุงรักษา ถูกต้องตามหลักวิชาการ เป็นแนวทางให้หน่วยงานที่เกี่ยวข้องนำไปใช้และเกิดประโยชน์ต่อการควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลง กรมควบคุมโรคจึงแต่งตั้งคณะทำงานจัดทำคู่มือการทดสอบสารเคมี การใช้สารเคมี การใช้เครื่องพ่นสารเคมีควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลงและการบำรุงรักษา ดังนี้

๑. นายจรัสพัฒน์	ศิริชัยสินธพ	ที่ปรึกษา
๒. นายวิชัย	สตีเมย์	ประธานคณะทำงาน
๓. ศ.ดร. อธิภา	เจริญวิริยะภาพ	คณะทำงาน
๔. นายกลิน	ศุภปฐม	คณะทำงาน
๕. นายพิษณุวัฒน์	พานารถ	คณะทำงาน
๖. นางสาวสุธีรา	พุลธิน	คณะทำงาน
๗. นางสาวคณัจฉรีย์	ธานิสพงศ์	คณะทำงาน
๘. นางศิริพร	ยงชัยตระกูล	คณะทำงาน
๙. นางสาวจิราภรณ์	เสวนา	คณะทำงาน
๑๐. นายบุญเสริม	อ่วมอ่อง	คณะทำงานและเลขานุการ
๑๑. นายปิติ	มงคลกลาง	คณะทำงานและผู้ช่วยเลขานุการ

ให้คณะทำงานมีหน้าที่ดังนี้

- วิเคราะห์ปัญหาและความจำเป็นของการใช้คู่มือการทดสอบสารเคมี การใช้สารเคมี การใช้เครื่องพ่นสารเคมีควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลงและการบำรุงรักษา
- วิเคราะห์กลุ่มเป้าหมายและผู้ใช้คู่มือ ฯ
- ทบทวนเอกสารหลักฐานทางวิชาการที่เกี่ยวข้อง
- จัดทำร่างคู่มือการทดสอบสารเคมี การใช้สารเคมี การใช้เครื่องพ่นสารเคมีควบคุมโรคติดต่อ นำโดยแมลงและการบำรุงรักษา
- ประเมินผลการนำคู่มือไปใช้และกำหนดแนวทางการปรับปรุงคู่มือ ฯ
- ปฏิบัติหน้าที่อื่นที่ได้รับมอบหมาย

ทั้งนี้ ตั้งแต่บัดนี้เป็นต้นไป

สั่ง ณ วันที่ ๑๘ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๕๕

(นายสุวรรณชัย วัฒนาบังเจริญชัย)

รองอธิบดี ปฏิบัติราชการแทน

อธิบดีกรมควบคุมโรค

ร่าง
พิมพ์