การทดสอบยาเมโฟลควิน และอะโมไดอาควินในเชื้อไข้มาเลเรีย ชนิดพลาสโมเดียม ฟัลซิปารัม ด้วยวิธีไมโครศัลเจอร์

นางสาวมาลินี ฉัตรมงคลกุล

007394

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ.2525

ISBN 974-560-797-5

i 17031667

Micro-culture Test of *Plasmodium falciparum* with Mefloquine and Amodiaquine

Miss Malinee Chutmongkonkul

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Zoology

Graduate School

Chulalongkorn University

1982

ISBN 974-560-797-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การทดสอบยาเมโฟลควิน และอะโมไดอาควินในเชื้อไข้มาเลเรียชนิดพลาสโมเดียม ฟัลซิปารัม ด้วยวิธีไมโครดิลเจอร์
โดย	นางสาวมาลินี ฉัตรมงคลกุล
ภาควิชา	ชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจาารย์ สดศรี ไทยทอง

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุประดิษฐ์ บุนนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร.ม.ร.ว.พูนพิศ วรวุฒิ)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ สดศรี ไทยทอง)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อารมณ์ รัศมิทัต)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พ.ญ.ชาดา สืบหลินวงศ์)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การทดสอบยาเมโฟลควิน และอะโมไดอาควินในเชื้อไข้มาเลเรียชนิดพลาสโมเดียม ฟัลซิปารัมด้วยวิธีไมโครคัลเจอร์

ชื่อนิสิต นางสาวมาลินี ฉัตรมงคลกุล

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ สดศรี ไทยทอง

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2524

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของยาเมโฟลควิน และอะโมไดอาควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม จำนวน 11 ไอโซเลท และ 4 สายพันธุ์ ที่ได้จากประเทศต่าง ๆ คือ แกมเบีย (G_{112}) กัมพูชา (T_{17}) จีน (M_{21}) พม่า (T_{20}) ศรีลังกา (SL_3) อินโดนีเซีย (NF_{58}) ฮอนดูรัส (M_{23}) และ ไทย (K_1 K_{31} SK_{15} SK_{20} T_9C_4 T_9C_{16} T_9C_{89} และ T_9C_{96}) ด้วยวิธีไมโครคัลเจอร์ ความเข้มข้นของยาเมโฟลควินที่ใช้ทดสอบเท่ากับ 10^{-9}, 5×10^{-9}, 10^{-8}, 5×10^{-8} และ 10^{-7} M และความเข้มข้นของยาอะโมไดอาควินเท่ากับ 10^{-9}, 5×10^{-9}, 10^{-8}, 2.5×10^{-8} และ 5×10^{-8} M โดยพิจารณาผลจากความสามารถในการทนต่อยาของเชื้อมาเลเรียภายหลังที่ได้สัมผัสยาเป็นเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่ายาเมโฟลควินที่ระดับความเข้มข้น 5×10^{-8} M สามารถยับยั้งการเจริญอย่างสมบูรณ์ของเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท T_{20} ในขณะที่การเจริญของไอโซเลท และสายพันธุ์อื่น ๆ ถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-7} M และผลจากยาอะโมไดอาควินนั้นพบว่ามีความแตกต่างกันเล็กน้อยในระหว่าง 11 ไอโซเลท และ 4 สายพันธุ์ โดยพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 2.5×10^{-8} M มีผลยับยั้งการเจริญอย่างสมบูรณ์ของเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท SL_3, SK_{15}, T_{17}, และสายพันธุ์ T_9C_4 ในขณะที่การเจริญของไอโซเลท และสายพันธุ์อื่น ๆ ถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ที่ระดับความเข้มข้น 5×10^{-8} M

Thesis Title	Micro-culture Test of Plasmodium falciparum with mefloquine and amodiaquine
Name	Miss Malinee Chutmongkonkul
Thesis Advisor	Associate Professor Sodsri Thaithong
Department	Biology
Academic Year	1981

Abstract

In vitro micro-culture drug resistance tests of 11 isolates and 4 clones of Plasmodium falciparum from different endemic areas, Burma (T_{20}), Chaina (M_{21}), Gambia (G_{112}), Hondurus (M_{23}), Indonesia (NF_{58}), Kampuchea (T_{17}), Srilanka (SL_3), and Thailand (K_1, K_{31}, SK_{15}, SK_{20}, T_9C_4, T_9C_{16}, T_9C_{80} and T_9C_{96}) have been carried out. Two antimalarial drugs, mefloquine (concentration : 10^{-9}, 5×10^{-9}, 10^{-8}, 5×10^{-8} and 10^{-7} M) and amodiaquine (concentration : 10^{-9}, 5×10^{-9}, 10^{-8}, 2.5×10^{-8} and 5×10^{-8} M) were tested and judged by concentration of drug tolerated after 48 and 72 hours. For the mefloquine, on the whole there was only one isolate, T_{20}, was completely inhibited by a concentration of 5×10^{-8} M, while all the others were completely inhibited by 10^{-7} M. On the other hand, there was relatively little variation in resistance to amodiaquine, SL_3, SK_{15}, T_{17} and T_9C_4 were completely ihnibited by a concentration of 2.5×10^{-8} M while the others were completely inhibited by 5×10^{-8} M.

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จเรียบร้อยด้วยความกรุณาของ รองศาสตราจารย์ สดศรี ไทยทอง อาจารย์ที่ปรึกษาและควบคุมการวิจัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำแก้ไขข้อบกพร่อง ตั้งแต่แรกเริ่มจนประสบความสำเร็จ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ด้วย และกราบขอบพระคุณ

ศาสตราจารย์ G.H. Beale มหาวิทยาลัยเอดินเบอระ สหราชอาณาจักร ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำเกี่ยวกับการวิเคราะห์ข้อมูล และให้คำแนะนำต่าง ๆ ตลอดการทดลอง

ศาสตราจารย์ ดร.ม.ร.ว.พุฒิพงศ์ วรวุฒิ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อารมณ์ รัศมิทัต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และผู้ช่วยศาสตราจารย์ พ.ญ.ชาดา สืบหลินวงศ์ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่องจนวิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลงด้วยดี

ผู้บริจาคเลือดหมู่ AB ที่ใช้ตลอดการทดลองครั้งนี้

เจ้าหน้าที่ธนาคารเลือด โรงพยาบาลราชวิถี ที่ได้กรุณาช่วยเจาะเลือดจากผู้บริจาค

คุณศิริลักษณ์ นาคฉาย ที่ได้กรุณาช่วยพิมพ์วิทยานิพนธ์จนสำเร็จลงด้วยความเรียบร้อย

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ ทุนโครงการพัฒนามหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ทุนในการศึกษาและให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

รายการตารางประกอบ ..... ช

รายการรูปประกอบ ..... ฌ

รายการกราฟประกอบ ..... ญ

บทที่

1 บทนำ 1

2 สอบสวนเอกสาร 8

3 อุปกรณ์ในการทดลอง 22

4 การดำเนินการทดลอง 26

5 ผลการทดลอง 37

6 วิจารณ์ 98

7 สรุปผลการทดลอง 109

บรรณานุกรม 110

ประวัติการศึกษา 119

รายการตารางประกอบ

หน้า

ตารางที่ 1 วิธีเตรียมยาเมโฟลควินความเข้มข้นต่าง ๆ 32

ตารางที่ 2 วิธีเตรียมยาอะโมไดอาควินความเข้มข้นต่าง ๆ ... 33

ตารางที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนของเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท K_1 ที่เริ่มต้นการทดลองด้วยจำนวนเชื้อ 2.10, 1.45, 0.57, 0.35 และ 0.24 % ของกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้สัมผัสยาเมโฟลควินที่ความเข้มข้น 10^{-9}, 5×10^{-9}, 10^{-8}, 5×10^{-8} M และ 10^{-7} M เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง 43

ตารางที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนของเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท K_1 ที่เริ่มต้นการทดลองด้วยจำนวนเชื้อ 1.60, 1.00, 0.70, 0.35 และ 0.15 % ของกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้สัมผัสยาอะโมไดอาควิน ที่ความเข้มข้น 10^{-9}, 5×10^{-9}, 10^{-8}, 2.5×10^{-8} 5×10^{-8} และ 10^{-7} M เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง 52

ตารางที่ 5 แสดงการเพิ่มจำนวนในกลุ่มควบคุมของเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท K_1 ในเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อเริ่มการทดลองด้วยจำนวนเชื้อต่างกัน 55

หน้า

ตารางที่ 6 แสดงการเปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนของเชื้อระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้สัมผัสยาเมโฟลควินที่ความเข้มข้น 10^{-9}, 5×10^{-9}, 10^{-8}, 5×10^{-8} และ 10^{-7} M เป็นเวลา 48 และ 72 ชั่วโมงของเชื้อพัลซิปารัม 11 ไอโซเลท และ 4 สายพันธุ์ 61

ตารางที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อ และจำนวนไซซอนต์ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้สัมผัสยาเมโฟลควินที่ความเข้มข้น 5×10^{-8} M เป็นเวลา 72 ชั่วโมงของเชื้อพัลซิปารัม 11 ไอโซเลท และ 4 สายพันธุ์ 62

ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนของเชื้อระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้สัมผัสยาอะโมไดอาควินที่ความเข้มข้น 10^{-9}, 5×10^{-9}, 10^{-8}, 2.5×10^{-8} และ 5×10^{-8}M เป็นเวลา 48 และ 72 ชั่วโมงของเชื้อพัลซิปารัม 11 ไอโซเลท และ 4 สายพันธุ์ 81

ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อ และจำนวนไซซอนต์ระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้สัมผัสยาอะโมไดอาควินที่ความเข้มข้น 2.5×10^{-8}M เป็นเวลา 72 ชั่วโมงของเชื้อพัลซิปารัม 11 ไอโซเลท และ 4 สายพันธุ์ 82

ตารางที่ 10 แสดงความเข้มข้น (M) ของยาคลอโรควิน ควินิน เมโฟลควินและอะโมไดอาควิน ที่มีผลชลอและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อพัลซิปารัม 11 ไอโซเลท และ 4 สายพันธุ์ 108

รายการรูปประกอบ

		หน้า
รูปที่ 1	แผนภาพแสดงตำแหน่งการใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ และเชื้อพัลซิปารัม ไอโซเลทต่าง ๆ ในจานเพาะเลี้ยงสำหรับทดสอบยา (Microtest II tissue culture plate)	36
รูปที่ 2	แสดงภาพถ่ายของเชื้อพัลซิปารัมระยะรูปวงแหวนขณะเริ่มทำการทดลอง (ขนาดขยาย 625 เท่า)	57
รูปที่ 3	แสดงภาพถ่ายของเชื้อพัลซิปารัม ระยะรูปวงแหวน โทรโฟซอยต์ และไชซอนต์ที่มีรูปร่างปกติในกลุ่มควบคุม (ขนาดขยาย 625 เท่า)	57
รูปที่ 4	แสดงภาพถ่ายของเชื้อพัลซิปารัมที่มีรูปร่างลักษณะผิดปกติไปภายหลังที่ได้สัมผัสยาเมโฟลควิน ที่ความเข้มข้น 10^{-7} เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ขนาดขยาย 625 เท่า)	57
รูปที่ 5	แสดงภาพถ่ายของเชื้อพัลซิปารัมที่มีรูปร่างลักษณะผิดปกติไปภายหลังที่ได้สัมผัสยาอะโมไดอาควิน ที่ความเข้มข้น $5\ 10^{-8}$ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ขนาดขยาย 625 เท่า)	57
รูปที่ 6	แสดงภาพถ่ายของเชื้อพัลซิปารัม ที่มีรูปร่างลักษณะผิดปกติในกลุ่มควบคุมที่มีจำนวนเชื้อสูงมาก (ขนาดขยาย 625 เท่า)	57

รายการกราฟประกอบ

หน้า

กราฟที่ 1 แสดงการเพิ่มจำนวนของเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท K_1 ของกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้สัมผัสยาเมโฟลควิน ที่ความเข้มข้น 10^{-9}, 5×10^{-9}, 10^{-8}, 5×10^{-8} และ 10^{-7} M เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อเริ่มการทดลองด้วยจำนวนเชื้อต่างกัน 44

กราฟที่ 2 แสดงการเพิ่มจำนวนของเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท K_1 ในกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้สัมผัสยาเมโฟลควิน ที่ความเข้มข้น 5×10^{-8} และ 10^{-7} M เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อเริ่มการทดลองด้วยจำนวนเชื้อต่างกัน .. 45

กราฟที่ 3 แสดงการเพิ่มจำนวนของเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท K_1 ของกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้สัมผัสยาอะโมไดอาควินที่ ความเข้มข้น 10^{-9}, 5×10^{-9}, 10^{-8}, 2.5×10^{-8} 5×10^{-8} และ 10^{-7} M เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อเริ่มการทดลองด้วยจำนวนเชื้อต่างกัน .. 53

กราฟที่ 4 แสดงการเพิ่มจำนวนของเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท K_1 ในกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้สัมผัสยาอะโมไดอาควินที่ความเข้มข้น 10^{-8}, 2.5×10^{-8} และ 5×10^{-8} M เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อเริ่มการทดลองด้วยจำนวนเชื้อต่างกัน 54

กราฟที่ 5 แสดงการเพิ่มจำนวนในกลุ่มควบคุมของเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท K_1 ในเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อเริ่มการทดลองด้วยจำนวนเชื้อต่างกัน 56

หน้า

กราฟที่ 6 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท K_1 63

กราฟที่ 7 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท G_{112} 64

กราฟที่ 8 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท K_{31} 65

กราฟที่ 9 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท SL_3 66

กราฟที่ 10 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท SK_{15} 67

กราฟที่ 11 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท SK_{20} 68

กราฟที่ 12 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท T_{17} 69

กราฟที่ 13 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท T_{20} 70

กราฟที่ 14 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท M_{21} 71

กราฟที่ 15 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท M_{23} 72

หน้า

กราฟที่ 16 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท NF_{58} 73

กราฟที่ 17 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม สายพันธุ์ T_9C_4 74

กราฟที่ 18 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม สายพันธุ์ T_9C_{16} 75

กราฟที่ 19 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม สายพันธุ์ T_9C_{80} 76

กราฟที่ 20 แสดงผลของยาเมโฟลควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม สายพันธุ์ T_9C_{96} 77

กราฟที่ 21 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท K_1 83

กราฟที่ 22 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท G_{112} 84

กราฟที่ 23 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท K_{31} 85

กราฟที่ 24 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท SL_3 86

กราฟที่ 25 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท SK_{15} 87

กราฟที่ 26 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อฟัลซิปารัม ไอโซเลท SK_{20} 88

หน้า

กราฟที่ 27 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อพัลซิปารัม ไอโซเลท T_{17} 89

กราฟที่ 28 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อพัลซิปารัม ไอโซเลท T_{20} 90

กราฟที่ 29 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อพัลซิปารัม ไอโซเลท M_{21} 91

กราฟที่ 30 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อพัลซิปารัม ไอโซเลท M_{23} 92

กราฟที่ 31 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อพัลซิปารัม ไอโซเลท NF_{58} 93

กราฟที่ 32 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อพัลซิปารัม สายพันธุ์ T_9C_4 94

กราฟที่ 33 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อพัลซิปารัม สายพันธุ์ T_9C_{16} 95

กราฟที่ 34 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อพัลซิปารัม สายพันธุ์ T_9C_{80} 96

กราฟที่ 35 แสดงผลของยาอะโมไดอาควินต่อเชื้อพัลซิปารัม สายพันธุ์ T_9C_{96} 97