ISSN: 1686 - 3734

JVBDthai
Journal of the Vector-borne Diseases
วารสารโรคติดต่อนำโดยแมลง

ปีที่ 12 ประจำเดือน มกราคม-ธันวาคม 2558

วารสาร โรคติดต่อนำโดยแมลง

Contents

● บทบรรณาธิการ
โดย นายแพทย์นิพนธ์ ชินานนท์เวช

● นิพนธ์ต้นฉบับ

- การทดสอบฤทธิ์ไล่ยุงของสารสกัดจากสัก (*Tectona grandis* L.f.) ต่อยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L.))
  โดย *คณพศ ทองขาว*, *กชพรรณ สุกระ*, *โสภาวดี มูลเมฆ*, *วาสินี ศรีปล้อง*, *ปิติ มงคลางกูร*
- การศึกษาปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่มีผลต่อการป่วยด้วยไข้มาลาเรียและค่าจุดตัดที่ช่วยในการวินิจฉัยโรค
  โดย *วรรณา ศรีสัจจารักษ์*
- บทบาทของยุงชนิดต่างๆและพฤติกรรมเสี่ยงของยุงที่ส่งเสริมในการเป็นพาหะนำโรคอาร์โบไวรัส จากกรณีศึกษาในพื้นที่ระบาดโรคชิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันในประเทศไทยพ.ศ.2551-2552
  โดย *ปิติ มงคลางกูร*, *คนึงนิจ คงพ่วง*, *นพรัตน์ มงคลางกูร*

● Editorial
By Dr.Nipon Chinanonwait

● Original Articles

- Mosquito Repellent Test of Teak (*Tectona grandis* L.f.) Extract against *Aedes aegypti* (L.)
  By *Kanaphot Thongkhao*, *Kotchapan Sukra*, *Sopavadee Moonmek*, *Wasinee Sriplong*, *Piti Mongkalangoon*
- The study of hematological parameters affected by malaria and appropriate cut-off point for the diagnosis
  By *Wanna Srisatjarak*
- The role of other mosquito species and their risk behaviors which support their vector capacity to transmit arbovirus diseases : Lesson learn from the African Chikungunya outbreak in Thailand, 2008-2009
  By *Piti Mongkalangoon*, *Kanungnit Kongpuang*, *Noparat Mongkalangoon*

สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง
กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข
www.thaivbd.org

หลักเกณฑ์และคำแนะนำสำหรับเรื่องลงพิมพ์
Instructions for submission of manuscript

วารสารโรคติดต่อนำโดยแมลงยินดีรับบทความวิชาการหรือรายงานผลการวิจัย ตลอดจนผลงานการควบคุมโรคที่เกี่ยวกับโรคติดต่อนำโดยแมลง ทั้งนี้กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจทาน แก้ไขต้นฉบับและพิจารณาตีพิมพ์ตามความเหมาะสม บทความทุกประเภทจะได้รับการพิจารณาถึงความถูกต้อง ความน่าเชื่อถือ ความน่าสนใจ ตลอดจนความเหมาะสมของเนื้อหาจากผู้ทรงคุณวุฒิจากในและนอกกองบรรณาธิการ โดยมีหลักเกณฑ์และคำแนะนำทั่วไปดังนี้

1. ประเภทของบทความ

บทความที่จะได้รับการตีพิมพ์ในวารสารควรเป็นบทความประเภทใดประเภทหนึ่ง ดังต่อไปนี้

1.1 นิพนธ์ต้นฉบับ (Original article) เป็นรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโรคติดต่อนำโดยแมลงที่ไม่เคยตีพิมพ์ที่ใดมาก่อน

1.2 รายงานปริทัศน์ (Review article) เป็นบทความเพื่อฟื้นฟูวิชาการซึ่งรวบรวมผลงานเกี่ยวกับเรื่องใดเรื่องหนึ่งโดยเฉพาะที่เคยลงตีพิมพ์ในวารสารอื่นมาแล้ว โดยนำเรื่องมาวิเคราะห์ วิจารณ์ และเปรียบเทียบ เพื่อให้เกิดความกระจ่างแก่ผู้อ่านเกี่ยวกับเรื่องนั้น

1.3 รายงานผู้ป่วย (Case report) เป็นรายงานเกี่ยวกับการวินิจฉัยโรคในผู้ป่วยรายที่น่าสนใจทั้งด้านประวัติ ผลการตรวจร่างกายและการตรวจทางห้องปฏิบัติการคลินิกร่วมกัน

1.4 ย่อวารสาร (Abstract review) เป็นการย่อบทความทางวิชาการด้านโรคติดต่อนำโดยแมลง และวิทยาการที่เกี่ยวข้องที่น่าสนใจซึ่งได้รับการตีพิมพ์แล้วในวารสารนานาชาติเป็นภาษาไทย

1.5 บทวิจารณ์หนังสือ (Book review) เป็นการแนะนำหนังสือน่าอ่านโดยผู้วิจารณ์แสดงความคิดเห็น รวมทั้งสรุปสาระสำคัญของผลงานนั้นๆ โดยยึดหลักการเที่ยงธรรมวิจารณ์ให้เกิดปัญญา

2. การเตรียมต้นฉบับ

2.1 หน้าแรกประกอบด้วย ชื่อเรื่อง ชื่อผู้เขียน และสถานที่ทำงานทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษและระบุชื่อผู้เขียนที่รับผิดชอบในการติดต่อไว้ให้ชัดเจน ชื่อเรื่องควรใช้ภาษาที่เข้าใจง่ายสั้น และได้ใจความตรงตามเนื้อเรื่องหากใช้คำย่อต้องเขียนคำเต็มไว้ครั้งแรกก่อน

2.2 เนื้อเรื่องและการใช้ภาษา เนื้อเรื่องอาจเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ ถ้าเป็นภาษาไทยให้ยึดหลักพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถานและควรใช้ภาษาไทยให้มากที่สุด ยกเว้นคำภาษาอังกฤษที่แปลแล้วได้ใจความไม่ชัดเจน

2.3 ภาพประกอบและตาราง ถ้าเป็นภาพลายเส้นต้องเขียนด้วยหมึกดำบนกระดาษหนามันถ้าเป็นภาพถ่ายควรเป็นภาพสไลด์หรืออาจใช้ภาพขาวดำขนาดโปสการ์ดแทนก็ได้ การเขียนคำอธิบายให้เขียนแยกต่างหากอย่าเขียนลงในรูป

2.4 นิพนธ์ต้นฉบับให้เรียงลำดับเนื้อหาดังนี้ บทคัดย่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษพร้อมคำรหัส (Key word) ไม่เกิน 5 คำ บทนำ (Introduction) วัสดุและวิธีการ (Material and Methods) ผลการศึกษา (Results) สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา (Conclusion and Discussion) กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement) และเอกสารอ้างอิง (References)

2.5 เอกสารอ้างอิง

1) ผู้เขียนต้องรับผิดชอบในความถูกต้องของเอกสารอ้างอิง การอ้างอิงเอกสารใช้ระบบ Vancouver 2005

2) การอ้างอิงเอกสารใดๆ ให้ใช้เครื่องหมายเชิงอรรถเป็นหมายเลข โดยใช้หมายเลข 1 สำหรับเอกสาร อ้างอิงอันดับแรก และเรียงต่อตามลำดับแต่ถ้าต้องการอ้างอิงซ้ำให้ใช้หมายเลขเดิม

3) เอกสารอ้างอิงหากเป็นวารสารภาษาอังกฤษให้ใช้ชื่อย่อวารสารตามหนังสือ Indes Medicus การใช้เอกสาร อ้างอิงไม่ถูกแบบจะทำให้เรื่องที่ส่งมา เกิดความล่าช้าในการพิมพ์ เพราะต้องมีการติดต่อผู้เขียนเพื่อขอข้อมูลเพิ่มเติมให้ครบตามหลักเกณฑ์

3. การส่งต้นฉบับ

ส่งต้นฉบับของบทความทุกประเภท เป็น Electronic file ไปที่ ผู้จัดการวารสารโรคติดต่อนำโดยแมลง infojvbd@gmail.com

4. การรับเรื่องต้นฉบับ

4.1 เรื่องที่รับไว้กองบรรณาธิการจะแจ้งตอบรับให้ผู้เขียนทราบ

4.2 เรื่องที่ไม่ได้รับพิจารณาลงพิมพ์ กองบรรณาธิการจะแจ้งให้ทราบ

4.3 เรื่องที่ได้รับพิจารณาลงพิมพ์ กองบรรณาธิการจะส่งวารสารให้ผู้เขียน เรื่องละ 1 เล่ม

5. เงื่อนไขในการพิมพ์

ผลงานที่ส่งมาลงตีพิมพ์ต้องไม่เคยตีพิมพ์หรือกำลังรอตีพิมพ์ที่วารสารอื่นๆ หากเคยนำเสนอในที่ประชุมวิชาการใด ให้ระบุเป็นเชิงอรรถ (foot note) ไว้ในหน้าแรกของบทความ ลิขสิทธิ์ในการเผยแพร่ของบทความที่ได้รับการตีพิมพ์เป็นของวารสารโรคติดต่อนำโดยแมลง

6. ความรับผิดชอบ

บทความทุกประเภทที่ลงพิมพ์ในวารสารโรคติดต่อนำโดยแมลงถือเป็นผลงานทางวิชาการ การวิจัย วิเคราะห์ ตลอดจนความเห็นส่วนตัวของผู้เขียนบทความนั้นๆ ไม่ใช่ความเห็นของกองบรรณาธิการวารสารและไม่ใช่ความเห็นของสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลงแต่ประการใด ผู้เขียนจำต้องรับผิดชอบต่อบทความของตน

CONTENTS สารบัญ

บทบรรณาธิการ III
โดย นายแพทย์นิพนธ์ ชินานนท์เวช

Editorial
By Dr.Nipon Chinanonwait

นิพนธ์ต้นฉบับ

การทดสอบฤทธิ์ไล่ยุงของสารสกัดจากสัก (*Tectona grandis* L.f.) ต่อยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L.)) 1
โดย คณพศ ทองขาว
กชพรรณ สุกระ
โสภาวดี มูลเมฆ
วาสินี ศรีปล้อง
ปิติ มงคลางกูร

Original Articles

Mosquito Repellent Test of Teak (*Tectona grandis L.f.*) Extract against *Aedes aegypti* (L.)
By Kanaphot Thongkhao
Kotchapan Sukra
Sopavadee Moonmek
Wasinee Sriplong
Piti Mongkalangoon

การศึกษาปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่มีผลต่อการป่วยด้วยไข้มาลาเรียและค่าจุดตัดที่ช่วยในการวินิจฉัยโรค 16
โดย วรรณา ศรีสัจจารักษ์

The study of hematological parameters affected by malaria and appropriate cut-off point for the diagnosis
By Wanna Srisatjarak

บทบาทของยุงชนิดต่างๆ และพฤติกรรมเสี่ยงของยุงที่ส่งเสริมในการเป็นพาหะนำโรคอาร์โบไวรัสจากกรณีศึกษาในพื้นที่ระบาดโรคชิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันในประเทศไทยพ.ศ.2551-2552 29
โดย ปิติ มงคลางกูร
คนึงนิจ คงฟ่วง
นพรัตน์ มงคลางกูร

The role of other mosquito species and their risk behaviors which support their vector capacity to transmit arbovirus diseases : Lesson learn from the African Chikungunya outbreak in Thailand, 2008-2009
By Piti Mongkalangoon
Kanungnit Kongpuang
Noparat Mongkalangoon

บทบรรณาธิการ

วารสารโรคติดต่อนำโดยแมลงฉบับนี้ เป็นฉบับที่มีเรื่องที่น่าสนใจเกี่ยวกับการวิจัยทางกีฏวิทยาและมาตรฐานการตรวจวินิจฉัยและการตรวจรักษา โดยมีเรื่องการทดสอบฤทธิ์ไล่ยุงของสารสกัดจากสัก (*Tectona grandis L.f.*) ต่อยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L.)) เพื่อสังเกตพฤติกรรมการหลีกหนีสารของยุงโดยไม่ให้ยุงสัมผัสสารสกัดจากสักโดยตรง และให้ยุงสัมผัสสารสกัดโดยตรง โดยทดสอบจากความเข้มข้นของสารสกัด จากสักเพื่อศึกษาถึงพฤติกรรมการตอบสนองของยุงลายต่อสารสกัดจากสักเพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ ใช้กับโครงการควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลงในประเทศต่อไปได้

นอกจากนี้ ในฉบับนี้ยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่มีผลต่อการป่วยด้วยไข้มาลาเรียและค่าจุดตัดที่ช่วยในการวินิจฉัยโรค เพื่อศึกษารูปแบบปัจจัยทางโลหิตวิทยาและค่าที่น่าจะใช้ในการวินิจฉัยโรครวมถึงอาการทางคลินิกที่มีผลต่อการเป็นไข้มาลาเรียเพื่อประโยชน์ในการคัดกรองผู้ป่วยในโรงพยาบาลหรือสถานพยาบาลที่มีการตรวจนับเม็ดโลหิต ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

ท้ายนี้ยังมีงานวิจัยเรื่องบทบาทของยุงชนิดต่างๆและพฤติกรรมเสี่ยงของยุงที่ส่งเสริมในการเป็นพาหะนำโรคอาร์โบไวรัส จากกรณีศึกษาในพื้นที่ระบาดโรคชิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันในประเทศไทย พ.ศ. 2551-2552 ที่เป็นเรื่องที่น่าสนใจ ทั้งในเชิงวิชาการและนวัตกรรมใหม่ๆ ทางกีฏวิทยาการควบคุมแมลงนำโรคอีกด้วย

บรรณาธิการบริหาร

นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Articles)

การทดสอบฤทธิ์ไล่ยุงของสารสกัดจากสัก (*Tectona grandis* L.f.) ต่อยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L.))

Mosquito Repellent Test of Teak (*Tectona grandis* L.f.) Extract against *Aedes aegypti* (L.)

คณพศ ทองขาว	วท.ม. (เกษตรศาสตร์)*	Kanaphot Thongkhao	M.Sc. (Agriculture)*
กชพรรณ สุกระ	วท.บ. (ชีววิทยา)**	Kotchapan Sukra	B.Sc. (Biology)**
โสภาวดี มูลเมฆ	วท.ม. (สัตววิทยา)***	Sopavadee Moonmek	M.Sc. (Zoology)***
วาสินี ศรีปล้อง	วท.บ. (ชีววิทยา)***	Wasinee Sriplong	B.Sc. (Biology)***
ปิติ มงคลางกูร	วท.ด. (กีฏวิทยา)****	Piti Mongkalangoon	Ph.D. (Entomology)****

* *สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 11 จังหวัดนครศรีธรรมราช*

** *ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลงที่ 11.2 นครศรีธรรมราช*

*** *สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 12 จังหวัดสงขลา*

**** *สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง*

* *Office of Disease Prevention and Control, 11th Nakhon Si Thammarat*

** *Vector Borne Disease Control Center, 11.2th Nakhon Si Thammarat*

*** *Office of Disease Prevention and Control, 12th Songkhla*

**** *Bureau of Vector Borne Disease*

Abstract

The repellent effect of teak (*Tectona grandis L.f.*) extracted from maceration and soxhalation was determined against the laboratory and field collected strains of *Aedes aegypti* using anexcito – repellency test system. The mosquitoes were exposed to crude teak extract at different concentration at 0.5, 1, 2.5, 5 and 10% (w/v). It was found that crude teak extract exhibited both irritancy and repellency effects against the laboratory strain of *Ae. aegypti*. Moreover, the extract from soxhlet method at 10% (w/v) showed the highest repellency action. Based on comparisons of the number of mosquitoes escaping from control and treated chambers in both contact and noncontact trials, the results indicated that escape responses of *Ae. aegypti* between Control Noncontact (CN) vs. Treatment Noncontact (TN) and Control Contact (CC) vs. Treatment Contact (CT) trials were statistically significant different ($P = 0.01$ and 0.03, respectively). The irritant and repellent responses demonstrated by *Ae. aegypti* to this plant extract in the current study contribute significant data to disease control programs in Thailand.

Keywords: teak wood, *Tectona grandis L.f.*, *Aedes aegypti* (L.), repellency

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ไล่ของสารสกัดจากสักต่อยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) สายพันธุ์ห้องปฏิบัติการและสายพันธุ์นครศรีธรรมราช จากวิธีการสกัดสาร 2 วิธี คือ วิธีแช่ยุ่ย และวิธีซอกห์เลตโดยใช้ชุดทดสอบ excite – repellency assay เพื่อสังเกตพฤติกรรมการหลีกหนีสารของยุง โดยไม่ให้ยุงสัมผัสสารสกัดจากสักโดยตรง และให้ยุงสัมผัสสารสกัดโดยตรง โดยทดสอบจากความเข้มข้นของสารสกัดจากสักที่ระดับ 0.5, 1, 2.5, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่าสารสกัดจากสักมีฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการได้ มีการออกฤทธิ์ไล่แบบทำให้ยุงเกิดการระคายเคืองแล้วบินหนีไป (irritancy effect) และฤทธิ์ในการไล่ยุงโดยไม่ต้องสัมผัส (repellency effect) นอกจากนี้สารสกัดที่ได้จากวิธีซอกห์เลตที่ระดับความเข้มข้น 10% มีฤทธิ์ในการไล่ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบการตอบสนองของยุงลายโดยการหลบหนีสารสกัดในกล่องทดสอบ ทั้งแบบไม่ให้สัมผัสสารสกัดจากสักโดยตรงและแบบให้สัมผัสสารสกัดโดยตรง พบว่าจำนวนยุงที่หลบหนีจากกล่องควบคุมที่ไม่มีการสัมผัสสารสกัดโดยตรง (มีตะแกรงกั้น) (CN) กับกล่องทดสอบที่ไม่มีการสัมผัสสารสกัดโดยตรง (มีตะแกรงกั้น) (TN) และ กล่องควบคุมที่มีการสัมผัสสารสกัดโดยตรง (ไม่มีตะแกรงกั้น) (CC) กับกล่องทดสอบที่มีการสัมผัสสารสกัดโดยตรง (ไม่มีตะแกรงกั้น) (TC) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.01 และ 0.03 ตามลำดับ) ทั้งนี้การศึกษาถึงพฤติกรรมการตอบสนองของยุงลายต่อสารสกัดจากสักในครั้งนี้ สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับโครงการควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลงในประเทศต่อไปได้

คำสำคัญ สัก ยุงลายบ้าน ฤทธิ์ไล่

บทนำ

โรคไข้เลือดออกเป็นโรคติดต่อนำโดยแมลงที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย แต่ละปีจะมีรายงานพบผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเป็นจำนวนมาก เฉลี่ยปีละประมาณ 50,000–60,000 คน และพบผู้ป่วยเสียชีวิตในทุกปี เนื่องจากโรคไข้เลือดออกเกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี (dengue virus) ที่ยังไม่มีวัคซีนใช้สำหรับการป้องกัน การป้องกันควบคุมโรคไข้เลือดออกจึงมุ่งเน้นไปที่การควบคุมยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L.)) ที่เป็นพาหะนำโรคไข้เลือดออก[1] มาตรการป้องกันการระบาดของโรคไข้เลือดออก คือ การควบคุมยุงพาหะนำโรคซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การทำลายแหล่งเพาะพันธุ์ การใช้ทายากันยุง การพ่นสารฆ่าแมลงแบบพ่นหมอกควัน หรือใช้สารฆ่าแมลงเทมีฟอส (ทรายอะเบท®) ฆ่าลูกน้ำยุงลาย[2] ซึ่งการใช้สารฆ่าแมลงเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากในปัจจุบัน ดังจะเห็นได้จากหน่วยงานที่มีบทบาทหน้าที่รับผิดชอบงานด้านสาธารณสุข เช่น เทศบาล องค์การบริหารส่วนตำบล และองค์การบริหารส่วนจังหวัดทั่วประเทศได้สั่งซื้อสารฆ่าแมลงคิดเป็นมูลค่านับพันล้านบาทต่อปี โดยสารออกฤทธิ์ (active ingredient) ของสารฆ่าแมลงดังกล่าวต้องนำเข้าจากต่างประเทศทั้งหมด[3-5]

เมื่อพิจารณามาตรการในการป้องกันการระบาดของยุงลาย ส่วนใหญ่นิยมใช้สารฆ่าแมลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการฉีดพ่นหมอกควันควบคุมยุงลายตัวเต็มวัย หากฉีดพ่นบ่อยๆ จะทำให้ยุงลายสร้างความต้านทานต่อสารเคมีเร็วขึ้นและเพิ่มระดับความต้านทานสูงขึ้น นอกจากนี้ มีการใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์ในการไล่ยุง รูปแบบของสารเคมีไล่แมลงในทางการค้าที่มีอยู่ทั่วไปในตลาดส่วนใหญ่จะประกอบด้วย สาร DEET (N,N-diethyl-3-methylbenzamide) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการไล่ยุงและแมลงกัดเป็นอย่างดี อย่างไรก็ตาม ปฏิกิริยาความเป็นพิษต่อมนุษย์หลังจากการใช้ DEET มีความแตกต่างกันไป ตั้งแต่อย่างอ่อนถึงรุนแรง[6] ดังนั้น การที่จะหลีกเลี่ยงผลที่เป็นอันตรายเหล่านี้ จึงหาสารไล่แมลงที่มาจากสารสกัดจากพืชมาแทน DEET การวิจัยและพัฒนาแนวทางอื่นๆ เพื่อเป็นทางเลือกในการป้องกันยุงลายบ้านเป็นสิ่งจำเป็น นอกจากจะช่วยลดปัญหาที่เกิดขึ้นจากการใช้สารเคมีดังกล่าวแล้ว ยังช่วยลดการนำเข้าและลดอันตรายที่อาจจะเกิดขึ้นกับมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ซึ่งการใช้พืชสมุนไพรในการป้องกันแมลงนำโรค โดยเฉพาะในการใช้สารไล่ยุงจากพืชเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาทดแทนการใช้สารเคมีได้ เพราะพืชสมุนไพรเป็นสิ่งที่มีอยู่ในท้องถิ่น หาได้ง่าย สะดวก และไม่มีพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยุงพาหะนำโรคยังไม่มีวิวัฒนาการสร้างความต้านทานต่อพืชสมุนไพร ทำให้ลดปัญหาการดื้อต่อสารเคมี ลดภาวะเสี่ยงที่เกิดจากการใช้สารเคมีของผู้สัมผัสสารเคมี รวมทั้งลดค่าใช้จ่ายในการนำเข้าสารเคมีจากต่างประเทศด้วยมีการศึกษาพบว่า ในเนื้อไม้สักมีสารกลิ่นฉุน เรียกว่า สารเทคโทควิโนน (Tectoquinone) มีประโยชน์ในการไล่แมลงศัตรูพืชได้ โดยสำเนาว์ ฤทธิ์นุช จากวิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีชัยนาทได้ค้นพบวิธีการสกัดสารเทคโทควิโนนจากต้นสักนำไปใช้ประโยชน์ในการไล่แมลงศัตรูพืชได้โดยนำขี้เลื่อยไม้สักที่ยังใหม่ๆ หรือจะเป็นขี้เลื่อยที่เก็บรักษาไว้ในถุงที่ปิดสนิท ไม่ให้อากาศและความชื้นเข้ามาสกัดสาร ควรเป็นขี้เลื่อยจากไม้สักทอง เพราะจะให้สารเทคโทควิโนนมากที่สุด หากไม่มีขี้เลื่อยให้ใช้กิ่งไม้สักทองสับเป็นชิ้นเล็กๆ มาใช้สกัดก็ได้ จะได้สารเทคโทควิโนนจากต้นสัก เมื่อจะนำไปใช้ให้กรองเอากากออก นำสารสกัดที่ได้ผสมกับน้ำสะอาดไปฉีดพ่นในแปลงปลูกพืชทุก 1-2 สัปดาห์ ใช้ได้ทั้งนาข้าว พืชผัก ไม้ดอก และไม้ผล สามารถไล่ศัตรูสำคัญ เช่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียวในนาข้าว รวมไปถึงหนอน และตั๊กแตน หรือจะผสมน้ำนำไปใช้รดต้นพืช ป้องกันศัตรูในดิน เช่น มด มอด และปลวก สารเทคโทควิโนนดังกล่าว มีประสิทธิภาพในการไล่แมลงศัตรูพืชได้ดีกว่าสารสกัดจากพืชสมุนไพรทั่วไป แต่ใช้ได้เฉพาะป้องกันศัตรูพืชไม่ให้มารบกวน ไม่มีฤทธิ์ในการฆ่าศัตรูพืช ซึ่งจะใช้ก่อนที่จะมีแมลงเข้าทำลาย[7] จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญที่ทำให้ไม้สักมีความทนทานตามธรรมชาติ คือ เทคโทควิโนน (Tectoquinone), ลาพาโชล (Lapachol) และดีออกซีลาพาโชล (Deoxylapachol) โดยจะพบในส่วนของแก่นเป็นส่วนใหญ่ และจะมีปริมาณมากขึ้นเมื่อไม้มีอายุมากขึ้น[8] ดังนั้นจึงได้การศึกษาฤทธิ์ไล่ของสารสกัดจากสักต่อยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) เพื่อทราบว่าสารสกัดจากสักมีฤทธิ์ในการไล่ยุงลายบ้านหรือไม่และการนำไปพัฒนาเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ไล่ยุงต่อไป

วิธีการศึกษา

1. การเตรียมสารสกัดจากสัก

โดยนำขี้เลื่อยจากไม้สัก (*Tectona grandis L.f.*) ที่ยังใหม่ๆ มาเก็บรักษาไว้ในถุงพลาสติกที่ปิดสนิทไม่ให้อากาศและความชื้นเข้าจากนั้นนำมาสกัดสารโดยใช้วิธีการแช่ยุ่ย (maceration) และวิธีแบบซอกห์เลต (soxhalation) ตามขั้นตอนแต่ละวิธีดังนี้

1) วิธีการแช่ยุ่ยใช้เอทธานอล 70% เป็นตัวทำละลาย นำขี้เลื่อยไม้สัก 1 กิโลกรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ปากแคบ ขนาด 5,000 มิลลิลิตร แล้วใส่เอทธานอล 70% จนท่วมขี้เลื่อยไม้สัก จากนั้นใช้จุกยางปิดปากขวดให้แน่น ปิดทับด้วยแผ่นอลูมิเนียม (aluminum foil) และใช้พาราฟินพันรอบๆ เพื่อไม่ให้เอทธานอลระเหยออกได้ แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25±5°C) เป็นเวลา 7 วันจากนั้นนำสารละลายที่ได้กรองด้วยกระดาษกรองแบบหยาบและระเหยด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) นำสารที่ได้ไปใส่ในจานขนาดเล็ก (evaporator dish) ก่อนนำไประเหยที่อุณหภูมิ 60°C ใน Water bath อีกครั้งเพื่อแยกตัวทำละลายที่อาจหลงเหลืออยู่ออกให้หมด ส่วนตัวทำละลายที่แยกออกมาได้นำกลับไปแช่ขี้เลื่อยไม้สักทองอีกครั้ง เพื่อสกัดน้ำมันที่ยังเหลืออยู่จะได้สารสกัดจากสักอย่างหยาบ (crude extract) เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบต่อไป

2) วิธีสกัดแบบซอกห์เลต โดยนำขี้เลื่อยจากไม้สักไปสกัดในเอทานอล 70% ด้วยเครื่องสกัด Soxhlet extraction ที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองแบบหยาบและระเหยด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศแบบหมุนนำสารที่ได้ไปใส่ในจานขนาดเล็ก ก่อนนำไประเหยที่อุณหภูมิ 60 °C ใน Water bath อีกครั้ง เพื่อแยกตัวทำละลายที่อาจหลงเหลืออยู่ออกให้หมดจะได้สารสกัดอย่างหยาบ เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบต่อไป

2. การเตรียมยุงลายบ้านสำหรับการทดสอบ

ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti (L.)*) ที่ใช้ในการทดสอบ เป็นยุงลายบ้านตัวเต็มวัยสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการและสายพันธุ์นครศรีธรรมราชซึ่งเก็บลูกน้ำยุงลายบ้านจากชุมชนในเขตเทศบาลเมืองทุ่งสง อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช โดยนำไข่ยุงลายบ้านทั้ง 2 สายพันธุ์นำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณภายใต้อุณหภูมิ 25±5°C แสงสว่าง 12: 12 (สว่าง : มืด) และความชื้นสัมพัทธ์ที่ 80±10% เมื่อยุงตัวเต็มวัยมีอายุ 2-5 วัน นำไปทดสอบกับชุดทดสอบ Excito-Repellency assay ต่อไปโดยยุงลายบ้านที่ใช้ทดสอบต้องให้อดน้ำหวานเป็นเวลา 12 ชั่วโมงก่อนเริ่มทำการทดสอบ

3. การทดสอบฤทธิ์ในการไล่ของสารสกัดจากสักต่อยุงลายบ้าน

1) เตรียมสารละลายสารสกัดสำหรับใช้ในการทดสอบโดยนำสารสกัดอย่างหยาบจากการสกัด ทั้งสองวิธี (คิดเป็นความเข้มข้น 100%) มาเตรียมให้มีระดับความเข้มข้น 0.5%, 1%, 2.5%, 5% และ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จำนวนระดับความเข้มข้นละ 1,000 มิลลิลิตร

2) เตรียมกระดาษทดสอบ โดยใช้กระดาษกรอง WHATMAN เบอร์ 1 ขนาด 15 x 17.5 ตารางเซนติเมตรแล้วหยดสารละลายของสารสกัดจากสักที่เตรียมไว้ด้วยปิเปตขนาด 5 มิลลิลิตร ลงบนกระดาษ ที่เตรียมไว้ในปริมาตร 2.9 มิลลิลิตร ตามความเข้มข้นต่างๆ ที่เตรียมไว้ แล้ววางผึ่งให้แห้งประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้สารที่หยดแผ่กระจายตัว

ได้ทั่วแผ่น จากนั้นนำมาห่อด้วยกระดาษอลูมิเนียม และใส่ถุงพลาสติกเก็บไว้ ในตู้เย็นช่องปกติ เพื่อรอนำไปใช้ทดลอบต่อไป ส่วนกระดาษควบคุม (control) จะหยดด้วยเอทานอล 70% เพียงอย่างเดียวในปริมาตร 2.9 มิลลิลิตรเท่ากัน ในแต่ละกล่องทดสอบจะใช้กระดาษทดสอบ 4 แผ่น

3) ทดสอบฤทธิ์ไล่ของสารสกัด (Repellency test) โดยใช้ชุดทดสอบ Excito-repellency assay ซึ่งประกอบด้วยกล่องทดสอบ 4 กล่อง ในการทดสอบแต่ละครั้ง จะแบ่งกล่องทดสอบออกเป็น 2 คู่ แต่ละคู่ จะแบ่งเป็นการทดสอบแบบที่ไม่ให้ยุงสัมผัสกับกระดาษทดสอบโดยตรง (ติดตั้งกระดาษชุบสารให้อยู่ใต้แผ่นมุ้งลวดตาข่ายขายุงไม่มีโอกาสได้สัมผัสกับสารสกัด) และแบบให้ยุงสัมผัสกับกระดาษทดสอบโดยตรง ซึ่งมีขั้นตอนการทดสอบดังนี้

- นำยุงเพศเมียปล่อยในกล่องทดสอบทั้ง 4 กล่องๆ ละ 15 ตัว โดยใช้ aspirator แล้วปิดฝากล่องด้านนอก จะมีกล่องกระดาษติดทางด้านทางออกของกล่องทดสอบ โดยใช้แผ่นฟองน้ำสอดเข้าไปปิดช่องทางออกไว้ก่อน ให้พักยุงในกล่องทดสอบเป็นเวลา 3 นาที เพื่อให้ยุงปรับสภาพ หลังจากนั้นเปิดช่องทางออก

- ทำการจับเวลา และบันทึกจำนวนยุงที่บินออกจากกล่องทั้ง 4 กล่องทุกๆ 1 นาที พร้อมทั้งดูดยุงที่บินออกมาจากกล่องทดสอบแต่ละกล่องใส่ในถ้วยกระดาษใส่ยุงจนครบ 30 นาที แล้วบันทึกจำนวนยุงที่เหลือในกล่องทดสอบทั้ง 4 กล่อง ทั้งยุงที่สลบและไม่สลบ และนำเอาใส่ถ้วยกระดาษที่ใช้เลี้ยงยุงอีกใบหนึ่ง ส่วนถ้วยกระดาษใส่ยุงที่หนีออกมาจากช่องทางออก และบันทึกจำนวนยุงที่สลบด้วยเช่นกัน แต่ละกล่องทดสอบจะมีถ้วยกระดาษเลี้ยงยุง 2 ใบ

- นำถ้วยกระดาษที่ใส่ยุงทั้งหมดไปเลี้ยงต่อในห้องเลี้ยงยุงหลังการทดสอบเสร็จเป็นเวลา 24 ชั่วโมงโดยถ้วยกระดาษใส่ยุงแต่ละใบจะวางสำลีชุบน้ำหวานความเข้มข้น 10% พอหมาดๆ บนผ้ามุ้งที่ปิดปากถ้วยกระดาษ

- เมื่อครบ 24 ชั่วโมงบันทึกจำนวนยุงที่ตายในแต่ละถ้วยกระดาษและคำนวณอัตราการตายหลังจาก 24 ชั่วโมงในแต่ละกล่องทดสอบ หากยุงในกล่องควบคุมกล่องใดกล่องหนึ่งในซ้ำใดมีอัตราตายเกิน 20% ดำเนินการทดสอบใหม่ในซ้ำนั้นๆ แล้วทำการทดสอบซ้ำเป็นจำนวนอย่างน้อย 4 ครั้ง ของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้ Kaplan-Meier survival analysis method และแปลผลข้อมูลพฤติกรรมการตอบสนองของยุงและเปรียบเทียบความแตกต่างของการตอบสนองในยุงต่อลักษณะการหลีกหนีสารสกัดจากสักในแต่ละระดับความเข้มข้นโดยดูจากรูปแบบการหลบหนีของยุงในแต่ละนาที และเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มและภายในกลุ่มด้วยวิธี log-rank test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษา

การทดสอบฤทธิ์ไล่สารสกัดสักจากวิธีแช่ยุ่ยและวิธีซอกห์เลต ต่อยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) สายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ และสายพันธุ์นครศรีธรรมราช ที่ระดับความเข้มข้น 0.5%,1%, 2.5%, 5% และ 10% พบว่า สารสกัดจากสักจากวิธีสกัดทั้งสองวิธีที่ระดับความเข้มข้น 0.5%,1%, 2.5%, และ 5% เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ไล่ยุงทั้งโดยใช้กล่อง

ทดสอบแบบไม่ให้ยุงสัมผัสกับสารสกัดโดยตรง (มีตะแกรงกั้น) หรือใช้กล่องทดสอบแบบให้ยุงสัมผัสกับสารสกัดโดยตรง (ไม่มีตะแกรงกั้น) พบว่าฤทธิ์การไล่ยุงระหว่างกล่องควบคุม (ไม่มีสารสกัด) และกล่องทดสอบ (มีสารสกัด) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในยุงลายบ้านทั้งสองสายพันธุ์แต่ในสารสกัดจากสักที่ได้จากวิธีซอกห์เลตที่ระดับความเข้มข้น 10% เมื่อทดสอบกับยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ โดยใช้กล่องทดสอบแบบไม่ให้ยุงสัมผัสกับสารสกัดโดยตรง (มีตะแกรงกั้น) มีฤทธิ์ในการไล่ยุง โดยผลการไล่ยุงในกล่องควบคุมและกล่องทดสอบมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P< 0.05$) และฤทธิ์ไล่ยุงโดยใช้กล่องทดสอบแบบให้ยุงสัมผัสกับสารสกัดโดยตรง (ไม่มีตะแกรงกั้น) พบว่าฤทธิ์การไล่ยุงในกล่องควบคุมและกล่องทดสอบมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ($P< 0.05$) (ตารางที่1)

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ไล่ยุงของสารสกัดจากสักด้วยวิธีแช่ยุ่ยและวิธี Soxhlet ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อยุงสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการและสายพันธุ์นครศรีธรรมราช

ความเข้มข้น	สายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ		สายพันธุ์นครศรีธรรมราช	
	วิธีแช่ยุ่ย	วิธี Soxhlet	วิธีแช่ยุ่ย	วิธี Soxhlet
0.5%	CNvs CC (0.55)	CNvs CC (0.63)	CNvs CC (0.55)	CNvs CC (0.55)
1.0%	CNvs CC (0.15)	CNvs CC (1.00)	CNvs CC (0.31)	CNvs CC (0.98)
2.5%	CNvs CC (0.57)	CNvs CC (1.00)	CNvs CC (0.32)	CNvs CC (0.32)
5.0%	CNvs CC (0.98)	CNvs CC (0.57)	CNvs CC (0.98)	CNvs CC (0.61)
10%	CNvs CC (0.53)	CNvs CC (0.54)	CNvs CC (0.56)	CNvs CC (0.99)
0.5%	CNvs TN (0.29)	CNvs TN (0.29)	CNvs TN (0.29)	CNvs TN (0.41)
1.0%	CNvs TN (0.94)	CNvs TN (0.25)	CNvs TN (0.24)	CNvs TN (0.25)
2.5%	CNvs TN (0.98)	CNvs TN (0.99)	CNvs TN (0.16)	CNvs TN (0.09)
5.0%	CNvs TN (0.98)	CNvs TN (0.11)	CNvs TN (0.17)	CNvs TN (0.11)
10%	CNvs TN (0.18)	CNvs TN (0.01)*	CNvs TN (0.10)	CNvs TN (0.38)
0.5%	CCvs TC (0.27)	CCvs TC (0.38)	CCvs TC (0.25)	CCvs TC (0.09)
1.0%	CCvs TC (0. 10)	CCvs TC (0.42)	CCvs TC (0.05)	CCvs TC (0.25)
2.5%	CCvs TC (0.67)	CCvs TC (0.66)	CCvs TC (0.10)	CCvs TC (0.10)
5.0%	CCvs TC (0.51)	CCvs TC (0.42)	CCvs TC (0.51)	CCvs TC (0.22)
10%	CCvs TC (0.44)	CCvs TC (0.03)*	CCvs TC (0.41)	CCvs TC (0.41)
0.5%	TNvs TC (0.50)	TNvs TC (0.76)	TNvs TC (0.50)	TNvs TC (0.75)

ความเข้มข้น	สายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ		สายพันธุ์นครศรีธรรมราช	
	วิธีแช่ยุ่ย	วิธี Soxhlet	วิธีแช่ยุ่ย	วิธี Soxhlet
1.0%	TNvs TC (0.22)	TNvs TC (0.67)	TNvs TC (0.52)	TNvs TC (0.97)
2.5%	TNvs TC (0.32)	TNvs TC (0.65)	TNvs TC (0.23)	TNvs TC (0.45)
5.0%	TNvs TC (0.31)	TNvs TC (0.77)	TNvs TC (0.31)	TNvs TC (0.99)
10%	TNvs TC (0.96)	TNvs TC (0.99)	TNvs TC (0.75)	TNvs TC (0.96)

CN = กล่องควบคุมที่ไม่มีการสัมผัสสารสกัดโดยตรง (มีตะแกรงกั้น)

CC = กล่องควบคุมที่มีการสัมผัสสารสกัดโดยตรง (ไม่มีตะแกรงกั้น)

TN = กล่องทดสอบที่ไม่มีการสัมผัสสารสกัดโดยตรง (มีตะแกรงกั้น)

TC = กล่องทดสอบที่มีการสัมผัสสารสกัดโดยตรง (ไม่มีตะแกรงกั้น)

*P< 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P >0.05 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ไล่ยุงของสารสกัดจากสักโดยวิธีแช่ยุ่ยและวิธีซอกห์เลตระหว่างระดับความเข้มข้นต่างๆ ของสารสกัดโดยวิธีนั้นๆ พบว่าสารสกัดจากสักโดยวิธีแช่ยุ่ยต่อยุงลายบ้านสายพันธุ์นครศรีธรรมราช เปรียบเทียบที่ระดับความเข้มข้น 0.5% กับ 10% มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนการเปรียบเทียบความเข้มข้นอื่นๆ นั้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ประสิทธิผลของสารสกัดจากสัก โดยให้ยุงทดสอบสัมผัสสารสกัดความเข้มข้นต่างกัน

สายพันธุ์ยุงลายบ้าน	เปรียบเทียบภายในวิธีแช่ยุ่ย		เปรียบเทียบภายในวิธี Soxhlet	
ห้องปฏิบัติการ	0.5% vs 1.0%	(0.81)	0.5% vs 1.0%	(0.96)
	0.5% vs 2.5%	(0.47)	0.5% vs 2.5%	(0.70)
	0.5% vs 5.0%	(0.31)	0.5% vs 5.0%	(0.94)
	0.5% vs 10%	(0.75)	0.5% vs 10%	(0.13)
	1.0% vs 2.5%	(0.36)	1.0% vs 2.5%	(0.71)
	1.0% vs 5.0%	(0.22)	1.0% vs 5.0%	(1.00)
	1.0% vs 10%	(0.61)	1.0% vs 10%	(0.12)
	2.5% vs 5.0%	(0.74)	2.5% vs 5.0%	(0.71)
	2.5% vs 10%	(0.69)	2.5% vs 10%	(0.06)
	5.0% vs 10%	(0.48)	5.0% vs 10%	(0.12)

สายพันธุ์ยุงลายบ้าน	เปรียบเทียบภายในวิธีแช่ยุ่ย		เปรียบเทียบภายในวิธี Soxhlet	
นครศรีธรรมราช	0.5% vs 1.0%	(0.16)	0.5% vs 1.0%	(0.98)
	0.5% vs 2.5%	(0.08)	0.5% vs 2.5%	(1.00)
	0.5% vs 5.0%	(0.09)	0.5% vs 5.0%	(0.98)
	0.5% vs 10%*	(0.04)	0.5% vs 10%	(0.74)
	1.0% vs 2.5%	(0.74)	1.0% vs 2.5%	(0.98)
	1.0% vs 5.0%	(0.76)	1.0% vs 5.0%	(0.96)
	1.0% vs 10%	(0.49)	1.0% vs 10%	(0.76)
	2.5% vs 5.0%	(0.98)	2.5% vs 5.0%	(0.99)
	2.5% vs 10%	(0.72)	2.5% vs 10%	(0.74)
	5.0% vs 10%	(0.70)	5.0% vs 10%	(0.72)

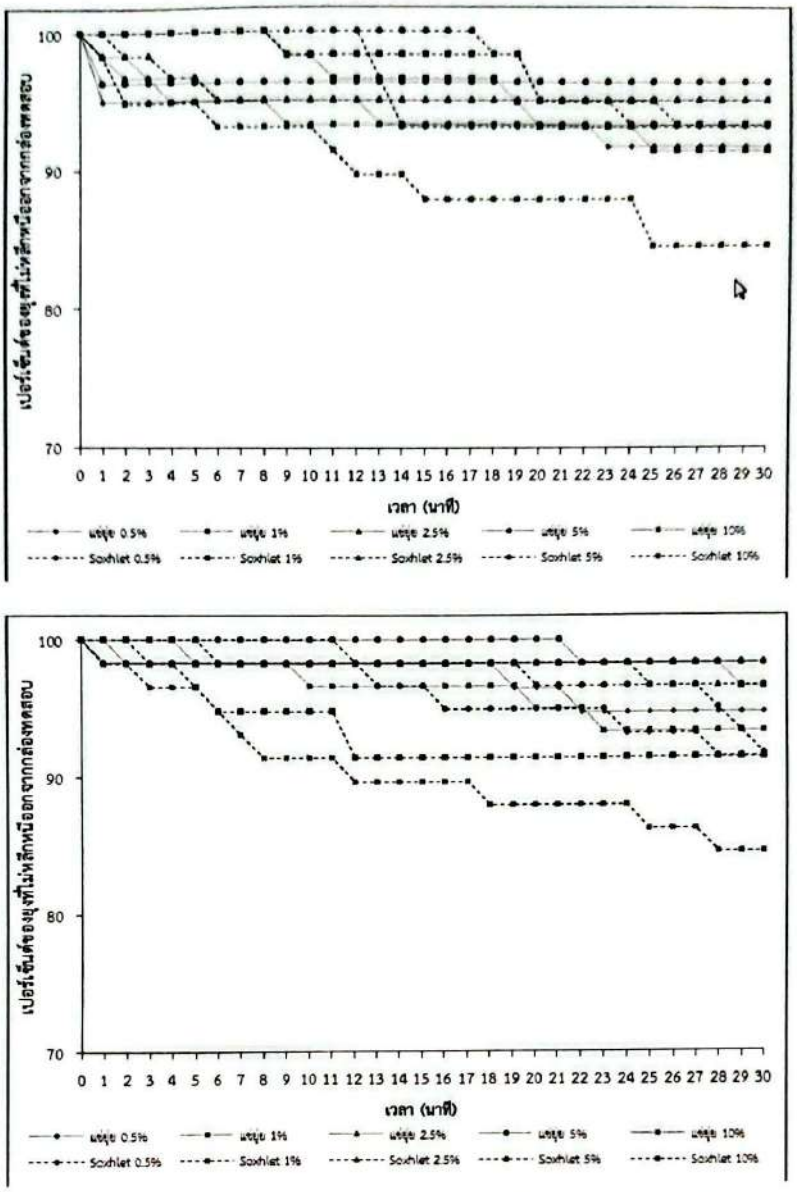
เมื่อเปรียบเทียบการหนีของยุงในการทดสอบสารสกัดจากสักด้วยวิธีแช่ยุ่ยที่ระดับความเข้มข้น 0.5%, 1%, 2.5%, 5% และ 10% ต่อยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ พบว่าการตอบสนองของยุงต่อสารสกัดจากสักทั้งแบบให้สัมผัสสารและไม่ให้สัมผัสสารไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติมียุงหลีกหนีสารสกัดร้อยละ 8.33: 5.26, 8.62: 3.45, 5.00: 1.69, 3.70: 1.75, และ 6.78: 6.67% ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากสักด้วยวิธี Soxhlet ที่ระดับความเข้มข้น 0.5%, 1%, 2.5%, 5% และ 10% ต่อยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ พบว่าการตอบสนองของยุงต่อสารสกัดจากสักทั้งแบบให้สัมผัสสารและไม่ให้สัมผัสสารไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นกันยุงมีการหลีกหนีสารสกัดร้อยละ 6.90: 8.47, 6.78: 8.62, 5.00: 3.39, 6.78: 8.33, และ 15.52: 15.52 ตามลำดับ ส่วนการเปรียบเทียบการหนีของยุงโดยใช้ยุงลายบ้านสายพันธุ์นครศรีธรรมราช พบว่าการตอบสนองของยุงต่อสารสกัดจากสักโดยวิธีแช่ยุ่ยที่ระดับความเข้มข้น 0.5%, 1%, 2.5%, 5% และ 10% ทั้งแบบให้สัมผัสสารและไม่ให้สัมผัสสารไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยุงมีการหลีกหนีสารสกัดร้อยละ8.74: 5.17, 10.17: 6.78, 8.47: 3.33, 8.47: 6.78, และ 6.78: 8.33 ตามลำดับ และสารสกัดจากสักโดย วิธี Soxhletที่ระดับความเข้มข้น 0.5%, 1%, 2.5%, 5% และ 10% พบว่าการตอบสนองของยุงต่อสารสกัดทั้งแบบให้สัมผัสสารสกัดและไม่ให้สัมผัสสารสกัดไม่แตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน ยุงมีการหลีกหนีสารสกัดร้อยละ 8.74:6.90, 8.33:8.47, 8.47:5.00, 8.62:8.47, และ 6.78:7.02 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ไล่ของสารสกัดจากสักต่อยุงลายบ้าน(*Aedes aegypti*) สายพันธุ์ห้องปฏิบัติการและสายพันธุ์นครศรีธรรมราชจากการสัมผัสให้สารและไม่ให้สัมผัสสารสกัดจากวิธีแช่ชุ่ยและวิธี Soxhlet ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สายพันธุ์	การสัมผัสสาร	ความเข้มข้น	วิธีแช่ยุ่ย				วิธี Soxhlet			
			Control		Treatment		Control		Treatment	
			จำนวนยุงที่ทดสอบ	จำนวนตัวที่หลีกหนี (%)	จำนวนยุงที่ทดสอบ	จำนวนตัวที่หลีกหนี (%)	จำนวนยุงที่ทดสอบ	จำนวนตัวที่หลีกหนี (%)	จำนวนยุงที่ทดสอบ	จำนวนตัวที่หลีกหนี (%)
ห้องปฏิบัติการ	Contact	0.5%	56	2(3.45)	55	5(8.33)	54	2(3.33)	54	4(6.90)
		1.0%	58	0(0.00)	46	12(8.62)	57	2(3.39)	55	4(6.78)
		2.5%	56	2(3.45)	57	3(5.00)	57	2(3.39)	57	3(5.00)
		5.0%	57	1(1.72)	52	2(3.70)	57	2(3.39)	55	4(6.78)
		10%	54	2(3.57)	55	4(6.78)	56	2(3.45)	49	9(15.52)
	Non-contact	0.5%	58	1(1.69)	54	3(5.26)	55	3(5.17)	54	5(8.47)
		1.0%	55	2(3.51)	51	7(3.45)	57	2(3.39)	53	5(8.62)
		2.5%	56	1(1.75)	58	1(1.69)	57	2(3.39)	57	2(3.39)
		5.0%	58	1(1.69)	56	1(1.75)	57	1(1.72)	55	5(8.33)
		10%	58	1(1.69)	56	4(6.67)	58	1(1.69)	49	9(15.52)

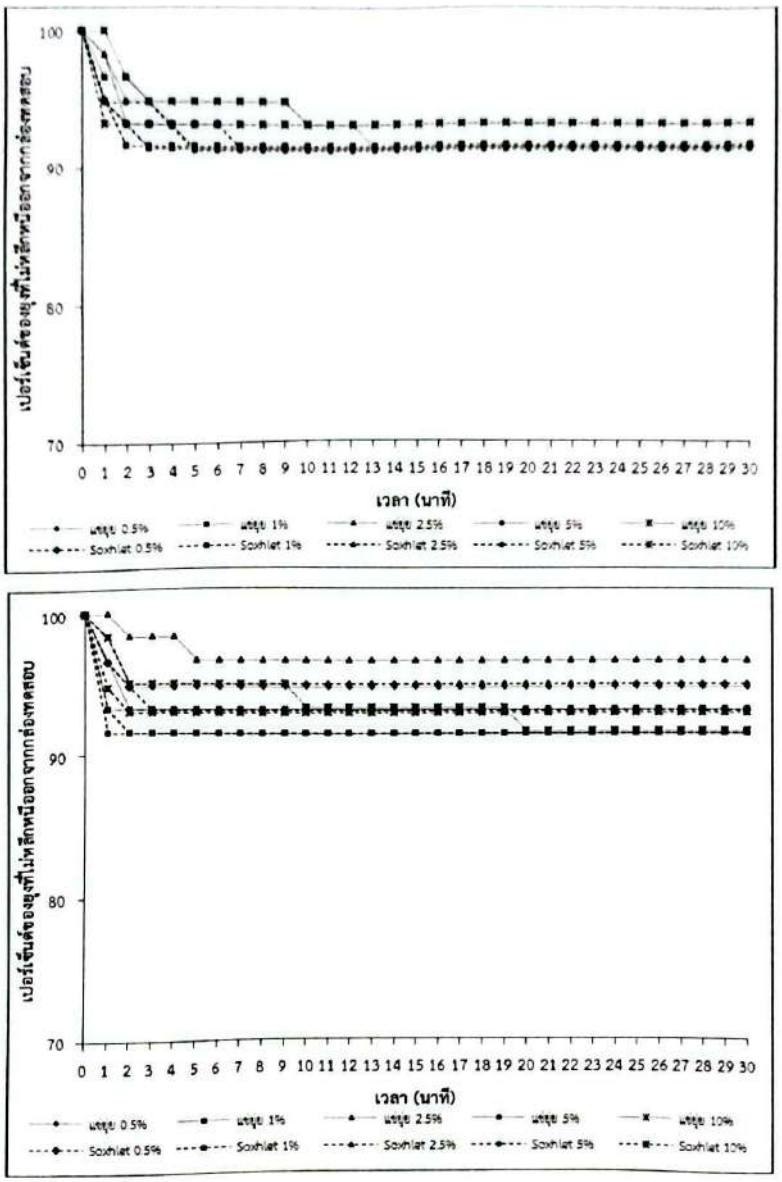
สายพันธุ์	การสัมผัสสาร	ความเข้มข้น	วิธีแช่ยุ่ย				วิธี Soxhlet			
			Control		Treatment		Control		Treatment	
			จำนวนยุงที่ทดสอบ	จำนวนตัวที่หลีกหนี (%)	จำนวนยุงที่ทดสอบ	จำนวนตัวที่หลีกหนี (%)	จำนวนยุงที่ทดสอบ	จำนวนตัวที่หลีกหนี (%)	จำนวนยุงที่ทดสอบ	จำนวนตัวที่หลีกหนี (%)
นครศรีธรรมราช	Contact	0.5%	57	2(3.39)	54	5(8.47)	58	1(1.69)	54	5(8.47)
		1.0%	57	1(1.72)	53	6(10.17)	57	2(3.39)	55	5(8.33)
		2.5%	58	1(1.69)	54	5(8.47)	57	1(1.72)	54	5(8.47)
		5.0%	57	1(1.72)	54	5(8.47)	58	2(3.33)	53	5(8.62)
		10%	57	2(3.39)	55	4(6.78)	56	2(3.45)	55	4(6.78)
	Non-contact	0.5%	59	1(1.67)	57	3(5.17)	56	2(3.45)	54	4(6.90)
		1.0%	60	0(0.00)	55	4(6.78)	56	2(3.45)	54	5(8.47)
		2.5%	59	0(0.00)	58	2(3.33)	58	0(0.00)	57	3(5.00)
		5.o%	58	1(1.69)	55	4(6.78)	55	1(1.79)	54	5(8.47)
		10%	58	1(1.69)	55	5(8.33)	57	2(3.39)	53	4(7.02)

สัดส่วนของยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการที่เหลืออยู่ในกล่องทดสอบในช่วงเวลาต่างๆ ในการทดสอบซึ่งใช้เวลาทั้งสิ้น 30 นาที สามารถใช้สังเกตรูปแบบการหลีกหนีสารสกัดของยุงลายได้ พบว่าสารสกัดจากสักโดยวิธีซอกห์เลตที่ความเข้มข้น 10% มีฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการมากที่สุด พบจำนวนยุงที่เหลือในกล่องทดสอบที่มีสารสกัดทั้งแบบให้ยุงมีการสัมผัสสารและไม่มีการสัมผัสสารมียุงเหลืออยู่น้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆที่สกัดโดยวิธีซอกห์เลตและวิธีแช่ยุ่ย (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 รูปแบบการหลีกหนีสารเคมีของยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) สายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ ที่มีการให้สัมผัสสาร (บน) และไม่ให้สัมผัสสาร (ล่าง) โดยใช้สารสกัดจากสักทั้งวิธีแช่ยุ่ยและวิธีซอกห์เลตที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สัดส่วนของยุงลายบ้านสายพันธุ์นครศรีธรรมราชที่เหลืออยู่ในกล่องทดสอบในช่วงเวลาต่างๆ ในการทดสอบซึ่งใช้เวลาทั้งสิ้น 30 นาที เพื่อสังเกตรูปแบบการหลีกหนีสารสกัดของยุงลายได้ พบว่าสารสกัดจากสัก ทั้งวิธีแช่ยุ่ยและวิธีซอกห์เลต ที่ความเข้มข้นต่างๆ ยุงลายบ้านมีรูปแบบการหลีกหนีไม่แตกต่างกัน (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 รูปแบบการหลีกหนีสารเคมีของยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) สายพันธุ์นครศรีธรรมราช ที่มีการให้สัมผัสสาร (บน) และไม่ให้การสัมผัสสาร (ล่าง) โดยใช้สารสกัดจากสักด้วยวิธีแช่ยุ่ยและวิธีซอกห์เลตที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

สรุปและวิจารณ์ผล

จากการทดสอบฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ และสายพันธุ์นครศรีธรรมราชของสารสกัดจากสักด้วยวิธีแช่ยุ่ยและวิธีซอกห์เลตที่ระดับความเข้มข้น 0.5%,1%, 2.5%, 5% และ 10% พบว่า สารสกัดจากสักในทุกระดับความเข้มข้นจากวิธีสกัดทั้งสองวิธี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกล่องยุงควบคุม ยกเว้นสารสกัดจากสักจากวิธีซอกห์เลตระดับความเข้มข้น 10% ที่ทดสอบกับยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ (USDA) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบระหว่างยุงในกล่องควบคุมและกล่องทดสอบแบบไม่ให้ยุงสัมผัสกับสารสกัดโดยตรงมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P = 0.01) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างยุงในกล่องควบคุมและกล่องทดสอบแบบให้ยุงสัมผัสกับสารสกัดโดยตรงมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน (P = 0.03)

ฤทธิ์ไล่ยุงของสารสกัดจากสักระหว่างระดับความเข้มข้นต่างๆ ของวิธีแช่ยุ่ยและวิธีซอกห์เลต พบว่าสารสกัดจากสักโดยวิธีแช่ยุ่ยต่อยุงลายบ้านสายพันธุ์นครศรีธรรมราชแบบให้ยุงสัมผัสกับสารสกัดโดยตรงที่ระดับความเข้มข้น 0.5% กับ 10.0% เท่านั้นที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.04) ส่วนการเปรียบเทียบอื่นๆ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติใดใด

สัดส่วนของยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการที่ยังอยู่ในกล่องทดสอบ โดยมีการสัมผัสสารสกัดและไม่มีการสัมผัสสารสกัดจากสัก หลังจากทดสอบกับสารสกัดจากสักด้วยวิธีแช่ยุ่ยและวิธีซอกห์เลตเป็นเวลา 30 นาที สัดส่วนนี้จะใช้บอกแบบการหลีกหนีสารของยุงลาย ซึ่งสารสกัดจากสักโดยวิธี Soxhlet ที่ความเข้มข้น 10% มียุงหลีกหนีออกจากกล่องทดสอบมากที่สุด โดยในกล่องที่มีการสัมผัสสารมียุงเหลืออยู่ 84.48% และกล่องที่ไม่มีการสัมผัสสารมียุงเหลืออยู่ 84.48% เช่นกัน

สารเคมีสามารถป้องกันยุงกัดได้ 3 ทาง คือ ฤทธิ์ทำให้ยุงที่เกาะบนสารเกิดการระคายเคืองแล้วบินหนีไป(irritancy effect) ฤทธิ์ในการไล่ยุง (repellency effect) และฤทธิ์ในการฆ่า (killing effect)[9] ในการศึกษาครั้งนี้ยุงลายบ้านทั้งสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการและสายพันธุ์นครศรีธรรมราช แสดงให้เห็นชัดเจนว่ามีพฤติกรรมหลีกหนีต่อสารสกัดจากสักทั้งวิธีสกัดแบบแช่ยุ่ย และแบบซอกห์เลตทั้งในแบบการสัมผัสสารและไม่สัมผัสสารต่ำ แสดงว่าสารสกัดจากสักที่สกัดได้จากวิธีสกัดทั้งแบบแช่ยุ่ยและแบบซอกห์เลต ที่ระดับความเข้มข้น 0.5%, 1%, 2.5%, 5% และ 10% มีฤทธิ์ไล่ต่ำ อย่างไรก็ตามสารสกัดจากสักด้วยวิธีซอกห์เลตที่ระดับความเข้มข้น 10% มีฤทธิ์ไล่ยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการมากที่สุดเนื่องจากมีจำนวนยุงหลบหนีมากที่สุด ซึ่งสถิติ survival analysis ที่ใช้ในการเปรียบเทียบฤทธิ์การขับไล่ยุงของสารเคมีนั้นนอกจากจะใช้จำนวนยุงที่หลงเหลืออยู่ในกรงเมื่อสิ้นสุดการทดสอบแล้วยังใช้ความไวในการหลบหนีออกจากกล่องทดสอบด้วย แต่ผลการทดลองนี้ให้ผลไม่เด่นชัดนักอาจเนื่องมาจากการเลือกระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากสักต่ำเกินไป จึงทำให้ผลการไล่ยุงของแต่ละความเข้มข้นมีความใกล้เคียงกันมากและมีผลที่คลุมเครือแปรปรวนมาก และเห็นการไล่ไม่ชัดเจนนัก นอกจากนั้นการที่สารทดสอบแสดงผลการไล่ต่อยุงสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการได้ดีโดยการสกัดแบบซอกห์เลต อาจเนื่องมาจากยุงสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการไม่มีความต้านทานต่อสารเคมีใดๆ เพราะถูกเลี้ยงไว้ในห้องเลี้ยงแมลงไม่ให้มีการสัมผัสสารเคมีใดๆ เลย ในขณะที่ยุงสายพันธุ์นครศรีธรรมราชเป็นยุงในธรรมชาติย่อมต้องทนทานต่อสิ่งเร้าต่างๆ ได้มากกว่า และการสกัดสารโดยใช้วิธีซอกห์เลตน่าจะให้สารออกฤทธิ์ที่เข้มข้นกว่าจึงพบว่าที่น้ำหนักสารเท่ากันจึงมีอัตราการไล่ดีกว่ากัน

นอกจากนี้ชิ้นเลื่อยของสักที่นำมาใช้ในการสกัดสารสำหรับใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ก็ไม่ทราบว่าได้จากไม้สักที่มีอายุกี่ปี เพราะอายุของไม้สักที่แตกต่างกันจะมีปริมาณสารปริมาณเทคโทควิโนนที่แตกต่างกัน จากการศึกษาของทรรศนีย์[10] ได้ทำการศึกษาปริมาณเทคโทควิโนน (2-เมทธิลแอนทราควิโนน) ในสารสกัดจากกระพี้และแก่นไม้สักจากสวนป่าที่อายุต่างๆ (13-30 ปี) จากแหล่งต่างๆ ได้แก่ สวนป่าแม่มายจังหวัดลำปางสวนป่าขุนแม่คำมี จังหวัดแพร่สวนป่าแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่

สวนป่าทองผาภูมิจังหวัดกาญจนบุรีและสวนป่าน้ำสวยห้วยปลาดุกจังหวัดเลยพบว่าสารสกัดจากกระพี้มีปริมาณเทคโทควิโนนน้อยมาก (ปริมาณน้อยมาก-0.009%) และสารสกัดจากแก่นพบปริมาณเทคโควิโนนมีค่าตั้งแต่ 0.030–0.099% ซึ่งการศึกษานี้นำขี้เลื่อยไม้สักที่ไม่สามารถทราบอายุมาทำการสกัดสาร หากเป็นไม้สักที่มีอายุน้อย อาจทำให้ปริมาณเทคโทควิโนนที่พบขี้เลื่อยน้อยไปด้วย

ข้อเสนอแนะ

1. สารสกัดจากมีแนวโน้มในการไล่ยุงลายบ้านได้ในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น เพราะจากการศึกษาพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 10% โดยสกัดด้วยวิธีซอกห์เลตต่อยุงลายบ้านสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการมีฤทธิ์ไล่ในระดับต่ำซึ่งหากเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้นอาจจะมีฤทธิ์ในการไล่ยุงลายบ้านได้ ซึ่งน่าจะทำการศึกษาต่อไป

2. ควรหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของวิธีแช่ยุ่ยที่สามารถไล่ยุงในธรรมชาติได้ เนื่องจากสามารถแนะนำให้ประชาชนสามารถนำไปทำใช้เองได้

3. ในการสกัดสารจากสักนั้น ควรพิจารณาอายุของต้นสัก และแหล่งที่ปลูก เพื่อจะได้ต้นสักที่มีปริมาณสารเทคโทคิวโนนมากสำหรับใช้ในการทดสอบ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยเรื่อง "การทดสอบฤทธิ์ไล่ยุงของสารสกัดจากสัก (*Tectona grandis* L.f.) ต่อยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* (L.))" ขอขอบคุณ ศ.ดร. ธีรภาพ เจริญวิริยะภาพ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และรศ.ดร. อรัญ งามผ่องใส ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้คำปรึกษาและเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2543. ไข้เลือดออกและการควบคุมยุงพาหะนำโรค. กลุ่มงานกีฏวิทยาสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขและฝ่ายประชาสัมพันธ์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กระทรวงสาธารณสุข.(ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.a4s-thai.com/mcontents/marticle.php? headtitle=mcontents&id=38743&Ntype=1. (ค้นเมื่อ 23 กันยายน 2547).

2. กรมควบคุมโรค. 2552. สถานการณ์โรคไข้ชิคุนกุนยา (Chikungunya Fever) ประเทศไทย. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://203.157.15.4/chikun/chikun/situation/y52/chikun_200906261457.pdf. (ค้นเมื่อ 30 มิถุนายน 2552).

3. Braga, I.A., J.B.P.Lima, S.S. Soares, and D. Valle. 2004. *Aedesaegyptei* Resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. *Mem.Inst.OswaldoCruz*, Rio de Janeiro. 99: 199-203.

4. Saelim, V., Kankaew, P and Sithiprasasna, R. 2005. Temephos resistance by bottle and biochemical assays in *Aedesaegypti* in Thailand. Pattani Provincial Public Health Office, Muang District, Pattani, Thailand. [Online]. Available from: http://esa.confex.com/esa/2004/tech-program/paper_14849.htm. Accessed on 11/09/05.

5. Wirth, M.C. and Georghiou, C.P. 1999. Selection and characterization of temephos resistance in a population of *Aedes aegypti* from Tortola, British Virgin Islands. *JAmMosqControlAssoc.*, 15:315-20.

6. Qui, H., H. W. Jun, and J. W. McCall. 1998. Phamacokinetics, formulation, and safty of insect repellent N,N-diethyl-3-methylbenzamide (deet): A review. *J. Mosq. Contr. Assoc.* 14: 12-27.

7. ตามทันเกษตร. 2553. สารเทคโทควิโนนจากสักไล่แมลง(ออนไลค์). สืบค้นจาก: http://thailand.siamjobit.com/News-detail-351956.html (ค้นเมื่อ 27 กันยายน 2553).

8. Premrasmi T. and H.H. Dietrichs. 1967. Nature and Distribution of Extractives in Teak (*Tectonagrandis* Linn.) from Thailand. The Natural Histry Bulletin of Siam Society. Bangkok. Vol. 22 No. 1&2.: 1-14.

9. Grieco, J.P., N.L. Achee, T. Chareonviriyaphap, W. Suwonkerd, K. Chauhan, M.R. Sardelis, and D.R. Roberts. 2007. A new classification system for the actions of IRS chemicals traditionally used for malaria control. PloS One. 2 (8): e716.

10. ทรรศนีย์ พัฒนเสรี. 2554. เทคโทควิโนนในไม้สักจากสวนป่าที่พื้นที่ปลูกและอายุต่างๆ. (ออนไลค์). สืบค้นจาก: http://www.ch7.com/news/news_thailand_detail.aspx?c=2&p=8&d=104976 (ค้นเมื่อ 1 กันยายน 2554).

การศึกษาปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่มีผลต่อการป่วยด้วยไข้มาลาเรียและค่าจุดตัดที่ช่วยในการวินิจฉัยโรค

(The study of hematological parameters affected by malaria and appropriate cut-off point for the diagnosis)

วรรณาศรี สัจจารักษ์ วท.ม.(จุลชีววิทยา)
ศูนย์ฝึกอบรม กรมควบคุมโรค จ.สระบุรี

Wanna Srisatjarak M.Sc.(Microbiology)
Department of Disease Control Training Center, Saraburi

Abstract

This research aim to study the hematological changes and their diagnostic value to indicate malaria infection and also the clinical symptom effect in order to improve patients screening at the hospitalsor health service which complete blood count (CBC) have done.

Blood samples were collected from 223 patients who visited malaria clinic that is in the endemic area of Tak province. CBC was analyzed by automated hematology analyzer. Thick blood film was examined using microscope as a gold standard method. The result showed that hematological parameters toward malaria infection were the decrease of lymphocyte and platelet. Platelet was the best parameter for predicting malaria infection. The appropriate cut-off point was platelet less than 205,500 cell/µl with sensitivity at 90.4 % (47 true positive samples from 54 malaria infected cases by microscope). When the parasite density increased, WBC and platelet count decreased significantly.Chill, body aches and muscle pain are clinical symptoms which help in primary screening malaria patient.

Therefore, if a patient has chills, body aches symptom and lower platelet count than cut-off point. They may be suspected to malaria infection. Blood film examination under the microscope should be carefully determined.

Keywords: Hematology, Malaria parasite, Screening of disease, Prediction, Platelet, Sensitivity, Cut-off point

บทคัดย่อ

การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบปัจจัยทางโลหิตวิทยาและค่าที่น่าจะใช้ในการวินิจฉัยโรค รวมถึงอาการทางคลินิกที่มีผลต่อการเป็นไข้มาลาเรียเพื่อประโยชน์ในการคัดกรองผู้ป่วยในโรงพยาบาลหรือสถานพยาบาลที่มีการตรวจนับเม็ดโลหิต ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

โดยเก็บตัวอย่างโลหิตจากผู้มารับบริการในมาลาเรียคลินิกในพื้นที่แพร่เชื้อของจังหวัดตากจำนวน 223 ราย มาอ่านผลด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาเปรียบเทียบกับผลตรวจจากฟิล์มโลหิตหนาด้วยกล้องจุลทรรศน์ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานผลการศึกษาพบว่าปัจจัยด้านโลหิตวิทยาที่มีผลต่อการเป็นไข้มาลาเรียคือเม็ดโลหิตขาวชนิดลิมโฟซัยต์และเกล็ดโลหิตซึ่งจะมีปริมาณลดลงเมื่อป่วยเป็นไข้มาลาเรียโดยเกล็ดโลหิตเป็นปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่บ่งชี้การป่วยเป็นไข้มาลาเรียได้ดีที่สุดค่าจุดตัดที่เหมาะสมเป็นเกณฑ์การวินิจฉัยโรคคือปริมาณเกล็ดโลหิตต่ำกว่า 205,500 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตรโดยให้ผลบวกจริง 47 รายจากจำนวนผู้ติดเชื้อมาลาเรียเมื่อตรวจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ 52 ราย คิดเป็นค่าความไวร้อยละ 90.4 นอกจากนี้เมื่อความหนาแน่นเชื้อเพิ่มขึ้นปริมาณเม็ดโลหิตขาวและเกล็ดโลหิตยิ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติส่วนอาการทางคลินิกที่จะช่วยในการคัดกรองผู้ป่วยมาลาเรียเบื้องต้นคืออาการหนาวสั่นและปวดเมื่อยร่างกายตามกระดูกและกล้ามเนื้อ

ดังนั้นหากผู้ป่วยมีอาการหนาวสั่นเป็นเวลาปวดกล้ามเนื้อและสังเกตพบมีปริมาณเกล็ดโลหิตต่ำกว่าค่า Cut-off ที่กล่าวข้างต้นควรคัดกรองเบื้องต้นได้ว่าป่วยด้วยไข้มาลาเรียให้ทำการตรวจวินิจฉัยฟิล์มโลหิตด้วยกล้องจุลทรรศน์อย่างละเอียดอีกครั้ง

คำสำคัญ โลหิตวิทยา เชื้อมาลาเรีย คัดกรองโรค ทำนายโรค เกล็ดโลหิต ความไว ค่าจุดตัด

บทนำ

แม้ว่าสถานการณ์ไข้มาลาเรียของประเทศไทยมีแนวโน้มลดลงแต่ยังคงมีการแพร่ระบาดอยู่โดยเฉพาะพื้นที่ตามแนวตะเข็บชายแดนนอกจากนี้ยังคงพบผู้ป่วยอีกจำนวนหนึ่งในพื้นที่ไข้ต่ำหรือพื้นที่ปลอดโรคซึ่งได้ถ่ายโอนงานมาลาเรียให้จังหวัดแล้วอันเนื่องมาจากมีการเดินทางเข้าไปในพื้นที่แพร่ระบาดและรับเชื้อกลับมาจนกระทั่งมีอาการป่วยซึ่งงานตรวจวินิจฉัยไข้มาลาเรียในพื้นที่เหล่านี้จะเป็นหน้าที่ของโรงพยาบาลในการให้บริการเมื่อผู้ป่วยมาโรงพยาบาลหากซักประวัติไม่ดีพอหรือแสดงอาการไม่ชัดเจนอาจทำให้แพทย์ไม่นึกถึงการป่วยจากไข้มาลาเรียหรือถ้าเจ้าหน้าที่ขันสูตรขาดความชำนาญในการวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์จะทำให้ผลตรวจผิดพลาดได้โดยเฉพาะสถานพยาบาลที่ทำการตรวจวินิจฉัยมาลาเรียจากฟิล์มโลหิตบางเพียงอย่างเดียว เมื่อเชื้อมีปริมาณน้อย อาจทำให้ตรวจไม่พบ เป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยไม่ได้รับการรักษาที่ถูกต้องและอาจถึงแก่ความตายได้

ปกติเมื่อป่วยด้วยไข้มาลาเรียร่างกายจะมีการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยา[1, 2] โดยมีการเปลี่ยนแปลงที่หลากหลายรูปแบบที่จำเพาะของการ

เปลี่ยนแปลงจะแปรผันตามพื้นที่การระบาดความผิดปกติของโรคโลหิตทางพันธุกรรมของผู้ป่วยภาวะโภชนาการความแตกต่างของเชื้อชาติและระบบภูมิคุ้มกัน3เช่นมีการรายงานการศึกษาในหลายประเทศพบว่าผู้ป่วยมาลาเรียชนิดฟัลซิพารั่มมักจะพบภาวะโลหิตจาง (anemia) หรือภาวะเกล็ดโลหิตน้อย (thrombocytopenia) เช่นปากีสถาน[4] อินเดีย[5] ไนจีเรีย[6] รวมถึงในประเทศไทยด้วย[3]ส่วนการเปลี่ยนแปลงของเม็ดโลหิตขาวในผู้ป่วยมีความไม่แน่นอนมีทั้งพบว่าเม็ดโลหิตขาวมากผิดปกติ[7, 8] หรือน้อยกว่าปกติ[9] ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาให้ทราบถึงรูปแบบและปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่มีผลต่อการป่วยด้วยไข้มาลาเรียของแต่ละประเทศเพื่อเป็นข้อมูลด้านการวินิจฉัยโรคอย่างทันท่วงทีในอนาคต

สำหรับประเทศไทยมีผู้ศึกษาปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่มีผลต่อโรคไข้มาลาเรียอยู่บ้าง[23] ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาถึงรูปแบบและผลกระทบอย่างกว้างๆ ไม่เน้นศึกษาสำหรับเป็นเกณฑ์ในการบ่งชี้การป่วย งานวิจัยนี้จึงจะทำการศึกษาผลทางโลหิตวิทยาและค่าที่ช่วยในการวินิจฉัยโรครวมถึงผลของอาการทางคลินิกเพื่อประโยชน์ในการคัดกรองผู้ป่วยหรือทำนายการป่วยเบื้องต้นได้ดียิ่งขึ้นตลอดจนช่วยสนับสนุนการตรวจวินิจฉัยให้แม่นยำมากขึ้นโดยเฉพาะในผู้ป่วยที่ไม่แสดงอาการและมารับการตรวจในสถานพยาบาลซึ่งมีเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาสำหรับตรวจนับเม็ดโลหิตอัตโนมัติอยู่แล้วจึงน่าจะช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้นได้กล่าวคือหากแพทย์สั่งตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาเพื่อหาสาเหตุของโรคอื่นเนื่องจากไม่ทันคิดถึงการป่วยจากโรคไข้มาลาเรียการทราบค่าโลหิตที่ผิดปกติจะช่วยสนับสนุนให้มีการตรวจโลหิตด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อหาเชื้อมาลาเรียที่ละเอียดมากยิ่งขึ้นทำให้ทราบสาเหตุที่แท้จริงของการป่วยได้

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบและปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่มีผลต่อการเป็นไข้มาลาเรียหาค่าจุดตัด (Cut-off) และค่าความไวที่เหมาะสมที่ช่วยในการวินิจฉัยโรคใช้เป็นเกณฑ์บ่งชี้การป่วยด้วยไข้มาลาเรียตลอดจนศึกษาอาการทางคลินิกที่ช่วยคัดกรองโรค

วัสดุและวิธีการศึกษา

ประชากรและพื้นที่ศึกษา

ผู้ป่วยที่มารับการตรวจรักษาในมาลาเรียคลินิกซึ่งอยู่ในพื้นที่แพร่เชื้อมาลาเรียของจังหวัดตากโดยมีอาการไข้สูงตั้งแต่ 38 องศาเซลเซียสจากการวัดอุณหภูมิทางปากหรือมีประวัติไข้ใน 72 ชั่วโมงที่ผ่านมาหรือเข้าไปในพื้นที่แพร่เชื้อมาลาเรียมีอายุ18ปีขึ้นไปโดยยกเว้นหญิงมีครรภ์ผู้มีโรคประจำตัวเช่นโลหิตจางลักปิดลักเปิดเลือดออกไม่หยุด (Hemophilia) เป็นต้นรวมถึงผู้ป่วยมีอาการแสดงของมาลาเรียชนิดรุนแรงตามหลักเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก

เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บข้อมูล

ฟิล์มโลหิตหนา-บางของประชากรศึกษาที่ย้อมด้วยสียิมซ่ากล้องจุลทรรศน์เครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา และแบบสัมภาษณ์เก็บข้อมูลอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการ

วิธีดำเนินการศึกษา

1) การเก็บตัวอย่างโลหิตโดยเจาะโลหิตจากเส้นโลหิตดำที่แขนมาทำฟิล์มโลหิตทั้งแบบหนาและแบบบางเพื่อนำมาอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์

ส่วนโลหิตที่เหลือประมาณ 4 มล. ใส่ในหลอดซึ่งมีสารกันโลหิตแข็ง EDTA เคลือบอยู่เก็บรักษาที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียสเพื่อรอนำไปอ่านผลด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาในห้องปฏิบัติการภายใน 4 ชั่วโมง

2) การตรวจวินิจฉัยหาการติดเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์[10, 11] ใช้เป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิง (Gold Standard) โดยฟิล์มโลหิตถูกย้อมด้วยสียิมซ่าเข้มข้น 3% เป็นเวลา 30 นาที ทำการตรวจโดยผู้เชี่ยวชาญการดูกล้อง 2 คนโดยแต่ละคนต้องไม่ทราบผลตรวจซึ่งกันและกันเพื่อไม่ให้เกิดอคติในการอ่านสไลด์ในการตัดสินไม่พบเชื้อจะต้องดูฟิล์มจนครบ 200 วงกล้องถ้าพบเชื้อต้องดูจนครบ 100 วงกล้องก่อนตัดสินชนิดเชื้อนับจำนวนพาราไซต์ต่อ 200 เม็ดโลหิตขาวคำนวนความหนาแน่นต่อโลหิต 1 ไมโครลิตรและในกรณีผู้เชี่ยวชาญทั้งสองอ่านผลได้แตกต่างกันจะส่งต่อให้ผู้เชี่ยวชาญคนที่สามอ่านผลเพื่อการตัดสิน

3) ตรวจโลหิตด้วยเครื่องวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา (Hematology analyzer) นำหลอดโลหิตไปเข้าเครื่อง CELL-DYN®3500 (Abbott, Santa Clara, Calif.) ให้ทำการตรวจวิเคราะห์ Complete Blood Count แบบอัตโนมัติซึ่งจะถูกประมวลผลออกมาบนหน้าจอคอมพิวเตอร์แสดงค่าต่าง ๆ ได้แก่ชนิดและปริมาณของเม็ดโลหิตขาวปริมาณเม็ดโลหิตแดงเกล็ดโลหิตปริมาณฮีมาโตคริดเป็นต้น

4) การวิเคราะห์ผล นำผลการตรวจทางโลหิตวิทยาอาการป่วยและผลตรวจมาตรฐานจากกล้องจุลทรรศน์มาเข้าตารางเพื่อหาความสัมพันธ์กับการป่วยเป็นไข้มาลาเรียโดยใช้สถิติไคสแควร์สำหรับตัวแปรที่เป็นอิสระต่อกัน(Categorical data) และ independent-sample *t-tests* สำหรับตัวแปรต่อเนื่อง (Continuous data) และใช้ Kruskall-Wallis test ในการเปรียบเทียบความหนาแน่นเชื้อกับผลทางโลหิตวิทยาถ้าค่า p-value น้อยกว่า 0.05 แสดงว่าข้อมูลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้วิเคราะห์หาค่าความไว ความจำเพาะ ค่าจุดตัด (Cut-off) ที่เหมาะสมที่ช่วยในการวินิจฉัยโรคใช้เป็นเกณฑ์บ่งชี้การป่วยด้วยไข้มาลาเรีย ด้วย ROC Curveโดยใช้โปรแกรมMS Excel และ SPSS ในการคำนวนและวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการศึกษา

จากตัวอย่างโลหิตผู้มารับบริการในมาลาเรียคลินิก 223 รายเป็นเพศชาย 135 ราย (ร้อยละ 61.0) เพศหญิง 88 ราย (ร้อยละ39.0) มีอายุตั้งแต่ 15-67 ปีเฉลี่ย 32 ปีเมื่อตรวจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์พบเชื้อจำนวน 52 รายคิดเป็นร้อยละ 23.3 ของตัวอย่างทั้งหมดโดยคิดเป็นสัดส่วนชนิดเชื้อ *P.falciparum* ร้อยละ 69.2 และ *P.vivax* ร้อยละ 30.8 โดยไม่พบเชื้อผสมหรือ *P.malariae* หรือ *P.ovale*

เมื่อศึกษาปัจจัยทางโลหิตวิทยา (Hematological parameter) ต่อการเป็นไข้มาลาเรียดังตารางที่ 1 พบว่าในผู้ป่วยมาลาเรียจะมีเม็ดโลหิตขาวและเกล็ดโลหิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติส่วนปริมาณเม็ดโลหิตแดงฮีโมโกลบินและฮีมาโตคริทในกลุ่มผู้เป็นมาลาเรียและไม่เป็นมาลาเรียไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบเม็ดโลหิตขาวแต่ละชนิดพบว่าผู้ป่วยมาลาเรียจะมีปริมาณลิมโฟซัยต์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เป็นไข้มาลาเรีย

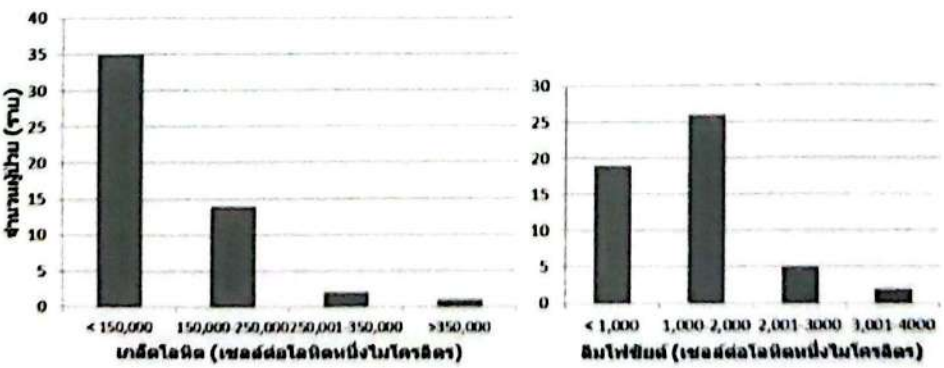
ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; SD) ของการตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา

ปัจจัย	ไม่เป็นมาลาเรีย(n=171)	เป็นมาลาเรีย (n=52)	P-value*
- เม็ดโลหิตแดง ($x10^6$/µl)	5.15(0.65)	5.07(0.77)	0.47
- เม็ดโลหิตขาว ($x10^3$/µl)	6.98 (2.09)	5.67 (1.84)	< 0.0001**
- เกล็ดโลหิต ($x10^3$/µl)	266.32 (91.74)	132.17 (79.02)	< 0.0001**
- ฮีโมโกลบิน (g/dl)	13.6 (1.84)	13.6 (1.93)	0.79
- ฮีมาโตคริท (%)	41.5 (5.24)	40.6 (6.33)	0.66
เม็ดโลหิตขาวแต่ละชนิด ($x10^3$/µl)			
- Neutrophile	3.78 (1.73)	3.98 (2.00)	0.48
- Lymphocyte	2.06 (1.1)	1.30 (0.69)	< 0.0001**
- Monocyte	0.53 (0.30)	0.55 (0.27)	0.806
- Eosinophile	0.43 (0.55)	0.34 (0.47)	0.293
- Basophile	0.08 (0.07)	0.06 (0.04)	0.104

หมายเหตุ* คือค่า P-value จากIndependent T-test และ** คือ P-value< 0.05

สำหรับเกล็ดโลหิตปกติในร่างกายจะมีประมาณ150,000 – 350,000 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร[12] ซึ่งการศึกษานี้พบผู้ป่วยมาลาเรียที่มีภาวะ Thrombocytopenia คือมีเกล็ดโลหิตน้อยกว่า 150,000 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร[2] ร้อยละ 67.3 (35 ใน 52 ราย) ดังรูปที่ 1

สำหรับลิมโฟซัยต์ปกติในร่างกายจะมีประมาณ1,000-4,000 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร[12,13] ซึ่งผู้ป่วยมาลาเรีย ร้อยละ 63.5 (33 จาก 52 ราย) ยังมีปริมาณลิมโฟซัยต์อยู่ในเกณฑ์ปกติ โดยส่วนใหญ่ (26 ใน 33 ราย) มีปริมาณลิมโฟซัยต์ในระหว่าง 1,000-2,000 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตรและมี 19 ราย (ร้อยละ 36.5) พบภาวะที่ร่างกายมีลิมโฟซัยต์ต่ำกว่าปกติ (Lymphocytopenia) คือมีปริมาณน้อยกว่า 1,000 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร[13] ดังรูปที่ 1

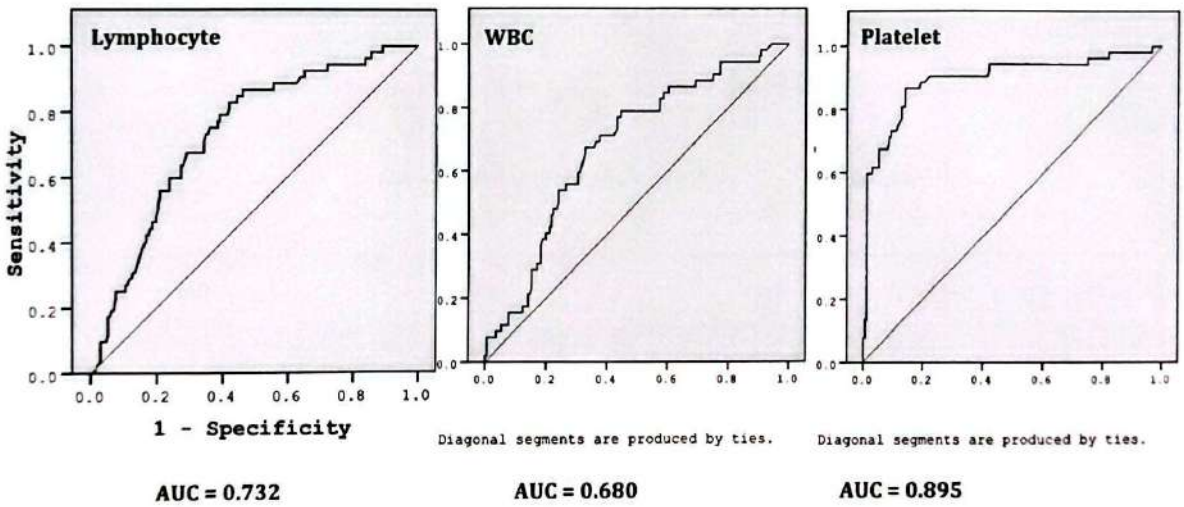


รูปที่ 1 ปริมาณเกล็ดโลหิตและลิมโฟซัยต์ในผู้ป่วยมาลาเรีย

ต่อมาศึกษาหาค่าที่เหมาะสมของเม็ดโลหิตขาวชนิดลิมโฟซัยต์เม็ดโลหิตขาวโดยรวมและเกล็ดโลหิตที่จะสามารถใช้เป็นเกณฑ์บ่งชี้ทำนายการป่วยด้วยไข้มาลาเรียด้วยการสร้างกราฟ ROC โดยพบว่าเกล็ดโลหิตมีพื้นที่ใต้กราฟ (Area Under Curve; AUC) มากที่สุด แสดงว่าสามารถนำมาใช้ทำนายการป่วยได้ดีที่สุดรองลงมาคือ ลิมโฟซัยต์ และเม็ดโลหิตขาวโดยรวม ตามลำดับ ดังรูปที่ 2

สำหรับเกล็ดโลหิต ยิ่งปริมาณเกล็ดโลหิตสูงขึ้น ค่าความไวยิ่งสูงขึ้น แต่ความจำเพาะก็จะลดลงด้วยเช่นกัน ซึ่งเกณฑ์ของเกล็ดโลหิตที่จะใช้เป็นค่าบ่งชี้ทำนายการป่วยเป็นไข้มาลาเรียคือ ใช้ปริมาณเกล็ดโลหิตไม่เกินกว่า 205,500 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตรเป็นตัวคัดแยก (Cut-off) โดยให้ค่าความไวร้อยละ 90.4 ความจำเพาะ ร้อยละ 77.8 ดังรูปที่ 2 และตารางที่ 2 เนื่องจากให้ค่าความไว ความจำเพาะสูงเพียงพอ แต่หากเลือกจุดตัดที่มีค่าความไวสูงกว่านี้จะมีปริมาณเกล็ดโลหิตสูงขึ้นจนใกล้เคียงกับปริมาณที่พบในคนปกติจนทำให้คัดกรองได้ไม่มีประสิทธิภาพ

ค่าจุดตัดของลิมโฟซัยต์ที่จะใช้บ่งชี้ทำนายการป่วยเป็นไข้มาลาเรียคือ มีปริมาณต่ำกว่า 2,075 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร โดยให้ค่าความไวร้อยละ 88.5 ความจำเพาะ ร้อยละ 44.4 แสดงดังรูปที่ 2 และตารางที่ 2 หากใช้ปริมาณลิมโฟซัยต์ต่ำกว่านี้เป็นจุดตัด จะมีค่าความไวต่ำเกินไป หรือใช้ปริมาณสูงเกินกว่านี้ก็จะทำให้การคัดกรองผู้ป่วยไม่มีประสิทธิภาพด้วยเช่นเดียวกัน



รูปที่ 2 ROC Curve ของการใช้ลิมโฟซัยต์เม็ดโลหิตขาวรวม และเกล็ดโลหิต ในการวินิจฉัยการป่วยเป็นไข้

ถ้านำลิมโฟซัยต์และเกล็ดโลหิตมาเป็นปัจจัยร่วมกันในการบ่งชี้การป่วยเป็นไข้มาลาเรีย โดยใช้ลิมโฟซัยต์ต่ำกว่า 2,000 และเกล็ดโลหิตต่ำกว่า 200,000 เป็น Cut-off พบว่ามีความไวน้อยกว่าการใช้เกล็ดโลหิตเพียงปัจจัยเดียวคือร้อยละ 75 แสดงว่าการใช้ปัจจัยร่วมกันไม่ช่วยให้บ่งชี้ทำนายการเป็นมาลาเรียได้แม่นยำขึ้น

ตารางที่ 2 ความไวความจำเพาะค่าการทำนายโรค (Predictive Value) Likelihood ratio และ odd ratio ของปัจจัยทางโลหิตวิทยาในการวินิจฉัยโรคมาลาเรีย

ปัจจัย	TF/FP	ความไว* (95% CI)	ความจำเพาะ* (95% CI)	PPV* (95% CI)	NPV* (95% CI)	LR+ (95% CI)	LR- (95% CI)	Odd ratio (95% CI)
- ลิมโฟซัยต์ <1.000 ($x10^3/\mu l$)	19/26	36.5 (25.5-47.8)	84.8 (81.4-88.2)	42.2 (29.5-55.3)	81.5 (78.2-84.8)	2.4 (1.4-4.1)	0.7 (0.6-0.9)	3.2 (1.5-6.9)
- ลิมโฟซัยต์ <1.300 ($x10^3/\mu l$)	29/36	55.8 (43.4-67.3)	78.9 (75.2-82.4)	44.6 (34.7-53.8)	85.4 (81.4-89.2)	2.6 (1.8-3.8)	0.6 (0.4-0.8)	4.7 (2.3-9.6)
- ลิมโฟซัยต์ <2.000 ($x10^3/\mu l$)	45/86	86.5 (75.0-93.8)	49.7 (46.2-51.9)	34.4 (29.8-37.2)	92.4 (85.5-96.5)	1.7 (1.4-2.0)	0.2 (0.1-0.5)	6.4 (2.6-16.4)
- ลิมโฟซัยต์ <2.075 ($x10^3/\mu l$)	46/95	88.5 (77.2-95.1)	44.4 (41.0-46.5)	32.6 (28.5-35.1)	92.7 (85.5-96.9)	1.6 (1.3-1.8)	0.3 (0.1-0.6)	6.1 (2.4-16.9)
- เกล็ดโลหิต <132.2 ($x10^3/\mu l$)	31/5	59.6 (49.8-65.4)	97.1 (94.1-98.8)	86.1 (72.0-94.5)	88.8 (86.0-90.4)	20.4 (8.4-56.9)	0.4 (0.3-0.5)	49.0 (15.8-162.7)
- เกล็ดโลหิต <150.0 ($x10^3/\mu l$)	35/10	67.3 (56.6-75.4)	94.2 (90.9-96.6)	77.8 (65.4-87.1)	90.4 (87.3-92.8)	11.5 (6.2-22.2)	0.3 (0.3-0.5)	33.1 (13.0-87.0)
- เกล็ดโลหิต <200.0 ($x10^3/\mu l$)	46/33	88.5 (77.6-95.0)	80.7 (77.4-82.7)	58.2 (51.1-62.6)	95.8 (91.9-98.2)	4.6 (3.4-5.5)	0.1 (0.1-0.3)	32.1 (11.8-91.7)
- เกล็ดโลหิต <205.5 ($x10^3/\mu l$)	47/38	90.4 (79.7-96.3)	77.8 (74.5-79.6)	55.3 (48.7-58.9)	96.4 (92.3-98.6)	4.1 (3.1-4.7)	0.1 (0.0-0.3)	32.9 (11.5-101.7)
- ลิมโฟซัยต์ <2.000 และเกล็ด	39/21	75.0 (63.5-84.1)	87.7 (84.2-90.5)	65.0 (55.0-72.9)	92.0 (88.3-94.9)	6.1 (4.0-8.8)	0.3 (0.2-0.4)	21.4 (9.3-50.6)

หมายเหตุ TF = True positive, FP= False positive, PPV = Positive Predictive Value, NPV = Negative Predictive Value, LR+ = Positive Likelihood Ratio, LR- = Negative Likelihood RatioCI คือ ช่วงความเชื่อมั่น (Confidence Interval)* คือ ค่าเป็นร้อยละ

เมื่อเปรียบเทียบชนิดเชื้อกับปัจจัยทางโลหิตวิทยาดังตารางที่3พบว่าในแต่ละชนิดเชื้อมีปริมาณเม็ดโลหิตแดงเม็ดโลหิตขาวเกล็ดโลหิตฮีโมโกลบินและฮีมาโตคริทไม่แตกต่างกัน

โดยเชื้อP.falciparumมีความหนาแน่นตั้งแต่ 39-196,522 ตัวต่อไมโครลิตรค่าเฉลี่ยเรขาคณิต (Geometric mean; GM) เท่ากับ 14,314 ตัวต่อไมโครลิตรโดยส่วนใหญ่พบอยู่ในช่วงความหนาแน่น5,001-50,000 ตัวต่อไมโครลิตรคิดเป็นร้อยละ58.8ส่วนเชื้อP.vivaxมีความหนาแน่นตั้งแต่114 - 22,547 ตัวต่อไมโครลิตรเฉลี่ย (GM) 3,976 ตัวต่อไมโครลิตรโดยส่วนใหญ่พบอยู่ในช่วงความหนาแน่น501-50,000 ตัวต่อไมโครลิตรและไม่พบเชื้อที่มีความหนาแน่นสูงกว่า50,000ตัวต่อไมโครลิตร

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยเรขาคณิต ของการตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาในแต่ละชนิดเชื้อ

ปัจจัย	*P.falciparum* (n=36)	*P.vivax* (n=16)	P-value*
- เม็ดโลหิตแดง($x10^6$/µl)	4.89	5.26	0.170
- เม็ดโลหิตขาว($x10^3$/µl)	5.31	5.54	0.938
- เกล็ดโลหิต ($x10^3$/µl)	108.45	124.49	0.484
- ฮีโมโกลบิน (g/dl)	13.08	14.24	0.051
- ฮีมาโตคริท (%)	39.44	43.02	0.087

หมายเหตุ* คือ ค่า P-value จาก Independent T-test และ** คือ P-value< 0.05

เมื่อเปรียบเทียบความหนาแน่นเชื้อกับปัจจัยทางโลหิตวิทยา (ตารางที่4) พบว่าเมื่อความหนาแน่นเชื้อเพิ่มขึ้นปริมาณเม็ดโลหิตขาวและเกล็ดโลหิตยิ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของการตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาในแต่ละระดับความหนาแน่นเชื้อ

ปัจจัย	ความหนาแน่นเชื้อ (ตัวต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร)				P-value*
	<= 500 (n=4)	501-5,000 (n=14)	5,001-50,000 (n=28)	>50,000 (n=6)	
- เม็ดโลหิตแดง (x106/µl)	4.66	5.18	5.10	4.92	0.527
- เม็ดโลหิตขาว (x103/µl)	6.69	5.32	6.06	3.88	0.014**

ปัจจัย	ความหนาแน่นเชื้อ (ตัวต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร)				P-value*
	<= 500 (n=4)	501-5,000 (n=14)	5,001-50,000 (n=28)	>50,000 (n=6)	
- เกล็ดโลหิต (x103/µl)	251	154	122	50	<0.0001**
- ฮีโมโกลบิน (g/dl)	13.1	13.08	13.86	13.67	0.566
- ฮีมาโตคริท (%)	39.13	40.02	42.11	39.95	0.590

หมายเหตุ* คือค่า P-value จาก Kruskal-Wallis Test และ ** คือ P-value< 0.05

นอกจากนี้เมื่อศึกษาอาการป่วยทางคลินิก (Clinical symptom) ต่อการเป็นไข้มาลาเรียดังตารางที่ 5 พบว่าอาการทางคลินิกที่สัมพันธ์กับการป่วยเป็นมาลาเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้แก่อาการหนาวสั่นและการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ (P-value < 0.05)

ตารางที่ 5 จำนวนผู้มีอาการทางคลินิกในผู้เป็นและไม่เป็นมาลาเรีย

ปัจจัย	ไม่เป็นมาลาเรีย (n=171)	เป็นมาลาเรีย (n=52)	P-value*
- ไข้ > 37.5 °C	26	13	0.10
- หนาวสั่น	21	15	0.004**
- ปวดศีรษะ	63	24	0.23
- ปวดเมื่อยกระดูกและกล้ามเนื้อ	46	6	0.02**
- มีประวัติเป็นไข้ใน 3 วันที่ผ่านมา	23	9	0.49
- อาเจียน	9	2	0.68
- ไม่มีแรง	7	0	0.14

หมายเหตุ* คือค่า P-value ได้จาก Pearson Chi-square test และ ** คือ P-value< 0.05

วิจารณ์ผลการศึกษา

แม้ว่าการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยากับการเป็นไข้มาลาเรียจะไม่ใช่เรื่องใหม่แต่งานวิจัยนี้ช่วยเพิ่มเติมข้อมูลเกี่ยวกับค่าที่เหมาะสมทางโลหิตที่บ่งชี้การเป็นมาลาเรียได้การศึกษานี้พบว่าปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่มีผลต่อการเป็นไข้มาลาเรียคือเม็ดโลหิตขาวลิมโฟซัยต์และเกล็ดโลหิตโดยจะมีปริมาณลดลงเมื่อเป็นไข้มาลาเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่จากผลการศึกษาที่ผ่านมาของประเทศไทยนอกจากเม็ดโลหิตขาวและเกล็ดโลหิตแล้วเม็ดโลหิตแดงและฮีโมโกลบินก็มีผลต่อการเป็นมาลาเรียด้วยเช่นเดียวกันโดยมีปริมาณลดลงเมื่อเป็นไข้มาลาเรีย[2,3] นอกจากนี้จากการศึกษาของ Imoru และคณะ (2013)[14] ที่ศึกษาในกลุ่มเด็กอายุ 1-12 ปี ในประเทศไนจีเรียพบว่าฮีโมโกลบินฮีมาโตคริท

และเกล็ดโลหิตจะมีปริมาณลดลงเมื่อเป็นไข้มาลาเรีย ในขณะที่เม็ดโลหิตขาวไม่มีผลต่อการเป็นมาลาเรีย ส่วนการศึกษาของ Lathia และคณะ (2004)[5] ในประเทศอินเดียพบว่าฮีโมโกลบินและเกล็ดโลหิตจะมีปริมาณลดลงเมื่อเป็นไข้มาลาเรียส่วนเม็ดโลหิตขาวไม่มีผลต่อการเป็นมาลาเรียดังนั้นจากผลการศึกษานี้และที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าเกล็ดโลหิตเป็นปัจจัยหลักทางโลหิตวิทยาที่สำคัญที่สุดที่ได้รับผลกระทบเมื่อป่วยเป็นไข้มาลาเรียโดยจะมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติส่วนปัจจัยอื่นๆจะมีการเปลี่ยนแปลงที่ไม่แน่นอน

การศึกษานี้พบผู้ป่วยมาลาเรียที่มีภาวะ Thrombocytopenia ร้อยละ 67 โดยมีปริมาณเกล็ดโลหิตระหว่าง 31,500-145,000 เซลล์ต่อไมโครลิตร โลหิตเฉลี่ย 90,860 เซลล์ต่อไมโครลิตรซึ่งจัดเป็น mild thrombocytopenia[4] ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในประเทศปากีสถานที่พบผู้ป่วยมาลาเรียมีภาวะ Thrombocytopenia ร้อยละ 70[4] การที่ผู้ป่วยมาลาเรียมีความเด่นชัดที่มีเกล็ดโลหิตลดต่ำกว่าปกติเนื่องจากหลายสาเหตุเช่นกลไกการแข็งตัวของโลหิตถูกกระตุ้นอย่างผิดปกติทำให้เกิดภาวะลิ่มโลหิตกระจายทั่วไปในหลอดเลือด (disseminated intravascular coagulation) ระบบเรติคูโลเอ็นโดทิเลียม (Reticuloendothelial system) กำจัดเกล็ดโลหิตมากเกินไปการที่ malaria Ag-Ab complex ไปจับกับเกล็ดโลหิตทำให้ถูก macrophage กำจัดเกล็ดโลหิตสูญเสียกรดไซอะลิก (sialic acid) จากเยื่อหุ้มเซลทำให้เซลแตก[1,5] นอกจากนี้พบภาวะ Leucopenia ร้อยละ 11.5 ส่วนภาวะ Anemia พบเพียงร้อยละ 3.8 ซึ่งปกติมีรายงานว่าพบภาวะ Anemia ถึงร้อยละ 80 ในผู้ป่วยมาลาเรียที่มีอาการรุนแรง[1] อาจเนื่องจาก ผู้ป่วยที่มารับบริการในมาลาเรียคลินิกส่วนใหญ่เป็นผู้ที่ไม่มีอาการแทรกซ้อนรุนแรงในการศึกษานี้จึงพบภาวะนี้น้อย

เกล็ดโลหิตเป็นปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่สามารถใช้ทำนายการป่วยเป็นมาลาเรียได้ดีที่สุด โดยค่า cut-off ที่เหมาะสม คือปริมาณเกล็ดโลหิตไม่เกิน 205,500 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร โดยให้ค่าความไว ร้อยละ 90.4 ความจำเพาะ ร้อยละ 77.8 ซึ่งไม่เหมือนกับการศึกษาของ Lathia และคณะ (2004) ที่ประเทศอินเดีย[5] และ Kotepui และคณะ (2014) ที่ประเทศไทย[2] โดยเป็นการเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยในโรงพยาบาลและใช้ภาวะ Thrombocytopenia คือ มีปริมาณเกล็ดโลหิตต่ำกว่า 150,000 เซลล์ต่อหนึ่งไมโครลิตรเพียงอย่างเดียวมาคำนวนค่าความไวในการวินิจฉัยไข้มาลาเรียโดยพบว่ามีความไวร้อยละ 60 และ 85 ตามลำดับแต่ในงานวิจัยนี้ใช้ ROCcurve ช่วยในการคำนวณ เพื่อเลือก cut-off ที่เหมาะสมแทน ทั้งนี้หากเลือกที่จุดตัด 150,000 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร เหมือนสองงานวิจัยดังกล่าว จะมีความไวลดเหลือเพียง ร้อยละ 67.3 แต่ความจำเพาะเพิ่มเป็นร้อยละ 94.2 ซึ่งค่าความไวนี้ต่ำกว่าของ Kotepui และคณะ[5] ซึ่งมีจำนวนตัวอย่างศึกษาถึง 4,900 ตัวอย่าง จากฐานข้อมูลคนไข้ของโรงพยาบาล แต่งานวิจัยนี้เป็นการเก็บข้อมูลปฐมภูมิโดยตรงจากภาคสนามทำให้มีจำนวนตัวอย่างแตกต่างกันมาก แต่อย่างไรก็ตามจำนวนตัวอย่างในงานวิจัยนี้ก็เป็นไปตามวิธีการคำนวนจำนวนตัวอย่างในทางสถิติ

การศึกษานี้พบว่าผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *P.falciparum* จะมีปริมาณเม็ดโลหิตแดงเม็ดโลหิตขาว เกล็ดโลหิตฮีโมโกลบินและฮีมาโตคริทต่ำกว่าผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *P.vivax* แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติซึ่งไม่เหมือนกับการศึกษาของ Kotepui และ

คณะ (2015)[15] รายงานว่าสำหรับประเทศไทยเม็ดโลหิตแดงและเกล็ดโลหิตในแต่ละชนิดเชื้อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยเชื้อ *P.falciparum* มีปริมาณเม็ดโลหิตแดงและเกล็ดโลหิตต่ำกว่าเชื้อ *P.vivax* ในขณะที่เม็ดโลหิตขาวและฮีโมโกลบินไม่มีความแตกต่างกันแต่การศึกษาของ Saha และคณะ (2014)[16] ในประเทศอินเดียพบว่าปริมาณของเม็ดโลหิตแดงเม็ดโลหิตขาวฮีโมโกลบินและฮีมาโตคริทมีความแตกต่างกันในแต่ละชนิดเชื้อส่วนเกล็ดโลหิตไม่มีความแตกต่างกันจากผลการศึกษาต่างๆ จึงแสดงถึงการไม่มีรูปแบบโลหิตวิทยาที่ชัดเจนในแต่ละชนิดเชื้อจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมมาสนับสนุนต่อไป

ส่วนปัจจัยทางโลหิตวิทยากับความหนาแน่นเชื้อพบว่าเมื่อความหนาแน่นเชื้อเพิ่มขึ้นปริมาณเม็ดโลหิตขาวและเกล็ดโลหิตยิ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในขณะที่การศึกษาในประเทศไทยที่ผ่านมาของ Erhart และคณะ (2004)[3] พบว่าเฉพาะเกล็ดโลหิตเท่านั้นที่มีปริมาณลดลงเมื่อความหนาแน่นเชื้อเพิ่มขึ้นส่วนการศึกษาของ Kotepui และคณะ (2015)[15] พบว่าเมื่อความหนาแน่นเชื้อเพิ่มขึ้นปริมาณเม็ดโลหิตขาวจะเพิ่มขึ้นแต่ปริมาณเกล็ดโลหิตและฮีโมโกลบินจะลดลงซึ่งเห็นได้ว่าเกล็ดโลหิตเป็นปัจจัยที่ได้รับผลกระทบอย่างเด่นชัดผกผันกับความหนาแน่นเชื้อที่เพิ่มขึ้นส่วนปัจจัยทางโลหิตอื่นๆ จะมีการเปลี่ยนแปลงที่ไม่แน่นอน

อาการทางคลินิกที่จะช่วยในการคัดกรองผู้ป่วยมาลาเรียเบื้องต้นคืออาการหนาวสั่นและปวดเมื่อยร่างกายตามกระดูกและกล้ามเนื้อซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chandramohan และคณะ (2001) ในประเทศอินเดีย[17] ในขณะที่ผลการศึกษาในประเทศแถบอาฟริกาพบว่าอาการทางคลินิกไม่ช่วยในการทำนายโรคเนื่องจากไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในผู้ป่วยและผู้ไม่ป่วย[18,19] ส่วนในประเทศปาปัว-นิวกินีการมีประวัติเป็นไข้โดยไม่มีอาการอื่นจะช่วยในการทำนายโรคได้[20]

สรุปผลการศึกษา

การพบปริมาณเกล็ดโลหิตต่ำกว่าปกติช่วยในการทำนายการป่วยด้วยไข้มาลาเรียได้ โดยคัดกรองจากผู้ที่มีอาการหนาวสั่นเป็นเวลาปวดกล้ามเนื้อและมีปริมาณเกล็ดโลหิตต่ำกว่า 205,500 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร หรือร่วมกับมีปริมาณลิมโฟซัยต์ต่ำกว่า 2,075 เซลล์ต่อไมโครลิตรซึ่งสันนิษฐานได้ว่าอาจป่วยด้วยไข้มาลาเรียควรทำการตรวจวินิจฉัยหาเชื้อจากฟิล์มโลหิตหนาด้วยกล้องจุลทรรศน์อย่างละเอียดอีกครั้ง

อย่างไรก็ตามข้อจำกัดของงานวิจัยนี้คือใช้กลุ่มควบคุม (Control group) เป็นผู้ป่วยที่มารับการตรวจที่มาลาเรียคลินิกแต่ตรวจไม่พบเชื้อเพียงกลุ่มเดียวไม่ได้มีตัวอย่างจากคนที่มีสุขภาพดีซึ่งคนเหล่านี้บางครั้งอาจจะป่วยด้วยโรคอื่นที่อาจส่งผลต่อค่าทางโลหิตวิทยาได้เช่นเดียวกันทำให้มีค่าเฉลี่ยของกลุ่มควบคุมสูงหรือต่ำกว่ากลุ่มประชากรอื่นแต่อย่างไรก็ตามค่าเฉลี่ยนี้ก็ยังอยู่ในช่วงปกติ (Normal range) นอกจากนี้เป็นการศึกษาในพื้นที่ที่มีไข้สูงซึ่งควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในพื้นที่อื่นของประเทศด้วยเพื่อให้ทราบข้อมูลได้ครอบคลุมมากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านจากศูนย์ควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลงที่ 9.3 แม่สอด จ.ตาก ที่ให้การสนับสนุนในการเก็บตัวอย่างโลหิตผู้ป่วยที่มารับการรักษาในมาลาเรียคลินิกเป็นอย่างดี ขอขอบคุณอาจารย์ไพศาล ฟักแฟ และอาจารย์ปราณีต อุตตระภิญโญ ผู้เชี่ยวชาญในการจำแนกชนิดเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่ช่วยในการอ่านยืนยันผลตรวจฟิล์มโลหิต รวมถึงขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกท่าน จากศูนย์อบรมโรคติดต่อนำโดยแมลงและสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกต่างๆ จนโครงการสำเร็จลงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Srichaikul T. Hematologic changes in malaria. *Thai J Hematol Transfusion Med.* 1993; 3(3) Oct-Sep: 239-255.

2. Kotepui M, Phunphuech B, Phiwklam N, Chupeerach C and Duangmano S. Effect of malarial infection on haematological parameters in population near Thailand-Myanmar border. *Malaria J.* 2014; 13: 218-234.

3. Erhart LM, Yingyuen K, Chuanak N, Buathong N, Laoboonchai A, Miller RS, Meshnick SR, Gasser RJ and Wongsrichanalai C. Hematologic and clinical indices of malaria in a semi-immune population of western Thailand *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2004; 70(1): 8–14.

4. Khan AH, Hayat AS, Baloch GH, Shaikh N and Ghori R. Thrombocytopenia: A predictor of falciparum malaria at tertiary care hospital. *World ApplSciJ* 2012. 19 (2): 159-162.

5. Lathia TB and Joshi R. Can hematological parameters discriminate malaria from nonmalarious acute febrile illness in the tropics?Indian *J Med Sci.* 2004. 58(6) June: 239-244.

6. Chidoka CP and Tochukwu OR. Haematologic and biochemical indices of Plasmodium falciparum infected inhabitants of Owerri, Imo State, Nigeria. *J. Med.* Lab. Diag. 2013. 4(3) August: 38-44.

7. Ladhani S, Lowe B, Cole AO, Kowuondo K and Newton CR. Changes in white blood cells and platelets in children with falciparum malaria: relationship to disease outcome. *Br J Haematol.* 2002; 119:839-847.

8. Fleming AF. Hematological manifestations of malaria and other parasitic diseases.*ClinHematol.* 1981; 10: 983-1011.

9. Maina RN, Walsh D, Gaddy C, Hongo G, Waitumbi J, Otieno L, Jones D and Ogutu BR. Impact of *Plasmodium falciparum* infection on haematological parameters in children living in Western Kenya.*Malar J.* 2010; 9(Suppl 3):S4.

10. Iqbal J, Khalid N and Hira PR. Comparison of two commercial assays with expert microscopy for confirmation of symptomatically diagnosed malaria. *J. Clin. Microbiol.* 2002; Dec: 4675-4678.

11. Palmer CJ, Bonilla JA, Bruckner DA, Barnett ED, Miller NS, Haseeb MA, Masci JR and Stauffer WM. Multicenter study to evaluate the OptiMAL test for rapid diagnosis of malaria in U.S Hospital. *J. Clin. Microbiol.* 2003; Nov: 5178-5182.

12. พรเทพเทียนสิวากุล.โลหิตวิทยาคลินิก.พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ:บริษัทด่านสุทธาการพิมพ์จำกัด; 2544. หน้า 1-6.

13. Wolfswinkel M, Jongbloed KV, Melo MM, Wever PC, McCall MB, Koelewijn R et al. Predictive value of lymphocytopenia and the neutrophil-lymphocyte count ratio for severe imported malaria. *Malaria J.* 2013; 12: 101-108.

14. Imoru M, Shehu UA, Ihesiulor UG and Kwaru AH. Haematological changes in malaria-infected children in North-West Nigeria.*Turk J Med Sci.* 2013; 43(5): 838-842.

15. Kotepui M, Piwkham D, PhunPhuech B, Phiwklam N, Chupeerach C and Duangmano S. Effects of malaria parasite density on blood cell parameters.PLoS One. 2015; 10(3) Mar: e0121057.11 pages.

16. Saha AK, Maitra S and Hazra SC. Comparison of hematological parameters between *Plasmodiumfalciparum, Plasmodium vivax* and control group. *InterJ Med Research Health Sci.*2014; 3(1): 120-127.

17. Chandramohan D, Carneiro I, Kavishwar A, Brugha R, Desai V and Greenwood B. A clinical algorithm for

the diagnosis of malaria: results of an evaluation in an area of low endemicity. *Trop Med Int Health.* 2001; 6(7) Jul: 505-510.

18. Muwonge H, Kikomeko S, Sembajjwe LF, Seguya A and Namugwanya C. How reliable are hematological parameters in predicting uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in an endemic region? *ISRN Tropical Medicine.*2013; 2013Article ID 673798, 9 pages.

19. Tahita MC, Tinto H, Menten J, Ouedraogo JB, Guiguemde RT, Geertruyden JP, Erhart A and Alessandro U. Clinical signs and symptoms cannot reliably predict Plasmodium falciparum malaria infection in pregnant women living in an area of high seasonal transmission. *Malaria J.*2013; 12: 464-470.

20. Genton B, Smith T, Baea K, Narara A, Al Yaman F, Beck HP, Hii J, Alpers M. Malaria: how useful are clinical criteria for improving the diagnosis in a highly endemic area? *Trans R Soc Trop Med Hyg.*1994; 88: 537–541.

บทบาทของยุงชนิดต่างๆและพฤติกรรมเสี่ยงของยุงที่ส่งเสริมในการเป็นพาหะนำโรคอาร์โบไวรัส จากกรณีศึกษาในพื้นที่ระบาดโรคชิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันในประเทศไทย พ.ศ.2551-2552

The role of other mosquito species and their risk behaviors which support their vector capacity to transmit arbovirus diseases : Lesson learn from the African Chikungunya outbreak in Thailand, 2008-2009

ดร. ปิติ	**มงคลางกูร[1]**
ดร. คนึงนิจ	**คงพ่วง[2]**
นพรัตน์	**มงคลางกูร[3]**

[1] สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค

[2] สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

[3] สำนักโรคติดต่ออุบัติใหม่ กรมควบคุมโรค

Dr. Piti	**Mongkalangoon[1]**
Dr. Kanungnit	**Kongpuang[2]**
Noparat	**Mongkalangoon[3]**

[1] Bureau of Vector Borne Diseases

[2] Program of Medical Technology, Faculty of Science and Technology, Rajabhat Ban Somdej Chao Praya University

[3] Bureau of Emerging of Infectious Diseases

Abstract

Chikungunya is the vector-borne diseases which cause by RNA virus in the family: Togaviridae and genus: Alphavirus. In Thailand was found sparsely each year. The virus strain which found in Thailand is the Asian genotype. There was the big outbreak of Chikungunya in the world during 2008 – 2009. Many countries in the world were affected by this disease, including island nations in the Indian Ocean, India, Sri Lanka, Singapore, Indonesia, Malaysia, Singapore and Thailand etc. The chikunkunya virus that caused the pandemic outbreak was the Africa genotype. This species had never been found in Thailand, therefore, it was considered to be an emerging infectious disease of Thailand. The World Health Organization reported that the vectors of these events were *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. Especially, *Aedes albopictus* was incriminated to be the main vector in the most outbreaking countries. However, it is necessary to study in detail what species of mosquitoes that can carry the disease. This is an entomology study which performed during the outbreak with the aims to identify the primary mosquito vectors involved in transmission, to confirm that *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* were infected by this strain of virus and to find the possible vectors of chikungunya virus in Thailand. Moreover, we studied about the vectors' behaviors which relate to the transmissions. These will be useful for the surveillance and control of mosquito-borne arboviruses in the future, according to each type of

mosquitoes. The study focused on the adult mosquitoes and larvae of all species of male and female which found inside and outside of the patients' houses, the houses which had the history of chikungunya patient and nearby houses that stayed within the range of 100 m from patients' houses. We detected the virus by RT-PCR in laboratory. The mosquitoes were collected by sweeping nets for the safety of the collectors. The study sites were in Chumphon, Trang, Prachuap Khiri Khan, Phuket, Songkhla and Satun. All mosquitoes and larvae species were found 14 species. Adult mosquito larvae were found 12 species; *Aedes aegypti, Aedes albopictus, Anopheles sinensis, Anopheles tessellatus, Armigeres (Leiseterior). sp., Armigeres subalbatus, Coquillettidia crassipes, Culex huchinsoni, Culex quinquefasciatus, Culex vishnui, Lutzia fuscana and Mansonia uniformis.* The larvae were found 5 species; *Aedes aegypti, Aedes albopictus, Culex brevipalpis, Culex quinquefasciatus and Tripteroides sp.* There were 6 positive species of adult female mosquitoes which arranged by their infection rate (minimum infection rate (MIR)) or relative infection rates (%) from highest to lowest; *Mansonia uniformis* (NA, 100%). = *Culex vishnui* (NA, 100%) > *Coquillettidia crassipes* (333.33, 33.33%) > *Aedes aegypti* (112.32, 16.67%) > *Aedes albopictus* (23.02, 14.29%) > *Culex quinquefasciatus* (15.91, 5.88%)(table 14). All 5 species of female laevae were positive; *Tripteroides sp.* (NA, 100%) = *Culex brevipalpis* (NA, 100%) > *Aedes aegypti* (26.41. , 12.50%) > *Aedes albopictus* (19.76, 7.69%) > *Culex quinquefasciatus* (15.88, 9.09%), respectively (table15). Moreover, we also found 3 species of male larvae infected with the virus; *Coquillettidia crassipes* (304.81, 40%) > *Culex quinquefasciatus* (26.91, 10.34%) > *Armigeres subalbatus* (15.97, 7.69%)(table14). It indicated that the Chikungunya virus could be transmitted from infected females through their offspring by eggs (transovarial transmission). The study concluded that the mosquito infection rates are higher in *Aedes aegypti* than *Aedes albopictus*. However, due to the topography and environment of the Southern Thailand were suitable for *Aedes albopictus* to grow and breed than *Aedes aegypti* or other mosquitoes. Furthermore, the most occupations of the people in the endemic areas who had to work on outside were farmers and rubber tappers that allowed *Aedes albopictus* bite them more than other mosquitoes. So, *Aedes albopictus* had more chances to bite people, and then the number of infected *Aedes albopictus* was high also. When compared the potential of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* and concluded that both of them were the primary vectors of the African chikungunya. The nature of the transmission was consistent with the behaviors of the vectors which *Aedes aegypti* liked

to feed the human blood and stayed in the house than outdoor, but *Aedes albopictus* like to feed and stayed outdoor. For indoor transmission, *Aedes aegypti* was the primary vector, and we found all positive female mosquito and larvae were in the houses only. Likewise for outdoor transmission, *Aedes albopictus* was the primary vector, and we found all positive female mosquito and larvae were out of the houses only. Even though, some of the other positives mosquitoes had high infection rates, but the numbers of them were too small in the areas, we concluded that they might not play role as the important vectors. Moreover, they liked to feed on animal blood than human. In the area that found the high numbers of them might cause the disease more violent. Moreover they might cause some animal reservoirs, and then caused the long transmission too. So it shall be studied in the future.

Keywords: Chikunkunya, Togaviridae, Alphavirus, Asian genotype, African genotype, minimum infection rate (MIR), relative infection rates (%), *Aedes aegypti, Aedes albopictus, Anopheles sinensis, Anopheles tessellatus, Armigeres (Leiseterior). sp., Armigeres subalbatus, Coquillettidia crassipes, Culex huchinsoni, Culex quinquefasciatus, Culex vishnui, Lutzia fuscana and Mansonia uniformis.* The larvae were found 5 species; *Aedes aegypti, Aedes albopictus, Culex brevipalpis, Culex quinquefasciatus and Tripteroides sp.*, transovarial transmission.

บทคัดย่อ

โรคชิคุนกุนยาเป็นโรคติดต่อที่นำโดยแมลงชนิดหนึ่งซึ่งเชื้อก่อโรคเป็นไวรัสในวงศ์ Togaviridae สกุล Alphavirus ในประเทศไทยพบโรคนี้ประปรายไม่มากนักในแต่ละปี สายพันธุ์ที่พบเป็นสายพันธุ์เอเชีย แต่ในปีพ.ศ. 2551 – พ.ศ. 2552 ได้เกิดการระบาดครั้งใหญ่มีหลายประเทศในโลกได้รับผลกระทบจากโรคนี้ ได้แก่ ประเทศหมู่เกาะในมหาสมุทรอินเดีย อินเดีย ศรีลังกา สิงคโปร์ อินโดนีเซีย สิงคโปร์ มาเลเซีย รวมถึงประเทศไทยด้วย เชื้อก่อโรคที่ทำให้เกิดการระบาดเป็นสายพันธุ์จากทวีปแอฟริกาซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่เคยพบในประเทศไทย ดังนั้นจึงถือว่าเป็นโรคติดต่ออุบัติใหม่ องค์การอนามัยโลกรายงานว่ายุงพาหะนำโรคคือ ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) และยุงลายสวน (*Aedes albopictus*) โดยเฉพาะยุงลายสวนถูกกล่าวถึงมากที่สุดว่าเป็นพาหะหลักในการระบาดนี้ อย่างไรก็ตามจะต้องทำการศึกษาโดยละเอียดว่ามียุงชนิดใดบ้างสามารถนำโรคได้ การศึกษานี้เป็นการศึกษาด้านกีฏวิทยา ซึ่งดำเนินการในช่วงการระบาดของโรคโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาชนิดยุงพาหะหลักที่ทำให้เกิดการระบาดของโรคในประเทศไทย เพื่อยืนยันการเป็นพาหะนำโรคของยุงลายบ้านและยุงลายสวน เพื่อค้นหาว่ายังมียุงชนิดอื่นๆสามารถเป็นพาหะได้อีกหรือไม่ อันจะเป็นประโยชน์ต่อไปในการเฝ้าระวังและควบคุมยุงพาหะนำโรคได้ถูกต้องตามชนิดของยุง วิธีการศึกษาเน้นเก็บตัวอย่างยุง

และเก็บตัวอย่างลูกน้ำทุกชนิดทั้งเพศผู้และเพศเมีย ที่อาศัยอยู่ในบ้านและนอกบ้านที่มีประวัติพบผู้ป่วยโรคชิคุนกุนยา และบ้านใกล้เคียงที่อยู่ภายในรัศมี 100 เมตรจากบ้านผู้ป่วยเพื่อนำไปตรวจหาเชื้อไวรัสก่อโรคโดยวิธี RT-PCR ในห้องปฏิบัติการ การจับยุงจะใช้วิธีโฉบด้วยสวิงจับแมลงเพื่อความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงาน พื้นที่เก็บตัวอย่างยุงและลูกน้ำคือ จังหวัดชุมพร ตรัง ประจวบคีรีขันธ์ ภูเก็ต สงขลา และสตูล ยุงและลูกน้ำทั้งหมดที่จับได้มีทั้งหมด 14 ชนิดเป็นยุงตัวเต็มวัย 12 ชนิดคือ *Aedes aegypti, Aedes albopictus, Anopheles sinensis, Anopheles tessellatus, Armigeres (Leiseterior) sp., Armigeres subalbatus, Coquillettidia crassipes, Culex huchinsoni, Culex quinquefasciatus, Culex vishnui, Lutzia fuscana* และ *Mansonia uniformis* ส่วนลูกน้ำพบเพียง 5 ชนิด คือ *Aedes aegypti, Aedes albopictus, Culex brevipalpis, Culex quinquefasciatus* และ *Tripteroides sp.* ยุงตัวเต็มวัยเพศเมียที่ตรวจพบเชื้อมี 6 ชนิดเรียงตามอัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (minimum infection rate (MIR)) หรืออัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (relative infection rate(%)) จากสูงสุดไปต่ำสุด คือ *Mansonia uniformis* (NA, 100%) = *Culex vishnui* (NA, 100%) > *Coquillettidia crassipes* (333.33, 33.33%) > *Aedes aegypti* (112.32, 16.67%) > *Aedes albopictus* (23.02, 14.29%) > *Culex quinquefasciatus* (15.91, 5.88%)(ตารางที่ 14) ระยะลูกน้ำเพศเมียที่ตรวจพบเชื้อไวรัสโรคชิคุกุนยาทั้ง 5 ชนิดเรียงตามอัตราการติดเชื้อจากสูงสุดไปต่ำสุดคือ *Tripteroides sp.*(NA, 100%) = *Culex brevipalpis* (NA, 100%) > *Aedes aegypti* (26.41, 12.50%) > *Aedes albopictus* (19.76, 7.69%) > *Culex quinquefasciatus* (15.88, 9.09%) (ตารางที่ 15) นอกจากนั้นยังพบว่ามียุงตัวเต็มวัยเพศผู้ 3 ชนิดติดเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาด้วยเรียงตามอัตราการติดเชื้อจากสูงสุดไปต่ำสุดคือ *Coquillettidia crassipes* (304.81, 40%) > *Culex quinquefasciatus* (26.91, 10.34%) > *Armigeres subalbatus* (15.97, 7.69%) (ตารางที่ 14) แสดงว่าโรคนี้มีการส่งผ่านเชื้อไวรัสจากแม่ยุงสู่ลูกได้ (transovarial transmission) จากผลการศึกษาสรุปได้ว่ายุงลายบ้านมีอัตราการติดเชื้อสูงกว่ายุงลายสวน แต่เนื่องจากลักษณะภูมิประเทศและสิ่งแวดล้อมทางภาคใต้มีความเหมาะสมกับการเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ของยุงลายสวนมากกว่ายุงลายบ้านและประกอบกับอาชีพของประชาชนที่เคยป่วยส่วนใหญ่เป็นเกษตรกรที่ต้องประกอบอาชีพอยู่นอกบ้านซึ่งอยู่ในแหล่งหากินของยุงลายสวน ดังนั้นจึงพบยุงลายสวนติดเชื้อมากกว่ายุงชนิดอื่น เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบศักยภาพของยุงลายทั้ง 2 ชนิดนี้แล้วสรุปได้ว่าทั้งยุงลายบ้านและยุงลายสวนเป็นพาหะหลักของโรคชิคุนกุนยาทั้งคู่ โดยลักษณะการติดเชื้อไวรัสโรคชิคุนกุนยาของยุงมีความสอดคล้องกับอุปนิสัยของพวกมันคือ ยุงลายบ้านมีนิสัยชอบกัดกินเลือดคนมากจึงชอบอาศัยในบ้านคน จึงพบว่ายุงลายบ้านเพศเมียและลูกน้ำที่ติดเชื้อจะพบแต่ในบ้านเท่านั้น ส่วนยุงลายสวนซึ่งมีนิสัยชอบกินทั้งเลือดคนและสัตว์ ชอบอาศัยอยู่ตามสวนและป่าดังนั้นจึงพบว่ายุงลายสวนเพศเมียและลูกน้ำที่ติดเชื้อจะพบแต่นอกบ้านเท่านั้น ส่วนยุงชนิดอื่นๆ ถึงแม้ว่าจะมีอัตราการติดเชื้อที่สูงมากแต่ด้วยจำนวนยุงมีน้อย เนื่องจากไม่ใช่แหล่งหากินและแหล่งเพาะพันธุ์ที่เหมาะสม อีกทั้งอุปนิสัยการชอบกินเลือดสัตว์มากกว่าเลือดคนจึงอาจไม่มีบทบาทมากนักเกี่ยวกับการระบาดครั้งนี้ แต่อย่างไรก็ตามหากการระบาดเกิดในแหล่งที่มียุงเหล่านี้อาศัยอยู่มากๆ ยุงเหล่านี้อาจมีบทบาทสูงในการทำให้เกิดการระบาดที่รุนแรงมากขึ้นกว่าเดิม และอาจสามารถ

นำโรคจากคนไปแพร่ให้สัตว์ที่เหมาะสมซึ่งอาจทำให้เกิดรังโรคในสัตว์ได้ ซึ่งจะทำให้การระบาดของโรคเกิดยาวนานขึ้น ดังนั้นจะต้องทำการศึกษาต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ Chikunkunya Togaviridae, Alphavirus, สายพันธุ์เอเชีย, สายพันธุ์แอฟริกา, minimum infection rate (MIR), relative infection rates (%), *Aedes aegypti, Aedes albopictus, Anopheles sinensis, Anopheles tessellatus, Armigeres (Leiseterior). sp., Armigeres subalbatus, Coquillettidia crassipes, Culex huchinsoni, Culex quinquefasciatus, Culex vishnui, Lutzia fuscana and Mansonia uniformis.* The larvae were found 5 species; *Aedes aegypti, Aedes albopictus, Culex brevipalpis, Culex quinquefasciatus and Tripteroides sp.*, transovarial transmission

บทนำ

โรคชิคุนกุนยา เป็นโรคติดต่อนำโดยแมลงที่เชื้อก่อโรคเป็นเชื้ออาร์โบไวรัส (Arbovirus) กลุ่ม A เป็นกลุ่มที่มียุงเป็นพาหะ อยู่ในวงศ์ Togaviridae สกุล Alphavirus โรคนี้มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับโรคไข้เลือดออกมาก มักพบผู้ป่วยโรคชิคุนกุนยาจำนวนหนึ่งผสมปะปนมาพร้อมๆ กับผู้ป่วยโรคไข้เลือดออกเสมอในฤดูการระบาดของโรคไข้เลือดออก ประเทศไทยตั้งชื่อโรคเป็นภาษาไทยเพื่อให้ประชาชนเข้าใจและจดจำชื่อโรคได้ง่ายว่า "โรคไข้ปวดข้อยุงลาย" เพื่อให้ง่ายต่อการจำแนกความแตกต่างจากโรคไข้เลือดออก เนื่องจากโรคนี้มียุงลายบ้านและยุงลายสวนเป็นยุงพาหะเช่นเดียวกับโรคไข้เลือดออก และอาการของโรคทั้งสองก็มีส่วนคล้ายคลึงกันมาก สิ่งที่แตกต่างคือโรคชิคุนกุนยาจะมีอาการเจ็บปวดในข้อมาก และที่สำคัญคือโรคชิคุนกุนยามีความรุนแรงของโรคน้อยกว่าโรคไข้เลือดออก คือไม่ทำให้ผู้ป่วยช็อคหรือถึงกับเสียชีวิต สำหรับในประเทศไทยตามปกติพบผู้ป่วยเพียงประปรายเท่านั้นไม่เคยมีสถานการณ์ระบาดใหญ่มากๆ เชื้อสาเหตุโดยปกติจะเป็นเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาสายพันธุ์เอเชีย แต่เมื่อปีพ.ศ. 2551-2552 ได้เกิดการระบาดของโรคชิคุนกุนยาขนาดใหญ่มากแบบไม่เคยเกิดขึ้นมาก่อนในประเทศไทยซึ่งมีผู้ป่วยในปีพ.ศ. 2551 จำนวน 2,494 รายจาก 8 จังหวัดและในปีพ.ศ. 2552 จำนวน 52,057 รายจาก 58 จังหวัด (สำนักระบาดวิทยา 2551, 2552) โดยเริ่มต้นการก่อตัวของโรคที่หมู่ 8 ตำบลละหาร อำเภอยี่งอ จังหวัดนราธิวาส เป็นแห่งแรก ซึ่งเริ่มเกิดการระบาดขึ้นในเดือนสิงหาคม พ.ศ.2551 ผู้ป่วยส่วนใหญ่มีอาชีพทำสวนยางพารา ต่อจากนั้นโรคได้ขยายพื้นที่การระบาดออกไปจนครบทั้ง 14 จังหวัดภาคใต้ในช่วงหลังเทศกาลสงกรานต์ของปีพ.ศ. 2552 และหลังจากกลางปีพ.ศ. 2552 โรคก็กระจายตัวกว้างขึ้นอีกจนครอบคลุมไปยังภาคต่างๆ ของประเทศ ซึ่งจากการสอบสวนการระบาดพบว่าผู้ป่วยในระยะแรกๆ ของภูมิภาคต่างๆ มีประวัติเดินทางไปภาคใต้ด้วยกันทั้งสิ้น ปัจจัยสำคัญที่เป็นปัจจัยเสี่ยงทำให้โรคแพร่ระบาดได้อย่างกว้างขวางรวดเร็ว คือ การคมนาคมที่สะดวกรวดเร็ว ศักยภาพของเชื้อสาเหตุร่วมกับศักยภาพของยุงพาหะที่ทำให้เหยื่อติดเชื้อได้อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาช่วงสั้นๆ ของการเดินทางเข้าไปอยู่ในพื้นที่แพร่เชื้อเพียงไม่กี่วันในช่วงวันหยุดเทศกาลก็สามารถถ่ายทอดเชื้อโรคให้เหยื่อนำไปแพร่ต่อไป

ในภูมิลำเนาของตนที่อยู่ในภาคอื่นๆ ได้ ซึ่งถือว่าทำให้โรคกระจายตัวได้เร็วกว่าการกระจายตัวโดยอาศัยความสามารถในการบินไกลของยุงอย่างแน่นอน แต่อย่างไรก็ตามจำนวนผู้ป่วยในภูมิภาคอื่นๆ พบประปราย (Sporadic case) เท่านั้น

โรคชิคุนกุนยาที่ระบาดในประเทศไทยในปีพ.ศ.2551-2552 เป็นปัญหามากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีผู้ป่วยจำนวนมากในประเทศสิงคโปร์ มาเลเซีย และโดยเฉพาะประเทศไทย ซึ่งสาเหตุที่ทำให้เกิดการระบาดเริ่มมาจากทวีปแอฟริกาโดยเชื้อสาเหตุเป็นเชื้อชิคุนกุนยาสายพันธุ์ที่มีต้นกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกา จากนั้นก็เริ่มระบาดไปยังหมู่เกาะต่างๆ ในมหาสมุทรอินเดีย รวมทั้งประเทศอินเดียและศรีลังกา และต่อจากนั้นก็มุ่งสู่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ยังไม่มีวัคซีนหรือวิธีการรักษาเฉพาะ โรคนี้ถูกอธิบายครั้งแรกในปี ค.ศ. 1955 หลังจากการระบาดในประเทศแทนซาเนียในปี ค.ศ. 1952 เกิดจากเชื้อไวรัสสกุล Alphavirus ในวงศ์ Togaviridae พบว่ามี 3 สายพันธุ์คือ 1. สายพันธุ์ West African genotype 2. สายพันธุ์ East Central and South African genotype (ECSA) และ 3. สายพันธ์ Asian genotype (Sudeep AB et. Al., 2008) เชื้อ 2 สายพันธุ์แรกแพร่กระจายอยู่ในทวีปแอฟริกา และสายพันธุ์เอเชียกระจายอยู่ในทวีปเอเชีย เชื่อว่าสายพันธุ์เอเชียมีสายวิวัฒนาการเดียวกันและเบี่ยงเบนมาจากสายพันธุ์ ECSA นั่นเอง ในธรรมชาติเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาจะสามารถดำรงอยู่ได้ในวงจรหลักได้ 2 แบบคือ 1 ในเอเชียเชื่อว่าเชื้อส่วนใหญ่จะถูกรักษาไว้ในวงจร ยุง-คน-ยุง ยุงที่นี้คือยุงลายบ้านเป็นพาหะหลักซึ่งเป็นยุงในเขตเมืองซึ่งชอบกินเลือดคนมาก 2. ในแอฟริกาเชื่อว่าวงจรหลักที่รักษาเชื้อชิคุนกุนยาให้ดำรงอยู่ได้คือวงจรที่อยู่ในป่า(sylvatic cycle) โดยเชื้อจะอาศัยอยู่ในสัตว์พวกวานรโดยทำหน้าที่เป็นรังโรค (reservoir) เช่น พวกลิงหางยาวต่างๆ (macaques) ได้แก่ *Macaca mulatta* เป็นต้น และเชื้ออีกส่วนเก็บรักษาไว้ในยุงลายป่า เช่น *Aedes furcifer, Aedes taylori, Aedes luteocephalus, Aedes africanus,* และ *Aedes neoafricanus* (Sudeep AB *et. Al.*, 2008)

ในปี ค.ศ. 2005-2006 ได้เกิดการระบาดของโรคชิคุนกุนยาที่เกาะ La Re´union ซึ่งอยู่ในมหาสมุทรอินเดีย ในการระบาดครั้งนี้อาการของโรคมีความซับซ้อนและมีอาการทางระบบประสาทร่วมด้วย อาการเด่นอย่างหนึ่งที่พบคือ การมีอาการปวดข้ออย่างรุนแรงและมีอาการปวดตกค้างหลงเหลือยาวนานแม้ว่าในร่างกายจะไม่มีเชื้อไวรัสหลงเหลืออยู่แล้วก็ตาม ซึ่งอาการเจ็บปวดข้อนี้อาจหลงเหลืออยู่นานอีกหลายเดือน หรืออีกหลายปี (Hoarau JJ *et al.*, 2010) การระบาดที่เกาะ La Re´union มีลักษณะพิเศษอย่างหนึ่งคือไวรัสมักถูกแพร่โรคโดยยุงลายสวนได้ดีและยุงลายสวนมักถูกจัดเป็นยุงพาหะหลักของโรค ซึ่งจากความรู้เดิมนั้นยุงลายบ้านมักแสดงความเป็นยุงพาหะหลักเสมอแต่ในครั้งนี้ยุงทั้ง 2 ชนิดต่างนำเชื้อได้อย่างดีทั้งคู่ และนอกจากนั้นยังพบอีกว่ามีการกลายพันธุ์แห่งหนึ่งเกิดบน RNA ของไวรัสโดยพบว่ามีการเปลี่ยนเบส alanine เป็น valine ที่กรดอะมิโน 226 ของโปรตีน E1 (E1-A226) ในเชื้อสายพันธุ์ East Central and South African genotype (ECSA) (Schuffenecker I., *et al.*, 2006) ซึ่งเป็นปัจจัยเกี่ยวข้องกับการระบาดใหญ่นี้โดยทำให้เกิดการติดเชื้อในยุงลายสวนได้ดีขึ้น ซึ่งเราจะเรียกสายพันธุ์นี้ว่า E1-A226V mutation (Tsetsarkin KA. *et al.*, 2007) ซึ่งเชื่อว่าการกลายพันธุ์นี้

ช่วยให้การแบ่งเซลล์ของไวรัสในตัวยุงลายสวนดีขึ้นและทำให้การแพร่เชื้อดีขึ้นกว่าเดิมด้วย นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าต้นตอการเริ่มต้นกลายพันธุ์ของเชื้อมาจากบริเวณแถบประเทศยูกานดา (Cherian SS *et al.* 2009) เนื่องจากพบไวรัสสายพันธุ์ ECSA ดั้งเดิมอยู่ที่นี่ (common ancestral strain) และค้นพบในเวลาใกล้เคียงกับการระบาดของโรคที่ปะทุขึ้นที่ประเทศเคนยาในปีค.ศ. 2004 (Hapuarachchi HC *et al.* 2010) ซึ่งเชื่อว่าไวรัสสายพันธุ์ดั้งเดิมที่พบนี้คือต้นตอของเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาสายพันธุ์ ECSA ที่กลายพันธุ์จึงเรียกสายพันธุ์นี้ว่า wild-type for E1-A226 mutation เชื้อดั้งเดิมนี้ทำให้เกิดการระบาดขึ้นที่ประเทศเคนยาก่อนและลุกลามออกสู่เกาะต่างๆ ในมหาสุทรอินเดีย เช่น โคโมรอส และเซเชลลส์ (Seychelles) ในปีค.ศ. 2005 ซึ่งในขณะนั้นมียุงลายบ้านเป็นพาหะหลักเช่นเดิม ต่อจากนั้นการระบาดก็กระจายเข้าสู่เกาะ La Re´union และมอริเตียสในปีเดียวกัน ซึ่งในช่วงแรกๆ ไวรัสยังเป็นสายพันธุ์ wild-type for E1-A226 mutation แต่ต่อมาพบว่าเชื้อที่ตรวจพบได้กลายพันธุ์จาก wild-type for E1-A226 mutation ไปเป็น E1-226V และยุงลายสวนได้ยกฐานะขึ้นเป็นพาหะหลักแทนซึ่งในเกาะทั้ง 2 นี้มียุงลายสวนเป็นยุงพื้นฐานหลักที่พบได้ทั่วไปในพื้นที่ของเกาะ ทำให้นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าการที่เชื้อต้องเปลี่ยนพาหะจากยุงลายบ้านมาเป็นยุงลายสวนทำให้เชื้อเกิดการกลายพันธุ์ขึ้น ซึ่งเชื่อว่าอาจเกิดจากกระบวนการปรับตัวของยุงลายสวนในเกาะทั้งสองนี้ในการยินยอมรับเชื้อไวรัสให้เข้ามาเจริญในตัวยุงและในการพัฒนาตัวเองของยุงลายสวนเพื่อเปลี่ยนตัวเองให้เป็นพาหะหลักนั่นเองทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อขึ้น จึงทำให้เกิดการระบาดอย่างผิดปกติเกิดขึ้นแบบเป็นกลุ่มก้อนติดเชื้อรวดเร็วและทวีความรุนแรงของอาการของโรคขึ้นด้วย (Vazeille M *et al.* 2007) และสายพันธุ์ ECSA กลายพันธุ์ใหม่นี้เอง (E1-226V) ที่ทำให้เกิดการระบาดใหญ่ในประเทศไทยและทั่วโลกตามมา จากนั้นการระบาดของเชื้อกลายพันธุ์ชนิดใหม่นี้ก็เกิดขึ้นในประเทศอินเดีย ศรีลังกา จนกระทั่งเคลื่อนตัวมาถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ในที่สุด สำหรับประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่เกี่ยวข้องกับเชื้อไวรัสสายพันธุ์แอฟริกันนั้น เมื่อปี ค.ศ. 1998 ประเทศมาเลเซียเคยมีการระบาดของโรคชิคุนกุนยาที่รัฐสลังงอ ซึ่งในครั้งนั้นพบว่าเชื้อสาเหตุเป็นทั้งสายพันธุ์เอเชีย และสายพันธุ์แอฟริกา (ECSA) ร่วมกันในครั้งนั้นมีผู้ป่วยเพียง 51 รายเท่านั้น แต่ในเดือนมีนาคม-เมษายน ปีค.ศ. 2006 ได้เกิดการระบาดขึ้นอีกครั้งซึ่งครั้งนี้มีผู้ป่วยมากกว่า 200 ราย แต่เกิดจากสายพันธุ์เอเชีย และเกิดการระบาดในเวลาใกล้เคียงกันกับการระบาดที่เกาะ La Re´union และประเทศอินเดีย ต่อมาในเดือนธันวาคมได้เกิดการระบาดครั้งที่ 3 ในมาเลเซีย ปีค.ศ. 2006 ที่รัฐเปรัคซึ่งครั้งนี้เกิดจากเชื้อไวรัสสายพันธุ์ ECSA กลายพันธุ์จากการสอบสวนเชื้อพบว่าเกิดจากมีผู้ป่วยติดเชื้อไวรัส ECSA กลายพันธุ์ (E1-226V) จากประเทศอินเดีย (Sam IC *et al.* 2009) นำเข้ามาระบาดในประเทศมาเลเซียและพบว่าการติดเชื้อส่วนใหญ่เกิดในเขตชนบทและยุงพาหะหลักคือยุงลายสวน (Sam IC *et al.* 2009) การระบาดครั้งนี้ถือเป็นการเริ่มต้นการระบาดใหญ่ของเชื้อชิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันกลายพันธุ์ ECSA (E1-226V) ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้นั่นเอง ซึ่งต่อมาประเทศสิงคโปร์ก็เริ่มมีการระบาดตามมาในปีค.ศ.2008 โดยเชื้อชนิดเดียวกันกับอินเดีย มาเลเซีย

และศรีลังกา และต่อมาในเดือนกรกฎาคมในปีเดียวกันได้เกิดการระบาดอีกครั้งซึ่งคราวนี้เชื้อสาเหตุมี 2 สายพันธุ์เป็นเชื้อสายพันธุ์ wild-type ECSA (E1-A226) และเชื้อ ECSA กลายพันธุ์ (E1-226V) ซึ่งเชื่อกันว่าสายพันธุ์ wild-type ECSA (E1-A226) มียุงลายบ้านเป็นพาหะหลัก และนำโรคในเขตเมือง ส่วนสายพันธุ์ (E1-226V) มียุงลายสวนเป็นพาหะหลัก และระบาดในเขตชนบท (Hapuarachchi HC et al. 2010) สำหรับการระบาดใหญ่ในประเทศไทยในปีพ.ศ.2551-2552 จากการตรวจเชื้อโดย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหารฝ่ายสหรัฐ (AFRIMS) ได้รายงานผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการเป็นเชื้อ ECSA กลายพันธุ์ (E1-226V) เช่นกัน

ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาทางกีฏวิทยามีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมรายละเอียดองค์ความรู้ให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้เกี่ยวกับยุงพาหะของโรคชิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันกลายพันธุ์ เนื่องจากเชื้อโรคชนิดนี้ไม่เคยมีปรากฏในประเทศไทยมาก่อนถือเป็นโรคติดต่ออุบัติใหม่โรคหนึ่ง นอกจากนั้นยังมีวัตถุประสงค์เพื่อสามารถนำมา ใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษาโรคติดต่อนำโดยแมลงชนิดที่มีเชื้อก่อโรคเป็นเชื้อไวรัสชนิดอื่นๆ ในอนาคตต่อไป จากข้อมูลเบื้องต้นที่ได้มาจากสำนักระบาดวิทยาทำให้ทีมวิจัยทราบว่าหลังจากที่มีการยืนยันการติดเชื้อในผู้ป่วยจากโรงพยาบาลมายังพื้นที่แล้ว ทางพื้นที่จะใช้มาตรการควบคุมโรคทันทีเช่นเดียวกับการควบคุมโรคไข้เลือดออกคือมีการเข้าสอบสวนการติดเชื้อและพ่นหมอกควันหรือพ่นยูแอลวีเพื่อกำจัดยุงตัวเต็มวัยและลูกน้ำยุงที่บ้านผู้ป่วยและบ้านอื่นที่อยู่ในรัศมี 100 เมตร ซึ่งย่อมเป็นเรื่องยากจริงๆ ที่จะพบยุงติดเชื้อชิคุนกุนยาหลงเหลืออยู่ได้ แต่อย่างไรก็ตามโอกาสที่จะพบยุงติดเชื้ออาจพอมีบ้างหากการพ่นสารเคมีควบคุมยุงพาหะและการควบคุมลูกน้ำยุงมีจุดอ่อน เช่น การไม่ครอบคลุมครบถ้วน เครื่องพ่นไม่มีประสิทธิภาพสมบูรณ์ เป็นต้น นอกจากนั้นทีมวิจัยได้ตั้งสมมติฐานว่า อาจเป็นไปได้ที่โรคชิคุนกุนยาจะมีการถ่ายทอดเชื้อไวรัสจากแม่ยุงสู่รุ่นลูก (Transovarial transmission) ได้เช่นเดียวกันกับโรคไข้เลือดออก เนื่องจากเชื้อก่อโรคเป็นเชื้อไวรัส ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าเชื้อไวรัสมีขนาดเซลล์เล็กมากต้องเจริญเติบโตอยู่ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตอื่นๆ จึงจะมีชีวิตรอด ดังนั้นตัวมันเองจึงสามารถแทรกตัวเข้าไปอาศัยอยู่ในเซลล์ชนิดต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตอื่นได้ ซึ่งหากเชื้อสามารถถูกส่งผ่านไปที่ไข่ยุงได้โอกาสที่ทีมวิจัยจะพบยุงติดเชื้ออีกในพื้นที่ที่พ่นไปแล้วย่อมเป็นไปได้ ซึ่งความรู้ที่ได้จากการศึกษาทั้งหมดนี้จะมีประโยชน์ต่อไปในด้านการเฝ้าระวังโรค และการควบคุมพาหะนำโรคต่อไปได้อย่างถูกต้องถี่ถ้วนซึ่งน่าจะได้ผลดีกว่าการดำเนินมาตรการต่อโรคโดยใช้องค์ความรู้ที่ได้จากการค้นคว้าจากเอกสารวิชาการที่ประเทศอื่นๆ ได้ค้นพบไว้แต่เพียงอย่างเดียวโดยไม่ได้มีการศึกษาความจริงต่างๆ ของสิ่งที่เกิดขึ้นกับประเทศเราด้วยตัวเองอย่างครบถ้วนตามบริบทที่ควรจะเป็นในแต่ละเขตพื้นที่ซึ่งอาจแตกต่างกันได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาและค้นหาชนิดของยุงพาหะนำโรคชิคุนกุนยาของประเทศไทย

2. เพื่อพิสูจน์ว่าเชื้อไวรัสโรคชิคุนกุนยาสามารถถูกถ่ายทอดเชื้อจากแม่ยุงสู่รุ่นลูกได้หรือไม่ (Transovarial transmission)

3. เพื่อทราบพฤติกรรมเสี่ยงต่างๆ ของยุงพาหะนำโรคชิคุนกุนยาที่เกี่ยวข้องกับการแพร่โรค เช่น เป็นยุงแพร่โรคในบ้าน หรือเป็นยุงแพร่โรคนอกบ้าน เป็นต้น

รูปแบบการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงสำรวจ (Survey research) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ความรู้พื้นฐานต่างๆ เกี่ยวกับยุงพาหะนำโรคชิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันกลายพันธุ์ ได้แก่ ชนิดยุงพาหะ อัตราการติดเชื้อของยุงชนิดต่างๆ และพฤติกรรมเสี่ยงของยุงพาหะ เป็นต้น โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างยุงพาหะในหมู่บ้านที่เกิดการระบาดในพื้นที่ภาคใต้ โดยนำตัวอย่างยุงที่ได้ส่งตรวจเพื่อวินิจฉัยเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในตัวยุง และนำมาสรุปวิเคราะห์หาชนิดของยุงพาหะนำโรค และในด้านอื่นๆ

ขอบเขตการศึกษา

ดำเนินการในพื้นที่ภาคใต้ที่มีการระบาดของโรคไข้ปวดข้อยุงลายใน 6 จังหวัด คือ จังหวัดชุมพร ตรัง ประจวบคีรีขันธ์ ภูเก็ต สงขลา และสตูล จำนวนหมู่บ้านเลือกตามรายงานที่พบผู้ป่วยตามความเหมาะสม การเก็บตัวอย่างดำเนินการระหว่าง 1 ตุลาคม 2551 ถึง 31 ธันวาคม 2552

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

1. แบบบันทึกข้อมูล
2. คัพใส่ยุง (mosquito cup)
3. หลอดดูดยุง (sucking tube)
4. หลอดแก้วสำหรับบรรจุตัวอย่างยุง (test tube)
5. หลอดบดยุงสำหรับสกัด RNA (eppendorf tube)
6. ขวดน้ำพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างลูกน้ำ
7. ผ้ามุ้งสำหรับปิดปากคัพใส่ยุง หรือขวดลูกน้ำ
8. ที่ช้อนลูกน้ำ
9. หลอดดูดลูกน้ำ
10. ขันตักน้ำพลาสติก
11. กรวยพลาสติก
12. ยางรัดของ
13. กระดาษสติ๊กเกอร์เขียนฉลาก
14. ปากกากันน้ำ
15. แอลกอฮอล์ 95%
16. ตะเกียงแอลกอฮอล์
17. ปากคีบชนิดละเอียดไม่มีฟัน (fine forcep)
18. สำลี
19. เทปกาวพลาสติก
20. กล่องโฟมขนาดใหญ่ (สามารถบรรจุน้ำแข็งแห้งได้ 40 กิโลกรัมและมีช่องว่างเหลือสำหรับใส่คัพใส่ยุงและหลอดทดลองต่างๆ ได้อีกประมาณ 2 ลูกบาศก์ฟุตเป็นอย่างน้อย)
21. น้ำแข็งแห้ง
22. สวิงจับแมลง เส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว
23. อาหารปลาชนิดเม็ดเล็ก
24. ชุดตรวจหาเชื้อชิคุนกุนยา (QIAamp viral RNA mini kit (QIAGEN, Germany))

2. วิธีการศึกษา

1. เลือกพื้นที่ทำการศึกษาวิจัยแบบเฉพาะเจาะจงโดยเลือกพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคชิคุนกุนยาในพื้นที่ภาคใต้ขณะนั้นโดยประสานข้อมูลจากสำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข จำนวน 6 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดชุมพร ตรัง ประจวบคีรีขันธ์ ภูเก็ต สงขลา และสตูล โดยเน้นจับยุงบ้านผู้มีประวัติพบผู้ป่วยและบ้านข้างเคียงในรัศมี 100 เมตรรอบบ้านผู้ป่วย

2. ดำเนินการสำรวจและจับยุงในบ้าน (Indoors resting and host seeking mosquitoes) และบริเวณรอบบ้านผู้ป่วย (Outdoors resting and host seeking mosquitoes) และบ้านอื่นๆ ที่อยู่ใกล้กันภายในรัศมี 100 เมตรจากบ้านผู้ป่วย การจับยุงจะใช้สวิงโฉบตามจุดต่างๆ ภายในบ้าน โดยใช้คนโฉบ 2 คนใช้เวลาหลังละ 20 นาที ส่วนนอกบ้านใช้คนโฉบ 2 คนเช่นกันตามจุดที่พบยุงบินหรือเกาะพัก โดยใช้รัศมีสำรวจห่างจากตัวบ้านหลังละประมาณ 40 เมตร โดยเน้นสำรวจตามห้องน้ำที่อยู่นอกบ้าน ซอกมุมรอบนอกตัวบ้าน ตามพุ่มไม้ ในสวนยาง ในสวนผลไม้ และตามกอหญ้าต่างๆ ที่ขึ้นในบริเวณที่ๆ มีร่มเงาบังแดด (ยุงที่จับนอกบ้านจะไม่จับเวลาในการจับแต่จะสำรวจให้ครบรอบตัวบ้าน) พื้นที่ๆ อยู่ระหว่างบ้าน 2 หลังจะแบ่งครึ่งกันตรงกึ่งกลางเพื่อกำหนดว่าเป็นเขตของบ้านใด) ยุงที่โฉบได้ทุกชนิดทุกเพศจะถูกดูดออกจากสวิงโดยใช้หลอดดูดยุง แล้วนำไปใส่ในคัพใส่ยุงโดยแยกเป็นคัพในบ้านและคัพนอกบ้าน เขียนฉลากแหล่งที่เก็บให้ชัดเจนพร้อมทั้งเขียนรหัสหมายเลขติดไว้ข้างคัพ จากนั้นนำไปใส่ในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งแห้งเพื่อฆ่าให้ตายทันที ยุงที่ตายแล้วแต่ละคัพอาจนำมาเทใส่หลอดทดลอง (test tube) และย้ายฉลากมาติดที่หลอดทดลองนั้นแทนเพื่อเป็นการประหยัดพื้นที่ แล้วนำกลับไปแช่เย็นในกล่องโฟมดังเดิม (น้ำแข็งแห้ง 40 กิโลกรัมจะสามารถเก็บตัวอย่างยุงได้ 1 สัปดาห์) เมื่อไม่ต้องใช้งานกล่องโฟมแช่ยุงนานๆ ให้ปิดฝา และปิดผนึกด้วยเทปกาวพลาสติกให้มิดชิดเพื่อลดการระเหิดออกไปของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งทำให้เปลืองน้ำแข็งแห้ง (หากไม่ใช้น้ำแข็งแห้ง สามารถใช้ไนโตรเจนเหลวแทนได้แต่ต้องมีถังบรรจุแบบพิเศษ) เมื่อกลับมาถึงห้องปฏิบัติการให้รีบย้ายหลอดใส่ยุงจากกล่องโฟมไปใส่ในตู้เย็น −80 °C เพื่อเก็บรักษาตัวอย่างยุงอย่างปลอดภัยได้นานจนกว่าจะนำมาใช้งานต่อไป

3. การสำรวจและเก็บตัวอย่างลูกน้ำจะทำเช่นเดียวกันกับการสำรวจและจับยุงตัวเต็มวัย แต่ต่างกันที่การเก็บตัวอย่างลูกน้ำต้องเก็บแบบเป็นๆ โดยใช้อุปกรณ์คือที่ช้อนลูกน้ำ ขันตักน้ำพลาสติก กรวยพลาสติก และขวดน้ำดื่มพลาสติก แล้วใส่ทั้งลูกน้ำและน้ำในแหล่งเพาะพันธุ์นั้นๆ ลงไปในขวดเก็บลูกน้ำแยกเป็นภาชนะๆ โดยเขียนฉลากแหล่งที่เก็บให้ชัดเจนพร้อมทั้งเขียนรหัสหมายเลขขวด แล้วนำไปเลี้ยงต่อในห้องเลี้ยงยุงให้เจริญเป็นยุงตัวเต็มวัยแล้วจึงจะนำไปจำแนกชนิดต่อไปในภายหลัง สำหรับภาชนะบรรจุน้ำถาวรให้ใช้ที่ช้อนลูกน้ำช้อนลูกน้ำเอามาใส่ในขันน้ำที่เตรียมไว้ จากนั้นจึงค่อยๆ รินน้ำและลูกน้ำใส่ลงในขวดน้ำพลาสติกโดยใช้กรวยพลาสติกช่วย จากนั้นใช้ผ้ามุ้งที่ตัดเตรียมไว้ปิดแทนฝาขวดน้ำแล้วใช้ยางรัดให้แน่น (ควรให้อาหารปลาแก่ลูกน้ำขวดละ 3-10 เม็ดต่อวันตามความเหมาะสม) ในระหว่างปฏิบัติงานในพื้นที่หากมีดักแด้ยุงลอกคราบเป็นตัวเต็มวัยแล้วให้ใช้หลอดดูดยุงค่อยๆ

สอดเข้าไปดูดยุงในขวดออกมาใส่ในหลอดแก้ว อุดด้วยสำลี เขียนรหัสหมายเลข แล้วนำไปแช่เก็บไว้ในกล่องน้ำแข็งแห้งเพื่อเก็บรักษาตัวอย่างยุง

4. การวินิจฉัยชนิดยุง นำยุงแช่แข็งที่จับมาได้แต่ละคัพออกมาวินิจฉัยจำแนกสกุลและชนิดยุงอย่างรวดเร็ว (เพื่อป้องกันการเสื่อมสลายของเชื้อไวรัส) จากนั้นค่อยๆ คีบยุงชนิดเดียวกันทีละตัวเบาๆ (ระหว่างที่เคลื่อนย้ายให้ตรวจดูด้วยว่ามีขาของยุงตัวอื่นที่หลุดร่วงติดมากับยุงที่กำลังคีบหรือไม่ หากพบมีขาดังกล่าวปนมากับยุงที่คีบให้เขี่ยทิ้งไปเลยเพื่อป้องกันการปนเปื้อนเชื้อจากยุงชนิดอื่น (contaminate) และควรทำความสะอาดปากคีบทุกครั้งที่คีบยุงแต่ละตัวโดยการลนไฟแล้วเช็ดด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์โดยต้องเปลี่ยนสำลีที่ใช้ทำความสะอาดทุกครั้งด้วย) แล้วนำยุงไปใส่ในหลอด eppendorf tube หลอดละ 10 ตัว (pool ละ 10 ตัว) สำหรับเศษให้ใส่ในหลอดใหม่เลย นอกจากนั้นหากพบว่ายุงบางตัวมีเลือดตกค้างอยู่ในท้องให้แยกใส่หลอดอื่นและนำไปตรวจต่างหาก

5. การวินิจฉัยชนิดลูกน้ำ ลูกน้ำที่เก็บมาได้จะถูกนำไปเลี้ยงในห้องปฏิบัติการต่อให้เจริญเป็นยุงตัวเต็มวัย ให้อาหารลูกน้ำโดยใช้อาหารปลาแบบเม็ดวันละครั้งประมาณ 3-10 เม็ดขึ้นกับปริมาณลูกน้ำ เมื่อพบยุงเกิดขึ้นให้ใช้หลอดดูดยุงดูดออกจากขวดแล้วนำไปใส่คัพใส่ยุงแล้วนำไปแช่แข็งเพื่อรอการวินิจฉัยต่อไป (ขั้นตอนการวินิจฉัยและทำ pool หลอดละ 10 ตัวจะทำเหมือนกับยุงที่จับจากตัวเต็มวัยโดยตรง)

6. การตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุง ยุงที่จับมาได้จะนำมาวินิจฉัยชนิดยุงโดยใช้กุญแจแยกชนิดยุงของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร (AFRIMS) จากนั้นนำยุงที่วินิจฉัยแล้วมาใส่ในหลอดสำหรับบดยุงซึ่งยุงในแต่ละหลอดต้องมีคุณสมบัติเหมือนกันโดยใช้เงื่อนไขดังนี้ 1. ยุงชนิดเดียวกัน 2. เพศเดียวกัน 3. จังหวัดเดียวกัน 4. อายุของยุง (จับตอนเป็นยุงตัวเต็มวัย หรือจับตอนเป็นระยะลูกน้ำ) และ 5. ตำแหน่งที่จับจากบ้านเดียวกัน (ในบ้าน หรือนอกบ้าน) ใส่ยุงหลอดละไม่เกิน 10 ตัว (เรียกแต่ละหลอดว่า pool) ตัวที่เป็นเศษให้แยกใส่หลอดใหม่ จากนั้นนำไปบดเพื่อสกัดอาร์เอ็นเอของไวรัสโดยใช้ QIAamp viral RNA mini kit (QIAGEN, Germany) โดยทำตามขั้นตอนที่ผู้ผลิตแนะนำ สำหรับขั้นตอนในการตรวจสอบหาไวรัสโรคชิคุนกุนยาจะทำตามกระบวนการของ Parida et.al. (2007) ขั้นตอนมีดังนี้ คือ one-step reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) เราจะใช้ primer ของ CHIKV E1 gene [CHIK-F3 (ACGCAATTGAGC-GAAGCAC) (ตำแหน่งจีโนมที่ 10294-10312) และ CHIK-B3 (CTGAAGACATTGGCCCCAC) (ตำแหน่งจีโนมที่ 10,498-10480)] การเพิ่มจำนวน RNA ของไวรัสใน RT-PCR จะใช้ปริมาตรรวมทั้งหมดในกระบวนการ 25 µl โดยใช้ Superscript III one-step RT-PCR kit (Invitrogen, USA) ใช้ primer แต่ละตัวในปริมาณ 50 pmol (พิโคโมล) และใช้ RNA 2 µl อุณหภูมิที่ใช้ในรอบของ RT-PCR คือ 48°C เป็นเวลา 30 นาที และ 94°C เป็นเวลา 2 นาที ตามด้วย 35 cycle ที่ 94°C เป็นเวลา 1 นาที, 54°C เป็นเวลา 1 นาที และ 72°C เป็นเวลา 1 นาที และรอบสุดท้าย (a final extension cycle) ที่ 72°C เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำผลผลิตที่ได้จาก RT-PCR ไปตรวจหา RNA ของไวรัสต่อไปโดยใช้วิธี electrophoresis โดยใช้เจล 2% agarose gel. (Parida MM. 2007)

สถิติที่ใช้ในการศึกษา

ใช้สถิติเชิงพรรณนา และสถิติที่ใช้ในการประมาณค่าอัตราการติดเชื้อในยุงแบบการทดสอบเชิงกลุ่ม (group testing) ประมาณค่าอัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR; minimum infection rate) โดยใช้โปรแกรม PooledInfRate, version 4.0 (Centers for Disease Control and Prevention) อย่างไรก็ตามจะใช้ค่า **"อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์" (relative infection rate (%))** ประกอบการพิจารณาอัตราการติดเชื้อของยุงร่วมด้วย เนื่องจากยุงบางชนิดที่จับได้น้อยๆ แต่มีอัตราการติดเชื้อในตัวยุงสูงมากจนบางครั้งอาจไม่สามารถคำนวณค่าอัตราการติดเชื้อต่ำสุด (MIR) ได้ซึ่งจะเห็นในตารางผลการทดลองที่ค่า MIR มีค่าเป็น NA (not available) กรณีอย่างนี้ต้องถือว่ายุงชนิดนั้นมีอัตราการติดเชื้อสูงมากๆจนหาค่ามิได้ ดังนั้นจะต้องใช้ค่า "อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์" ร่วมพิจารณา

อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%) = (จำนวน pool ที่ให้ผลบวก / จำนวน pool ทั้งหมด) x 100

ผลการศึกษา

1. พื้นที่ดำเนินการศึกษาวิจัย

1.1 จังหวัดชุมพร ดำเนินการศึกษาที่

- หมู่ 11 ตำบลละแม อำเภอละแม จำนวนบ้านที่สำรวจ 4 หลัง (บ้านเลขที่ 10, 22, 25, 46)

1.2 จังหวัดตรัง ดำเนินการศึกษาที่

- หมู่ 7 ตำบลนาท่ามใต้ อำเภอเมือง จำนวนบ้านที่สำรวจ 1 หลัง (บ้านเลขที่ 23)

- ซอย 13 ถ.วิเศษกุล ตำบลทับเที่ยง อำเภอเมือง จำนวนบ้านที่สำรวจ 4 หลัง (บ้านเลขที่ 88, 88/7, 88/8, 90,)

- ถ.กันตัง-บางรัก ตำบลทับเที่ยง อำเภอเมือง จำนวนบ้านที่สำรวจ 1 หลัง (บ้านเลขที่ 328/4)

- หมู่ 2 ตำบลหนองตรุด อำเภอเมือง จำนวนบ้านที่สำรวจ 2 หลัง (บ้านเลขที่ 53, 53/1)

- หมู่ 2 ตำบลนาโต๊ะหมิง อำเภอเมือง จำนวนบ้านที่สำรวจ 1 หลัง (บ้านเลขที่ 131)

1.3 จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ดำเนินการศึกษาที่

- หมู่ 6 ตำบลคลองวาฬ อำเภอเมือง จำนวนบ้านที่สำรวจ 2 หลัง (บ้านเลขที่ 9/1 , 295)

1.4 จังหวัดภูเก็ต ดำเนินการศึกษาที่

- หมู่ 5 ตำบลกมลา อำเภอกระทู้ จำนวนบ้านที่สำรวจ 10 หลัง (บ้านเลขที่ 2/4, 40/15, 44/24, 44/24/1, 63/5, 64/3, 64/11, 64/12, 64/38, 77/3)

1.5 จังหวัดสงขลา ดำเนินการศึกษาที่

- หมู่ 1 ตำบลสะพานไม้แก่น อำเภอจะนะ จำนวนบ้านที่สำรวจ 1 หลัง (บ้านเลขที่ 67)

- หมู่ 7 ตำบลสะพานไม้แก่น อำเภอจะนะ จำนวนบ้านที่สำรวจ 1 หลัง (บ้านเลขที่ 72/5)

- หมู่ 5 ตำบลจะโหนง อำเภอจะนะ จำนวนบ้านที่สำรวจ 1 หลัง (บ้านเลขที่ 43)

1.6 จังหวัดสตูล ดำเนินการศึกษาที่

- หมู่ 3 ตำบลทุ่งนุ้ย อำเภอควนกาหลง จำนวนบ้านที่สำรวจ 2 หลัง (บ้านเลขที่ 87, 88) และโรงเรียนบ้านหัวกาหมิง

2. การสำรวจยุงตัวเต็มวัยและการตรวจหาเชื้อชิคุนกุนยาในยุงตัวเต็มวัย

ตารางที่ 1 ชนิดยุงตัวเต็มวัยที่จับได้จากบ้านผู้ป่วยและบ้านข้างเคียง และผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุงในแหล่งแพร่เชื้อ ในจังหวัดชุมพร

ชนิดยุง	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูล ที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูล ที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes aegypti	ผู้	6	6	-	2	2	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
	เมีย	4	4	-	2	2	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
Aedes albopictus	ผู้	31	-	31	5	-	5	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	21	-	21	5	-	5	1	-	1	-	20.00	-	44.56
Anopheles tessellatus	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	1	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Armigeres subalbatus	ผู้	5	-	5	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	6	-	6	2	-	2	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Culex quinquefas-ciatus	ผู้	14	9	5	4	3	1	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00
	เมีย	13	1	12	3	1	2	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00
Culex vishnui	ผู้	1	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lutzia fuscana	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	1	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00

ตารางที่ 2 ชนิดยุงตัวเต็มวัยที่จับได้จากบ้านผู้ป่วยและบ้านข้างเคียง และผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุงในแหล่งแพร่เชื้อ ในจังหวัดตรัง

ชนิดยุง	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes aegypti	ผู้	3	3	-	2	2	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
	เมีย	5	5	-	3	3	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
Aedes albopictus	ผู้	124	-	124	16	-	16	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	94	-	94	13	-	13	3	-	3	-	23.07	-	34.42
Armigeres (Leiseterior) sp.	ผู้	1	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Armigeres subalbatus	ผู้	15	-	15	4	-	4	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	9	-	9	4	-	4	00	-	0	-	-	-	0.00
Coquillettidia crassipes	ผู้	6	-	6	3	-	3	2	-	2	-	66.67	-	NA
	เมีย	3	1	2	3	1	2	1	0	1	0.00	50.00	0.00	333.33
Culex huchinsoni	ผู้	1	1	-	1	1	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
	เมีย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Culex quinquefas-ciatus	ผู้	46	8	38	12	5	7	3	1	2	20.00	28.57	47.29	62.22
	เมีย	28	7	21	12	6	6	1	0	1	0.00	16.67	0.00	33.00
Culex vishnui	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	1	1	-	1	1	-	1	1	-	100.0	-	NA	-
Lutzia fuscana	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	1	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Mansonia uniformis	ผู้	1	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	เมีย	1	-	1	1	-	1	1	-	1	-	100.0	-	NA

ตารางที่ 3 ชนิดยุงตัวเต็มวัยที่จับได้จากบ้านผู้ป่วยและบ้านข้างเคียง และผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุงในแหล่งแพร่เชื้อ ในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ชนิดยุง	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes aegypti	ผู้	1	1	-	1	1	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
	เมีย	1	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Aedes albopictus	ผู้	3	-	3	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	10	-	10	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Armigeres subalbatus	ผู้	18	-	18	2	-	2	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	17	-	17	2	-	2	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Culex quinquefas-ciatus	ผู้	1	1	-	1	1	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
	เมีย	8	7	1	3	2	1	1	1	-	50.00	-	121.41	-

ตารางที่ 4 ชนิดยุงตัวเต็มวัยที่จับได้จากบ้านผู้ป่วยและบ้านข้างเคียง และผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุงในแหล่งแพร่เชื้อ ในจังหวัดภูเก็ต

ชนิดยุง	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes aegypti	ผู้	13	13	-	6	6	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
	เมีย	7	7	-	5	5	-	2	2	-	-	-	299.15	-
Aedes albopictus	ผู้	14	-	14	2	-	2	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	22	1	21	6	1	5	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00
Armigeres subalbatus	ผู้	15	-	15	3	-	3	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	15	-	15	4	-	4	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Culex quinquefas-ciatus	ผู้	39	32	7	8	6	2	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00
	เมีย	62	51	11	13	11	2	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 5 ชนิดยุงตัวเต็มวัยที่จับได้จากบ้านผู้ป่วยและบ้านข้างเคียง และผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุงในแหล่งแพร่เชื้อ ในจังหวัดสงขลา

ชนิดยุง	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes aegypti	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	1	1	-	1	1	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
Aedes albopictus	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	54	-	54	6	-	6	1	-	1	-	16.67	-	18.59
Anopheles sinensis	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	1	1	-	1	1	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
Armigeres subalbatus	ผู้	1	-	-	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	3	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Culex quinquefas-ciatus	ผู้	8	5	3	3	2	1	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00
	เมีย	9	5	4	3	2	1	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00

ตารางที่ 6 ชนิดยุงตัวเต็มวัยที่จับได้จากบ้านผู้ป่วยและบ้านข้างเคียง และผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุงในแหล่งแพร่เชื้อ ในจังหวัดสตูล

ชนิดยุง	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes albopictus	ผู้	55	-	55	7	-	7	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	29	-	29	4	-	4	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Armigeres subalbatus	ผู้	7	-	7	2	-	2	1	-	1	-	50.00	-	130.20
	เมีย	5	-	5	3	-	3	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Coquillettidia crassipes	ผู้	2	-	2	2	-	2	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ชนิดยุง	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Culex quinquefasciatus	ผู้	1	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 7 ผลรวมยุงตัวเต็มวัยทุกชนิดที่จับได้จากบ้านผู้ป่วยและบ้านข้างเคียง และผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุงในแหล่งแพร่เชื้อ จาก 6 จังหวัด

ชนิดยุง	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes aegypti	ผู้	23	23	-	11	11	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
	เมีย	18	17	1	12	11	1	2	2	0	18.18	0.00	118.86	0.00
Aedes albopictus	ผู้	227	-	227	31	-	31	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	230	1	229	35	1	34	5	0	5	0.00	14.70	0.00	23.12
Anopheles sinensis	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	1	1	-	1	1	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
Anopheles tessellatus	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	1	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Armigeres (Leiseterior) sp.	ผู้	1	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Armigeres subalbatus	ผู้	61	-	61	13	-	13	1	-	1	-	7.69	-	15.97
	เมีย	55	-	55	16	-	16	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Coquillettidia crassipes	ผู้	8	-	8	5	-	5	2	-	2	-	40.00	-	304.81
	เมีย	3	1	2	3	1	2	1	0	1	0	50.00	0.00	NA

ชนิดยุง	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Culex huchinsoni	ผู้	1	1	-	1	1	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
	เมีย	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Culex quinquefasciatus	ผู้	109	55	54	29	17	12	3	1	2	5.88	16.67	17.41	35.01
	เมีย	120	71	49	34	22	12	2	1	1	4.54	8.33	13.83	19.16
Culex vishnui	ผู้	1	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	1	1	-	1	1	-	1	1	-	100.0	-	NA	-
Lutzia fuscana	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	2	-	2	2	-	2	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Mansonia uniformis	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	1	-	1	1	-	1	1	-	1	-	100	-	NA

3. การศึกษาการส่งผ่านเชื้อไวรัสจากแม่สู่ลูก

ตารางที่ 8 ชนิดลูกน้ำยุงที่จับได้จากบ้านผู้ป่วยและบ้านข้างเคียง และผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุงที่เกิดจากลูกน้ำในแหล่งแพร่เชื้อ ในจังหวัดชุมพร

ชนิดยุง (เลี้ยงจากลูกน้ำ)	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes aegypti	ผู้	2	2	-	1	1	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
	เมีย	4	4	-	1	1	-	0	0	-	0.00	-	0.00	-
Aedes albopictus	ผู้	22	1	21	7	1	6	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00
	เมีย	19	-	19	6	-	6	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Culex quinquefasciatus	ผู้	38	-	38	6	-	6	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	50	-	50	7	-	7	1	-	1	-	-	-	20.19

ชนิดยุง (เลี้ยงจากลูกน้ำ)	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Tripteroides sp.	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	4	-	4	1	-	1	1	-	1	-	100	-	NA

ตารางที่ 9 ชนิดลูกน้ำยุงที่จับได้จากบ้านผู้ป่วยและบ้านข้างเคียง และผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุงที่เกิดจากลูกน้ำในแหล่งแพร่เชื้อ ในจังหวัดตรัง

ชนิดยุง (เลี้ยงจากลูกน้ำ)	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes aegypti	ผู้	9	4	5	4	2	2	0	0	0	-	-	0.00	0.00
	เมีย	8	1	7	3	1	2	1	1	-	100.0	-	100.94	-
Aedes albopictus	ผู้	13	3	10	2	1	1	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00
	เมีย	19	9	10	3	1	2	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00
Culex quinquefasciatus	ผู้	25	-	25	4	-	4	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	10	-	10	2	-	2	0	-	0	-	0.00	-	0.00

ตารางที่ 10 ชนิดลูกน้ำยุงที่จับได้จากบ้านผู้ป่วยและบ้านข้างเคียง และผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุงที่เกิดจากลูกน้ำในแหล่งแพร่เชื้อ ในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ชนิดยุง (เลี้ยงจากลูกน้ำ)	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes aegypti	ผู้	33	-	33	4	-	4	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	23	-	23	4	-	4	0	-	0	-	0.00	-	0.00

ชนิดยุง (เลี้ยงจากลูกน้ำ)	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes albopictus	ผู้	3	-	3	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	3	-	3	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Culex quinquefasciatus	ผู้	1	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	3	-	3	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00

ตารางที่ 11 ชนิดลูกน้ำยุงที่จับได้จากบ้านผู้ป่วยและบ้านข้างเคียงและผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุงที่เกิดจากลูกน้ำในแหล่งแพร่เชื้อในจังหวัดสงขลา

ชนิดยุง (เลี้ยงจากลูกน้ำ)	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes albopictus	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	2	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
Culex brevipalpis	ผู้	8	-	8	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	13	-	13	2	-	2	2	-	2	-	100.0	-	NA

ตารางที่ 12 ชนิดลูกน้ำยุงที่จับได้จากบ้านผู้ป่วยและบ้านข้างเคียงและผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุงที่เกิดจากลูกน้ำในแหล่งแพร่เชื้อในจังหวัดสตูล

ชนิดยุง (เลี้ยงจากลูกน้ำ)	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes albopictus	ผู้	4	-	4	3	-	3	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	5	-	5	2	-	2	1	-	1	-	50.00	-	141.58
Culex quinquefasciatus	ผู้	2	-	2	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	1	-	1	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00

ตารางที่ 13 ผลรวมลูกน้ำยุงทุกชนิดที่จับได้จากบ้านผู้ป่วยและบ้านข้างเคียงและผลการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในยุงที่เกิดจากลูกน้ำในแหล่งแพร่เชื้อจาก 5 จังหวัด (ยกเว้นจังหวัดภูเก็ต)

ชนิดยุง (เลี้ยงจากลูกน้ำ)	เพศ	จำนวนยุง (ตัว)			จำนวนพูลที่ตรวจ (pool)			จำนวนพูลที่ให้ผลบวก (positive)			อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (%)		อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)	
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม pool	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวม Pos.	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน
Aedes aegypti	ผู้	44	6	38	9	3	6	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00
	เมีย	35	5	30	8	2	6	1	1	0	50	0.00	141.58	0.00
Aedes albopictus	ผู้	42	4	38	13	2	11	0	0	0	0.00	0.00	0.00	0.00
	เมีย	48	9	39	13	1	12	1	0	1	0	8.33	0.00	24.27
Culex brevipalpis	ผู้	8	-	8	1	-	1	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	13	-	13	2	-	2	2	-	2	-	100	-	NA
Culex quinquefasciatus	ผู้	66	-	66	12	-	12	0	-	0	-	0.00	-	0.00
	เมีย	64	-	64	11	-	11	1	-	1	-	9.09	-	15.88
Tripteroides sp.	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	4	-	4	1	-	1	1	-	1	-	100	-	NA

4. การศึกษาพฤติกรรมการหาเหยื่อ การเกาะพัก และแหล่งเพาะพันธุ์

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบจำนวนยุงตัวเต็มวัยที่จับได้ระหว่างในบ้านและนอกบ้าน และศักยภาพในการนำเชื้อไวรัสชิคุนกุนยา (ข้อมูล 6 จังหวัด)

ชนิดยุง	เพศ	จำนวนยุงที่จับ (ตัว)			ร้อยละของยุงที่จับ (%)		positive pools : total pools		อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์(%)	อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวมในบ้านและนอกบ้าน	รวมในบ้านและนอกบ้าน
Aedes aegypti	ผู้	23	23	0	100	0	(0 : 11)	(0 : 0)	0.00	0.00
	เมีย	18	17	1	94.44	5.56	(2 : 11)	(0 : 1)	16.67	112.32
Aedes albopictus	ผู้	227	0	227	0	100	(0 : 0)	(0 : 31)	0.000	0.00
	เมีย	230	1	229	0.43	99.57	(0 : 1)	(5 : 34)	14.29	23.02

ชนิดยุง	เพศ	จำนวนยุงที่จับ (ตัว)			ร้อยละของยุงที่จับ (%)		positive pools : total pools		อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์(%)	อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวมในบ้านและนอกบ้าน	รวมในบ้านและนอกบ้าน
Anopheles sinensis	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	1	1	0	100	0	(0 : 1)	(0 : 0)	0.00	0.00
Anopheles tessellatus	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	1	0	1	0	100	(0 : 0)	(0 : 1)	0.00	0.00
Armigeres (Leiseterior) sp.	ผู้	1	0	1	0	100	(0 : 0)	(0 : 1)	0.00	0.00
	เมีย	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Armigeres subalbatus	ผู้	61	0	61	0	100	(0 : 0)	(1 : 13)	7.69	15.97
	เมีย	55	0	55	0	100	(0 : 0)	(0 : 16)	0.00	0.00
Coquillettidia crassipes	ผู้	8	0	8	0	100	(0 : 0)	(2 : 5)	40.00	304.81
	เมีย	3	1	2	33.33	66.67	(0 : 1)	(1 : 2)	33.33	333.33
Culex huchinsoni	ผู้	1	1	0	100	0	(0 : 1)	(0 : 0)	0.00	0.00
	เมีย	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Culex quinquefasciatus	ผู้	109	55	54	50.46	49.54	(1 : 17)	(2 : 12)	10.34	26.91
	เมีย	120	71	49	59.17	40.83	(1 : 22)	(1 : 12)	5.88	15.91
Culex vishnui	ผู้	1	0	1	0	100	(0 : 0)	(0 : 1)	0.00	0.00
	เมีย	1	1	0	100	0	(1 : 1)	(0 : 0)	100.00	NA
Lutzia fuscana	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	2	0	2	0	100	(0 : 0)	(0 : 2)	0.00	0.00
Mansonia uniformis	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	1	0	1	0	100	(0 : 0)	(1 : 1)	100.00	NA

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบจำนวนลูกน้ำยุงที่จับได้ระหว่างในบ้านและนอกบ้าน และศักยภาพในการถ่ายทอดเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาจากแม่สู่ลูก (ข้อมูล 5 จังหวัด ยกเว้นจังหวัดภูเก็ต)

ชนิดยุง	เพศ	จำนวนยุงที่จับ (ตัว)			ร้อยละของยุงที่จับ (%)		positive pools : total pools		อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์(%)	อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR)
		รวม (ตัว)	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	ในบ้าน	นอกบ้าน	รวมในบ้านและนอกบ้าน	รวมในบ้านและนอกบ้าน
Aedes aegypti	ผู้	44	6	38	13.64	86.36	(0 : 3)	(0 : 6)	0.00	0.00
	เมีย	35	5	30	14.29	85.71	(1 : 2)	(0 : 6)	12.50	26.41
Aedes albopictus	ผู้	42	4	38	9.52	90.48	(0 : 2)	(0 : 11)	0.00	0.00
	เมีย	48	9	39	18.75	81.25	(0 : 1)	(1 : 12)	7.69	19.76
Culex brevipalpis	ผู้	8	0	8	0	100	(0 : 0)	(0 : 1)	0.00	0.00
	เมีย	13	0	13	0	100	(0 : 0)	(2 : 2)	100.00	NA
Culex quinquefasciatus	ผู้	66	0	66	0	100	(0 : 0)	(0 : 12)	0.00	0.00
	เมีย	64	0	64	0	100	(0 : 0)	(1 : 11)	9.09-	15.88
Tripteroides sp.	ผู้	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	เมีย	4	-	4	0	100	(0 : 0)	(1 : 1)	100.00-	NA

สรุปผลการศึกษา

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างยุงโดยใช้ข้อมูลยุงตัวเต็มวัยและลูกน้ำในพื้นที่แพร่เชื้อ 6 จังหวัดในภาคใต้พบยุงทั้งสิ้น 14 ชนิด เป็นยุงตัวเต็มวัย 12 ชนิดคือ *Aedes aegypti* (พบ 5 จังหวัด, 23♂, 18♀), *Aedes albopictus* (พบ 6 จังหวัด, 227♂, 230♀), *Anopheles sinensis* (พบ 1 จังหวัด, 0♂, 1♀), *Anopheles tessellatus* (พบ 1 จังหวัด, 0♂, 1♀), *Armigeres (Leiseterior) sp.* (พบ 1 จังหวัด, 1♂, 0♀), *Armigeres subalbatus* (พบ 6 จังหวัด, 61♂, 55♀), *Coquillettidia crassipes* (พบ 2 จังหวัด, 8♂, 3♀), *Culex huchinsoni* (พบ 1 จังหวัด, 1♂, 0♀), *Culex quinquefasciatus* (พบ 6 จังหวัด, 109♂, 120♀), *Culex vishnui* (พบ 2 จังหวัด, 1♂, 1♀), *Lutzia fuscana* (พบ 2 จังหวัด, 0♂, 2♀) และ *Mansonia uniformis* (พบ 1 จังหวัด, 0♂, 1♀) ยุงชนิดที่พบทั้ง 6 จังหวัดคือ *Aedes albopictus* (ตารางที่ 1-6)

สำหรับระยะลูกน้ำสำรวจและเก็บตัวอย่างได้ทั้งสิ้น 5 ชนิดคือ *Aedes aegypti* (พบ 3 จังหวัด,

44♂, 35♀), *Aedes albopictus* (พบ 5 จังหวัด, 42♂, 48♀), *Culex brevipalpis* (พบ 1 จังหวัด, 8♂, 13♀), *Culex quinquefasciatus* (พบ 4 จังหวัด, 66♂, 64♀) และ *Tripteroides sp.* (พบ 1 จังหวัด, 0♂, 4♀) (ตารางที่ 8-12)

1. ศักยภาพในการเป็นพาหะนำโรคชิคุนกุนยาของยุงเพศเมียแต่ละชนิด

การพิจารณาว่ายุงชนิดใดมีบทบาทในการเป็นพาหะนำโรคติดต่อมากน้อยเพียงใด จะดูจากสัดส่วนจำนวนยุงที่ติดเชื้อในพื้นที่นั้นเป็นสำคัญ เนื่องจากจำนวนยุงที่มีเชื้อมีความสำคัญต่อการเพิ่มจำนวนผู้ป่วย และการกระจายโรคให้ไกลออกไปจากจุดเริ่มต้นของโรค ในธรรมชาติมียุงหลากหลายชนิดมากมีทั้งพวกที่ชอบกัดกินเลือดคน ชอบเลือดสัตว์ ชอบอาศัยอยู่ในบ้าน และชอบอาศัยอยู่นอกบ้าน การตรวจหาการติดเชื้อไวรัสในยุงจึงเป็นเรื่องที่ยาก เนื่องจากโอกาสที่จะพบยุงติดเชื้อไม่ได้มีมากนัก ถ้าเปรียบเทียบจำนวนยุงที่ติดเชื้อกับจำนวนยุงทั้งหมดที่มีในธรรมชาติแล้วต้องถือว่ามีอัตราการติดเชื้อ (infection rate) ที่ต่ำ ดังนั้นการที่จะตรวจการติดเชื้อในยุงทีละตัวโดยวิธี PCR จะทำให้สูญเสียงบประมาณมาก เราจึงใช้วิธีการรวมยุงชนิดเดียวกัน เพศเดียวกัน เงื่อนไขเดียวกันไว้ในหลอดเดียวกัน หลอดละ 10 ตัว เพื่อตรวจหาเชื้อพร้อมกันทีเดียว เรียกแต่ละหลอดว่า pool (แต่ละหลอดจะใช้ยุงมากกว่า 10 ตัวก็ได้แต่ไม่ควรเกิน 25 ตัวเพราะจะแน่นเกินไป) สถิติที่ใช้ในการประมาณค่าอัตราการติดเชื้อในยุงที่ทำเป็นหลอด pool เหล่านี้มักนิยมใช้ค่าอัตราการติดเชื้อขั้นต่ำ (MIR: minimum infection rate) ซึ่งค่านี้สามารถคำนวณได้ทั้งกรณีจำนวนยุงในแต่ละ pool เท่ากันทุกหลอด หรือไม่เท่ากันทั้งหมด ซึ่งเกิดขึ้นได้ในกรณีมีเศษเหลือไม่ลงตัว หรือจับยุงบางชนิดได้น้อยไม่ครบตามจำนวนใน pool แต่มีเงื่อนไขอยู่ที่ในกรณีที่จับยุงได้น้อยมากๆ แต่ให้ผลตรวจเป็นบวก หรือทุก pool ให้ผลบวกทั้งหมด เช่น มีเพียงหลอดเดียวและมียุงตัวเดียว เป็นต้น ในกรณีนี้อัตราการติดเชื้อขั้นต่ำที่โปรแกรมคำนวณได้จะให้ผลเป็น NA (not available) ซึ่งหมายความว่ายุงชนิดนั้นมีอัตราการติดเชื้อสูงมากๆ จนไม่สามารถหาค่าได้ ซึ่งในกรณีนี้ให้ใช้ค่า "อัตราการติดเชื้อสัมพัทธ์ (relative infection rate (%))" มาช่วยพิจารณาด้วย ถึงแม้ค่านี้จะค่อนข้างหยาบแต่ก็พอช่วยในการเปรียบเทียบได้ (ตารางที่ 7 และ 14) ซึ่งทั้ง 2 ค่าจะมีความสอดคล้องกัน มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน จากการพิจารณาผลการตรวจหาเชื้อในตัวยุงที่จับจากระยะตัวเต็มวัย (เพศเมีย) พบว่ายุงที่มีศักยภาพในการเป็นพาหะนำโรคชิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันกลายพันธุ์ได้โดยเรียงจากยุงที่มีศักยภาพสูงสุดไปจนถึงต่ำสุดคือ

Mansonia uniformis (NA, 100%) = *Culex vishnui* (NA, 100%) > *Coquillettidia crassipes* (333.33, 33.33%) > *Aedes aegypti* (112.32, 16.67%) > *Aedes albopictus* (23.02, 14.29%) > *Culex quinquefasciatus* (15.91, 5.88%)(ตารางที่ 14)

ส่วนยุง *Armigeres subalbatus* ยังไม่แน่ชัดว่าควรอยู่ที่ลำดับก่อนหรือหลัง *Culex quinquefasciatus* เนื่องจากไม่สามารถจับยุงเพศเมียที่มีเชื้อได้แต่จากผลการตรวจหาเชื้อไวรัสในตัวยุงจากตารางที่ 7 และ 14 พอจะอนุมานได้ว่าน่าจะมีศักยภาพน้อยกว่า *Culex quinquefasciatus* และน่าจะสามารถเป็นพาหะนำโรคได้ เนื่องจากพบยุงเพศผู้ติดเชื้อด้วยแสดงว่ายุงชนิดนี้ยินยอมให้เชื้อไวรัสเจริญเติบโตในร่างกาย

ได้แน่นอนและนานพอที่จะถ่ายทอดเชื้อจากแม่ยุงสู่รุ่นลูกได้ ซึ่งยุงเพศผู้ที่จับได้และให้ผลบวกนี้ย่อมเป็นยุงรุ่นลูกอย่างแน่นอนเพราะยุงเพศผู้ไม่กินเลือดการติดเชื้อย่อมมาจากแม่ยุง

จากที่มีรายงานมากมายแสดงว่ายุงลายสวนเป็นพาหะหลักนำโรคชิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันกลายพันธุ์ในการระบาดที่ภาคใต้นั้น แท้ที่จริงแล้วยุงลายบ้านกลับมีศักยภาพในการนำโรคได้ดีกว่ายุงลายสวนเสียอีก มีหลายงานวิจัยที่มุ่งศึกษาเฉพาะยุงลายบ้านและยุงลายสวนเท่านั้น ซึ่งเมื่อเป็นเช่นนี้โอกาสที่จะพบว่ายุงลายสวนเป็นยุงพาหะหลักของโรคชิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันกลายพันธุ์นั้นย่อมเป็นไปได้ง่ายมากเพราะศึกษาเปรียบเทียบกันระหว่างยุงเพียง 2 ชนิดเท่านั้น แต่อย่างไรก็ตามไม่ควรลืมว่ายุงลายสวนนั้นมิใช่มีกระจายอยู่ทั่วไปทุกหนแห่งในประเทศไทย (มีมากเฉพาะทางภาคใต้เท่านั้น ซึ่งความจริงควรกล่าวว่า ยุงลายสวนเป็นยุงพาหะหลักเฉพาะภาคใต้) ไม่มีทางที่ยุงลายสวนจะเป็นพาหะหลักนำโรคชิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันกลายพันธุ์ในกรุงเทพได้ เนื่องจากในกรุงเทพไม่มียุงลายสวนมากมายขนาดนั้น ดังนั้นเป็นไปได้หรือไม่ว่าประเทศที่กล่าวอ้างว่ายุงลายสวนเป็นพาหะหลักของเชื้อชิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันกลายพันธุ์นั้นเป็นเรื่องบังเอิญและต้องยอมรับโดยปริยาย ยกตัวอย่างเช่นประเทศหนึ่งมียุงลายสวนมากมายเป็นยุงพื้นฐานและประเทศนี้มียุงลายบ้านน้อยมาก ประเทศนี้ก็จำเป็นต้องพบว่ายุงลายสวนนำโรคได้ดีกว่ายุงลายบ้านอย่างแน่นอน อย่างที่ทราบกันแล้วว่ายุงลายสวนจะต้องอาศัยอยู่นอกบ้านและต้องการสิ่งแวดล้อมที่เป็นสวนหรือป่าเพื่อใช้เป็นแหล่งหากินเป็นที่อยู่อาศัย และเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ ดังนั้นยุงลายสวนจึงสามารถเป็นยุงพาหะหลักได้เฉพาะพื้นที่บางแห่งของประเทศไทยเท่านั้น เช่น ในภาคใต้ของประเทศไทยพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นป่าเขา สวนยางพารา สวนปาล์มน้ำมัน และสวนผลไม้ เป็นต้น ซึ่งแหล่งเหล่านี้มีพื้นที่มากจนกระทั่งบางแห่งอยู่ชิดกับตัวเมืองก็มี ประกอบกับอาชีพเกษตรกรเป็นอาชีพหลักของภูมิภาคนี้จึงเป็นการส่งเสริมให้เกษตรกรกลุ่มเสี่ยงนี้มีโอกาสสัมผัสกับยุงลายสวนได้มากจึงทำให้ยุงลายสวนมีบทบาทในการแพร่โรคชิคุนกุนยามากตามไปด้วย แต่อย่างไรก็ตามยุงลายบ้านก็ยังคงมีบทบาทสำคัญในการแพร่เชื้อในบ้านเรือนและในเขตเมืองเหมือนเดิม แม้ว่าความหนาแน่นของยุงลายบ้านในภาคใต้จะน้อยกว่ายุงลายสวนก็ตาม แต่บทบาทในการนำโรคในสมาชิกครอบครัวที่อยู่กับบ้านไม่ได้ออกไปไหน เช่น เด็กเล็ก จะสามารถติดโรคชิคุนกุนยานี้ได้จากยุงลายบ้านที่ไปกัดกินเลือดสมาชิกในครอบครัวที่ออกไปทำงานนอกบ้าน ในสวน ในป่า แล้วกลับมาป่วยอยู่ที่บ้าน ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าในบ้านเรือนของมนุษย์จะมียุงลายบ้านอาศัยเป็นแหล่งหากินและอยู่อาศัยภายในบ้านเป็นหลัก ดังนั้นยุงเหล่านี้จะรอรับเชื้อชิคุนกุนยาอยู่ที่บ้านนั่นเอง หลังจากที่ดูดเลือดที่มีเชื้อเข้าไปแล้วต่อจากนั้นก็จะนำเชื้อไปแพร่ให้สมาชิกคนอื่นๆ ที่อาศัยอยู่ร่วมกันต่อไป ทำให้เกิดการติดเชื้อในเขตหมู่บ้านหรือเขตเมืองได้

ความจริงคุณสมบัติในการเป็นยุงพาหะต้องพิจารณาหลายอย่างมิใช่ดูเพียงอัตราการนำโรคเพียงอย่างเดียว ต้องพิจารณาจากสิ่งเหล่านี้ด้วย

1. ยุงต้องมีนิสัยชอบกินเลือดโฮสท์ที่เป็นโรคนั้น
2. ยุงชนิดที่เป็นพาหะควรมีปริมาณมากสอดคล้องกับลักษณะของการระบาดของโรค ตามปกติการระบาด

ของโรคมักเกิดขึ้นมากเป็นอัตราส่วนกับยุงที่เป็นพาหะ 3. สามารถตรวจพบเชื้อในตัวยุงพาหะในระยะที่มีการระบาดของโรค 4. ยุงต้องยินยอมให้เชื้อสาเหตุของโรคเจริญเติบโตหรือเพิ่มจำนวนอยู่ในตัวยุงได้จนครบวงจรเชื้อระยะติดต่อได้ และ 5. สามารถทดสอบได้ว่ายุงชนิดที่เป็นพาหะสามารถแพร่โรคไปติดคนอื่นหรือโฮสท์ใหม่ได้ เป็นต้น จะเห็นได้ว่าในภาคใต้คุณสมบัติทั้งหมดนี้มีอยู่ในยุงลายสวนทั้งสิ้น เนื่องจากสภาพสิ่งแวดล้อมต่างๆ ส่งเสริมให้ยุงลายสวนเจริญแพร่พันธุ์ได้ดีกว่ายุงลายบ้านและยุงชนิดอื่นๆ นั่นเอง

สำหรับยุงชนิดอื่นๆ นอกเหนือจากยุงลายบ้านและยุงลายสวนนี้ ถึงแม้ว่าจะมีอัตราการติดเชื้อสูงและรวมถึงยุงบางชนิดที่สามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัสจากแม่สู่ลูกได้ก็ตาม แต่ด้วยสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสมกับพวกมัน จึงทำให้สำรวจพบยุงเหล่านี้ในปริมาณน้อยจึงทำให้อาจไม่มีบทบาทในการแพร่โรคมากนัก นอกจากนั้นมียุงหลายชนิดที่ตรวจพบเชื้อก็จริงแต่กลับเป็นยุงที่มีนิสัยชอบกัดกินเลือดสัตว์ เช่น *Culex brevipalpis, Coquillettidia crassipes* และ *Tripteroides sp.* เป็นต้น ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่ายุงเหล่านี้อาจติดเชื้อมาจากสัตว์ แต่ก็มียุงบางชนิดที่สามารถกินทั้งเลือดคนและเลือดสัตว์ เช่น *Mansonia uniformis, Aedes albopictus, Culex vishnui* และ *Culex quinquefasciatus* เป็นต้น ยุงเหล่านี้อาจนำโรคจากคนไปแพร่ในสัตว์ได้ ดังนั้นเมื่อสัตว์ติดโรคด้วยจึงเป็นไปได้ที่โรคนี้อาจมีรังโรคอยู่ในสัตวได้ เช่น ลิง *(Macaca mulatta)* หนู นก และอาจเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังอื่นๆ ซึ่งยังไม่ทราบแน่ชัดว่ามีสัตว์อะไรอีกบ้าง (Higgs S. 2006) นอกจากนั้นองค์การอนามัยโลกได้กล่าวว่าถึงแม้ยุงลายบ้านและยุงลายสวนจะเป็นพาหะนำโรคที่สามารถทำให้เกิดการระบาดของโรคชิคุนกุนยาได้อย่างมากก็จริง แต่ก็พบว่ายังมียุงพาหะชนิดอื่นๆ ที่มีความเกี่ยวข้องกับการระบาดนั้นด้วย เช่น *Ae. furcifer-taylori group* และ *Ae. luteocephalus* เป็นต้น นอกจากนั้นยังกล่าวอีกว่าในแอฟริกามีวานรหลายชนิด สัตว์ฟันแทะ หรือนกต่างๆ ทำหน้าที่เป็นโฮสท์รังโรคอยู่ด้วย (WHO 2007) นั่นย่อมแสดงให้เห็นแล้วว่าโรคนี้อาจมียุงชนิดอื่นเป็นพาหะได้และอาจมีสัตว์รังโรคปะปนอยู่ในสิ่งแวดล้อมด้วย

2. การถ่ายทอดเชื้อไวรัสจากแม่สู่ลูก (Transovarial transmission)

การถ่ายทอดเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาจากแม่ยุงสู่ลูกโดยส่งผ่านทางไข่ยุงนั้นก่อนหน้านี้ไม่เคยมีรายงานมาก่อนเลยและได้มีการทดลองในห้องปฏิบัติการโดยใช้ทั้งยุงลายบ้านและยุงลายสวนพบว่าไม่มีการถ่ายทอดเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาจากแม่ยุงสู่ลูก (Mourya D.T.1987) แต่ในการสำรวจของทีมวิจัยพบว่ามีปรากฏการณ์ธรรมชาตินี้อย่างแน่นอน กล่าวคือ พบยุงเพศผู้ติดเชื้อ และลูกน้ำติดเชื้อ แม้ว่าจะไม่พบลูกน้ำยุงเพศผู้ติดเชื้อเลยก็ตาม แต่เพียงพบว่าระยะลูกน้ำติดเชื้อก็เพียงพอแล้วไม่ว่าจะเป็นยุงชนิดไหนก็ต้องถือว่ามีการถ่ายทอดเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาจากแม่ยุงสู่ลูกอย่างแน่นอน

อัตราการติดเชื้อของยุงเพศผู้แต่ละชนิด: (MIR, relative infection, rate จำนวนยุง) (ตารางที่ 7)

ในบ้าน

Culex quinquefasciatus (17.41, 5.88%, 55♂)

นอกบ้าน

Coquillettidia crassipes (304.81, 40%, 8♂) > *Culex quinquefasciatus* (35.01, 16.67%, 54♂) > *Armigeres subalbatus* (15.97, 7.69%, 61♂)

อัตราการติดเชื้อของลูกน้ำเพศผู้แต่ละชนิด: (MIR, relative infection rate, จำนวนยุง) (ตารางที่ 13)

ในบ้าน -

นอกบ้าน -

อัตราการติดเชื้อของลูกน้ำเพศเมียแต่ละชนิด: (MIR, relative infection rate, จำนวนยุง) (ตารางที่ 13)

ในบ้าน

Aedes aegypti (141.58, 50%, 5♀)

นอกบ้าน

Tripteroides sp.(NA, 100%, 4♀) = *Culex brevipalpis* (NA, 100%, 13♀) > *Aedes albopictus* (24.27, 8.33%, 39♀) > *Culex quinquefasciatus* (15.88, 9.09%, 64♀)

3. การแพร่โรคในบ้านและนอกบ้าน (พฤติกรรมของยุงพาหะ)

การเปรียบเทียบจำนวนยุงชนิดเดียวกันที่จับได้ในบ้านกับนอกบ้านจะทำให้รู้ว่ายุงแต่ละชนิดชอบหากินหรืออาศัยอยู่ในบ้านหรือนอกบ้าน หากยุงชนิดนั้นชอบหากินอยู่ในบ้านคนและถ้ายุงนั้นมีศักยภาพในการนำโรคได้สูงจะมีผลกระทบกับคนที่อาศัยในบ้านนั้นๆอย่างมาก แต่หากยุงพาหะนั้นชอบหากินและอาศัยอยู่นอกบ้านมากกว่าย่อมเป็นผลดีต่อคนที่อาศัยอยู่ในบ้านนั้นๆ เพราะอย่างน้อยก็ยังมีที่ปลอดภัยช่วยป้องกันไม่ให้ยุงกัดบ้าง และประโยชน์ที่ได้คือทำให้รู้ว่าต้องระวังป้องกันตัวเองไม่ให้ถูกยุงชนิดนั้นๆกัดอย่างไรจึงจะเหมาะสม ผลการตรวจพบเชื้อไวรัสซิคุนกุนยาที่แตกต่างกันในยุงแต่ละชนิด และจากการสืบค้นประวัติทางชีววิทยาของยุงแต่ละชนิดทำให้อนุมานได้ว่ายุงชนิดใดเป็นพาหะในบ้านหรือนอกบ้าน กล่าวคือ

อัตราการติดเชื้อของยุงเพศเมียแต่ละชนิด : (MIR, relative infection rate, จำนวนยุง) (ตารางที่ 7)

ในบ้าน

Culex vishnui (NA, 100%, 1♀) > *Aedes aegypti* (118.86, 18.18%, 17♀) > *Culex quinquefasciatus* (13.83, 4.54%, 71♀)

นอกบ้าน

Mansonia uniformis (NA, 100%, 1♀) > *Coquillettidia crassipes* (NA, 50%, 2♀) > *Aedes albopictus* (23.12, 14.70%, 229♀) > *Culex quinquefasciatus* (19.16, 8.33%, 49♀)

แสดงให้เห็นว่ายุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ชอบอาศัยและแพร่โรคอยู่ในบ้าน ส่วนยุงลายสวน (*Aedes albopictus*) ชอบอาศัยและแพร่โรคอยู่นอกบ้าน และยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus*) หากินทั้งในบ้านและนอกบ้านและมีโอกาสแพร่โรคสู่คนได้ทั้งในบ้านและนอกบ้าน

บทวิจารณ์

จากผลการศึกษาทั้งหมดทำให้ทราบเป็นที่แน่นอนแล้วว่าโรคซิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันกลายพันธุ์มีการถ่ายทอดเชื้อจากแม่ยุงสู่รุ่นลูกได้เหมือนโรคไข้เลือดออก และยุงพาหะหลักของโรคไม่น่าจะเป็นยุงลายสวนเพียงชนิดเดียวควรเพิ่มยุงลายบ้านเข้าไปด้วย เนื่องจากพบแล้วว่าแม้ตัวหมู่บ้านหรือชุมชนส่วนใหญ่ (ไม่นับตัวเมือง หรือตัวอำเภอ) จะถูกห้อมล้อมอยู่ในสภาพที่เป็นบ้านเล็กในป่าใหญ่มีสวนยางหนาทึบล้อมรอบก็ตาม แต่ที่นี่ก็ยังต้องถือว่าเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยและหากินของยุงลายบ้านถึงแม้จะมีอาณาเขตเพียงน้อยนิดก็ตาม ดังนั้นปริมาณยุงลายบ้าน ณ ถิ่นแห่งนี้ย่อมมีจำนวนน้อยเหลือเกินเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนยุงลายสวนที่อาศัยอยู่ล้อมรอบบริเวณ เวลามีเหตุการณ์โรคระบาดเกี่ยวกับยุงเกิดขึ้นไม่ว่าจะระดับเล็กหรือใหญ่เจ้าหน้าที่ควบคุมโรคก็จะมาพ่นสารเคมีที่ตัวหมู่บ้านหรือชุมชนก่อนเสมอเพราะผู้ป่วยต้องอาศัยอยู่กับบ้านครั้งนี้ก็เช่นกันยุงที่อยู่ในหมู่บ้านถูกพ่นสารเคมีอย่างเต็มที่หลายครั้งหลายหนจนยุงลายบ้านลดลงเหลือน้อยมากๆ แต่ด้วยจำนวนยุงอันน้อยนิดที่จับได้มานั้นทีมวิจัยก็ยังสามารถตรวจพบว่ามียุงลายบ้านที่มีเชื้อ

ไวรัสชิคุนกุนยาเหลืออดชีวิตอยู่ และพบว่าอัตราการติดเชื้อของพวกมันยังสูงกว่าในยุงลายสวนเสียอีก ขอให้ท่านผู้อ่านลองจินตนาการดูว่าหากเชื้อไวรัสนี้กระจายเข้าสู่ภูมิภาคอื่นๆ ของประเทศซึ่งเราต่างทราบกันดีว่าส่วนใหญ่เป็นเขตเมืองทั้งสิ้นและเป็นแหล่งของยุงลายบ้านอย่างแท้จริง สถานการณ์ระบาดคงจะยิ่งกระจายอย่างกว้างขวางและรุนแรงกว่าที่พบทางภาคใต้อย่างแน่นอน เพราะเมื่อเชื้อกระจายเข้าสู่เขตเมืองซึ่งประชาชนต่างไม่มีภูมิต้านทานสำหรับโรคนี้ และประชาชนส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในเขตเมืองทั้งสิ้นซึ่งอยู่กันค่อนข้างแออัดมากกว่าในเขตชนบทหรือนอกเมือง ในพื้นที่เขตเมืองยุงที่จะมีบทบาทในการแพร่เชื้อคือยุงลายบ้าน นอกจากนั้นยังเป็นแหล่งหากินหลักของยุงชนิดอื่นๆ ที่ตรวจพบเชื้อในงานวิจัยนี้ เช่น *Mansonia uniformis, Culex vishnui, Culex quinquefasciatus* และ *Armigeres subalbatus* ซึ่งองค์การอนามัยโลกได้กล่าวไว้ว่ายุงชนิดอื่นที่ตรวจพบเชื้ออาจมีส่วนช่วยทำให้สถานการณ์การระบาดซึ่งมีมากอยู่แล้วทวีความรุนแรงกว่าเดิมได้ แต่นับว่าโชคดีมากที่ในความเป็นจริงเหตุการณ์ระบาดใหญ่ที่เราเกรงกลัวนี้กลับไม่เกิดขึ้นตามที่ทำนายไว้เมื่อมีผู้ป่วยติดเชื้อจากภาคใต้ได้กระจายไปถึงภาคอื่นๆ แล้วก็ตามในช่วงหลังของปีพ.ศ. 2552 สาเหตุที่ไม่เกิดการระบาดใหญ่เนื่องมาจากการที่หน่วยงานราชการที่รับผิดชอบในงานป้องกันควบคุมโรคในพื้นที่นั้นๆ ได้ติดตามข่าวสารสถานการณ์ทางภาคใต้อย่างต่อเนื่องและทราบถึงความน่ากลัวของโรคนี้ว่ามีการติดเชื้อได้รวดเร็วมากและเชื้อไวรัสก่อโรคก็ใช้เวลาบ่มตัวในยุงพาหะสั้นกว่าโรคไข้เลือดออกมาก จึงมีการเตรียมการรับมือสถานการณ์ไว้ล่วงหน้าโดยมีการเฝ้าระวังโรคอย่างเข้มแข็ง การตระเตรียมการพ่นสารเคมีไว้อย่างจริงจัง จึงทำให้สามารถควบคุมโรคได้รวดเร็วทันเวลาก่อนที่โรคจะก่อตัวของเป็นกลุ่มก้อน (cluster) จนทำให้เกิดการระบาดอย่างกว้างขวางต่อไปได้

เมื่อพิจารณาเฉพาะยุงลายสวนกับยุงลายบ้านทีมวิจัยพบว่ายุงลายสวนชอบอาศัยอยู่แต่นอกบ้านเท่านั้นทำให้ยุงที่มีผลบวกอยู่นอกบ้านด้วยเช่นกัน นั่นหมายความว่ายุงลายสวนมีบทบาทในการแพร่โรคอยู่นอกบ้าน ส่วนยุงลายบ้านพบว่าตัวที่ติดเชื้อจะอยู่เฉพาะในบ้านเท่านั้น จากความรู้นี้เราสามารถนำไปปรับใช้กับโรคอื่นๆ ที่นำโดยยุงลายบ้านได้เช่นกัน กล่าวคือในแง่การควบคุมยุงลายบ้านเพื่อกวาดล้างโรคให้หมดไปไม่ว่าจะเป็นโรคชิคุนกุนยา โรคไข้เลือดออกหรือแม้กระทั่งโรคติดเชื้อไวรัสซิกาก็ตามเราต้องเน้นพ่นในบ้านให้ละเอียดครบถ้วนทั่วทุกห้องของทุกบ้านที่อยู่ในรัศมีที่ยุงลายบ้านที่ติดเชื้อจะกระจายไปถึง และถ้าต้องการกำจัดยุงลายสวนที่มีเชื้อต้องพ่นนอกบ้านให้ได้พื้นที่กว้างและลึกเข้าไปในแหล่งที่อยู่อาศัยของยุงลายสวนให้ได้มากพอจึงจะควบคุมโรคได้สำเร็จ การที่สามารถเก็บตัวอย่างยุงลายสวนได้มากทั้งๆ ที่ได้ผ่านการพ่นสารเคมีไปแล้ว 2-3 ครั้งเนื่องจากยุงลายสวนมีอาณาเขตที่อยู่อาศัยกว้างใหญ่ไพศาลมากการเข้าไปควบคุมยุงในสวนยางหรือป่าเขาลึกๆ เป็นไปได้ยาก ดังนั้นจึงไม่มีทางที่จะควบคุมได้หมด ยุงจึงสามารถเกิดขึ้นทดแทนได้ตลอดเวลา

อย่างไรก็ตามในการควบคุมยุงพาหะนำโรคทั้งระยะตัวเต็มวัยและระยะลูกน้ำคงต้องมีการประเมินผลว่ามีความบกพร่องหรือจุดอ่อนตรงไหนบ้าง ยุงทั้งหมดที่จับได้นี้อาจเป็นยุงรุ่นลูกหลานก็ได้แต่ติดเชื้อมาจากแม่ยุงทางการวางไข่ ซึ่งถ้าเป็นเช่นนี้จะมีความหมายว่าการควบคุมลูกน้ำอาจไม่ครบถ้วนทุกแหล่งเพาะพันธุ์ หรือหากยุงตัวเต็มวัยที่จับได้เป็นยุงที่รอดตายจากการพ่นสารเคมีก็แสดงว่าการพ่นอาจไม่มีประสิทธิภาพพอ

ซึ่งต้องตรวจสอบเครื่องพ่นดูว่าละอองสารเคมีใหญ่เกินมาตรฐานหรือไม่ สารเคมีมีคุณภาพหรือไม่ ยุงต้านทานสารเคมีหรือไม่ และสิ่งสุดท้ายที่สำคัญมากคือ เจ้าหน้าที่ปฏิบัติงานดำเนินการถูกต้องตามเทคนิคหรือไม่ สิ่งเหล่านี้สะท้อนให้เห็นว่าในการควบคุมโรคติดต่อที่นำโดยเชื้อไวรัสไม่ว่าจะเป็นโรคชิคุนกุนยา โรคไข้เลือดออก หรือแม้กระทั่งโรคติดเชื้อไวรัสซิกานั้นจะสำเร็จหรือไม่ก็ด้วยมาตรฐานทั้งหมดที่กล่าวมานี้นั่นเอง การที่พาหะนำโรคถูกควบคุมอย่างเต็มที่หลายครั้งหลายหนจนเข้าใจว่าทำดีที่สุดแล้ว แต่ในที่สุดโรคก็ยังไม่สงบและยังพบว่ามียุงพาหะที่ติดเชื้อหลงเหลืออยู่ในธรรมชาติอีก ต้องถือว่ายังทำได้ไม่ดีพอ ดังนั้นจึงจำเป็นเหลือเกินที่จะต้องมีการสุ่มประเมินผลการควบคุมพาหะนำโรคด้วยเพื่อให้เกิดความมั่นใจในมาตรการควบคุมโรคและเพื่อนำจุดอ่อนมาปรับปรุงแก้ไขให้เกิดความสำเร็จที่เชื่อถือได้ต่อไปในอนาคต

ส่วนการตรวจหาเชื้อไวรัสในตัวยุงนับว่ามีความยากอยู่มากเพราะส่วนใหญ่มักประสบปัญหาตรวจไม่พบเชื้อเลยหรือพบน้อยมากทั้งๆ ที่บางครั้งสามารถจับยุงได้มากมายก็ตามและโรคก็กำลังระบาดอย่างหนักอยู่แท้ๆ ยิ่งเป็นโรคติดต่ออุบัติใหม่ที่ยังไม่ทราบมาก่อนเลยว่ามียุงชนิดใดเป็นพาหะนำโรคที่เกิดใหม่นี้ยิ่งทำให้ยุ่งยากมากขึ้น สาเหตุที่ทำให้เป็นเช่นนี้คือ 1. การเสื่อมสลายอย่างรวดเร็วของเชื้อไวรัสเมื่อตัวอย่างยุงที่จับได้เกิดตายลงระหว่างทาง 2. ยุงพาหะโดยทั่วไปมักมีอัตราการติดเชื้อต่ำอยู่แล้วทำให้โอกาสพบยุงตัวที่มีเชื้อเป็นไปได้ยาก 3. จุดที่สุ่มจับยุงไม่สอดคล้องกับจุดที่ยุงมีเชื้ออาศัยอยู่ และ 4. ไม่ทราบยุงชนิดใดแน่เป็นยุงพาหะนำโรคทำให้ไม่ได้สนใจยุงนั้นๆ ปัญหาเหล่านี้ทำให้การศึกษาวิจัยไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร เช่น พบยุงที่ติดเชื้อมีน้อยกว่าความเป็นจริงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณยุงและต้องสูญเสียงบประมาณมากเกินไปโดยได้ผลบวกน้อยไม่คุ้มค่า นอกจากนี้หากผลการตรวจพบยุงมีเชื้อจำนวนน้อยเกินไปหรือไม่พบเลยซึ่งขัดกับความเป็นจริงของสถานการณ์ระบาดจะส่งผลให้การสรุปงานศึกษาวิจัยนั้นไม่หนักแน่น และอาจทำให้การสรุปผลผิดพลาดอีกด้วย ดังนั้นต้องวางแผนการจับยุงให้ดี เช่น จุดจับยุงต้องเป็นบ้านผู้ป่วยและสถานที่ใกล้เคียง ช่วงเวลาเข้าปฏิบัติงานต้องไม่เลยจากช่วงที่เชื้อยังมีอยู่ในตัวยุง และควรเป็นช่วงที่ผู้ป่วยยังมีเชื้อหมุนเวียนอยู่ในร่างกายจะดีมาก แต่หากไม่ทันช่วงนั้นจริงๆ ก็ไม่ควรให้ห่างเกิน 1 สัปดาห์

สำหรับตัวอย่างยุงในระยะลูกน้ำจำเป็นจะต้องนำมาเลี้ยงให้เป็นตัวเต็มวัยเสียก่อน เนื่องจากในน้ำที่ลูกน้ำอาศัยอยู่นั้นอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ หรือเศษซากอินทรียวัตถุอื่นๆ ซึ่งอาจรบกวนผลการตรวจได้ ความจำเป็นอีกประการหนึ่งคือ ช่วยให้การวินิจฉัยชนิดยุงเป็นไปได้ง่ายขึ้น เพราะการวินิจฉัยระยะลูกน้ำต้องใช้เวลาในการดูขนชนิดต่างๆ ของลูกน้ำนานพอสมควรและต้องครอบตัวลูกน้ำไม่ให้ดิ้นโดยใช้ cover glass อาจทำให้ตัวอย่างลูกน้ำมีโอกาสบาดเจ็บ ฉีกขาดเสียหายและอาจเกิดการปนเปื้อน หรืออาจทำให้ไวรัสสลายตัวไปก่อนหากลูกน้ำตายนานๆ จะทำให้สูญเสียข้อมูลไปเลยหากตัวอย่างเสียหายมากจนไม่สามารถวินิจฉัยชนิดได้ แม้ว่าจะตรวจพบเชื้อเป็นผลบวกก็ไม่มีประโยชน์ใดๆเพราะไม่ทราบชนิดของลูกน้ำนั้นเสียแล้ว

เหตุผลที่ทำให้ยุงชนิดหนึ่งสามารถนำโรคได้ดีที่สุดในพื้นที่นั้นๆ ได้แก่

1. ยุงต้องยินยอมรับเชื้อนั้นได้ดี (pathogen receptivity) โดยภูมิต้านทานของยุงต้องไม่ทำลายเชื้อนั้นและยินยอมให้เชื้อโรคเจริญได้ในร่างกายจนถึงระยะติดต่อได้ (สำหรับไวรัสต้องเจริญเป็นอนุภาค virion ที่สมบูรณ์) และหลังจากนั้นเชื้อต้องสามารถเคลื่อนตัวเข้าไปอาศัยอยู่ในต่อมน้ำลายของ

ยุงเพื่อแพร่โรคต่อไปได้ (ต่อมน้ำลายต้องยินยอมให้เชื้อเข้าไปได้) โดยยุงจะปล่อยเชื้อโรคปนไปกับน้ำลายของมันเวลากัดโฮสท์อื่นต่อไป

2. โอกาสพบยุงชนิดนั้นในพื้นที่มากน้อยเพียงใด (อาจหมายถึง จำนวนแหล่งเพาะพันธุ์ที่พบในพื้นที่นั้นๆ) ความจริงควรพบยุงชนิดนั้นมากเพียงพอเพราะการระบาดของโรค เช่น โรคไข้เลือดออก เป็นต้น จำนวนยุงพาหะมักสอดคล้องกับขนาดของการระบาด หรือมีความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกัน

3. (ถ้า)มีการถ่ายทอดเชื้อจากแม่สู่ลูก (Transovarial transmission) (สำหรับเชื้อไวรัส และเชื้อริคเก็ตเซีย) การที่แม่ยุงจะมีการกระบวนการถ่ายทอดเชื้อไวรัสไปสู่รุ่นลูกได้แม่ยุงชนิดนั้นๆ ต้องผ่านกระบวนการยอมรับให้เชื้อไวรัสเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ที่เซลล์ผนังกระเพาะอาหารด้านนอกของมันจนครบวงจรเสียก่อน เชื้อไวรัสที่เกิดใหม่เหล่านั้นจึงจะแพร่ออกไปสู่ระบบเลือดของยุงแล้วร่องลอยไปสู่อวัยวะภายในตามจุดต่างๆ ของยุงได้ทั่วร่างกาย เนื่องจากไวรัสเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมากจึงสามารถแทรกตัวเข้าไปอาศัยอยู่ในเซลล์ชนิดต่างๆ ได้ไม่ว่าจะเป็นเซลล์ไข่ยุงและรวมทั้งเซลล์ต่อมน้ำลายของยุงด้วย แม้ว่าองค์การอนามัยโลกจะกล่าวว่าการเกิด transovarial transmission เชื้อไวรัสสามารถเข้าไปอยู่ในเซลล์ไข่บางฟองทางรู micropile ของไข่ (WHO 2009) แต่การศึกษาเรื่องนี้ยังมีไม่มากนักย่อมเป็นไปได้ว่าพวกมันอาจสามารถแทรกตัวเข้าไปอยู่ในเซลล์ไข่ตั้งแต่ยังอยู่ในรังไข่แล้วก็ได้ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเชื้อไวรัสสามารถอาศัยอยู่ในตัวยุงจนทำให้เกิด transovarial transmission ได้ย่อมหมายความว่าภูมิต้านทานในตัวยุงไม่ทำอันตรายพวกมัน โอกาสที่ไวรัสจะเข้าไปอยู่ในเซลล์ต่อมน้ำลายยุงด้วยยิ่งมีความเป็นไปได้ (ไม่จำเป็นต้องมีปรากฏการณ์นี้ในเชื้อไวรัส หรือริคเก็ตเซียทุกชนิด)

สำหรับกรณีโรคชิคุนกุนยาเดิมทีเหล่านักวิทยาศาสตร์ที่ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับโรคนี้ต่างไม่เคยพบหลักฐานยืนยันได้เลยว่ายุงพาหะโรคชิคุนกุนยาสามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัสสาเหตุของโรคให้แก่รุ่นลูกได้ แต่สำหรับในการศึกษาครั้งนี้ทีมวิจัยมีหลักฐานการตรวจพบยุงตัวเต็มวัยเพศผู้ติดเชื้อไวรัสโรคชิคุนกุนยา และนอกจากนั้นยังมีหลักฐานการพบเชื้อในลูกน้ำยุงซึ่งก็คือยุงรุ่นลูกหลานทั้งเพศผู้และเพศเมียด้วย ยิ่งเป็นการยืนยันที่หนักแน่นยิ่งขึ้นไปอีกว่ายุงแต่ละชนิดเหล่านั้น มีศักยภาพในการเป็นพาหะนำโรคชิคุนกุนยาได้แน่นอน

4. ชนิดเหยื่อที่ยุงชอบ หากเป็นโรคของคน ถ้ายุงชนิดนั้นชอบกินเลือดคนมากโอกาสนำโรคมาสู่คนย่อมมีมาก แต่อย่างไรก็ตามหากเป็นยุงที่ชอบกินเลือดสัตว์แต่สามารถกินเลือดคนร่วมด้วย โอกาสนำโรคจากสัตว์มาสู่คนก็ย่อมมีหากสัตว์ชนิดนั้นเป็นรังโรคของคน โดยเฉพาะเมื่อสัตว์ที่ยุงชอบมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับคน เช่น เป็นสัตว์เลี้ยงตามบ้าน เป็นสัตว์เศรษฐกิจ เป็นสัตว์ที่อาศัยในสิ่งแวดล้อมใกล้คน หรือสัตว์ประเภทที่เข้ามาอาศัยและหากินใกล้หมู่บ้าน เป็นต้น ในกรณีนี้จะทำให้ยุงเหล่านี้มีความใกล้ชิดกับคนด้วยโอกาสที่ยุงจะนำเชื้อโรคในสัตว์รังโรคเหล่านั้นมาสู่คนก็ย่อมมีเช่นกัน ซึ่งในกรณีนี้โรคอาจวนเวียนอยู่ในชุมชนนั้นๆ เสมอและกลายเป็นโรคประจำถิ่นได้

ข้อเสนอแนะ

1. เมื่อมีโรคติดต่อนำโดยแมลงอุบัติใหม่ขึ้นเมื่อใดก็ตาม หากต้องมีการศึกษาหาองค์ความรู้ต่างๆ เกี่ยวกับโรคหรือตัวพาหะนำโรคที่มีบทบาทในการแพร่โรคของประเทศเราเอง ผู้วิจัยควรคำนึงเสมอว่าสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมือนกับประเทศอื่นชนิดยุงหรือสัตว์ข้อปล้องต่างๆ ของประเทศไทย

อาจสามารถนำโรคได้ทั้งสิ้น ซึ่งอาจมีความแตกต่างจากประเทศอื่นได้บ้างไม่มากก็น้อย ดังนั้นเวลาศึกษาองค์ความรู้ต่างๆ นั้นผู้วิจัยจะต้องมีความละเอียดรอบคอบและมีความมั่นใจในตัวเอง ต้องเผื่อใจไว้ด้วยว่าลักษณะของโรคหรือพาหะที่จะพัฒนาขึ้นมาใหม่นั้นไม่จำเป็นจะต้องเหมือนกับที่เกิดขึ้นในประเทศต่างๆ ทั้งหมด ในประเทศเราอาจมีชนิดยุงพาหะเปลี่ยนไปได้ หรือเชื้ออาจสามารถเข้าไปเจริญในเห็บ ไร แทนก็ได้ เพราะสิ่งแวดล้อมต่างๆ ไม่เหมือนกัน หากนักวิทยาศาสตร์ต่างเชื่อและทำตามองค์ความรู้เดิมๆ อยู่เสมอ องค์ความรู้ใหม่ก็จะไม่สามารถเกิดขึ้นได้ ยกตัวอย่างเช่น การค้นพบว่าเชื้อชิคุนกุนยาสายพันธุ์แอฟริกันที่เกิดการกลายพันธุ์จากสายพันธุ์ wild-type E1-A226 ไปเป็น E1-226V ที่เกาะ La Re´union และมอริเตียส และมียุงลายสวนเป็นสาเหตุแห่งการกลายพันธุ์ เป็นต้น และสำหรับการศึกษาในครั้งนี้หากไม่มีความสงสัยว่าอาจมียุงชนิดอื่นนำโรคได้นอกเหนือจากยุงลายบ้านและยุงลายสวน เราก็คงจะไม่ศึกษาจนพบความรู้ใหม่ และคงไม่กลัวไม่ระวังป้องกันยุงชนิดอื่นเหล่านั้นมากัดอย่างแน่นอน

2. ต่อไปควรศึกษาเกี่ยวกับการติดโรคในสัตว์และรังโรคในสัตว์ เนื่องจากมียุงหลายชนิดที่ชอบกินเลือดสัตว์แต่สามารถกินเลือดคนได้ด้วย ยุงอาจมีโอกาสนำโรคจากคนไปแพร่ให้สัตว์ซึ่งจะทำให้มีโอกาสเกิดรังโรคในสัตว์ได้ และในทางตรงข้ามยุงอาจนำโรคของสัตว์มาแพร่สู่คนได้เช่นกัน

3. ยุงชนิดอื่นๆที่ตรวจพบการติดเชื้อ โดยเฉพาะสกุลและชนิดที่พบว่ามีการติดเชื้อแบบส่งผ่านเชื้อจากแม่สู่ลูกได้ควรมีการพิสูจน์ความสามารถในการนำโรคไปสู่โฮสท์ตัวใหม่ให้ทราบผลแน่นอนว่าแพร่โรคได้ และอาจตรวจหาเชื้อโดยใช้เฉพาะต่อมน้ำลายเท่านั้น เพื่อจะได้มีการเฝ้าระวังและควบคุมยุงพาหะชนิดนั้นๆอย่างเป็นระบบต่อไป

4. หากพบมีเลือดตกค้างอยู่ในท้องยุงที่จับได้ควรตรวจว่ากินเลือดของคนหรือสัตว์อะไร ซึ่งจะทำให้ทราบว่ายุงชนิดนั้นๆ ชอบกินเลือดเหยื่อชนิดไหนและหากเป็นเลือดสัตว์ควรมีการเฝ้าระวังต่อไปเมื่อมีจำนวนสัตว์ชนิดนั้นๆ เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากหากสัตว์ชนิดนั้นมีความใกล้ชิดกับคนอาจเป็นสาเหตุทำให้คนติดเชื้อโรคได้หากสัตว์นั้นเป็นรังโรคชนิดที่ติดคนได้ ซึ่งเมื่อมีสัตว์มากโอกาสที่ยุงจะเจริญแพร่พันธุ์มากขึ้นตามไปด้วยก็มีมากทำให้มีโอกาสเสี่ยงในการนำเชื้อโรคที่อาศัยอยู่ในร่างกายสัตว์นำมาแพร่สู่คนได้มากขึ้น โดยเฉพาะยุงชนิดที่มีศักยภาพในการนำโรคสูงที่กินทั้งเลือดสัตว์และเลือดคน

5. ยุงทุกชนิดที่ตรวจพบเชื้อในตัวควรมีการศึกษาเป็นพิเศษว่า ขณะพบเชื้อยุงตัวนั้นมีอายุเท่าใด

6. ควรตรวจหาเชื้อไวรัสชนิดอื่นๆ ในยุงชนิดนั้นๆ ด้วย เพราะยุงอาจเป็นพาหะ 2 หรือ 3 โรคได้พร้อมๆ กันเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างโรคว่าสามารถเกิดการระบาดพร้อมกันได้หรือไม่ และหากมีความเป็นไปได้จริง ต่อไปจะได้วางแผนในการเฝ้าระวังป้องกันและควบคุมโรคได้อย่างรัดกุมต่อไป

7. ในการควบคุมการระบาดของโรคติดต่อที่นำโดยยุง ที่มีเชื้อไวรัสเป็นเชื้อก่อโรคไม่ควรถูกละเลยเรื่องการควบคุมระยะลูกน้ำโดยเฉพาะที่บ้านผู้ป่วยและบ้านที่อยู่ในรัศมีการบินของยุง โดยต้องควบคุมลูกน้ำทั้งในบ้านและนอกบ้านอย่างจริงจังและเชื่อถือได้ เช่น การใส่ทรายกำจัดลูกน้ำ แต่หากไม่ใช้ทรายกำจัดลูกน้ำหลังจากจัดการตัวลูกน้ำแล้วควรป้องกันไม่ให้แม่ยุงกลับมาวางไข่ได้อีก เช่น การหาผ้าขาวบาง/ผ้าพลาสติกมาผูกปิดปากโอ่งหรือปากภาชนะมีน้ำขังที่ไม่มีฝาปิดป้องกันยุงลงไปไข่ เนื่องจากแม่ยุงที่มีเชื้อไวรัสอยู่ในตัวอาจแอบมาวางไข่ที่มีเชื้อทิ้งไว้ได้อีกหากไม่มีอะไรปกปิดภาชนะ

บทส่งท้าย

สุดท้ายนี้หากพวกเราเน้นควบคุมเฉพาะยุงตัวเต็มวัยโดยการพ่นแต่สารเคมีเพียงอย่างเดียว แต่ไม่จริงจังในการควบคุมลูกน้ำและไข่ยุงที่แม่ยุงแอบวางไข่ไว้ตามขยะหรือภาชนะอื่นๆ ที่อยู่นอกชายคาบ้านที่ไม่มีอะไรป้องกันน้ำฝนลงไปขังได้

ไม่ว่าสิ่งเหล่านี้จะอยู่ใกล้หรือไกลจากตัวบ้านมากๆ ก็ตามถ้ามีไข่ยุงมีเชื้อเกาะอยู่ภายในเวลาฝนตกไข่พวกนี้จะฟักและเจริญขึ้นเป็นยุงที่มีเชื้อซึ่งสามารถแพร่เชื้อต่อไปได้ทันที ดังนั้นโรคไวรัสที่เราควบคุมอาจไม่มีวันหมดไปจากพื้นที่เลยก็ได้เพราะมีตัวตายตัวแทนอยู่เสมอนั่นเอง วันดีคืนดีก็จะมีผู้ป่วยรายใหม่เกิดขึ้นมาอีกหรืออาจแพร่กระจายไปสู่ประชาชน ลูกหลาน และญาติพี่น้องที่อาศัยอยู่ที่อื่นแต่มีความจำเป็นต้องมีการสัญจรเข้ามาในพื้นที่ได้ ทำให้วงจรการแพร่โรคไวรัสเหล่านี้กระจายไปแห่งอื่นต่อไปอย่างไม่มีที่สิ้นสุด

กิตติกรรมประกาศ

คณะวิจัยขอกราบขอบพระคุณอาจารย์สุรภี อนันตปรีชา ผู้เชี่ยวชาญด้านไวรัสระบบไหลเวียนโลหิต ข้าราชการบำนาญ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่ได้ให้องค์ความรู้และคำแนะนำเกี่ยวกับวิธีการตรวจหาเชื้อไวรัสชิคุนกุนยาในตัวยุง อีกทั้งขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มกีฏวิทยาและควบคุมแมลงนำโรคและกลุ่มเฝ้าระวังโรคและพฤติกรรมสุขภาพ สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข เป็นอย่างสูงที่ได้ช่วยสนับสนุนในการเก็บตัวอย่างยุงและลูกน้ำในพื้นที่วิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Cherian SS, Walimbe AM, Jadhav SM, Gandhe SS, Hundekar SL, Mishra AC, Arankalle VA. 2009. Evolutionary rates and timescale comparison of Chikungunya viruses inferred from the whole genome/E1 gene with special reference to the 2005-07 outbreak in the Indian subcontinent. Infect Genet Evol. 9:16–23.

2. Hapuarachchi HC, Bandara KB, Sumanadasa SD, Hapugoda MD, Lai YL, Lee KS, et al. 2010. Re-emergence of Chikungunya virus in South-east Asia: virological evidence from Sri Lanka and Singapore. J Gen Virol. 91:1067–76.

3. Higgs S. The 2005-2006 chikungunya epidemic in the Indian Ocean. Vector Borne Zoonotic Dis 2006; 6:115-16.

4. Hoarau JJ, Jaffar Bandjee MC, Krejbich Trotot P, Das T, Li-Pat-Yuen G, Dassa B. 2010. Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. J Immunol. 184:5914–27.

5. Mourya D.T. 1987. Absence of transovarial transmission of Chikungunya virus in Aedes aegypti & Ae. albopictus mosquitoes. Indian J Med Res 85, May 1987, pp 593-595.

6. Parida MM, Santhosh SR, Dash PK, et al. Rapid and real-time detection of Chikungunya virus by reverse transcription locp-mediated isothermal amplification assay. J Clin Microbio12007; 45: 351-7.

7. Sam IC, Chan YF, Chan SY, Loong SK, Chin HK, Hooi PS, et al. 2009. Chikungunya virus of Asian and Central/East African genotypes in Malaysia. J Clin Virol. 46:180–3.

8. Schuffenecker I, Iteman I, Michault A, Murri S, Frangeul L, Vaney MC. 2006. Genome microevolution of chikungunya viruses causing the Indian Ocean outbreak. PLoS Med. 3:e263.

9. Sudeep AB, Parashar D. 2008. Chikungunya: an overview. J Biosci. 33:443–9.

10. Theamboonlers A, Rianthavorn P, Praianantathavorn K, Wuttirattanakowit N, Poovorawan Y. 2009. Clinical and molecular characterization of chikungunya virus in South Thailand. Jpn J Infect Dis. 62:303–5.

11. Tsetsarkin KA, Vanlandingham DL, McGee CE, Higgs S. 2007. A single mutation in chikungunya virus affects vector specificity and epidemic potential. PLoS Pathog. 3:e201.

12. Vazeille M, Moutailler S, Coudrier D, Rousseaux C, Khun H, Huerre M, et al. 2007. Two Chikungunya isolates from the outbreak of La Re´union (Indian Ocean) exhibit different patterns of infection in the mosquito, Aedes albopictus. PLoS One. 2:e1168.

13. World Health Organization. 2007. Outbreak and spread of Chikungunya. Weekly epidemiological record. No. 47, 82, 409–416.

14. World Health Organization. 2009. Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever. Revised and expanded edition. Regional Office for South-East Asia.

15. สำนักระบาดวิทยา. 2551. สรุปรายงานเฝ้าระวังโรค. รายงานประจำปี. หน้า. 122-123.

16. สำนักระบาดวิทยา. 2552. สรุปรายงานเฝ้าระวังโรค. รายงานประจำปี. หน้า. 34-35.Annual Epidemiological Surveillance Report 2009

วารสารโรคติดต่อนำโดยแมลง เป็นวารสารวิชาการ จัดพิมพ์เผยแพร่โดย สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข มีกำหนดออกปีละ 1 ฉบับ

Journal of the Vector – borne Diseases is an academic journal. The Journal published by Bureau of the Vector – borne Diseases, Department of Disease Control, Ministry of Public Health 1 issue/year

วัตถุประสงค์

1. เพื่อบริการทางวิชาการเกี่ยวกับโรคติดต่อนำโดยแมลง แก่เจ้าหน้าที่ นักวิชาการ และประชาชน
2. เป็นเวทีและสื่อกลางเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ

คณะบรรณาธิการ

นพ.นิพนธ์ ชินานนท์เวช	บรรณาธิการบริหาร
นพ.สมยศ กิตติมั่นคง	รองบรรณาธิการบริหาร
ดร.พงษ์วิทย์ บัวล้อมใบ	รองบรรณาธิการบริหาร
ดร.ปิติ มงคลางกูร	หัวหน้ากองบรรณาธิการ
ดร.คณัจฉรีย์ ธานิสพงษ์	กองบรรณาธิการ
รุ่งนิรันดร์ สุขอร่าม	กองบรรณาธิการ

คณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ

ศ.ดร.วีรภาพ เจริญวิริยะภาพ
นพ.วิชัย สติมัย
ดร.คนึงนิจ คงพ่วง

ฝ่ายบริหารจัดการ

นราพร เขื่อนยัง	ผู้จัดการ
วิริยะ รูปสม	รองผู้จัดการ
อุษา บุญบัวทอง	ผู้ช่วยผู้จัดการ

กราฟฟิกดีไซน์เนอร์

วีรพัฒน์ พลอยมอญ	กราฟฟิคดีไซน์เนอร์
ชิราวุธ ศรีคราม	ผู้ช่วยกราฟฟิคดีไซน์เนอร์
ภานุวัฒน์ ดีฤทธิ์	ผู้ช่วยกราฟฟิคดีไซน์เนอร์

สำนักงาน

สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข
ถ.ติวานนท์ ตำบลตลาดขวัญ จังหวัดนนทบุรี 11000
โทรศัพท์ / โทรสาร ๐ ๒๕๙๐ ๓๑๓๐
เว็บไซต์ http://www.thaivbd.org

Objectives

1. Service technical of the Vector Borne Diseases for staffs academics and public.
2. Be a forum and mediate publish academic papers.

Editorial Board

Dr. Nipon Chinanonwait	Executive Editor
Dr. Somyot Kittimunkong	Associate Executive Editor
Dr. Pongwit Bualombai	Associate Executive Editor
Dr. Piti Mongklangkoon	Chief of Associate Editor
Dr. Kanutcharee Thanispong	Chief of Associate Editor
Rungniran Sugaram	Associate Editor

Boards of Reviewer

Prof.Dr.Teeraphap Charoenviriyaphap
Dr. Wichai Satimai
Dr. Kanungnit Congpuong

Management

Naraporn Khuanyoung	Manager
Wiriya Rupsom	Associate Manager
Ousa Boonbuathong	Assistant Manager

Graphic Designer

Weraphat Ploymon	Graphic Designer
Shirawoot Srikram	Assistant Graphic Designer
Panuwat Deerit	Assistant Graphic Designer

Office

Bureau of Vector Borne Diseases,
Department of Disease Control,
Ministry of Public Health, Tiwanon Rd.,Nonthaburi 11000
Tel. ; Fax: 662 590 3130
Website: http://www.thaivbd.org

สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง
กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข
www.thaivbd.org