



บทสอบสวนเอกสาร

การรักษาโรคมาเลเรียนั้น เริ่มจากการใช้เปลือกต้นชินโคน่า หรือที่เรียกว่ายาควินิน เมื่อปี ค.ศ. 1638 ในประเทศเปรู ทวีปอเมริกาใต้ และต่อมาก็แพร่เข้าสู่ทวีปยุโรปและเอเชีย ยาควินินนี้สามารถใช้รักษาโรคมาเลเรียได้ดี แต่มีฤทธิ์ข้างเคียงจึงได้มีการสังเคราะห์ยาชนิดใหม่อีกหลายชนิด เช่นยาพลาสโมควิน (plasmoquine) และควินาคริน (quinacrine) ยาเหล่านี้ใช้ในการรักษาได้ผลเร็วกว่ายาควินิน แต่มีฤทธิ์ข้างเคียงมาก จึงไม่นิยมใช้ และยังคงนิยมใช้ยาควินินตามเดิม ประมาณปี ค.ศ. 1945 ในระหว่างสงครามโลกครั้งที่สอง เกิดภาวะขาดแคลนยาควินิน เพราะต้นชินโคน่าได้ถูกทำลายไป จึงได้มีการค้นคว้าและสังเคราะห์ยาชนิดใหม่อีกหลายชนิด ได้แก่ คลอโรควิน ไบควาไนด์ (biguanide) และไพริเมตามีน ยาที่นิยมใช้กันแพร่หลายมากคือยาคลอโรควิน เพราะมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อมาเลเรียในเม็ดเลือดแดงได้ดีกว่าควินิน และมีฤทธิ์ข้างเคียงน้อยกว่า ต่อมาภายหลังสงครามโลกครั้งที่สอง ความรู้ทางด้านวิชาการอันทรีย์เคมีได้ก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็วมาก จึงได้มีการสังเคราะห์ยาชนิดใหม่ ๆ ที่ใช้รักษามาเลเรียได้ผลดีขึ้นอีกหลายชนิด ตัวอย่างเช่นยาซัลโฟนาไมด์ (sulfonamides) ซัลโฟน (sulfones)

ปัจจุบันนี้ยารักษาไข้มาเลเรีย (antimalarials) ที่ใช้อยู่อาจจำแนกออกตามระยะของเชื้อมาเลเรียที่ถูกฆ่าได้เป็น 4 พวกดังนี้ (แทน จงศุภชัยสิทธิ์, 2521)

1. ยาที่ออกฤทธิ์ต่อเชื้อมาเลเรียระยะไม่มีเพศในเม็ดเลือดแดง (Blood shizontocides) ยาในกลุ่มนี้ใช้รักษาผู้ป่วยที่มีอาการ หรือเมื่อต้องการทำลายเชื้อมาเลเรียที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง อาจจะแบ่งตามคุณสมบัติทางเคมีออกได้เป็น 4 พวกด้วยกันคือ

1.1 สารพวกควิโนลีน (Quinoline derivatives) ได้แก่  
ควินิน

4-อะมิโนควิโนลีน ได้แก่ คลอโรควิน และอะโมโคอาควิน  
เมพาครีน (mepacrine)

ยาพวกนี้ทุกตัวมีฤทธิ์แรงในการฆ่าเชื้อมาเลเรียในเม็ดเลือดแดงทุก

ระยะ

1.2 สารพวกต่อต้านกรดพาราอะมิโนเบนโซอิก (Para amino  
benzoic acid antagonists, PABA antagonists)  
ได้แก่ยาพวกซัลโฟนาไมด์ และซัลโฟนทั้งหมด

ยาพวกนี้มีฤทธิ์ต่ำในการฆ่าเชื้อมาเลเรียที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง และ  
ออกฤทธิ์เฉพาะเชื้อในระยะแบ่งตัวเท่านั้น ตามปกติจึงไม่ใช้รักษามาเลเรียตามลำ-  
พัง มักจะใช้ร่วมกับยาพวกอื่น

1.3 ยาพวกขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ไดไฮโดรโฟเลต  
รีดักเตส (Dihydrofolate reductase inhibitor)  
ได้แก่ยาพวก ไพริเมตามีน ไตรเมโทพริม (trimethoprim)  
โปรควานิล (proquanil)

ยาพวกนี้มีฤทธิ์คล้ายพวกที่สอง จึงไม่ใช้รักษามาเลเรียตามลำพัง  
มักใช้ร่วมกับยาอื่น ๆ เช่นกัน

1.4 ยาพวกปฏิชีวนะ ได้แก่ เตตราไซคลีน (tetracycline)  
พวกนี้มีฤทธิ์ต่ำในการฆ่าเชื้อมาเลเรียที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง  
จึงมักจะใช้ร่วมกับยาพวกอื่น

2. ยาพวกที่ออกฤทธิ์ต่อเชื้อมาเลเรียที่อยู่ในเซลล์ของตับ (Tissue  
schizontocides) แบ่งตามคุณสมบัติทางเคมีได้เป็น 2 พวก

2.1 ยาพวกซัคขวางการทำงานของเอนไซม์ไคไฮโครโฟเลท รัคคเตส ออกฤทธิ์มาเชื้อพัลซิปารัมในเซลล์ของตับระยะก่อนเข้าเม็ดเลือดแดง (preerythrocytic stage) จึงใช้ในการป้องกันมาเลเรียได้

2.2 ยาพวก 8-อะมิโนควิโนลีน (8-aminoquinoline) ไคแก ไพรมาควิน (primaquine) และพามาควิน (pamaquine) ซึ่งใช้มาเลเรียชนิดไวแวกซ์ มาเลรีอี และโอวาเล ซึ่งอยู่ในเซลล์ของตับ รวมทั้งเชื้อพัลซิปารัมในระยะก่อนเข้าเม็ดเลือดแดงด้วย ส่วนมากใช้ในการรักษาให้หายขาดสำหรับเชื้อไวแวกซ์ มาเลรีอี และโอวาเล

3. ยาพวกที่ออกฤทธิ์มาเชื้อมาเลเรียในเม็ดเลือดแดงระยะแกมมีโตไซต์ (Gametocides) ยาที่ใช้มาเชื้อมาเลเรียในเม็ดเลือดแดงชนิดไม่มีเพศทุกชนิดสามารถมาเชื้อมาเลเรียในเม็ดเลือดแดงระยะแกมมีโตไซต์ ของเชื้อไวแวกซ์ มาเลรีอี และโอวาเลได้ แต่เชื้อพัลซิปารัมถูกทำลายได้ก็ด้วยยาพวก 8-อะมิโนควิโนลีนเท่านั้น ฉะนั้นในทางปฏิบัติจึงใช้ยานี้เพื่อหยุดยั้งการแพร่เชื้อจากผู้ป่วย

4. ยาที่หยุดยั้งการเจริญของเชื้อมาเลเรียระยะแกมมีโตไซต์ในกระเพาะยุง (Sporontocides) ได้แก่ยาพวกออกฤทธิ์ซัคขวางการทำงานของเอนไซม์ไคไฮโครโฟเลท รัคคเตส และยาพวก 8-อะมิโนควิโนลีน

การค้นคว้าของเชื้อพัลซิปารัมต่อคลอโรควินนั้นได้มีรายงานครั้งแรกที่ประเทศโคลัมเบีย ทวีปอเมริกาใต้ เมื่อปี ค.ศ. 1961 โดย Moore & Lanier ได้พบว่าไม่สามารถรักษาผู้ป่วยจำนวน 2 รายให้หายขาดได้ด้วยขนาดของยาคลอโรควินที่เคยใช้ และในปีเดียวกันนั่นเอง Young & Moore ก็ได้ทดลองฉีดเชื้อพัลซิปารัมที่ได้จากประเทศกัวลาเข้าในผู้ป่วยเป็นโรคประสาทจำนวน 6 ราย พบว่าเมื่อรักษาด้วยยาคลอโรควินขนาดที่เคยใช้คือ 0.6 และ 1.5 กรัม หรือขนาดที่สูงกว่าปกติ

คือ 2.1 กรัม นั้น ยังสามารถตรวจพบเชื้อในเลือดผู้ป่วยได้ ซึ่งผลการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่า เชื้อฟัลซิพารัมในประเทศโคลัมเบีย นั้นคือ ต่อยาคลอโรควิน นอก จากนี้ Young (1961) ยังได้พบว่า เชื้อฟัลซิพารัมจากประเทศโคลัมเบีย คือ ต่อยา อะโมโคอาควิน และไฮดรอกซีคลอโรควิน (hydroxychloroquine) อีกด้วย และได้ให้ข้อคิดว่า เชื้อฟัลซิพารัมที่คือ ต่อยาคลอโรควิน อาจมีแนวโน้มที่จะคือ ต่อยา ในพวก 4- อะมิโนควิโนลีนด้วย ดังนั้นจึงมีผู้สนใจศึกษาการคือ ยาของเชื้อฟัลซิพารัม ต่อยาที่ใช้รักษามากขึ้น ซึ่งวิธีการศึกษาการคือ ยาของเชื้อไข้มาเลเรียในสมัยนั้น ใช้วิธีการติดตามผลการรักษาจากผู้ป่วยหรืออาสาสมัครที่ถูกชักนำให้ติดเชื้อไข้มาเล- เรียโดยตรง Young (1962) ได้ทดลองใช้ยาคลอโรควิน และอะโมโคอาควิน ในการรักษาและป้องกันการติด เชื้อฟัลซิพารัมที่คือ ต่อยาคลอโรควินจากประเทศโคลัม- เบีย พบว่ายาทั้งสองชนิดดังกล่าวไม่สามารถรักษาและป้องกันการติดเชื้อได้ แต่ สามารถรักษาผู้ป่วยให้หายได้ควยยาโปรควานิล และไพริเมทามีน ซึ่งสรุปได้ว่า การคือ ยาของพวก 4- อะมิโนควิโนลีน กับยาทั้งสองชนิดนี้ไม่มีความสัมพันธ์กัน Powell et al. (1963) พบว่า เชื้อฟัลซิพารัมจากประเทศโคลัมเบียที่ไคผ่าน เข้าไปในตัวขุมและติดต่อไปยังอาสาสมัคร คือ ต่อยาคลอโรควิน อะโมโคอาควิน และไฮดรอกซีคลอโรควิน แต่ยังคงไวต่อยาไพริเมทามีน และควินิน

ใน ค.ศ. 1962 Harinasuta et al. ก็ได้พบการคือ ยาคลอโร- ควินของเชื้อฟัลซิพารัมในประเทศไทย (Colwell, 1972) Young et al. (1963) ได้รายงานว่าไม่สามารถรักษาผู้ป่วยชาวอเมริกันที่ติดเชื้อฟัลซิพารัมจาก ประเทศไทยให้หายขาดได้ควยยาคลอโรควินขนาด 1.5 ถึง 2.1 กรัม ต่อมา Young et al. (1963) และ Powell et al. (1964 a) ได้ทดสอบยาชนิด อื่น ๆ กับเชื้อฟัลซิพารัมจากผู้ป่วยรายเดียวกันนี้ พบว่าคือ ยาไพริเมทามีน เมพา- ควิน โปรควานิล แต่ยังคงไวต่อยาควินิน

Jeffrey et al. (1963) พบว่าเชื้อฟัลซิพารัมจากประเทศไทยคือ ต่อยาคลอโรควิน อะโมโคอาควิน ไพริเมทามีน และโปรควานิล แต่ยังคงไวต่อยา

ควินิน นอกจากนี้ยังพบว่ายาโปรควานิลและไพริเมตามีน สามารถหยุดยั้งการเจริญของเชื้อระยะที่อยู่ในยุงได้ ถึงแม้ว่าเชื้อระยะไม่มีเพศในเม็ดเลือดแดงจะคืบคานทั้งสองชนิดนี้

Powell et al. (1964 b) ได้ทำการศึกษาเชื้อพัลซิพารัมที่คืบคานยาคดอโรควินจากประเทศเวียดนาม พบว่าคืบคานยาคดอโรควิน ไฮครอกซีคดอโรควิน อะโมได-อากวิน เมพาคริน และโปรควานิล แต่ยังคงไวต่อยาไพริเมตามีน และควินิน

deGowin et al. (1965) ได้ทำการศึกษาเชื้อพัลซิพารัมจากประเทศมาเลเซีย พบว่าคืบคานยาคดอโรควิน ไฮครอกซีคดอโรควิน อะโมไดอากวิน เมพาคริน และไพริเมตามีน แต่ยังคงไวต่อยาคควินิน

ในประเทศไทยได้มีผู้สนใจศึกษาการคืบคานของเชื้อพัลซิพารัม โดยติดตามผลการรักษาของผู้ป่วย เช่น Harinasuta et al. (1965) ได้ใช้ยาคดอโรควินขนาด 25 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ในการรักษาผู้ป่วยจำนวน 42 รายที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลในกรุงเทพมหานคร พบว่าสามารถรักษาผู้ป่วยให้หายขาดได้เพียง 2 รายเท่านั้น (5%) ต่อมา Harinasuta et al. (1967) ก็ได้ศึกษาการคืบคานยาคดอโรควินของผู้ป่วยที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลในกรุงเทพมหานครอีกเป็นจำนวน 62 ราย พบว่าคืบคานยาคดอโรควินทุกราย ผู้ป่วยที่มารับการรักษาในโรงพยาบาลในกรุงเทพมหานครนี้เป็นผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อจากภาคต่าง ๆ ของประเทศ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า เชื้อพัลซิพารัมชนิดที่คืบคานยาคดอโรควินนี้ได้แพร่กระจายออกไปทั่วประเทศ

Bourke et al. (1966) ได้ศึกษาการคืบคานของเชื้อพัลซิพารัมใน 3 จังหวัดทางภาคใต้ที่อยู่ติดชายแดนมาเลเซีย คือที่จังหวัดสตูล ยะลา และนราธิวาส พบว่าประมาณ 79% ของจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด 307 รายคืบคานยาคดอโรควินขนาด 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และผู้ป่วยเด็กประมาณ 53% ของจำนวนทั้งหมด 111 ราย คืบคานยาคดอโรควินขนาด 22 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

Candigan et al. (1968) ได้ทำการสำรวจการค้อยาคลอโรควินของเชื้อฟัลซิพารัมในภาคต่าง ๆ คือภาคเหนือที่จังหวัดเลย และเพชรบูรณ์ ภาคกลางที่นครราชสีมา และสระบุรี และภาคใต้ที่สงขลา พบว่าอัตราการค้อยาคลอโรควินต่างกันในแต่ละภาค คือที่จังหวัดเลย เพชรบูรณ์ นครราชสีมา สระบุรี และสงขลา มีอัตราการค้อยาคลอโรควินเท่ากับ 85, 43, 45, 6 และ 36 % ตามลำดับ

เนื่องจากการศึกษาการค้อยาคลอโรควินโดยติดตามผลการรักษาในผู้ป่วยโดยตรงนั้น อาจมีข้อยุ่งยากบางประการ เช่น ผู้ป่วยไม่กลับมารับการตรวจอีกตามกำหนดเวลา ทำให้ไม่สามารถติดตามผลได้ทุกราย ผู้ป่วยบางรายอาจจะได้รับการติดเชื้อใหม่อีกในระหว่างการติดตามผลการรักษา หรือปัญหาเกี่ยวกับภูมิคุ้มกันในผู้ป่วย ซึ่งทำให้ผลการศึกษาไม่ค้อยแน่นอน จึงมีผู้พยายามหาวิธีการศึกษาการค้อยาคลอโรควินในหลอดทดลอง ในปี ค.ศ. 1968 Rieckmann et al. ได้พัฒนาวิธีการศึกษาการค้อยาคลอโรควินในหลอดทดลองที่เรียกว่า แมคโครเทคนิค ซึ่งเป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีการเลี้ยงเชื้อมาเลเรียของ Bass & Johns เมื่อ ค.ศ. 1912 วิธีนี้ทำโดยการเจาะเลือดจากผู้ป่วยประมาณ 10 มิลลิลิตร แล้วนำมาแยกสายใยในเลือดออก (defibrination) แบ่งใส่ในหลอดทดลองที่มีกุกุโคส เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อและหลอดอื่น ๆ ที่มีกุกุโคสและมียาความเข้มข้นต่าง ๆ กัน นำไปไว้ในตู้อบ อุณหภูมิ 38.5° - 40° ซ เป็นเวลา 24-30 ชั่วโมง แล้วทำแผ่นฟิล์มเลือดบนสไลด์เพื่อบันทึกจำนวนเชื้อที่ได้เจริญเป็นระยะไซซอนต์ ในแต่ละหลอดเปรียบเทียบกับหลอดที่ไม่ได้ใส่ยา เขาได้ทดลองทดสอบวิธีดังกล่าวนี้กับเชื้อฟัลซิพารัม ไอโซเลท ที่ค้อยาคลอโรควินจากประเทศมาเลเซีย และไอโซเลทที่ไวต่อยาคลอโรควินจากประเทศยูกันดา โดยใช้ยาคลอโรควิน ควินิน และไซโคลควานิล (cycloquanil) ซึ่งยาเหล่านี้จะยับยั้งการเจริญของเชื้อฟัลซิพารัมระยะไม่มีเพศในเม็ดเลือดแดง ผลปรากฏว่ายาทั้งสามชนิดนี้ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อไอโซเลทที่ได้จากประเทศยูกันดาได้ดีกว่า ไอโซเลทที่ได้จากประเทศมาเลเซีย เป็นการแสดงให้เห็นว่าวิธีแมคโครเทคนิคที่เขาได้พัฒนาขึ้นมานั้น สามารถใช้ในการทดสอบการค้อยาคลอโรควินได้

การทดสอบการค้ำยาโดยวิธีนี้มีข้อดีหลายประการคือ

1. ทำการทดลองโดยเจาะเลือดจากผู้ป่วย แล้วนำมาทดสอบการค้ำยาในหลอดทดลอง ไม่จำเป็นต้องติดตามศึกษาจากตัวผู้ป่วยโดยตรง
2. ตัดปัญหาเรื่องภูมิคุ้มกันในตัวผู้ป่วย และปัญหาเกี่ยวกับการติดเชื้อใหม่ของผู้ป่วย ซึ่งอาจทำให้การวินิจฉัยผิดไป

3. การทดสอบสามารถศึกษาผลได้ภายใน 48 ชั่วโมง

4. การทดสอบทำได้ไม่ยากนัก สามารถนำไปใช้ในภาคสนามได้

ต่อมาจึงมีผู้นิยมนำวิธีทดสอบแบบแมคโครเทคนิคมาใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยทำการทดลองควบคู่กับการติดตามผลการรักษาจากผู้ป่วย ปรากฏว่าได้ผลสอดคล้องกัน และทำให้ทราบสถานการณ์การค้ำยาของเชื้อไข้มาเลเรียในประเทศต่าง ๆ อีกหลายประเทศ อาทิเช่น Rieckmann & Lopez-Antunano (1971) พบเชื้อพัลซิปลารัมจากประเทศบราซิล คือค้อยาคลอโรควิน Valera & Shute (1976) พบเชื้อพัลซิปลารัมจากประเทศฟิลิปปินส์ คือค้อยาคลอโรควิน

ในปี ค.ศ.1971 Hickman et al. ได้ใช้วิธีทดสอบการค้ำยาแบบแมคโครเทคนิค ศึกษาการค้ำยาของเชื้อพัลซิปลารัมที่จังหวัดหนองคาย ตาก และยะลา พบว่าเชื้อพัลซิปลารัมคือค้อยาคลอโรควินประมาณ 90 % (Colwell, 1972)

Colwell et al. (1972) ศึกษาการค้ำยาของเชื้อพัลซิปลารัมในประเทศไทย โดยวิธีติดตามผลการรักษาผู้ป่วยและแบบแมคโครเทคนิค ในผู้ป่วยจำนวน 57 ราย ปรากฏว่าจากการติดตามผลการรักษา ผู้ป่วยจำนวน 55 ราย คือค้อยาคลอโรควิน และจากการศึกษาแบบแมคโครเทคนิค เชื้อพัลซิปลารัมที่ได้จากผู้ป่วยคือค้อยาคลอโรควินทั้ง 57 ราย ซึ่งเขาให้ความเห็นว่า การที่สามารถใช้ยาคลอโรควินรักษาผู้ป่วยจำนวน 2 รายให้หายไค้นั้น อาจจะไม่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันในตัวผู้ป่วยเองที่ทำให้สามารถให้ยาคลอโรควินรักษาให้หายไค้ แม้ว่าเชื้อพัลซิปลารัม

007394

จะคือตอยาคลอโรควินก็ตาม

Sucharit et al. (1977) ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบการคือยาของเชื้อพัลซิปาร์มด้วยวิธีติดตามการรักษาผู้ป่วยและแบบแมคโครเทคนิค พบว่าเชื้อพัลซิปาร์ม จากประเทศไทยที่คือตอยาคลอโรควินระดับ R I ในการรักษาผู้ป่วยจะตอบสนองต่อตอยาคลอโรควินที่ระดับความเข้มข้น 2.5-3 นาโนโมลในหลอดทดลอง และที่คือตอยาระดับ R II จะตอบสนองต่อยาที่ระดับความเข้มข้น 4 นาโนโมล เมื่อเปรียบเทียบกับผลงานของ Rieckmann (1971) พบว่าเชื้อพัลซิปาร์มในประเทศไทยคือตอยาคลอโรควินมากกว่าเชื้อพัลซิปาร์มจากประเทศยูกันดา มาเลเซีย และบราซิล แต่ยังคงไวต่อตอยาคลอโรควินมากกว่าเชื้อพัลซิปาร์มจากประเทศเวียดนาม

จากข้อเสนอแนะของ Young (1961) ที่กล่าวว่าเชื้อพัลซิปาร์มที่คือตอยาคลอโรควิน อาจมีแนวโน้มที่จะคือตอยาในจำพวก 4-อะมิโนควิโนลีนในการรักษาผู้ป่วยด้วย จึงมีผู้สนใจศึกษากันมาก และพบว่าเป็นเช่นนั้นจริง (Powell et al., 1963; Jeffrey et al., 1963; Powell et al., 1964 b; deGowin et al., 1965) แต่จากผลงานของ Rieckmann (1971) ซึ่งได้ทำการทดสอบการคือยาอะโมโคอาควินเปรียบเทียบระหว่างเชื้อพัลซิปาร์มไอโซเลทที่คือตอยาคลอโรควินในระดับ R III จากประเทศเวียดนาม กับไอโซเลทที่ไวต่อตอยาคลอโรควินจากประเทศยูกันดา พบว่าทั้งสองไอโซเลทนี้ยังคงไวต่อยาอะโมโคอาควิน โดยที่เชื้อพัลซิปาร์มไอโซเลทที่ได้มาจากเวียดนามไวต่อยาอะโมโคอาควินมากกว่าคือโรควินถึง 15 เท่า และไอโซเลทที่ได้มาจากยูกันดาไวต่อยาอะโมโคอาควินมากกว่าคือโรควิน 3 เท่า ความเข้มข้นของยาอะโมโคอาควินที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อพัลซิปาร์มที่ได้จากเวียดนามและยูกันดา เท่ากับ 0.3 และ 0.15 นาโนโมล ตามลำดับ และเมื่อศึกษาผู้ป่วยอาสาสมัครที่ติดเชื้อพัลซิปาร์ม ไอโซเลทจากเวียดนามพบว่า เมื่อทดลองให้ยาอะโมโคอาควินรักษา ภายใน 1 สัปดาห์จะไม่พบเชื้อในกระแสเลือด แต่จะพบเชื้ออีกภายใน 2-3 สัปดาห์ ซึ่งความแตกต่างในการตอบสนองต่อตอยาคลอโรควินและอะโมโคอาควินในหลอดทดลองและในผู้ป่วยนี้น่าสนใจมาก ใน ค.ศ. 1972



Siddiqui et al. ได้ใช้วิธีทดสอบการค้ำยาในหลอดทดลองแบบรอกเคอร์โค-  
ดูชันเทคนิค (rocker dilution technique) ศึกษาการค้ำของยารักษามาเด-  
เรีย 7 ชนิดคือ คลอโรควิน อะโมโคอาควิน ไพริเมตามีน ควินิน ไฮโดลควานิด  
ไตรเมโทพริม และแคพโซน (dapson) เปรียบเทียบระหว่างเชื้อพัลซิพาร์ม  
ไอโซเลทที่ค้ำและไวต่อยาคลอโรควินรวม 5 ไอโซเลท พบว่าไอโซเลทที่ได้จาก  
ประเทศยูกันดา (Uganda-Palo Alto) ไวต่อยาคลอโรควินมากที่สุด และไอ-  
โซเลทจากเวียดนาม (Vietnam-Monterey) ค้ำต่อยาคลอโรควินมากที่สุด แต่ทั้ง  
สองไอโซเลทนี้ยังคงไวต่อยาอะโมโคอาควิน ไฮโดลควานิด และแคพโซน

Schmidt et al. (1977) ได้ทำการทดสอบการค้ำยาของเชื้อพัลซิ-  
พาร์มทั้ง 5 ไอโซเลทที่ Siddiqui et al. ได้ทำการทดลองเมื่อ ค.ศ. 1972  
โดยฉีดเชื้อเหล่านี้เข้าในลิง (*Aotus trivirgatus griseimembra*) เพื่อ  
เปรียบเทียบผลการรักษาด้วยยาคลอโรควิน อะโมโคอาควิน อะโมไพโรควิน  
(amopyroquine) และไดคลอควินาซีน (dichlorquinazine) ซึ่งยาทั้งสี่  
ชนิดนี้เป็นสารประกอบพวก 4- อะมิโนควิโนลีนเช่นเดียวกัน ผลการทดลองปรากฏ  
ว่ายาอะโมโคอาควิน อะโมไพโรควิน และไดคลอควินาซีน สามารถใช้รักษาเชื้อที่  
ไวต่อยาคลอโรควินได้ แต่ประสิทธิภาพจะลดลงเมื่อใช้รักษาเชื้อที่มีระดับการค้ำยา  
สูงขึ้น อย่างไรก็ตามยาทั้ง 3 ชนิดนี้ก็ยังสามารถใช้รักษาเชื้อที่ค้ำต่อยาคลอโรควิน  
ได้

Eamsobhana (1976) ศึกษาผลของยาคลอโรควิน อะโมโคอาควิน  
ต่อเชื้อพัลซิพาร์มในประเทศไทย ด้วยวิธีแมโครเทคนิค พบว่าเชื้อค้ำต่อยาคลอ-  
โรควินมากกว่าอะโมโคอาควินถึง 16 เท่า ความเข้มข้นของยาคลอโรควินและ  
อะโมโคอาควินที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้หมดเท่ากับ 4.0 และ 0.25  
นาโนโมลตามลำดับ เป็นการสนับสนุนว่าเชื้อพัลซิพาร์มที่ค้ำต่อยาคลอโรควินอาจจะ  
ยังคงไวต่อยาจำพวก 4- อะมิโนควิโนลีน ชนิดอื่น ๆ เช่น อะโมโคอาควินได้

ปี ค.ศ. 1976 Trager & Jensen สามารถเลี้ยงเชื้อฟัลซิพารัมในหลอดทดลองติดต่อกันเป็นเวลานานได้สำเร็จ โดยเฉพาะเลี้ยงไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI 1640 ที่ปรับความเป็นกรดด่างด้วย HEPES buffer และโซเดียมไบคาร์บอเนต ให้เท่ากับ 7.4 และมีซีรัมคน 10 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในงานทดลอง (plastic tissue culture plate) ในเคสซิเคเตอร์ ที่จุดเทียนไขไว้ภายใน และหมุนบีกเกอร์ที่ไฟดับ เพื่อปรับบรรยากาศภายในให้มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เท่ากับ 5-8 เปอร์เซ็นต์ อบอุ่นที่อุณหภูมิ 37° C เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ทุก ๆ 24 ชั่วโมง เรียกวิธีการนี้ว่า Candle Jar Method จากความสำเร็จดังกล่าวนี้ ใน ค.ศ. 1978 Rieckmann et al. ได้พัฒนาเทคนิคการทดสอบการก่อยาของเชื้อฟัลซิพารัมขึ้นใหม่อีกวิธีหนึ่ง เรียกว่า ไมโครเทคนิค วิธีนี้ทำโดยเจาะเลือดจากผู้ป่วยประมาณ 0.1 มิลลิลิตร ผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI 1640 จำนวน 0.9 มิลลิลิตร แล้วแบ่งใส่ในงานเพาะเลี้ยงสำหรับทดลองยา (micro-titre plate) หลุมละ 50 ไมโครลิตร (0.05 มิลลิลิตร) ซึ่งในงานเพาะเลี้ยงสำหรับทดลองยานี้ได้เตรียมใส่ยาที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ และอบอุ่นไว้แล้ว นำไปเพาะเลี้ยงในเคสซิเคเตอร์ด้วยวิธีเดียวกับวิธี Candle Jar Method แล้วศึกษาผลเช่นเดียวกับการทดสอบการก่อยาแบบแมคโครเทคนิค เขาได้ทดลองใช้วิธีนี้ในการทดสอบการก่อยาคอโรควินเปรียบเทียบระหว่างไอโซเลตที่ไวต่อยาคอโรควิน (Uganda Palo Alto = FUP) กับไอโซเลตที่ก่อยาคอโรควิน (Vietnam Oak Knoll = FVO) พบว่าไอโซเลต FVO ก่อยาคอโรควินมากกว่า FUP ประมาณ 10 เท่า เป็นการแสดงให้เห็นว่าวิธีการทดลองนี้สามารถนำมาใช้ทดสอบการก่อยาของเชื้อฟัลซิพารัมได้ดี และมีข้อดีกว่าแบบแมคโครเทคนิค คือใช้เลือดปริมาณน้อยมาก ทำให้ศึกษาได้กับผู้ป่วยทุกกลุ่มอายุ และสามารถทดสอบกับยาได้หลายชนิดในผู้ป่วยรายเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตามวิธีการทดสอบการก่อยาแบบแมคโครเทคนิคและไมโครเทคนิค เป็นเพียงวิธีการที่สามารถศึกษาผลของยาต่อการเจริญของเชื้อในช่วงเวลาสั้น ๆ เท่านั้น ไม่สามารถศึกษาการอยู่รอดของเชื้อหลังสัมผัสยาได้

Richards & Maples (1979) จึงได้พัฒนาวิธีการทดสอบการค้ำยาขึ้นวิธีหนึ่ง โดยเพาะเลี้ยงเชื้อไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI 1640 ที่ได้ผสมยาความเข้มข้นต่าง ๆ ไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นก็เปลี่ยนเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มียาสมอยุ่ เพาะเลี้ยงเชื้อต่อไปอีกเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งการเพาะเลี้ยงเชื้อนี้ใช้หลักการเช่นเดียวกับของ Trager & Jensen (1976) เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อทุก 24 ชั่วโมง ศึกษาผลของยาต่อเชื้อฟัลซิพารัมโดยการทำสไลด์ฟิล์มเลือกอย่างบาง ย้อมด้วยสียิมซา นับจำนวนเชื้อฟัลซิพารัมเทียบกับกลุ่มควบคุม วิธีทดสอบยาแบบนี้สามารถศึกษาผลของยาต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะรูปร่างของเชื้อ และไม่เพียงแต่ทราบอัตราการลดจำนวนลงของเชื้อได้เท่านั้น ยังสามารถศึกษาการอยู่รอดและการเพิ่มจำนวนของเชื้อที่เหลือหลังจากสัมผัสยาได้ด้วย เขาได้ใช้วิธีดังกล่าวมานี้ทดสอบการค้ำยาไพริเมทามีนของเชื้อฟัลซิพารัมจากประเทศไนจีเรีย พบว่ายาไพริเมทามีนสามารถยับยั้งการเข้าสู่เม็ดเลือดแดงของเชื้อ (reinvasion) ได้ที่ความเข้มข้น  $10^{-9}$  M และยับยั้งอย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น  $10^{-8}$  M

Nguyen-Dinh & Trager (1978) ได้ดัดแปลงวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อแบบ Candle Jar Method นี้มาใช้ทดสอบการค้ำยาคลอโรควินของเชื้อฟัลซิพารัมจากประเทศแกมเบีย ทวีปแอฟริกา และสามารถชักนำให้เชื้อเกิดการค้ำยาขึ้นได้ โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ค้ำย ๆ เพิ่มความเข้มข้นของยาให้สูงขึ้น เป็นการแสดงให้เห็นว่าเชื้อฟัลซิพารัมจากทวีปแอฟริกาที่ยังไม่มีรายงานว่าค้ำยาคลอโรควินมีความสามารถทางกรรมพันธุ์ที่จะพัฒนาให้เกิดการค้ำยาคลอโรควินได้

ต่อมา Thaithong & Beale (1981) ดัดแปลงวิธีการทดสอบยาของ Richards & Maples (1979) และ Nguyen-Dinh & Trager (1978) และนำมาใช้ทดสอบการค้ำยาของเชื้อฟัลซิพารัมจากผู้ป่วยในประเทศไทยจำนวน 9 รายเปรียบเทียบกับเชื้อฟัลซิพารัมจากประเทศแกมเบีย ทวีปแอฟริกา พบว่าเชื้อฟัลซิพารัมในประเทศไทยค้ำยาคลอโรควินและไพริเมทามีนกว่าเชื้อจากแกมเบีย  $10^5$  เท่า ตามลำดับ

ในระหว่าง ค.ศ. 1963-1976 สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์  
 ทหารสหรัฐอเมริกา ได้ผลิตยารักษามาเลเรียชนิดใหม่คือยาจำพวก 4- ควิโนลีน-  
 เมทานอล เพื่อใช้รักษาเชื้อพลาสโมเดียมที่ก่อต้อยาคลอโรควิน และต้อต้อยาคชนิดอื่น ๆ  
 และที่มหาวิทยาลัยไมอามี รัฐฟลอริดา ก็ได้ทดลองใช้ยาเหล่านี้ในการรักษา และศึกษา  
 ถึงประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ของยากับเชื้อ *Plasmodium berghii* ซึ่งเป็นเชื้อ  
 มาเลเรียในสัตว์ฟันแทะ เช่น หนู ซึ่งผลการทดลองพบว่ายาบางชนิดในกลุ่ม 4-  
 ควิโนลีนเมทานอลนั้นสามารถใช้รักษาเชื้อมาเลเรียในหนูได้ และต่อมาได้นำยาค  
 ึ่งกล่าวมาทดลองใช้กับเชื้อพลาสโมเดียมในลิง *Aotus trivirgatus griseimem-*  
*bra* พบว่ายามาเฟลควินซึ่งเป็นยาในจำพวก 4- ควิโนลีนเมทานอลตัวหนึ่งสามารถ  
 ใช้รักษาเชื้อพลาสโมเดียมที่ก่อต้อยาคลอโรควิน และที่ก่อต้อยาคไพริเมตามีนได้ นอกจากนี้  
 นี้ยังพบว่ายาเฟลควินมีประสิทธิภาพสูงกว่าคลอโรควินถึง 5 เท่า ในการรักษา  
 เชื้อที่ไวต่อยาคลอโรควิน แต่ต้อยาคไพริเมตามีน (Schmidt et al., 1978)  
 ใน ค.ศ. 1978 Schmidt et al. ได้ทดลองใช้ยาเฟลควินในการรักษาผู้ป่วย  
 ที่ป่วยด้วยเชื้อพลาสโมเดียมชนิดที่ก่อต้อยาคชนิดต่าง ๆ กัน พบว่ายามาเฟลควินสามารถ  
 ใช้รักษาไข้มาเลเรียได้ผลดี

Rieckmann et al. (1974) ได้ศึกษาการใช้ยาเฟลควินในการ  
 ป้องกันการติดเชื้อไข้มาเลเรีย โดยได้ทดลองให้อาสาสมัครรับประทานขนาด  
 1 กรัมก่อนให้ยุงที่มีเชื้อมาเลเรียกัด เป็นระยะเวลา 14-16 วัน พบว่ายามา-  
 เฟลควินสามารถป้องกันการติดเชื้อได้ แต่ถ้าให้อาสาสมัครรับประทานก่อนให้  
 ถูกยุงกัด 21 วัน จะพบเชื้อมาเลเรียในตัวอาสาสมัครในช่วงเวลาที่ 17-35 วัน  
 หลังจากที่ถูกยุงกัด ซึ่งต่อมา Clyde et al. (1975) ได้ทำการศึกษาโดยให้  
 อาสาสมัครรับประทานยาเฟลควินขนาด 0.25 กรัม สัปดาห์ละครั้ง 0.5 กรัม  
 สองสัปดาห์ครั้ง หรือ 1 กรัมเดือนละครั้ง พบว่าขนาดยาคดังกล่าวสามารถป้องกัน  
 การติดเชื้อจากยุงที่มีเชื้อพลาสโมเดียมที่ก่อต้อยาคลอโรควิน และไพริเมตามีนได้  
 Pearlman et al. (1980) ได้ศึกษาการใช้ยาเฟลควินในการป้องกันการติด

เชื้อพยาธิปารัมที่ก่อต้อยาคลอโรควินในเขตบริเวณภาคเหนือของประเทศไทย พบว่า ยาเมโฟลควินสามารถป้องกันการติดเชื้อพยาธิปารัมได้เช่นกัน

Trenholme et al. (1975) ได้ใช้ยาเมโฟลควินขนาด 1 กรัม รักษาผู้ป่วยด้วยเชื้อพยาธิปารัมชนิดที่ก่อต้อยาคลอโรควินจำนวน 12 ราย พบว่า สามารถรักษาให้หายขาดได้ 10 ราย ต่อมาได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยเพิ่มขนาดยาเป็น 1.5 กรัม ในผู้ป่วยจำนวน 8 ราย พบว่าสามารถรักษาให้หายขาดได้ทุก ราย Doberstyn et al. (1979) ได้ใช้ยาเมโฟลควินรักษาผู้ป่วยด้วยเชื้อพยาธิปารัมในประเทศไทยจำนวน 37 ราย ปรากฏว่ายาเมโฟลควินขนาด 1.5 กรัม สามารถรักษาผู้ป่วยได้ทุกราย ตระหนักจิต หะริณสุต และ คณีย์ มุนนาค (2524) ได้รายงานผลการทดลองในที่ประชุมมาเลเรียแห่งชาติครั้งที่ 2 ว่า จากการทดลองใช้ยาเมโฟลควินขนาด 500, 700 หรือ 1000 มิลลิกรัม กับผู้ป่วยชาย ที่เป็นไข้มาเลเรียพยาธิปารัมชนิดเฉียบพลัน ที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน ระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนเมษายน 2524 จำนวน 150 ราย พบว่ายาเมโฟลควินทุกขนาดสามารถทำให้ผู้ป่วยหายไข้ และไข้มาเลเรียหมดจากกระแสโลหิตภายใน 2-3 วัน มีฤทธิ์ข้างเคียงบ้างได้แก่ ท้องเดิน หัวใจเต้นช้า ซึ่งไม่รุนแรงและอาการเหล่านี้จะหายไปเอง

Desjardins et al. (1979) ได้ทดสอบการตอบสนองต่อยาเมโฟลควินของเชื้อพยาธิปารัมในหลอดทดลอง เปรียบเทียบระหว่างไอโซเลทที่ไวต่อยาคลอโรควินจากประเทศยูกันดา กับไอโซเลทที่ก่อต้อยาคลอโรควินจากประเทศเวียดนาม โดยวิธีใช้สารอามริงส์ติดตามการเจริญของเชื้อ พบว่าความเข้มข้นของยาที่สามารถยับยั้งการเจริญได้ครึ่งหนึ่ง (ID<sub>50</sub>) ของเชื้อจากประเทศยูกันดาและเวียดนามเท่ากับ 6.39 และ 6.66 ng/ml ตามลำดับ

Brockelman et al. (1981) ได้รายงานว่าสามารถชักนำเชื้อพยาธิปารัมในประเทศไทย ไอโซเลท FCK ให้เชื้อต้อยาคลอโรควินที่ระคายความเข้มข้นสูงขึ้นได้ โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วยยาเมโฟลควินเป็นเวลา 48

ชั่วโมง สลับกับการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ผสมยา โดยค่อย ๆ เพิ่ม  
ความเข้มข้นของยาให้สูงขึ้น พบว่าภายใน 3 เดือนสามารถชักนำให้เชื้อที่เดิม  
ตอบสนองต่อยาที่ระดับความเข้มข้น 8 นาโนโมล/เลือด 1 มิลลิลิตร ตอบสนอง  
ต่อยาที่ระดับความเข้มข้น 128 นาโนโมล/เลือด 1 มิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่าเดิมถึง  
16 เท่า