



# Mahidol University

*Wisdom of the Land*

## จุลินทรีย์ปราบยุง : ปัจจุบันและอนาคต

ศ.ดร.วัฒนาลัย ปานบ้านเกร็ด

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพและหน่วยความร่วมมือการวิจัย  
ด้านวิทยาศาสตร์ชีวภาพแห่งมหาวิทยาลัยมหิดลและมหาวิทยาลัยไอซาก้า  
(MU-OU:CRC) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

การประชุมวิชาการ “ความพร้อมสู่ AEC ด้วยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี”  
31 มี.ค. – 3 เม.ย. 2556 อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย ปทุมธานี



Mahidol University  
Wisdom of the Land

# บทเรียนและสิ่งใหม่ ๆ ได้จากมหาอุทกภัย





Mahidol University  
Wisdom of the Land



ที่อยู่ใหม่



ที่นอนใหม่



ของเล่นใหม่



ทางเดินใหม่



ชุดใหม่



พาหนะใหม่

www.angstoday.com



Mahidol University  
Wisdom of the Land

# ความรู้เกี่ยวกับยุง

ในโลกนี้มียุงมากกว่า 4,000 ชนิด ยุงหลายชนิดเป็นพาหะนำโรคมารัฐคน  
ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) และยุงลายสวน (*A. albopictus*) นำโรค  
ไข้เลือดออก

ยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus*) นำโรคพยาธิหัวใจสุนัข และโรค  
มาลาเรียในนก, ไข้สมองอักเสบ

ยุงก้นปล่อง (*Anopheles*) นำโรคไข้จับสั่น

ยุงเสือ (*Mansonia*) นำโรคเท้าช้าง



**Mahidol University**  
*Wisdom of the Land*



ยุงลาย  
(*Aedes*)



ยุงรำคาญ  
(*Culex*)



ยุงก้นปล่อง  
(*Anopheles*)



ยุงเสือ  
(*Mansonia*)



Mahidol University  
Wisdom of the Land

# ยุงที่พบบ่อยตามบ้านเรือน

## กลุ่มยุง *Culex*

*Culex quinquefasciatus* แหล่งน้ำนิ่งเน่าเสีย

*Cx. gelidus* หนองน้ำ น้ำขังตามทุ่ง

*Cx. tritaeniorhynchus* หนองน้ำ น้ำขังตามทุ่ง

→ ออกไข่เป็นแพบนผิวน้ำเน่า นิ่งขัง บริเวณที่ไม่มีแดดส่อง



Mahidol University  
*Wisdom of the Land*

# ยุงที่พบมากตามบ้านเรือน

## กลุ่มยุงลาย

ยุงลายออกไข่ตามแหล่งน้ำสะอาด เช่น ในตุ่มน้ำ น้ำในอ่างที่เลี้ยง  
พืชน้ำ, น้ำฝนที่ขังตามแหล่งต่าง ๆ (ยางรถยนต์, ภาชนะบรรจุน้ำต่าง ๆ)



Mahidol University  
Wisdom of the Land

## การเจริญเติบโตของยุง มี 4 ระยะ

**ไข่** วางไข่เป็นแพบนผิวน้ำ (ยุงรำคาญ) วางไข่ใบเดี่ยวบนผิวน้ำ (ยุงก้นปล่อง)  
วางไข่ใบเดี่ยวเหนือขอบน้ำ (ยุงลาย)

**ลูกน้ำ** มี 4 ระยะ วัย 1 - 4 ใช้ระยะเวลา 7 - 10 วัน

**ตัวไม่่ง** ระยะเวลา 2 - 3 วัน (เป็นระยะไม่กินอาหาร)

**ตัวเต็มวัย** ตัวผู้มีชีวิตอยู่ราว ๆ 7 วัน ตัวเมียอยู่ได้เป็นเดือน ยุงทั้ง 2 เพศ  
กินน้ำหวาน แต่ตัวเมียจะกินเลือดด้วย เพื่อการสร้างไข่







Mahidol University  
*Wisdom of the Land*

# การกำจัดขยะ

→ ระยะลูกน้ำ

ทรายอะเบท, จุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุง, ปลา

→ ระยะตัวเต็มวัย

ยาฉีดพ่น ฆ่ายุง

หมอกควัน (ไต่ยุงมากกว่าฆ่า)





Mahidol University  
Wisdom of the Land



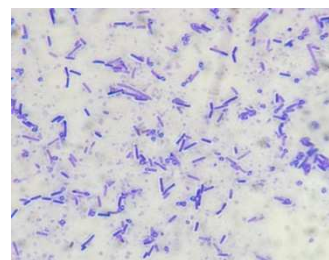
# จุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุง

มีทั้งชนิดที่เป็นแบคทีเรียและรา แต่ที่นิยมใช้กันมาก คือ แบคทีเรียกำจัดยุง ซึ่งมี  
อยู่ 2 ชนิด

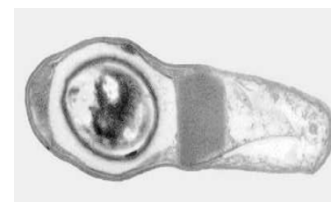
*B. sphaericus* BS1593 และ 2362 (ปี พ.ศ. 2550 ได้เปลี่ยนชื่อเป็น  
*Lysinibacillus sphaericus*)



Colonies



Cells & spores



ภาพขยายของเซลล์ที่สร้าง  
สปอร์โดยกล้องจุลทรรศน์  
อิเล็กตรอน

ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญ ยุงก้นปล่อง



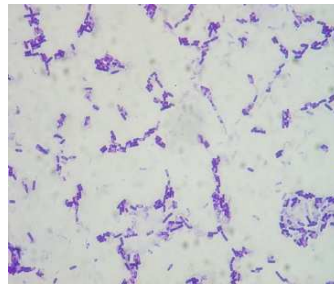
Mahidol University  
Wisdom of the Land



## *B.thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti)



Colonies



Cells & spores



ภาพขยายของเซลล์ที่สร้าง  
สปอร์โดยกล้องจุลทรรศน์  
อิเล็กตรอน

ฆ่าลูกน้ำยุงลาย ยุงเสือ และยุงรำคาญ







Mahidol University

*Wisdom of the Land*



# การดำเนินการเพื่อควบคุมอุทกภัยในระยะลูกน้ำ

-  งบประมาณสนับสนุนในการดำเนินการแบบครบวงจร
-  การเลือกจุลินทรีย์
-  การผลิตในระดับ large scale
-  วิธีการใช้อย่างมีประสิทธิภาพ



Mahidol University  
*Wisdom of the Land*

# งบประมาณสนับสนุน / หน่วยงานที่ร่วมดำเนินการ

- ➡ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ได้จัดสรรงบประมาณสนับสนุนในการผลิตเชื้อประมาณ 7,000 ลิตร พร้อมจัดบุคลากรคอยช่วยประสานงาน
- ➡ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ ม.มหิดล ให้เชื้อจุลินทรีย์ ช่วยดูแลการผลิต และควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์
- ➡ คณะเวชศาสตร์เขตร้อน ม.มหิดล ทดสอบฤทธิ์ของผลิตภัณฑ์ และการใช้ในภาคสนาม
- ➡ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์
- ➡ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข สาธิตการใช้ในภาคสนาม และประสานงานในชุมชนต่าง ๆ หน่วยงานต่าง ๆ รวมทั้งการออกปฏิบัติการใช้ในภาคสนาม
- ➡ กองควบคุมโรคติดต่อและแมลงนำโรค สำนักอนามัย กทม. การใช้ในภาคสนาม



Mahidol University  
Wisdom of the Land



## ➔ การเลือกจุลินทรีย์

### *B. sphaericus* 1593 (BS)

สภาพของเชื้อ เก็บเป็น stock culture ที่  $-80^{\circ}\text{C}$  มาตั้งแต่ปี 1990 เชื้อนี้  
แยกจากลูกน้ำยุง จากอินโดนีเซีย และเป็นสายพันธุ์ที่ WHO แนะนำให้ใช้กำจัด  
ลูกน้ำยุงรำคาญ

(Prof. Singer จาก USA มอบให้แก่ ศ.ดร.สมศักดิ์ พันธุ์วัฒนา)

ข้อดี : ฆ่าลูกน้ำยุงรำคาญได้ดี ไม่ก่อโรค, สามารถอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นาน



Mahidol University  
*Wisdom of the Land*



## *B.thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti)

สายพันธุ์จาก Pasteur Institute

ข้อดี : เลี้ยงง่าย ฆ่าลูกน้ำยุงลายและยุงรำคาญได้ดี สร้างสารพิษหลายชนิด



Mahidol University

Wisdom of the Land



## ➔ การผลิตในระดับ large scale

### โรงงานที่ผลิต 3 โรงงาน

- โรงงานที่ 1 ผลิตเชื้อที่ใช้เป็น Probiotics ในอาหารสัตว์
- โรงงานที่ 2 ผลิตเชื้อ *B. thuringiensis* (Bt)
- โรงงานต้นแบบที่ KMUTT (ผลิต 1 lot ~1,000 ลิตร)





Mahidol University  
Wisdom of the Land



## ➔ ปัญหาการผลิตในระดับ large scale

1. สูตรอาหารที่จะใช้ในถังหมัก → ถูกและดี
  - ◆ สูตร 1  
Bt medium ไม่ดีมีน้ำตาลมาก Bs ไม่ใช้น้ำตาล
  - ◆ สูตร 2  
pH ขึ้นสูง เชื้อโตได้น้อย จำนวนสปอร์น้อย
2. ปัญหาการปนเปื้อนระหว่าง fermentation

“มีการปรับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และการปรับปรุงถังหมักของโรงงาน”



Mahidol University

*Wisdom of the Land*



## ➔ วิธีการใช้

- การซบฟองน้ำ (ช่วงต้น)
- การฉีดพ่นบริเวณแหล่งลูกน้ำ
- การใช้เชื้อผสม BS + Bti



Mahidol University  
*Wisdom of the Land*



## ผลการใช้ BS1593 และ BS+Bti ในภาคสนาม

- การทดลองที่ ม.มหิดล ศาลายา
- กระทรวงสาธารณสุข
- การทดลองที่ กทม. (หลายเขต)
- การทดลองที่ฟาร์มปศุสัตว์



Mahidol University

*Wisdom of the Land*



# การทดลองที่ ม.มหิดล ศาลายา

โดย

รศ.ดร. ชำนาญ อภิวัฒน์นคร

ภาควิชาภูมิวิทยาการแพทย์ คณะเวชศาสตร์เขตร้อน

มหาวิทยาลัยมหิดล

รศ.ดร.นฤมล โกมลมิศร์

ภาควิชาภูมิวิทยาการแพทย์ คณะเวชศาสตร์เขตร้อน

มหาวิทยาลัยมหิดล

และทีมงาน, คณะเวชศาสตร์เขตร้อน ม.มหิดล ใช้เชื้อ 2.4 ลิตร/100 m<sup>2</sup>







Mahidol University

Wisdom of the Land



Location	Area (m <sup>2</sup> )	No.dip points	parameters	Pre-treatment	Post-treatment		
					24 hr	48 hr	72 hr
บ่อบำบัด	50 x 60	8	Total (no./dip)	865 (36/dip)	105 (4.4/dip)	162 (6,8/dip)	217 (9/dip)
			No,L1-2	741	71	156	213
			No.L3-4	114	29	6	2
			No.pupa	10	5	0	2

ลูกน้ำวัย 1, 2 ลดลงเหลือ 10% ภายใน 24 ชม.

ลูกน้ำวัย 3, 4 ลดลงเหลือ 25% ภายใน 24 ชม. และที่ 72 ชม. มีลูกน้ำวัยนี้เพียง ~2%







Mahidol University

Wisdom of the Land



Location	Area (m <sup>2</sup> )	No.dip points	parameters	Pre-treatment	Post-treatment		
					24 hr	48 hr	72 hr
สระน้ำในสวนสมุนไพรม	5 x 4	2	Total (no./dip)	511 (85.2/dip)	5 (0.8/dip)	0 (0/dip)	
			No,L1-2	336	4	0	
			No.L3-4	175	0	0	
			No.pupa	0	1	0	

ลูกน้ำวัย 1, 2 ลดลงเหลือ 1% ภายใน 24 ชม. และหมดไปภายใน 48 ชม.

ลูกน้ำวัย 3, 4 หมดไปภายใน 24 ชม.





Mahidol University

Wisdom of the Land



Location	Area (m <sup>2</sup> )	No.dip points	parameters	Pre-treatment	Post-treatment		
					24 hr	48 hr	72 hr
ท่อระบายน้ำ หอ 10	5 x 4	7	Total (no./dip)	552 (26.3/dip)	284 13.5/dip)	154 (7.3/dip)	
			No,L1-2	245	74	142	177
			No.L3-4	122	11	4	8
			No.pupa	185	199	8	0

ลูกน้ำวัย 1, 2 ลดแล้ว 30% ภายใน 24 ชม.

ลูกน้ำวัย 3, 4 ลดเหลือ 9% ภายใน 24 ชม.

ประสิทธิภาพน้อย → สภาพน้ำไหล



**Mahidol University**  
*Wisdom of the Land*





Mahidol University  
Wisdom of the Land

## การทดสอบที่ฟาร์มปศุสัตว์ (ใช้ BS1593 ชนิดเดียว)

โรงเรือน	จำนวนลูกน้ำ				
	ก่อนพ่น	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
จุดที่ 1	172	2,609	600	130	312
จุดที่ 2	40	59	35	0	0
จุดที่ 3	218	0	0	0	0
จุดที่ 4	181	16	0	6	53
จุดที่ 5	13	0	4	0	37
จุดที่ 6	40	0	32	5	66
จุดที่ 7	218	23	4	96	181
จุดที่ 8	161	90	64	82	0

- หมายเหตุ :
1. ใช้สูตรเจือจาง BS 1 ส่วน น้ำ 9 ส่วน
  2. โรงเรือนมีการล้างพื้นและถ่ายเทน้ำสู่บ่อก๊าซชีวภาพ



Mahidol University  
Wisdom of the Land

## การทดสอบโดยเทศบาลนครปากเกร็ด ส.ค. – ก.ย. 55 (ใช้ BS ผสม Bti 1:1)

ชุมชน	ลูกน้ำ		ตัวมิ่ง	
	ก่อนพ่น	หลังพ่น	ก่อนพ่น	หลังพ่น
ลานทอง	1,759 (14/8)	4 (14/9)	262 (14/8)	38 (14/9)
คลองบางพูด	1,586 (16/8)	21 (18/9)	447 (16/8)	63 (18/9)
บางพูดสามัคคี	1,631 (20/8)	17 (28/8)	91 (20/8)	5 (28/2)

พ่นเชื้อ 2-3 ครั้ง



Mahidol University  
*Wisdom of the Land*



น้ำท่วมก่อให้เกิดความคิดใหม่ ๆ



Mahidol University

*Wisdom of the Land*

หรืออาจจะได้สัตว์เลื้อยตัวใหม่

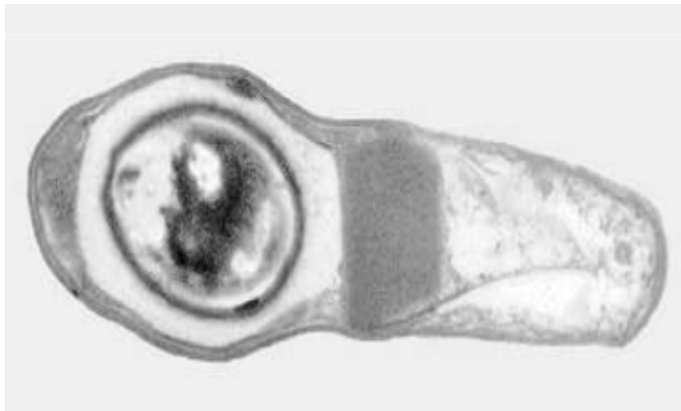






**Mahidol University**  
*Wisdom of the Land*

ทางด้านวิทยาศาสตร์ก็ได้ช่วยกันนำความรู้และผลักดันให้นำเข้ามาผลิตในระดับอุตสาหกรรมและนำมาใช้ประโยชน์



Spore และ crystal ของ BS



Spore และ crystal ของ Bti



Mahidol University  
*Wisdom of the Land*

## สถานการณ์ปัจจุบันในการผลิต BS, Bti

1. การเลี้ยงเชื้อ Bti ในระดับ large scale ทำได้ดีแต่ต้นทุนสูง เนื่องจากใช้ yeast extract ปริมาณมาก
2. การเลี้ยงเชื้อ BS ในระดับ large scale ยังได้จำนวน spores น้อย ( $10^6$ - $10^7$  spores/ml) ต้องปรับสูตรอาหารและสภาวะการเลี้ยงอีก
3. ผลิตภัณฑ์ยังอยู่ในรูปของเหลว มีน้ำหนักมาก ขนส่งไม่สะดวก
4. ผลิตภัณฑ์สามารถเก็บได้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาหลายเดือน
5. เริ่มมีผู้สนใจและมีหลายหน่วยงานเอาไปใช้และได้ผลดี
6. สามารถขึ้นทะเบียนเชื้อ Bti และผลิตจำหน่ายได้ ขณะที่เชื้อ BS อยู่ในระหว่างดำเนินการ



Mahidol University  
*Wisdom of the Land*

## ปัญหาการผลิต

- สูตรอาหารที่เหมาะสมในระดับอุตสาหกรรม  
c-, N-sources
- การรักษาระดับ pH ระหว่างการเลี้ยง
- การปนเปื้อนของเชื้ออื่น



Mahidol University  
*Wisdom of the Land*

# อนาคตของการใช้จุลินทรีย์ปราบลูกน้ำยุง

1. ความเป็นไปได้ในการผลิต - น่าจะเป็นไปได้เพราะ
  - ควบคุมยุงอย่างมีประสิทธิภาพและไม่มีผลข้างเคียง
  - มีความรู้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม
2. ควรมีการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์
  - การพัฒนาสูตรอาหาร/สภาวะการเลี้ยง
  - การพัฒนาผลิตภัณฑ์ รูปแบบต่าง ๆ /ภาชนะบรรจุให้เหมาะกับพื้นที่
  - การควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์
  - Stability ของผลิตภัณฑ์
3. ความเข้าใจของผู้ใช้/ลักษณะของพื้นที่
4. การติดตามการเกิดการตื้อของลูกน้ำยุงต่อเชื้อ



**Mahidol University**  
*Wisdom of the Land*

## ควรมีการพัฒนาการผลิตจุลินทรีย์ในระดับอุตสาหกรรม

- สายพันธุ์จุลินทรีย์ / การปรับปรุงสายพันธุ์
- Medium optimization
- Fermentation technology
- Bioprocess engineering / Downstream processing
- Product / quality assessment / Biosafety / stability
- Product development / Packaging



Mahidol University  
*Wisdom of the Land*

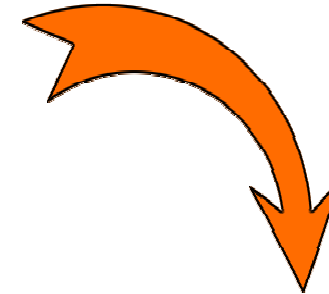
ความยากลำบากในการพ่น  
เชื้อให้ถึงตัวลูกน้ำยุง



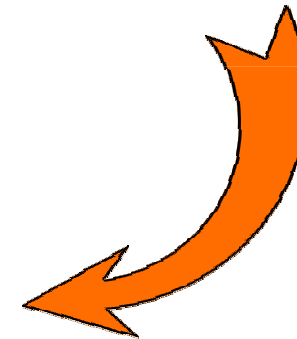


Mahidol University  
Wisdom of the Land

จากห้องปฏิบัติการ



อุตสาหกรรม



ใช้งานจริง (ภาคสนาม)

ไม่ง่าย → แต่ทำได้ และต้องได้รับความร่วมมือ  
จากบุคลากรหลายด้าน



**Mahidol University**  
*Wisdom of the Land*

# Acknowledgement

- สวทช. (ทุนสนับสนุนการผลิต)
- คณะเวชศาสตร์เขตร้อน ม.มหิดล
- เทศบาลปากเกร็ด
- กระทรวงสาธารณสุข
- สำนักงานมัย กทม.