

รายงานการศึกษาวิจัย

เรื่อง

In vitro Activity of *Plasmodium falciparum* to Artemisinin,
Mefloquine and Quinine in Chanthaburi Province,
The South-Eastern Border of Thailand

นางสาวอภิษฎา รัศมี¹

นางสาวนงเยาว์ มีสิทธิ์²

1. สถาบันบำราศนราดูร กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข
2. สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 6 จังหวัดชลบุรี กรมควบคุมโรค
กระทรวงสาธารณสุข

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ เนื่องจากความกรุณาของบุคคลหลายฝ่ายที่มีส่วนสนับสนุนให้การศึกษาสำเร็จได้ด้วยดี อันได้แก่

Professor Walther H. Wernsdorfer, Institute of Specific Prophylaxis and Tropical Medicine, University of Vienna, Vienna, Austria. อาจารย์ใหญ่ผู้เมตตาที่สอนผู้วิจัยในการประเมินผลความไวของเชื้อมาลาเรียต่อยาในหลอดทดลองและช่วยวิเคราะห์ข้อมูลจากโปรแกรมของWHO

นายแพทย์วิชัย สติมัย ผู้ทรงคุณวุฒิ กรมควบคุมโรค ในการสนับสนุนการศึกษาวิจัยนี้
ดร.คณินิจ คงพ่วง นักเทคนิคการแพทย์ สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง ในการช่วยติดต่อประสานงานและสนับสนุนวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

เจ้าหน้าที่คลินิกมาลาเรีย อำเภอบึงนาราง จังหวัดจันทบุรี ทุกท่าน
ครอบครัวที่เสียสละ เข้าใจในหน้าที่การงานของผู้วิจัยที่สนับสนุนให้ลงไปในพื้นที่เพื่อเก็บตัวอย่างและทำการทดลองเป็นเวลากว่าหลายเดือน

ท้ายสุดนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้ป่วยมาลาเรียในชายแดนจังหวัดจันทบุรีทั้งชาวไทยและแรงงานกัมพูชา ตลอดจนบุคคลอื่นๆ ที่ไม่ได้กล่าวนาม ณ ที่นี้ อันมีส่วนเกี่ยวข้องให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน ทำให้การทำวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

อภิษฎา รัศมี

บทคัดย่อ

การศึกษาความไวเชื้อมาลาเรียฟัลซิพาล์มดื้อต่อยา Artemisinin, Mefloquine และ Quinine ในหลอดทดลองโดยวิธี *In vitro* micro test (WHO) ซึ่งเป็นการยับยั้งการเจริญของ schizont ในกลุ่มตัวอย่างแรงงานกัมพูชาอพยพและชาวไทยที่อาศัยตามแนวชายแดนไทย-กัมพูชา อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี ที่ป่วยเป็น *P. falciparum* ไม่มีภาวะแทรกซ้อน ระหว่างเดือน ตุลาคม 2546 – มกราคม 2547 จำนวน 55 ราย ผลการศึกษาพบว่า ความไวของยาทั้ง 3 ชนิด ลดลงอย่างชัดเจน มีการดื้อยามากยิ่งขึ้น เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับผลการศึกษาการเฝ้าระวังที่ผ่านมาของอำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราด และแนวชายแดนไทย-พม่า จังหวัดตาก พบมีแนวโน้มของการดื้อยาเพิ่มมากขึ้น การศึกษานี้เป็นประโยชน์ในการใช้เป็นข้อมูลเพื่อติดตามสถานการณ์การดื้อยามาลาเรียตามแนวชายแดนไทย-กัมพูชา และใช้ร่วมกับการศึกษา *in vivo* test ในการปรับเปลี่ยนสูตรยาให้มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคมลาเรียในประเทศไทย

Keyword: *P. falciparum*, *in vitro* micro test, Artemisinin, Mefloquine, Quinine
ชายแดนไทย-กัมพูชา

Abstracts

The sensitivity *in vitro* of *Plasmodium falciparum* to artemisinin, mefloquine and quinine was assessed in an area of multi-drug resistance on the Thai –Cambodian border, Chanthaburi Province during October 2003- January 2004, using the World Health Organization micro test, base on schizont maturation inhibition. Isolates of *Plasmodium falciparum* collected from uncomplicated falciparum malaria patients who were Cambodian refugees or Thai residents in Pong Num Ron District. Fifty-five isolates were tested for artemisinin, mefloquine and quinine. The result showed a marked decreased susceptibility compared to previously published results, Borai District, Trat Province and Western border of Thailand (Tak). This study is benefit to use as a data for tracking malaria-resistant situation along the Thai-Cambodian border and used in conjunction with the study *in vivo* test for effective drug modification in the treatment of malaria in Thailand

Keyword: *Plasmodium falciparum*, *in vitro* micro test, artemisinin, mefloquine, quinine,
Thai –Cambodian border.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	
บทคัดย่อ	ก
Abstract	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	จ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์	2
ขอบเขตการศึกษา	2
ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
กรอบแนวคิดการศึกษา	3
นิยามศัพท์ที่ใช้ในการศึกษา	3
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา	18
วิธีการศึกษา	18
สถานที่ศึกษาและระยะเวลาที่เก็บตัวอย่าง	18
กลุ่มตัวอย่าง	18
เกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้าศึกษา (Include criteria)	18
อุปกรณ์การศึกษา (Micro test kit)	18
การเตรียมเลือดผู้ป่วย	19
การเพาะเลี้ยงเชื้อมาลาเรีย	20
การทำเสมียร์เลือดภายหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อ	22
การแปลผล	26
การวิเคราะห์ข้อมูล	26
บทที่ 4 ผลการศึกษา	27
บทที่ 5 วิจัยสรุป	30
บรรณานุกรม	33

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1. IC_{50} , IC_{90} และ IC_{99} ของยา Artemisinin, Mefloquine และ Quinine ต่อเชื้อ <i>P.falciparum</i> ที่อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี ระหว่าง ตุลาคม 2546 - มกราคม 2547	27
ตารางที่ 2. Sensitivity of <i>P. falciparum</i> from various areas of Thailand, with geometric mean IC_{50} to Artemisinin, Mefloquine and Quinine	28

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. วงจรชีวิตของเชื้อมาลาเรีย	8
2. เชื้อมาลาเรียที่พบในประเทศไทย	14
3. การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อการศึกษา	19
4. การเปิดแผ่นplastic ที่ปิด micro test plate	20
5. การหยอดตัวอย่างที่ผสมแล้ว	20
6. การวาง plate ใน candle jar	21
7. การวาง candle jar ใน incubator	21
8. การทำเสมียร์หลังการเพาะเชื้อ	22
9. การผสมสี Giemsa 2% และการย้อมฟิล์มโลหิต	23
10. Schizont ที่มี 3 nuclei ขึ้นไป	24
11. Schizont ที่มีการแบ่งตัวโดยสมบูรณ์	24
12. Schizont ที่มีการเจริญแบ่งตัวปกติ และมี nuclei มากกว่า 8 nuclei	25
13. Schizont ที่มีการเจริญแบ่งตัวผิดปกติ และมี nuclei ไม่ชัดเจน	25
14. การตอบสนองของเชื้อ <i>P. falciparum</i> ต่อยา Mefloquine ในหลอดทดลอง ประเทศไทย ปี พ.ศ.2526-2532 เปรียบเทียบกับการศึกษาจังหวัดจันทบุรี (2003-2004)	29

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคมาลาเรียเป็นปัญหาสาธารณสุขสำคัญของโลก ซึ่งส่งผลกระทบต่อการสาธารณสุข เศรษฐกิจ และสังคม จากรายงานขององค์การอนามัยโลก ในปี พ.ศ. 2545 พบว่ามีประชากรทั่วโลก จำนวน 300-500 ล้านคนติดเชื้อมาลาเรียและมีผู้เสียชีวิตประมาณ 1.5 ล้านคนต่อปี¹⁻² สำหรับประเทศไทยนั้น สถานการณ์โรคมาลาเรียยังคงเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญ มาลาเรียในประเทศไทยส่วนใหญ่เกิดจากการติดเชื้อ *Plasmodium falciparum* และ *Plasmodium vivax* แต่ฟัลซิพาร์มมาลาเรียอันตรายและมีความรุนแรงมากกว่า เพราะอาจทำให้เสียชีวิตได้เนื่องจากภาวะแทรกซ้อน และภาวะมาลาเรียขึ้นสมอง ปัญหาสำคัญของโรคมาลาเรียในประเทศไทยคือ ปัญหาการดื้อยาของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพาร์ม ซึ่งพบว่าเชื้อดื้อยาด้านมาลาเรียหลายชนิด (multidrug resistance) ได้แพร่ไปในหลายพื้นที่ของประเทศ โดยเฉพาะเชื้อฟัลซิพาร์มมาลาเรียบริเวณพื้นที่ป่าเขาตามแนวชายแดนไทย-พม่า (จังหวัดตาก หนอง แม่ฮ่องสอน กาญจนบุรี ชุมพร) และแนวชายแดนไทย-กัมพูชา (ตราด จันทบุรี สระแก้ว) ซึ่งเป็นที่มีการอพยพเคลื่อนย้ายสูงโดยเฉพาะประชาชนที่อพยพเคลื่อนย้ายไปประกอบอาชีพตามบริเวณชายแดนไทย-พม่าและไทย-กัมพูชา หรือข้ามแดนไปประกอบอาชีพแล้วติดเชื้อมาลาเรียที่ดื้อยากลับมา และแรงงานข้ามชาติจากประเทศเพื่อนบ้านที่อพยพเข้ามาทำงานและนำเชื้อมาลาเรียดื้อยาเข้ามาแพร่ด้วย แนวโน้มการดื้อยาพบมากยิ่งขึ้นจากการสำรวจและเฝ้าระวังการดื้อยาที่ใช้รักษาตามปกติในประเทศไทย ขององค์การอนามัยโลก ร่วมกับสำนักโรคติดต่อภายในโดยแมลงที่ทำในพื้นที่ชายแดนไทย-พม่า อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ในปี พ.ศ.2534, 2535 และ 2537 พื้นที่ชายแดนไทย-กัมพูชา ที่อำเภอหนองบอน (พ.ศ.2536) อำเภอบ่อไร่ (พ.ศ.2540) จังหวัดตราด¹⁻² จากนั้นข้อมูลการเฝ้าระวังการดื้อยาก็ตกหายไป จากคำแนะนำของผู้เชี่ยวชาญองค์การอนามัยโลก การที่เชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพาร์มดื้อยานั้นเป็นปัญหาที่สำคัญ ซึ่งต้องติดตามและเฝ้าระวังตลอดเวลาเพื่อทราบสถานการณ์และแนวโน้ม ใช้เป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาปรับเปลี่ยนการใช้ยาให้เหมาะสมต่อไป

ดังนั้น ผู้วิจัยในฐานะผู้รับผิดชอบในพื้นที่รับผิดชอบของสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดชลบุรีจึงต้องการติดตามและเฝ้าระวังเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพาร์มดื้อยาบริเวณชายแดนไทย-กัมพูชา ในจังหวัดจันทบุรี ที่ยังไม่เคยมีรายงานการศึกษามาก่อนเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการวางแผนการป้องกันควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อมาลาเรียในเขตนี้

1.2 วัตถุประสงค์

1. ต้องการทราบความไวของเชื้อมาลาเรียต่อยา Artemisinin (ATN), Mefloquine (MQ) และ Quinine (QNN) ในหลอดทดลอง ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *P. falciparum* บริเวณแนวชายแดนไทย-กัมพูชา จังหวัดจันทบุรี
2. เพื่อการเฝ้าระวังประสิทธิภาพของยาต้านมาลาเรียในบริเวณพื้นที่ชายแดนจังหวัดจันทบุรี เปรียบเทียบกับข้อมูลที่เคยมีผู้ศึกษาไว้ของจังหวัดตราดและของประเทศไทยบริเวณแนวชายแดนไทย-พม่า เพื่อนำเสนอข้อมูลที่ได้ในการใช้ประกอบการพิจารณาวางแผนปรับเปลี่ยนสูตรยาที่เหมาะสม

1.3 ขอบเขตการศึกษา

1.3.1. เป็นการศึกษาในผู้ป่วยมาลาเรียที่เป็นแรงงานอพยพ หรือชาวไทยที่อาศัยอยู่ในเขตพื้นที่ตามแนวชายแดนไทย-กัมพูชา จังหวัดจันทบุรี ที่มารักษาที่คลินิกมาลาเรียตามแนวชายแดนในเขตรับผิดชอบของสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดชลบุรี (โป่งน้ำร้อนและบ้านแหลม) ตั้งแต่ เดือน ตุลาคม 2546 ถึง มกราคม 2547

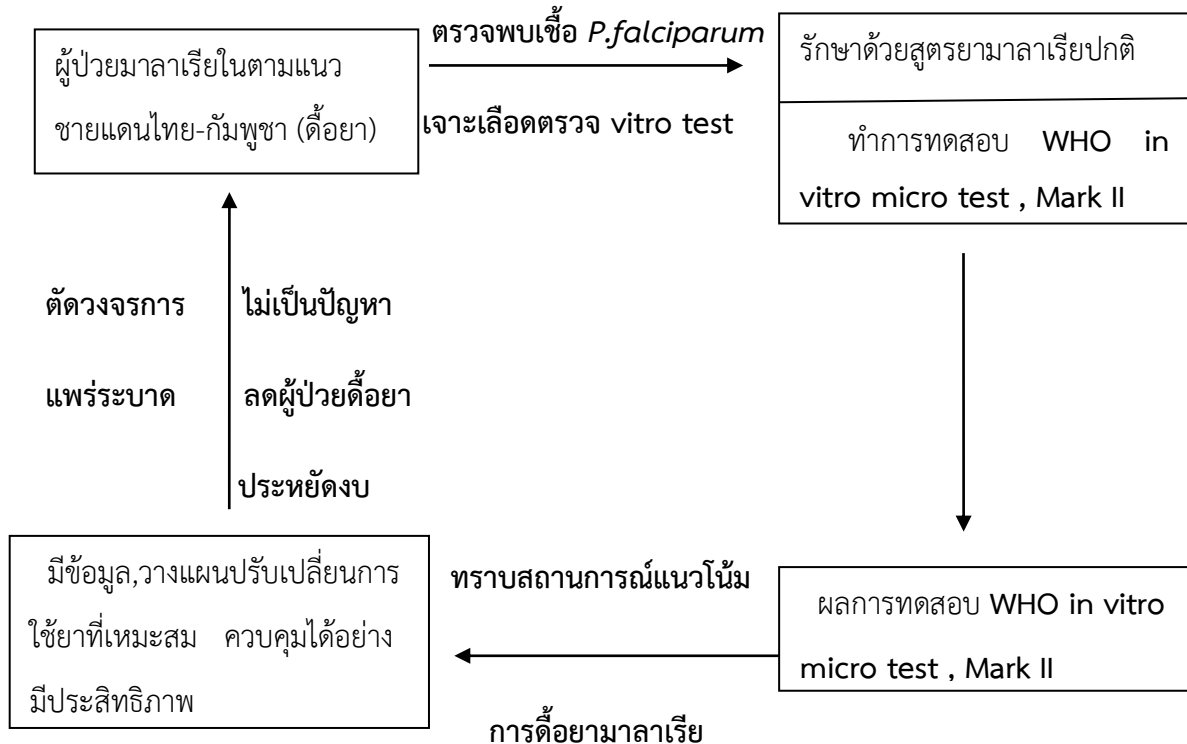
1.3.2. สิ่งส่งตรวจคือเลือดจากปลายนิ้วของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *P. falciparum* บริเวณแนวชายแดนไทย-กัมพูชา จังหวัดจันทบุรี

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1. เป็นการติดตามและเฝ้าระวังสถานการณ์และแนวโน้มการดื้อยามาลาเรียตามแนวชายแดนในประเทศไทยเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการประกอบการวางแผนพิจารณาปรับเปลี่ยนการใช้ยาที่เหมาะสมต่อไป

1.4.2. ทราบความไวของเชื้อมาลาเรียต่อยา Artemisinin (ATN), Mefloquine (MQ) และ Quinine (QNN) ในหลอดทดลอง ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *P. falciparum* บริเวณแนวชายแดนไทย-กัมพูชา จังหวัดจันทบุรี เปรียบเทียบกับการศึกษาในอดีต และการศึกษาในพื้นที่อื่นๆ

กรอบแนวคิดการศึกษา



1.5 นิยามศัพท์ที่ใช้ในการศึกษา

In vitro test of *P.falciparum* หมายถึง เป็นการศึกษาความไวของเชื้อมาลาเรีย *P.falciparum* ต่อยาในหลอดทดลอง (*in vitro*) โดยทำแบบ micro test ตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลกเพื่อใช้ประเมินและเฝ้าระวังการดื้อของเชื้อมาลาเรียต่อยาด้านมาลาเรีย

P.falciparum หมายถึง เชื้อมาลาเรีย species หนึ่งที่พบระบาดมากในประเทศไทยโดยเฉพาะตามแนวชายแดนไทย-พม่า และไทย-กัมพูชา เป็นเชื้อที่มียันตราย ทำให้เกิดมาลาเรียขึ้นสมองได้และพบว่ามีแนวโน้มดื้อยาที่ใช้รักษาในปัจจุบันเพิ่มมากขึ้น

EC₅₀ หมายถึง effective concentration หรือ inhibitory concentration (IC₅₀) ค่าที่ยาสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อมาลาเรีย (ระยะ schizont) ลดลงได้ร้อยละ 50 ในหลอดทดลอง

การดื้อต่อยารักษามาลาเรียในหลอดทดลอง หมายถึง การที่เชื้อมาลาเรีย *P.falciparum* ที่ทำการทดสอบด้วยวิธี *In vitro* micro test (Mark II)³ พบ schizont ของเชื้อเจริญที่ระดับของยาต่างๆ ดังนี้

Mefloquine	ที่ระดับยา	64	n mol หรือมากกว่า
Quinine	ที่ระดับยา	256	n mol หรือมากกว่า
Chloroquine	ที่ระดับยา	8	n mol หรือมากกว่า

บทที่ 2

บททวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้เรื่องโรคมาลาเรีย⁴⁻⁹

โรคมาลาเรีย (Malaria) หรือไข้มาลาเรีย ที่รู้จักกันในชื่ออื่นๆ เช่น ไข้ป่า ไข้จับสั่น ไข้ป่า ไข้ร้อนเย็น หรือไข้ดอกสีก เป็นต้น มาลาเรียมีการแพร่ระบาดอย่างกว้างขวางในเขตร้อนและเขตอบอุ่นทั่วโลก ในปี พ.ศ. 2545 มีประชากรกว่าสองพันล้านคน จาก 99 ประเทศทั่วโลกอาศัยอยู่ในพื้นที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อมาลาเรีย ประมาณว่ามีผู้ติดเชื้อทั่วโลก ประมาณ 500 ล้านราย และมีผู้เสียชีวิตกว่า 1 ล้านรายซึ่งส่วนใหญ่เป็นเด็กเล็ก ในทวีปแอฟริกา โรคมาลาเรียยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทยโดยเฉพาะในแรงงานอพยพ ตามแนวชายแดนไทย-พม่าและไทย-กัมพูชา แม้ว่าโรคนี้จะมีอัตราป่วยและอัตราตายลดลง แต่ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2539 เป็นต้นมาข้อมูลจากกระทรวงสาธารณสุขใน ปี พ.ศ.2541 พบผู้ติดเชื้อมาลาเรียมากกว่า 125,000 ราย ส่วนใหญ่อยู่ในพื้นที่ชายแดน โดยจำนวนผู้ป่วยสูงสุดพบที่จังหวัดตาก ตามด้วยจังหวัดระนอง แม่ฮ่องสอน กาญจนบุรี ตราด จันทบุรีและ ชุมพร ปัญหาสำคัญขณะนี้คือการดื้อยาของเชื้อมาลาเรียตามแนวชายแดน ไทย-พม่า และชายแดนไทย-กัมพูชา

สาเหตุของการติดโรคมาลาเรียและชนิดของเชื้อมาลาเรียที่ติดต่อสู่คน

โรคมาลาเรีย เป็นเชื้อโปรโตซัว อยู่ในจีสต์ พลาสโมเดียม (*Plasmodium*) มีมากกว่า 100 เชื้อชนิด ที่ก่อโรคทั้งในคน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สัตว์ปีก และสัตว์เลื้อยคลาน แต่ที่ก่อโรคในคนเพียง 5 ชนิด ได้แก่ *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* และ *P. knowlesi* เชื้อที่พบส่วนใหญ่ในประเทศไทยเป็น ชนิด *P. falciparum* และ *P. vivax* ส่วนน้อยเป็นชนิด *P. malariae* *P. ovale* และ *P. knowlesi* ซึ่งเป็นเชื้อ มาลาเรียที่พบล่าสุดเป็นเชื้อมาลาเรียของลิงกัง ลิงแสม และค่างดำ ที่พบว่าติดต่อสู่คนได้

แหล่งระบาดของเชื้อมาลาเรียชนิดต่างๆ

- *P. falciparum*.พบในแถบทวีปแอฟริกา อเมริกาใต้ และเอเชีย พบในเขตหนาวได้บ้างแต่จำนวน ไม่มาก
- *P. vivax* พบได้ทั้งเขตร้อนและเขตอบอุ่น ได้แก่บริเวณแถบลาตินอเมริกา ตุรกี จีน เอเชีย ตะวันออกเฉียงใต้และอินเดียตอนกลาง แต่พบได้น้อยในแถบแอฟริกา โดยเฉพาะแถบแอฟริกา ตะวันตก
- *P. malariae* พบได้ทั้งในเขตร้อนและใกล้เขตร้อน โดยเฉพาะในบริเวณทวีปแอฟริกาตะวันออก และประเทศอินเดียทางตะวันตก

- *P. ovale* พบในพื้นที่ค่อนข้างจำกัด ได้แก่ แถบแอฟริกาตะวันตก ฟิลิปปินส์ แถบตะวันออกของอินโดนีเซีย ปาปัวนิวกินี บังคลาเทศ กัมพูชา อินเดีย ไทย เวียดนาม
- *P. knowlesi* พบได้ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ประเทศมาเลเซีย ไทย สิงคโปร์ ฟิลิปปินส์ เวียดนาม อินโดนีเซีย และ เมียนมาร์ ในปี พ.ศ. 2547 ศ.นพ.ดร. สมชาย จงวุฒิเวศย์ ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้ตรวจพบผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *Plasmodium knowlesi* เป็นครั้งแรกของประเทศไทย เป็นเชื้อมาลาเรียชนิดที่ 5 โดยเป็นเชื้อที่พบในลิงแสม มีลิงกัง ลิงแสมและค่างดำเป็นแหล่งรังโรค พบมากในพื้นที่จังหวัดตาก จันทบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ยะลา และนราธิวาส ดูจากฟิล์มเลือดเชื้อนี้มีรูปร่างความคล้ายคลึง *P. malariae* จนไม่สามารถแยกจากกันด้วยการดูรูปร่างจากการดูฟิล์มเลือดได้
- **แหล่งระบาดของเชื้อมาลาเรียในประเทศไทย** พบอยู่บริเวณป่าเขาชายแดนของประเทศ โดยเฉพาะบริเวณชายแดนไทย-พม่า และไทย-กัมพูชา จังหวัดที่พบผู้ป่วยสูงมาโดยตลอดได้แก่ แม่ฮ่องสอน ตาก ตรัง กาญจนบุรี ราชบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ระนอง สระแก้ว และจันทบุรี รวมทั้งตามเกาะแก่งต่างๆ เนื่องจากมียุงก้นปล่องบางชนิดชอบวางไข่ในตามแหล่งน้ำกร่อยที่มีแสงแดดส่องถึงพบทางแถบชายทะเล ส่วนในบริเวณตอนกลางของประเทศ พบผู้ป่วยมาลาเรียได้น้อย และไม่พบการติดเชื้อในกรุงเทพมหานครและเขตปริมณฑล พบผู้ป่วยกระจายทุกกลุ่มอายุ โดยเฉพาะในกลุ่มอายุ 10-35 ปี อัตราส่วนของผู้ป่วยเพศชายจะมากกว่าเพศหญิง ประมาณ 2 เท่า พบผู้ป่วยได้ตลอดทั้งปี แต่จะพบมากในช่วงฤดูฝน

ยุงพาหะนำโรคมมาลาเรีย⁴⁻⁷

มาลาเรียติดต่อโดยการถูกยุงกัด ยุงพาหะนำโรคคือยุงก้นปล่องเพศเมีย (female *Anopheles* spp.) ที่เนื่องจากเวลาที่ยุงกัดคน มันจะเกาะโดยยกส่วนท้อง (abdomen) ขึ้นทำมุมกับผิวหนัง 45 องศา ในประเทศไทยมียุงก้นปล่องประมาณ 100 ชนิด แต่ที่พิสูจน์แล้วว่าเป็นยุงพาหะนำโรคมมาลาเรียในประเทศไทยมีอย่างน้อย 6 ชนิด เนื่องจากยุงพาหะมีแหล่งเพาะพันธุ์แตกต่างกันบทบาทสำคัญต่อการแพร่เชื้อขึ้นอยู่กับลักษณะภูมิประเทศ ยุงก้นปล่องพาหะที่สำคัญ ได้แก่

1. *Anopheles dirus* พบในป่าที่บชอบออกไข่ตามแอ่งน้ำนิ่งขังตามธรรมชาติ ลักษณะนิสัยชอบกินเลือดคนมาก ไม่ชอบกินเลือดสัตว์อื่นออกหากินตอนกลางคืนถึงเช้ามืด แต่ถ้าป่าที่บมาก ๆ ก็หากินช่วงกลางวันด้วย ยุงชนิดนี้เป็นชนิดที่มีความสามารถในการแพร่เชื้อมาลาเรียมากกว่ายุงพาหะชนิดอื่นในประเทศไทย
2. *Anophele minimus* พบได้มากตามบริเวณชายป่าเชิงเขา ตลอดจนถึงที่ราบที่มีแหล่งน้ำ ลำธาร ไหลผ่าน ชอบเพาะพันธุ์ตามลำธารน้ำใสไหลริน มีแสงแดดส่องถึง และอาจพบตามบริเวณบ่อน้ำพุ และน้ำซับน้ำซึมที่ใสสะอาด มีหญ้าขึ้นปกคลุมตามขอบลำธารหรือบ่อน้ำ

3. *Anophele balabacensis* พบได้ในบริเวณเทือกเขา ป่าดงดิบ หรือในภูมิภาคประเทศที่มีสภาพคล้ายป่า เช่น สวนยาง สวนทุเรียน ชอบเพาะพันธุ์ตามบริเวณแหล่งน้ำขังไ้ร่มเงา หรือน้ำขังในรอยเท้าสัตว์ ตามบ่อที่คนขุดทิ้งไว้ ลักษณะน้ำค่อนข้างใสและมีใบไม้แช่น้ำทับถมอยู่
4. *Anophele maculatus* พบกระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศไทย อาศัยตามบริเวณป่าโปร่งและตามเชิงเขา ป่าสวนยาง ชอบเพาะพันธุ์ตามบ่อน้ำพุ น้ำซับน้ำซึม ตามบริเวณป่าเชิงเขา นอกจากนี้ยังพบตามแอ่งหินน้ำขัง ตามลำธารมีต้นไม้ปกคลุมริมฝั่งที่มีแสงแดดส่องถึง
5. *Anophele sundaicus* เป็นพาหะปรากฏอยู่ในแถบชายทะเล โดยเฉพาะตามบริเวณฝั่งตะวันออกและฝั่งตะวันตกของอ่าวไทย ตลอดจนเกาะแก่งต่าง ๆ ชอบเพาะพันธุ์ในแหล่งน้ำกร่อยใกล้ทะเล มีแสงแดดส่องถึงและมีสาหร่ายลอยอยู่ในน้ำ
6. *Anophele aconitus* พบกระจายอยู่ทั่วไปในเกือบทุกภาคของประเทศไทย โดยเฉพาะในท้องที่ราบทุ่งนา และตามบริเวณป่า สวนผลไม้ ชอบเพาะพันธุ์ตามน้ำขังในนาข้าว ร่องสวนหลุมบ่อที่มีน้ำขัง และตามลำธารน้ำไหลสะอาดมีพืชน้ำขึ้นตามริมลำธาร

ยุงเพศเมียมีปากที่เป็นท่อแหลมสำหรับดูดเลือดจากคนเพื่อเอาโปรตีนไปสร้างไข่ ออกหาเหยื่อเวลากลางคืนโดยใช้ปากที่มีลักษณะเป็นท่อเจาะผิวหนังเพื่อดูดกินเลือด ปรกติจะดำเนินไปโดยเหยื่อไม่รู้ตัว เนื่องจากยุงจะปล่อยน้ำลายออกมาเพื่อทำหน้าที่เป็นยาชา ทำให้คนถูกกัดไม่รู้สึกเจ็บ ซึ่งน้ำลายนี้เองที่มีเชื้อมาลาเรีย ซึ่งยุงได้จากการไปกัดคนที่มิใช่ระยะติดต่อก่อน

วงชีวิตและการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย

วงชีวิตของเชื้อมาลาเรียต้องการโฮสต์ 2 ชนิด คือ คน และยุงก้นปล่องเพศเมียซึ่งเป็นพาหะนำโรค การติดเชื้อมาลาเรียเริ่มต้นเมื่อยุงที่ติดเชื้อมาลาเรียมารัดคน และปล่อยเชื้อมาลาเรียระยะติดต่อกับเรียกว่า sporozoite เข้าสู่กระแสเลือด จากนั้นเชื้อจะเข้าสู่เซลล์ตับ (hepatocyte) เจริญเติบโตเป็นเซลล์แม่เรียกว่า schizont ซึ่งจะแบ่งตัวแบบไมโอซิสเพศ (เรียกว่า hepatic schizogony หรือ exo-erythrocytic schizogony) เมื่อ schizont แบ่งตัวเสร็จสิ้นสมบูรณ์จะได้เซลล์ลูกเล็กๆเรียกว่า merozoite จำนวนนับพัน หลังจากนั้นเซลล์แม่และเซลล์ตับจะแตกแล้วปล่อยเซลล์ลูกเข้าสู่กระแสเลือดและเข้าสู่เซลล์เม็ดเลือดแดง (โดย *P. falciparum* เข้าสู่เม็ดเลือดแดงทุกอายุขัย) *P. vivax* และ *P. ovale* เลือกเข้าสู่เม็ดเลือดแดงที่เพิ่งออกจากไขกระดูก (reticulocyte) ซึ่งมีจำนวนน้อย *P. malariae* เลือกเข้าสู่เม็ดเลือดแดงที่จะหมดอายุขัยซึ่งมีจำนวนน้อยเช่นกัน ส่วน *P. knowlesi* เข้าสู่เข้าสู่เม็ดเลือดแดงทุกอายุขัย ความจำเพาะต่อเม็ดเลือดแดงนี้มีผลทำให้ความหนาแน่นของเชื้อในเซลล์เม็ดแดงของเชื้อแต่ละชนิดแตกต่างกัน เช่น *P. falciparum* ร้อยละ 2-60 *P. vivax*, *P. ovale* และ *P. malariae* ร้อยละน้อยกว่า 0.1, *P. knowlesi* ร้อยละมากกว่า 2 จากนั้นเชื้อจะเจริญเติบโตเป็นเซลล์แม่ schizont และแบ่งตัวด้วยกระบวนการไมโอซิสเพศ (เรียกว่า erythrocytic schizogony) โดยผ่านการเจริญเติบโตเป็นระยะต่างๆ ได้แก่ระยะ ring form, trophozoite และ schizont ตามลำดับ) เซลล์แม่เจริญเติบโตเต็มที่ภายในมีเซลล์ลูกนับสิบเมื่อเซลล์แม่และเซลล์เม็ดเลือดแดงแตกจะปล่อยเซลล์ลูกและเข้าสู่เซลล์เม็ดเลือดแดงอื่นๆ เจริญเติบโตแบ่งตัวเพิ่มจำนวนซ้ำเป็นวัฏจักรต่อไป อย่างไรก็ตาม

เมื่อแบ่งตัวแบบไม้อาศัยเพศในเม็ดเลือดแดงไปประมาณ 2-3 รอบแล้ว จะมีเซลล์ลูกจำนวนหนึ่งที่เข้าสู่เม็ดเลือดแดง และพัฒนาเป็นระยะ gametocyte ซึ่งเป็นเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์สืบพันธุ์ (gamete) ต่อไป gametocyte มีทั้งเพศผู้ (male gametocyte) และเพศเมีย (female gametocyte) เมื่อยุ่งกันปล่องมากัดคนที่ติดเชื้อมาลาเรียก็จะได้รับเม็ดเลือดแดงที่มีเชื้อระยะ gametocyte ซึ่งเป็นระยะติดต่อ (infective stage) เข้าไปในทางเดินอาหารส่วนกลาง (midgut หรือ stomach) แกมมีโตไซต์เพศผู้จะเจริญและแบ่งตัวได้ เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (male gamete) 8 เซลล์ เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้หนึ่งเซลล์จะไขเข้าไปในเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย ซึ่งพัฒนามาจากแกมมีโตไซต์เพศเมีย และเกิดการปฏิสนธิได้เป็นไซโกต (zygote) จากนั้นไซโกตจะเจริญและเปลี่ยนรูปร่างจากกลมเป็นยาวรีเรียกว่าระยะโอโอไคไนต์ (ookinete) ซึ่งจะไขทะลุผนังของกระเพาะยุง และสร้างผนังมาหุ้มเป็นก้อนกลมแล้วเจริญเป็นโอโอซิสต์ (oocyst) เกาะอยู่ที่ผิวหนังนอกของกระเพาะยุง ต่อมาจะเกิดการแบ่งตัวภายใต้เชื้อระยะติดต่อเรียกว่า sporozoite ซึ่งมีจำนวนนับพัน เมื่อโอโอซิสต์เจริญเติบโตเต็มที่ จะเกิดรูเปิดแล้วปล่อย sporozoite ออกมา sporozoite จะเคลื่อนตัวไปด้านหัวของยุงและไขเข้าสู่ต่อมน้ำลายของยุงปะปนอยู่กับน้ำลายยุง และเมื่อยุงกัดคนใหม่จะปล่อยระยะ sporozoite ซึ่งเป็นระยะติดต่อ (infective stage) เข้าสู่คนๆนั้น และเจริญเติบโตในคนตามวัฏจักรต่อไป การเจริญเติบโตตั้งแต่ยุงได้รับเชื้อจากคนจนได้ระยะติดต่อ

Sporozoite ในต่อมน้ำลายยุง ใช้เวลาประมาณ 2 สัปดาห์ ยุงที่มากัดคนสามารถติดเชื้อได้ตลอดระยะเวลาถ้าคนๆ นั้นมีระยะติดต่อแกมมีโตไซต์ในกระแสเลือด ผู้ป่วยติดเชื้อ *P.malariae* ที่ได้รับการรักษาไม่เพียงพออาจจะเป็นแหล่งแพร่เชื้อได้ถึง 3 ปี หรือ 1-2 ปี แต่ในผู้ป่วยติดเชื้อ *P.vivax* และ *P.falciparum* จะไม่เกิน 1 ปี

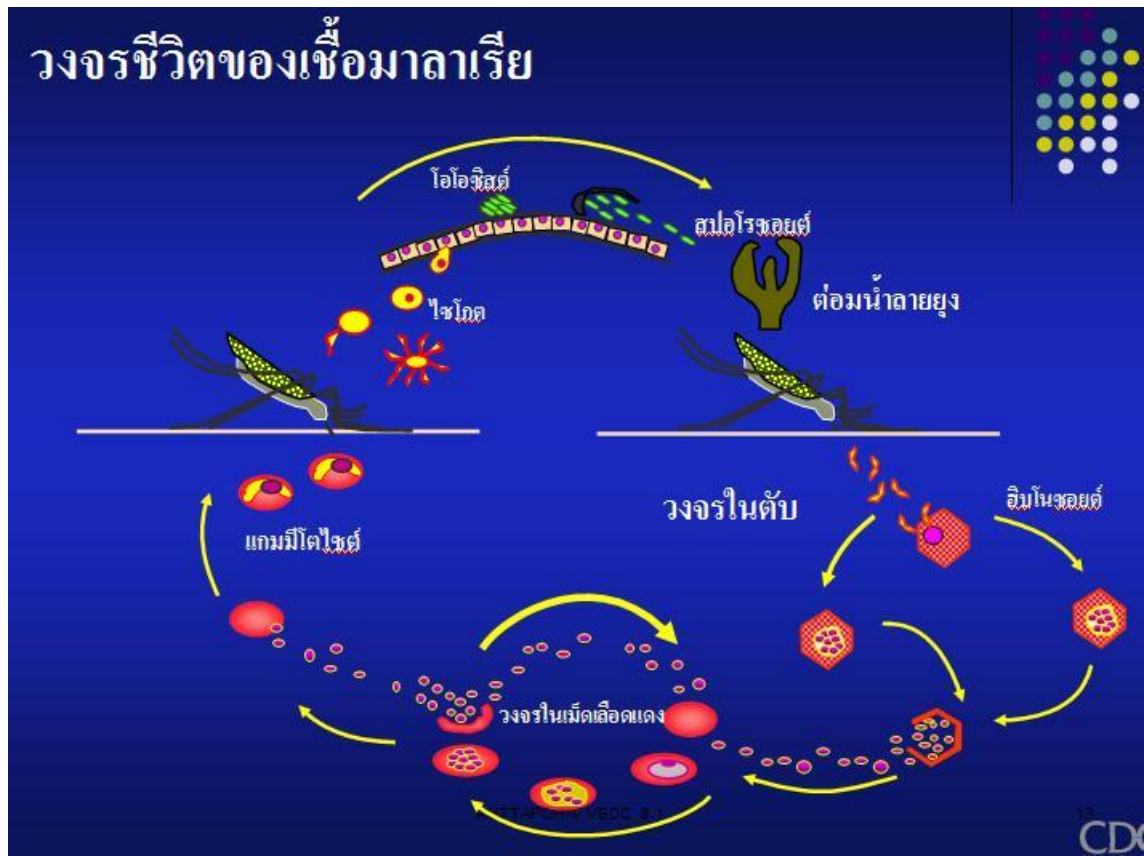
P.vivax และ *P.ovale* เมื่อเข้าสู่เซลล์ตับแล้ว เชื้อจำนวนหนึ่งอาจจะไม่พัฒนาและแบ่งตัวในทันที แต่จะเข้าสู่ระยะพักที่เรียกว่า hypnozoite ซึ่งอาจอยู่ในระยะนี้ได้นานถึง 6-12 เดือน ไปจนถึง 8 ปี หลังจากเวลาดังกล่าวแล้ว เชื้อจึงจะเจริญและแบ่งตัวได้เซลล์ลูก merozoite อีกครั้ง merozoite ชุดใหม่นี้จะเข้าสู่กระแสเลือด และเจริญเติบโตตามขั้นตอนตามปกติต่อไป การมีระยะ hypnozoite นี้เองที่ทำให้โรคมาลาเรียที่เกิดจากเชื้อ *P.vivax* และ *P.ovale* มีระยะ hypnozoite ที่พักตัวนาน สามารถก่อโรคมาลาเรียกลับซ้ำ (relapse malaria) ได้อีกหลังจากรักษาหายขาดจากครั้งแรกแล้ว ระยะ hypnozoite ที่พักตัวนาน ทำให้โรคมาลาเรียอาจเกิดกลับเป็นซ้ำได้อีกหลายครั้งในเวลาหลายปี ถ้าไม่ได้ยาฆ่า hypnozoite ให้หมดไปจากตับสำหรับผู้ป่วย (ส่วนใหญ่เป็นผู้ชาย) ที่มีภาวะบกพร่องเอนไซม์จีซิกพีดี (G-6-PD deficiency) อย่างรุนแรง จะไม่สามารถกินยาไพริมาควินซึ่งเป็นยาฆ่า hypnozoite ได้ เนื่องจากยานี้จะทำให้เม็ดเลือดแดงจำนวนมากของผู้ป่วยจะแตกซึ่งจะเป็นอันตรายต่อผู้ป่วย ในกรณีเช่นนี้ต้องรอให้เชื้อออกจากตับแล้วเข้าเม็ดเลือดแดงก่อนจึงให้ยาฆ่าเชื้อ ซึ่งอาจต้องทำการรักษาแบบนี้หลายครั้งจนกว่า hypnozoite ในตับจะหมดไป

อาการของโรคมาลาเรียจะปรากฏหลังจากเชื้อเจริญในเม็ดเลือดแดงและเซลล์เม็ดเลือดแดงแตกในรอบแรก และรอบต่อไป เนื่องจากเมื่อเซลล์เม็ดเลือดแดงติดเชื้อแตก จะปล่อยตัวเชื้อมาลาเรียและสารต่างๆ

ออกมารวมทั้งสารที่กระตุ้นร่างกายผู้ติดเชื้อให้เกิดอาการไข้จับสั่น ช่วงระยะตั้งแต่ยุงกัดจนเกิดอาการโรค เรียกว่าระยะฟักตัว

ระยะฟักตัวก่อนเกิดอาการโรค

- *P. falciparum* ระยะฟักตัวประมาณ 7-14 วัน
- *P. vivax* และ *P. ovale* ระยะฟักตัวประมาณ 8-14 วัน
- *P. malariae* ระยะฟักตัวประมาณ 18-40 วัน
- *P. knowlesi* ระยะฟักตัวประมาณ 12 วัน



ภาพที่ 1. วงจรชีวิตของเชื้อมาลาเรีย

ที่มา www.ipesp.ac.th

สาเหตุการเกิดไข้ของโรคมาลาเรีย

มีจากหลายประการ ได้แก่

1. การจับไข้ครั้งแรกหลังจากระยะฟักตัว ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อครั้งแรก (primary attack)
2. การเกิดอาการไข้กลับซ้ำ (relapse) โดยพบเชื้อมาลาเรียในเลือดอีก หลังจากการรักษาหายแล้ว

และไม่ได้รับเชื้อใหม่อีก อาการไข้กลับชนิดนี้พบได้ในผู้ที่ติดเชื้อมาลาเรีย *P.vivax* และ *P.ovale* เพราะมาลาเรียทั้งสองชนิดนี้มีเชื้อระยะหลบพัก hipzonoite ซึ่งสามารถหลบซ่อนอยู่ในเซลล์ตับและเจริญเติบโตขึ้นแล้วเข้าสู่เม็ดเลือดแดงอีก ทำให้เกิดอาการไข้กลับมามีอีกครั้ง โดยทั่วไปแล้วอาการไข้กลับมักรุนแรงน้อยกว่าและระยะเวลาเป็นก็สั้นกว่าการเป็นไข้มาลาเรียในตอนแรกส่วนเชื้อมาลาเรียชนิด *P.falciparum* และ *P.malariae* ไม่มีเชื้อ hipzonoite จึงไม่มีอาการไข้กลับ

3.อาการไข้กลับซ้ำ (recrudescence) ที่เกิดจากเชื้อในเม็ดเลือดแดงดื้อต่อยารักษา เชื้อที่เหลือรอดจากการฆ่าของยามีจำนวนน้อยมาก ต้องใช้เวลาในเจริญเติบโตและแบ่งตัวเพิ่มจำนวนจนถึงจำนวนหนึ่งจึงก่อให้เกิดอาการไข้มาลาเรียได้อีก การดื้อยาส่วนใหญ่เกิดขึ้นกับเชื้อ *P.falciparum* ในปัจจุบันเชื้อมีดื้อต่อยาหลายขนาน ทำให้การรักษาต้องระมัดระวัง ถ้าให้ยาไม่ถูกต้องและทันที่อาจเกิดอาการรุนแรงหรืออาการแทรกซ้อนจนเสียชีวิตได้ ส่วน *P.malariae* ก็สามารถทำให้เกิดอาการไข้กลับซ้ำ (recrudescence) ได้ แต่ไม่ได้เกิดจากการดื้อยา แต่เป็นเพราะเชื้อจำนวนน้อยมากๆ จะคงอยู่ในกระแสเลือดในปริมาณต่ำๆ ได้เป็นเวลานานหลายสิบปี มีรายงานพบอาการไข้กลับซ้ำเกิดขึ้นได้หลังการติดเชื้อมาครั้งแรกถึง 50 ปี และเมื่อไม่นานมานี้มีรายงานพบการของเชื้อ *P.vivax* ดื้อต่อยาคลอโรควิน

4.การติดเชื้อมาใหม่ (reinfection) คือการเกิดอาการของโรคมาลาเรียโดยได้รับเชื้อใหม่ จากการถูกยุงกัดใหม่ ไม่ใช่เกิดจากการดื้อยา ไม่ใช่เกิดจากการมีเชื้อที่หลงเหลือค้างจากการรับเชื้อครั้งก่อน หรือเกิดจากการที่มีเชื้อหลบอยู่ในตับ

อาการแสดงของโรคมาลาเรีย

อาการและอาการแสดงของมาลาเรียไม่มีลักษณะพิเศษบ่งเฉพาะ โดยมากจะมีอาการนำคล้ายกับเป็นหวัด คือ มีไข้ต่ำๆ ปวดศีรษะ ปวดตามตัวและกล้ามเนื้อ อาจมีอาการคลื่นไส้ เบื่ออาหาร อาการนี้จะเป็นเพียงระยะสั้น เป็นวัน หรือหลายวันก็ได้ ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่นระยะเวลาการพักตัวของเชื้อ ชนิดของเชื้อ จำนวนของระยะติดต่อสปอโรซอยต์ที่ผู้ป่วยได้รับเข้าไป ภาวะภูมิคุ้มกันต่อเชื้อมาลาเรียของผู้ป่วย ภาวะที่ผู้ป่วยได้รับยาป้องกันมาลาเรียมาก่อน หรือได้รับยารักษาโรคมาลาเรียมาก่อนบ้างแล้ว

อาการจับไข้ ซึ่งเป็นอาการที่เด่นชัดของโรคมาลาเรียประกอบด้วย 3 ระยะคือ ระยะสั้น ระยะร้อน และระยะเหงื่อออก ปัจจุบันจะพบลักษณะทั้ง 3 ระยะได้น้อยมาก ผู้ป่วยจะมีไข้สูงลอยตลอดเวลา โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่เป็นมาลาเรียครั้งแรก เนื่องจากในระยะแรกๆ ของการติดเชื้อมาลาเรีย เชื้ออาจเจริญถึงระยะแตกตัวไม่พร้อมกัน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากได้รับเชื้อจากตับในเวลาต่างกัน ทำให้เกิดมีเชื้อหลายระยะ ดังนั้นการแตกของเม็ดเลือดแดงจึงไม่พร้อมกัน ทำให้ผู้ป่วยมาลาเรียในระยะแรกอาจมีไข้สูงลอยตลอดวันได้ แต่เมื่อผ่านไประยะหนึ่งแล้วการแตกของเม็ดเลือดแดงพร้อมกัน จึงเห็นผู้ป่วยมีการจับไข้หนาวสั่นเป็นเวลาแยกได้ชัดเจนตามชนิดของเชื้อมาลาเรีย

- *P.falciparum* ใช้เวลาในการแบ่งตัว 42-48 ชั่วโมง จึงทำให้เกิดไข้ทุกวันที่ 3

- *P.vivax* และ *P.ovale* ใช้เวลาในการแบ่งตัว 48 ชั่วโมง จึงทำให้เกิดไข้ทุกวันที่ 3
- *P.malariae* ใช้เวลา 72 ชั่วโมง อาการไข้จึงเกิดทุกวันที่ 4
- *P.knowlesi* ใช้เวลา 24 ชั่วโมง อาการไข้จึงเกิดทุกวัน

ภายหลังที่เป็นมาลาเรียได้ระยะหนึ่ง จะตรวจพบว่าผู้ป่วยชีด บางคนมีตัวเหลือง ตาเหลือง ตับและม้ามโต บางรายกดเจ็บ ถ้าเม็ดเลือดแดงแตกมากๆ จะพบว่าผู้ป่วยมีปัสสาวะดำ

อาการแสดงเฉพาะโรคมาลาเรียที่เกิดจากเชื้อชนิดต่างๆ

- *P.falciparum* เป็นมาลาเรียชนิดที่รุนแรงและเป็นอันตรายมากที่สุด ผู้ที่ได้รับเชื้อมีไข้เข้าไปและไม่ได้ได้รับการรักษาจะมีอาการรุนแรงเกิดเป็นมาลาเรียขึ้นสมองได้ เนื่องจากเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมีเกาะติดกับเซลล์บุเลือดฝอยร่วมกับผลการตอบสนองของร่างกายของผู้ป่วยต่อเชื้อ แต่ถ้าได้รับการรักษาและหายจากโรคแล้วมักจะหายเป็นปกติ ไม่มีอาการอื่นหลงเหลืออีกเลย แต่ผู้ป่วยติดเชื้อ *P.falciparum* มักเกิดภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ ได้บ่อย เช่น เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ เกิดภาวะความเป็นกรดเกิน (metabolic acidosis) และเสียชีวิตจากปอดบวม น้ำ หรือไตวายได้ ผู้ป่วยด้วยเชื้อมีไข้ในระยะแรกของโรคจะมีอาการไข้ ปวดเมื่อยตามตัว คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้องหรือท้องเดิน บางคนอาจมีไอหรือลักษณะคล้ายไข้หวัดได้ใน 4-5 วันแรกของโรค ไข้จะสูงลอยตลอดเวลา เนื่องจากการแตกของเม็ดเลือดแดงแต่ละชุดไม่พร้อมกัน แต่หลังจากเชื้อมาลาเรียเจริญอยู่ในระยะเดียวกันแล้ว เม็ดเลือดแดงจะแตกพร้อมกันทุก 42-48 ชั่วโมง ผู้ป่วยอาจชีดและเหลือง ตับม้ามโต
- *P.vivax* เป็นมาลาเรียชนิดที่ไม่รุนแรง ผู้ป่วยที่เป็นมาลาเรียนี้มักจะไม่เสียชีวิต แต่ผู้ป่วยจะเป็นโรคซ้ำอีก อาการของผู้ป่วย *P.vivax* จะมีลักษณะคล้าย *P.falciparum* แต่จะพบหนาวสั่นได้บ่อยกว่า และขณะเกิดหนาวสั่น มักมีอาการปวดหัว ปวดกล้ามเนื้อมาก ผู้ป่วยที่ไม่ได้รับการรักษาอาการไข้จะค่อยๆ หายและหายได้ แต่จะเป็นซ้ำได้อีก ภายใน 2 ปี นานที่สุด 8 ปี เนื่องจากมีระยะ hypozoonite ซ่อนอยู่ในเซลล์ตับ
- *P.ovale* อาการทางคลินิกจะมีลักษณะคล้ายกับการติดเชื้อ *P.vivax* แต่จะมีอาการน้อยกว่า และมีเชื้อกลับเป็นซ้ำน้อยกว่า ถ้าไม่ได้รับการรักษาอาการไข้จะหายและหายไปได้เอง แต่เป็นซ้ำได้อีกภายใน 1 ปี นานที่สุดถึง 5-8 ปี เนื่องจากมีระยะ hypozoonite ซ่อนอยู่ในเซลล์ตับ
- *P.malariae* จะทำให้เกิดมีไข้หนาวสั่นวันเว้น 3 วัน คือมีไข้วันที่ 1 แล้วสบายอยู่ 3 วัน วันที่ 4 ผู้ป่วยมักไม่มีอาการรุนแรงและกว่าจะเกิดอาการไข้อาจใช้เวลานานเป็นปีเชื้อพลาสโมเดียมมาลาเรีย อี อยู่ในคนโดยมีจำนวนน้อยมากๆ ในกระแสเลือดได้เป็นเวลานานหลายปี มีรายงานว่านานถึง 53 ปี เชื้อนี้เป็นสาเหตุทำให้เกิดกลุ่มอาการโรคไต (nephrotic syndrome) ได้
- *P.knowlesi* อาการของโรค ในระยะแรกไม่มีลักษณะจำเพาะคือ มีไข้ ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน อ่อนเพลีย ท้องเดิน เนื่องจากเชื้อมีการแบ่งตัวเร็วที่สุดในบรรดาเชื้อมาลาเรียทั้งหมด คือใช้เวลาแบ่งตัว 1 รอบ เพียง 24 ชั่วโมง ทำให้จำนวนเชื้อในเลือดมีจำนวนมาก (hyper-parasitaemia)

ซึ่งอาจทำให้ตายหรือมีภาวะแทรกซ้อน โดยอาการทางคลินิกคล้ายกับภาวะแทรกซ้อนที่เกิดจากเชื้อมาลาเรียชนิด *P.falciparum* ส่วนใหญ่ไม่สามารถแยกเชื้อมาลาเรีย *P.knowlesi* ออกจากเชื้อ *P.malariae* ได้ เนื่องจากรูปร่างในระยะต่าง ๆ คล้ายกันมาก ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมาลาเรียชนิด *P.malariae* แต่ที่พบความหนาแน่นของเชื้อสูง ให้นึกถึงการติดเชื้อ *P.knowlesi* ไว้ด้วย และต้องรีบให้การรักษาก่อนที่ผู้ป่วยจะเกิดอาการแทรกซ้อนที่ยากต่อการรักษาได้ การตรวจด้วยวิธี PCR หรือวิธีทางอิมมูโนวิทยาสามารถแยกเชื้อออกจากกันได้แต่จะใช้เวลาและต้องการเครื่องมือที่มีราคาสูง

การติดเชื้อผสม (mixed infections)

การติดเชื้อผสมที่พบได้บ่อยที่สุด คือเชื้อ *P.falciparum* และ *P.vivax* รายงานจากการตรวจเลือดผู้ป่วยทั่วประเทศไทยพบการติดเชื้อผสมของ *P.falciparum* และ *P.vivax* ในระยะแรกพบเพียงร้อยละ 0.5 แต่รายงานจากโรงพยาบาลที่มีการติดตามผู้ป่วยติดเชื้อ *P.falciparum* ภายหลังการรักษานานถึง 2 เดือนพบว่าเมื่ออัตราการเป็น *P.vivax* สูงถึงร้อยละ 33 แสดงได้ว่าในระยะแรกอัตราการได้รับเชื้อผสม 2 ชนิด เกิดได้บ่อย แต่ตรวจไม่พบหรือตรวจแยกชนิดของมาลาเรียได้ยาก ทำให้ผู้ป่วยได้รับการรักษามาลาเรียเพียงชนิดเดียว คือ *P.falciparum* แต่ภายหลังจึงพบว่าเป็นมาลาเรียชนิด *P.vivax* ตามมาในอัตราที่สูง

การติดต่อของโรคมาลาเรีย

1. ติดต่อกันโดยถูกยุงกัดที่มีเชื้อระยะติดต่อกัด (mosquito biting) และปล่อยสปอโรซอยต์เข้าสู่กระแสเลือดคน เชื้อจะไปติดต่อก่อนเข้าสู่เม็ดเลือดแดง วิธีนี้เป็นวิถีธรรมชาติที่พบได้มากที่สุด
2. ติดต่อกันจากมารดาไปสู่ทารกในครรภ์ (congenital malaria) เด็กแรกเกิดได้รับเชื้อจากมารดาโดยตรงในขณะตั้งครรภ์ เชื่อว่าผ่านทางรกขณะแยกตัวออกจากมดลูก ระหว่างคลอด เชื้อมาลาเรียที่พบเป็นเชื้อพบคือ *P.falciparum* และ *P.vivax* แต่จากรายงานพบว่าส่วนใหญ่เป็น *P.vivax* อาการจะเกิดหลังจากคลอด ประมาณ 1 ถึง 3 สัปดาห์ โดยทารกแรกเกิดจะมีไข้ ตับม้ามโต ซีด ตัวเหลือง ชีพ ร้องกวนโยเย ไม่ดูดนม และอาเจียน การติดต่อวิธีนี้มักพบได้ในท้องที่ที่มีมาลาเรียชุกชุม กรณีเช่นนี้เชื้อจากเข้าสู่เม็ดแดงของแม่จะเข้าสู่เม็ดแดงของลูกโดยไม่ผ่านตัวบ่งชี้ อาการจะเกิดหลังจากคลอด ประมาณ 1 ถึง 3 สัปดาห์ เชื้อมาลาเรียที่พบในทารกแรกเกิดและมารดาจะเป็นเชื้อชนิดเดียวกัน
3. ติดต่อกันจากการถ่ายเลือด (blood transfusion) จะพบในรายที่ผู้บริจาคโลหิตมีความหนาแน่นของเชื้อมาลาเรียในกระแสเลือดต่ำมากและไม่มีอาการ หากไม่ได้ทำการตรวจหาเชื้อมาลาเรียในเลือด

ของผู้บริจาคก่อนที่ผู้ป่วยที่จะรับการถ่ายเลือด ผู้ที่ได้รับเลือดจะป่วยเป็นมาลาเรียได้ โดยเชื้อจะเข้าสู่เม็ดแดงโดยไม่ผ่านตับ

4. ติดต่อจากการใช้เข็มฉีดยาร่วมกัน (sharing syringe) มักพบในกลุ่มคนที่ติดยาเสพติด โดยใช้เข็มฉีดยาเสพติดร่วมกัน โดยเชื้อจะเข้าสู่เม็ดเลือดแดงโดยไม่ผ่านตับ และเป็นเชื้อชนิดเดียวกัน
5. ติดต่อจากการรับการปลูกถ่ายอวัยวะ (organ transplantation) เช่น การปลูกถ่ายตับ วิธีนี้พบได้น้อยมาก

เนื่องจากถิ่นกำเนิดของยุงก้นปล่องนั้นอยู่ในป่าจึงพบผู้ป่วยตามแนวชายแดนในจังหวัดดังกล่าวข้างต้นมาก รวมทั้งคนที่เดินทางเข้าไปในป่าก็มีโอกาสได้รับเชื้อจากการถูกยุงกัด **แต่ไม่ใช่ทุกคนที่ไม่ได้เข้าป่าจะไม่มีโอกาสเป็นโรคมาลาเรีย** เพราะมีรายงานผู้ป่วยที่อาศัยอยู่ในเมืองหรือแม้แต่ประเทศในเขตหนาว ทั้งนี้ เชื่อว่ายุงที่เป็นพาหะ อาจเกาะติดมากับยานพาหนะ ที่เข้าไปในป่า เช่น รถยนต์ รถทัวร์ท่องเที่ยว รวมทั้งเครื่องบินที่ไปแวะจอดในที่ที่มีการระบาดของเชื้อมาลาเรียและยุงติดเชื้อมีติดไปกับเครื่องบิน

การป้องกันควบคุมโรคมาลาเรีย⁴⁻⁶

การป้องกันตนเอง เพื่อไม่ให้ติดเชื้อมาลาเรียเมื่อจำเป็นต้องเข้าไปในพื้นที่แหล่งระบาดของมาลาเรีย และลดการแพร่เชื้อมาลาเรียจากผู้ที่ป่วยเป็นไข้มาลาเรียไปยังบุคคลอื่น มีวิธีการต่าง ๆ ดังนี้

1. สวมเสื้อผ้าปกปิดร่างกายให้มิดชิด ควรใช้เสื้อผ้ามืด ๆ
2. นอนในมุ้ง (ถ้าใช้มุ้งชุบน้ำยา จะเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกัน)
3. ทายากันยุง ทุกๆ 4 ชั่วโมง
4. ถ้านอนในห้องที่มีมุ้งลวด ควรพ่นยากันยุงก่อน

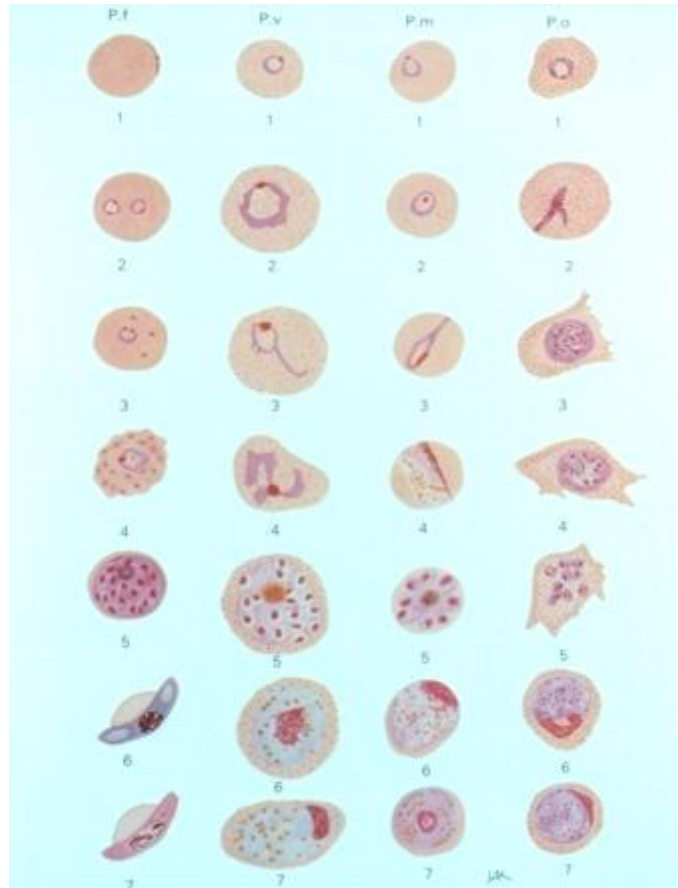
ไม่แนะนำให้การกินยาก่อนเข้าแหล่งระบาดของมาลาเรีย เพราะไม่ได้ช่วยป้องกันโรคมาลาเรียแต่อย่างใด เนื่องจากเชื้อมาลาเรียในประเทศไทยติดต่อยาหลายขนาน ทำให้ไม่มียาที่มีประสิทธิภาพสูง มีฤทธิ์ข้างเคียงน้อยและเหมาะสมที่จะใช้เป็นยาปราบปรามป้องกันมาลาเรียสำหรับประชาชนทั่วไป การกินยาเป็นเพียงแต่กดอาการไว้เท่านั้น เมื่อหยุดกินยาเชื้อจะออกมาในกระแสเลือดและเกิดอาการของโรคได้อีก ควรเน้นมาตรการป้องกันตนเองไม่ให้ยุงกัดด้วยวิธีต่าง ๆ ดังข้างต้น และควรระวังจะเลือดตรวจหาเชื้อมาลาเรียเมื่อมีอาการไข้หรืออาการอื่นที่สงสัยว่าอาจเป็นไข้มาลาเรียภายใน 7-14 วัน หรือภายใน 1-2 เดือนหลังจากเดินทางออกจากแหล่งระบาด

การรักษา

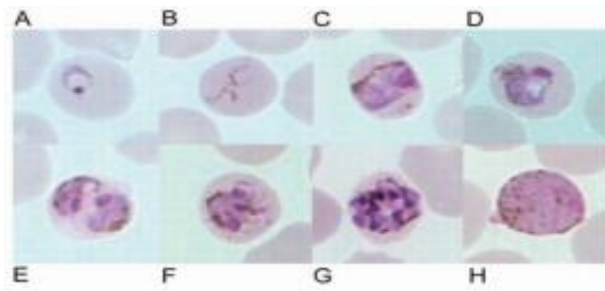
การรักษามาลาเรีย แบ่งตาม 3 ลักษณะ ดังนี้

1. **การรักษาจำเพาะ** คือการให้ยาฆ่าเชื้อมาลาเรียที่เป็นระยะไร้เพศในเม็ดเลือดแดง การเลือกชนิดของยารักษา ควรพิจารณาประสิทธิภาพของยาฆ่าเชื้อมาลาเรีย เนื่องจากการดื้อยาของเชื้อมาลาเรียในพื้นที่ต่างๆมีความแตกต่างกัน
2. ถ้าผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อ *P.vivax* หรือ *P.ovale* ต้องได้รับยารักษาระยะ hipzonoite ด้วย เพื่อการรักษาหายขาด
3. **การบำบัดอาการและภาวะแทรกซ้อน** คือ การบำบัดอาการและภาวะแทรกซ้อนอื่นๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างที่ผู้ป่วยยังมีเชื้อมาลาเรีย หรือภายหลังที่เชื้อมาลาเรียหมดแล้ว โดยเฉพาะผู้ป่วยที่ติด *P.falciparum* ถ้าได้รับการรักษาช้าไป จะมีภาวะแทรกซ้อนรุนแรงและมีโอกาสเสียชีวิตได้มากกว่าชนิดอื่นๆ
4. **การใช้ยาป้องกันการแพร่โรค** คือ การใช้ยาฆ่าเชื้อมาลาเรียระยะติดต่อระยะแกมมีโตไซต์ ไปสู่ยุง โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยที่อยู่ในท้องที่มียุงพาหะ

ภาพที่ 2. เชื้อมาลาเรียที่พบในประเทศไทย



รูปเชื้อ *P.falciparum*, *P.vivax*, *P.malariae* และ *P.ovale*



รูปเชื้อ *P. knowlesi*

ที่มา www.sc.mahidol.ac.th/urs/?p=51

2.2. การศึกษาความไวของเชื้อมาลาเรีย^{1-3, 10-11}

การชี้บ่งว่าเชื้อมาลาเรียดื้อยานั้น มีองค์ประกอบที่สำคัญ 4 ส่วน คือ ปัจจัยทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) ผลการตอบสนองของผู้ป่วย (in vivo response) การประเมินความไวของเชื้อต่อยาในหลอดทดลอง (in vitro sensitivity test) และปัจจัยทางอณูชีววิทยาระดับพันธุกรรมของเชื้อ (drug resistance genes)

การศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetic)

จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการดูดซึมยา (absorption) การกระจายตัวของยา (distribution) การเปลี่ยนแปลงยาโดยตับ (metabolism/biotransformation) ซึ่งกระบวนการเหล่านี้มีผลต่อระดับยาต้านมาลาเรียในกระแสเลือด ของผู้ป่วย โดยทั่วไปนั้นการศึกษาทางเภสัชจลนศาสตร์มีความยุ่งยากและต้องอาศัยความร่วมมือจากผู้ป่วยเป็นส่วนใหญ่ เพราะจะต้องเจาะเลือดเพื่อวัดระดับยาเป็นระยะๆ และการวัดระดับยาจะต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญ และห้องปฏิบัติการที่มีอุปกรณ์จำเพาะ คือ เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งทำให้ปัจจัยทางด้านเภสัชจลนศาสตร์จึงมีผู้ศึกษาน้อยมาก อย่างไรก็ตามข้อมูลระดับยาของผู้ป่วยจะเป็นข้อมูลสำคัญที่บ่งบอกว่าเชื้อมาลาเรียดื้อยาหรือไม่ เพราะการรักษาล้มเหลว นั้น อาจเกิดจากระดับยาของผู้ป่วยต่ำกว่าระดับต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ จะเห็นได้ว่าการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์มีความจำเป็นที่ต้องทำควบคู่ไปกับการศึกษาปัจจัยอื่นๆ ด้วย

การศึกษาผลการตอบสนองของผู้ป่วยต่อยาต้านมาลาเรีย (in vivo response)

การศึกษาผลการตอบสนองของผู้ป่วยจะใช้เกณฑ์ขององค์การอนามัยโลกและติดตามการพบเชื้อกลับในผู้ป่วยเป็นเวลา 28-42 วัน ซึ่งในส่วนของประเทศไทยนั้น ก็ได้ดำเนินการเฝ้าระวังการดื้อของเชื้อมาลาเรียชนิดฟลิวิราซึม โดยใช้วิธีการประเมินประสิทธิภาพของยาในผู้ป่วย (in vivo test) ตามเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก นอกจากนี้ยังทำควบคู่กับการประเมินความไวของเชื้อในหลอดทดลอง (in vitro test) การติดตามผู้ป่วยพบเชื้อมาลาเรียในระยะเวลา 42 วัน หลังจากการให้ยา ซึ่งตามหลักเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลกแบ่ง การตอบสนองของผู้ป่วยออกเป็น 4 ระดับดังนี้

1. S (Sensitive) หมายความว่า ภายหลัง การรักษา 48 ชั่วโมง ระดับเชื้อมาลาเรียลดลง ไม่น้อยกว่าร้อยละ 25 จากปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในวันแรก และตรวจไม่พบเชื้อเลยหลังจากการรักษาในวันที่ 7 จนกระทั่งจบการศึกษาติดตาม
2. RI (Low grade resistance) พบการลดลงของเชื้อภายใน 48 ชั่วโมง แต่ตรวจพบเชื้อ ภายหลังการรักษาวันที่ 7
3. RII (High grade resistance) พบการลดลงของเชื้อภายใน 48 ชั่วโมง โดยพบเชื้อ ลดลงน้อยกว่าร้อยละ 25 แต่ตรวจพบเชื้อในช่วง 7 วันหลังการรักษา

4. RIII (High grade resistance) เชื้อมาลาเรียไม่ได้ลดจำนวนลงภายหลังการรักษา การติดตามผลการตอบสนองของผู้ป่วยสำหรับ การรักษาเชื้อมาลาเรียฟัลซิพารัม นั้น ภายหลังเมื่อ ตรวจพบเชื้อมาลาเรียแล้ว จะต้องทำการตรวจพิสูจน์ทางด้านอนุชีววิทยาเพื่อจำแนกว่าเป็นการ ติดเชื้อใหม่ (re-infection) หรือเป็นเชื้อมาลาเรียที่ดื้อยาและอยู่ในกระแสเลือดตลอดตั้งแต่เริ่มการ รักษา (recrudescence) สำหรับการติดตามผู้ป่วยเมื่อได้รับนั้น พบว่าเวลาในการกำจัดเชื้อมาลาเรียในกระแสเลือดช้าขึ้น ซึ่งรูปแบบการเปลี่ยนแปลงเวลาที่กำจัดเชื่อนั้น ก็เป็นข้อมูลพื้นฐานแสดงถึงการดื้อต่อยาได้

การประเมินความไวของเชื้อมาลาเรียต่อยาด้านมาลาเรียในหลอดทดลอง (in vitro test)

การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาด้านมาลาเรียในหลอดทดลองเป็นวิธีมาตรฐานอย่างหนึ่งที่ใช้ติดตามการดื้อยาของเชื้อมาลาเรีย เนื่องจากสะดวก และรวดเร็ว วิธีนี้ได้มีการพัฒนาขึ้นและใช้ได้ดีในเชื้อฟัลซิพารัม การประเมินความไวของเชื้อมาลาเรีย ฟัลซิพารัมในหลอดทดลองมีหลากหลายวิธี ดังนี้

1. การประเมินความไวของเชื้อฟัลซิพารัม มาลาเรียด้วยวิธี Schizont maturation inhibition โดยวิธีดั้งเดิมนั้นจะใช้หลักการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อไปสู่ระยะไซซอนต์ (schizont maturation inhibition) วิธีนี้ค่อนข้างสะดวก และง่าย เพราะไม่ได้ใช้อุปกรณ์และสารเคมีราคาแพง และสามารถประเมินความไวในพื้นที่ระบาดและ แม้แต่ในกรณีที่มีเชื้อระดับต่ำๆ โดยปกติจะเพาะเลี้ยง เชื้อเป็นระยะสั้นภายในเวลา 24 ชั่วโมงเท่านั้น เมื่อครบกำหนดเวลาก็นำมาทำฟิล์มเลือดแบบหนา (thick smear) แล้วจึงนับปริมาณ schizont เทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้รับยา ถึงแม้ว่าวิธีการนี้จะง่ายมาก แต่การอ่านและวิเคราะห์ผลจะขึ้นอยู่กับความชำนาญของผู้วิจัยเป็นหลัก ข้อเสียที่สำคัญของวิธีนี้ คือ เสียเวลาและใช้แรงงานมากในการอ่านผล นอกจากนี้วิธีนี้ยังมีจุดอ่อนที่สำคัญคือช่วงระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อที่ค่อนข้างสั้น วิธีนี้ไม่เหมาะกับการทดสอบความไวของยาบางชนิดที่ออกฤทธิ์ช้า เช่น ยาไพริเมทาไมน (pyrimethamine)

2. การประเมินความไวของเชื้อฟัลซิพารัม มาลาเรียด้วยวิธี Hypoxanthine assay

เป็นวิธีประเมินความไวของเชื้อมาลาเรียให้ได้ผลเร็วขึ้น โดยใช้สารรังสีไฮโปแซนทีน (Hypoxanthine) เป็นสารที่วัดการเจริญของเชื้อ โดยสารนี้จะเข้าไปร่วมในการสร้างสายดีเอ็นเอเมื่อ เชื้อเจริญเติบโต ดังนั้นถ้ายาสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ระดับค่ารังสีก็จะลดลง วิธีการนี้รวดเร็ว และมีความน่าเชื่อถือสูง ซึ่งในปัจจุบันถือว่าเป็นวิธีการอ้างอิงสำหรับการวัดความไว อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้ยังมีข้อจำกัดในเรื่องการใช้สารรังสีที่ค่อนข้างอันตรายและต้องการใช้อุปกรณ์ราคาแพงในการวัด อีกทั้งยังต้องการตรวจรับรองห้องปฏิบัติการเพื่อขออนุญาตใช้สารรังสีอีกด้วย

3. การประเมินความไวของเชื้อฟัลซิพารัม มาลาเรียด้วยวิธี ELISA

เป็นการพัฒนาการวัดโดยใช้หลักการวิธี ELISA สารที่ใช้ติดฉลาก การวัดมี 2 วิธี คือ การวัดระดับสาร histidine rich protein 2 (HRP2) และการวัดสาร lactate dehydrogenase protein (pLDH) ทั้งสองวิธีนี้จะวัดระดับสารดังกล่าวที่เชื้อมาลาเรีย หลังออกมาสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งระดับสารจะเป็นสัดส่วนกับการเจริญเติบโตของเชื้อ แต่วิธีการวัดด้วย ELISA นั้นจะต้องอาศัยแอนติบอดีที่จำเพาะกับสารที่ต้องการวัด (monoclonal antibody)

* Lactate dehydrogenase (pLDH) สารนี้เป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการ EmbdenMeyerhof หรือไกลโคไลซิส (glycolysis) ของเชื้อ มาลาเรีย แต่เดิมนั้นจะใช้สารนี้ในการตรวจพิสูจน์ เชื้อมาลาเรีย ในช่วงแรกนั้นการวัดความไวของเชื้อจะประเมินจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ pLDH ซึ่งจะทำให้เปลี่ยนสี tetrazolium ให้เป็น formazan ซึ่งมีสีฟ้าและสามารถวัดได้ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิทรี (spectrophotometry) ซึ่งการเปลี่ยนสีนี้ จำเป็นต้องใช้เชื้อในปริมาณสูงประมาณ 1-2% ซึ่ง ไม่เหมาะสมหากนำไปประเมินความไวในพื้นที่ระบาดของมาลาเรีย ต่อมามีการพัฒนาวิธีการวัดเอนไซม์ pLDH จากเชื้อมาลาเรียโดยใช้ double-site enzyme-linked LDH immunodetection (DELI) ซึ่งเพิ่มประสิทธิภาพในการวัดระดับ pLDH โดยอาศัย monoclonal antibody เข้ามาช่วย

* Histidine rich protein 2 (HRP2) วิธีนี้จะคล้ายกับวิธีการวัดความไวจาก pLDH สาร HRP2 เป็นแอนติเจนสำคัญที่ใช้พิสูจน์เชื้อมาลาเรียการทดสอบความไวด้วยวิธีนี้จะต้องเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลาที่นานประมาณ 72 ชั่วโมง ข้อดีของวิธีวัดความไวนี้คือ สะดวกและ เชื่อถือได้ แต่จุดอ่อนอย่างหนึ่งคือเรื่องของการสังเคราะห์สาร monoclonal antibody ซึ่งค่อนข้าง ราคาแพง

4. การประเมินความไวของเชื้อฟัลซิพารัม มาลาเรียด้วยวิธีสารเรืองแสง

สำหรับการวัดความไวของเชื้อด้วยวิธี สารเรืองแสง SYBR นั้นจะ เข้าไปจับกับดีเอ็นเอของเชื้อทำให้เกิดการเรืองแสงขึ้น ซึ่งปริมาณการเรืองแสงจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับการเจริญเติบโต การวัดสารเรืองแสงเป็นวิธีที่มีความไวสูง แต่มีข้อเสียเรื่องสัญญาณรบกวน

การศึกษาการทดสอบความไวของเชื้อ *P.falciparum* ต่อยาด้านมาลาเรียในประเทศไทยที่องค์การอนามัยโลกติดตามสำรวจและเฝ้าระวังร่วมกับสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง โดยวิธี *In vitro* micro test^{3,10-11} การตอบสนองของเชื้อ *P. falciparum* ต่อยา Mefloquine ในหลอดทดลอง ประเทศไทย ปี 2526-2532 ค่า Inhibition concentration (IC) หรือบางครั้งเรียก Effective concentration (EC) โดยเฉพาว่า EC 99 พบว่ามีแนวโน้มจะดื้อยาโดยเป็น Decreased susceptibility จากไม่ถึง 1×10^{-6} mol/L ในปี พ.ศ.2525 เป็น 5×10^{-6} mol/L ในปี พ.ศ.2532¹⁰⁻¹¹

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการศึกษา

3.1 วิธีการศึกษา

เป็นการศึกษาทางห้องปฏิบัติการโดยศึกษาความไวของเชื้อมาลาเรียต่อยาในหลอดทดลองตามวิธีการของ องค์การอนามัยโลก (WHO in vitro micro test , Mark II)³

โดยการศึกษาทดสอบกับยา 3 ตัว คือ artemisinin, mefloquine และ quinine ที่ใช้ในประเทศไทย ตามคำแนะนำ WHO

3.2 สถานที่ศึกษาและระยะเวลาที่เก็บตัวอย่าง

คลินิกมาลาเรีย ที่อยู่ห่างจากบริเวณแนวชายแดนไทย-กัมพูชา อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี ประมาณ 0.5 กิโลเมตร จำนวน 2 แห่ง เก็บตัวอย่างระหว่างเดือน ตุลาคม 2546 – มกราคม 2547

3.3. กลุ่มตัวอย่าง

ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *P.falciparum* ทั้งชาวไทยและแรงงานกัมพูชาย้ายถิ่น

เกณฑ์การคัดเลือกผู้ป่วยเข้า (Include criteria)

1. ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ uncomplicated *P. falciparum* และติดเชื้อ *P. falciparum* เพียงชนิดเดียว
2. ผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อ *P. falciparum* ระยะ Ring form อย่างเดียวหรือ ระยะ Ring form ร่วมกับ Gametocyte
3. ผู้ป่วยไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยารักษามาลาเรียมาก่อน คือ ยาควินินภายใน 7 วัน 4-อมีโนควิโนลีน ภายใน 14 วัน ไพริเมธามิน และซัลโฟนามาย ภายใน 28 วันหรือเมโฟลควิน ภายใน 63 วัน
4. ผู้ป่วยที่มีความหนาแน่นของเชื้อระหว่าง 1, 000 - 80,000 ตัวต่อเลือด 1 ไมโครลิตร
5. ไม่เป็นหญิงที่ตั้งครรภ์
6. ผู้ป่วยที่ร่วมงานวิจัยต้องยินยอมเข้าร่วมการศึกษาโดยมีเอกสารยินยอมเข้าร่วมงานศึกษา เมื่อเจาะเลือดทำการศึกษาแล้วจะได้รับการรักษาและติดตามผลการรักษาตามมาตรฐานปกติของงาน มาลาเรีย

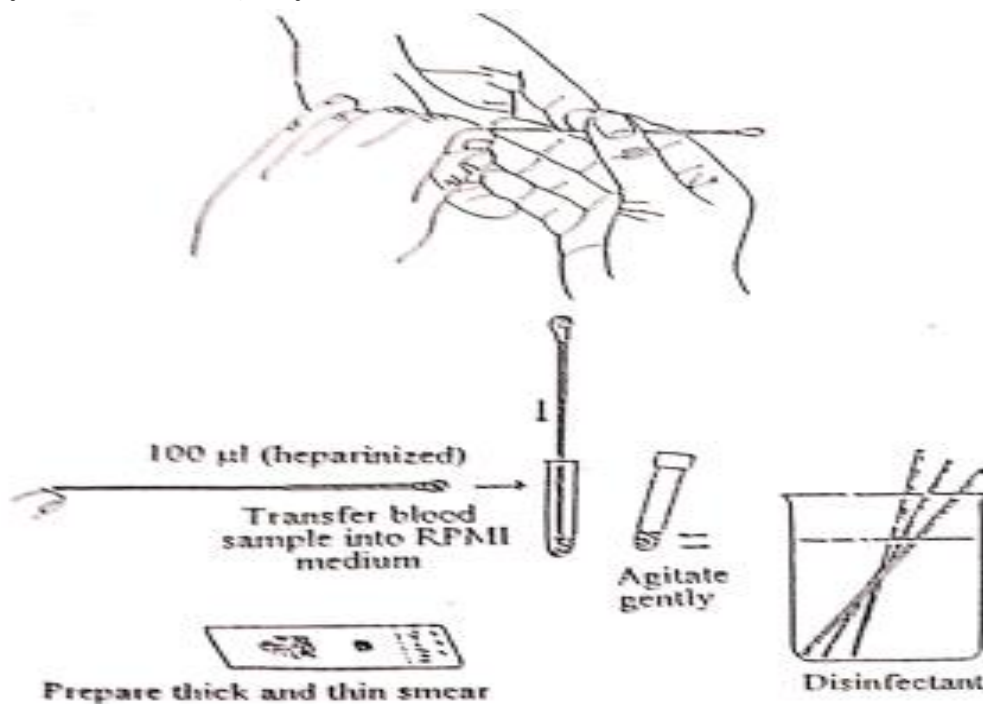
3.4. อุปกรณ์การศึกษา (Micro – test kit)

1. Micro-test-plate 96 หลุม (12 × 8 wells) แต่ละหลุมจะมียาที่จะศึกษาเคลือบอยู่ที่ก้นหลุม ใน ขนาดความเข้มข้นต่างกัน โดยเรียงลำดับจากความเข้มข้นน้อยไปหาความเข้มข้นมาก ยกเว้นหลุม แรกไม่มียาที่ใช้เป็นหลุมควบคุมการทดสอบ (control)
2. Eppendorf pipette ขนาด 50 ไมโครลิตร
3. Eppendorf pipette tip ที่ฆ่าเชื้อแล้ว
4. Falcon tube แบบฝากดขนาด 6 มิลลิเมตร

5. Capillary tube ชนิดที่เคลือบด้วยสาร heparin ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 100 ไมโครลิตร
6. Capillary tube ชนิดไม่เคลือบสารกันเลือดแข็งตัวขนาด 50 ไมโครลิตร
7. Pipette ขนาด 1 มิลลิลิตรที่ฆ่าเชื้อแล้ว
8. Candle jar
9. Incubator
10. กระจกสไลด์ขอบฝ้า
11. อาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI 1640 LPLF (commercial kit)

3.5. การเตรียมเลือดผู้ป่วย

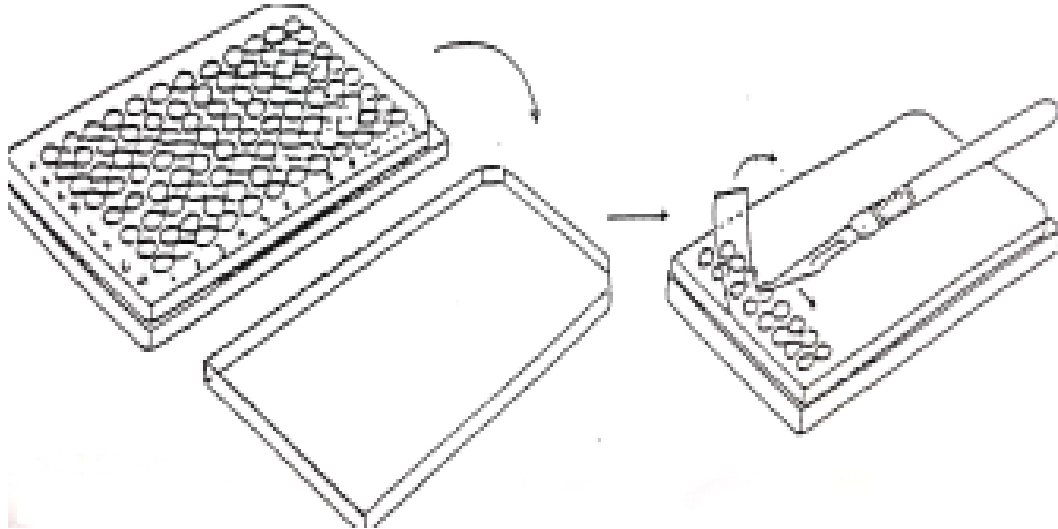
1. ใช้ Pipette ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูดอาหารเลี้ยงเชื้อ RPMI 1640 LPLF ใส่ลงใน Falcon tube แบบฝาเกลียว ขนาด 6 มิลลิลิตร ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ 0.9 มิลลิลิตรลงใน tube
2. เจาะเลือดจากปลายนิ้วมือผู้ป่วย ใช้ Capillary tube แบบที่เคลือบสาร heparin เก็บเลือดปริมาณ 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 1 ผสมให้เข้ากัน (blood: medium =1:9) โดย กลับไป-มา สำหรับ Capillary tube ที่ใช้แล้วให้แช่น้ำยาฆ่าเชื้อ (ภาพที่ 3)
3. ในระหว่างเจาะเลือดทำ thick และ thin film ด้วยเพื่อตรวจดูการติดเชื้อมาลาเรียและคัดเลือกผู้ป่วยที่ติดเชื้อเพียง เชื้อ *P.falciparum* เพียงชนิดเดียว รวมทั้งประมาณการจำนวนเชื้อเพื่อคัดเลือกผู้ป่วยที่มีความหนาแน่นของเชื้อระหว่าง 1, 000 - 80,000 ตัวต่อเลือด 1 ไมโครลิตร เข้าเป็นกลุ่มตัวอย่าง
4. ตัวอย่างเลือดที่ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วต้องส่งไปยังห้องปฏิบัติการภายใน 4 ชั่วโมง ทำการเพาะเลี้ยง/ทดสอบในอุณหภูมิ $37.5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ (ที่อุณหภูมิ $\geq 40^{\circ}\text{C}$ เชื้อมาลาเรียจะตาย)



ภาพที่ 3 การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อการศึกษา

3.6.การเพาะเลี้ยงเชื้อมาลาเรีย

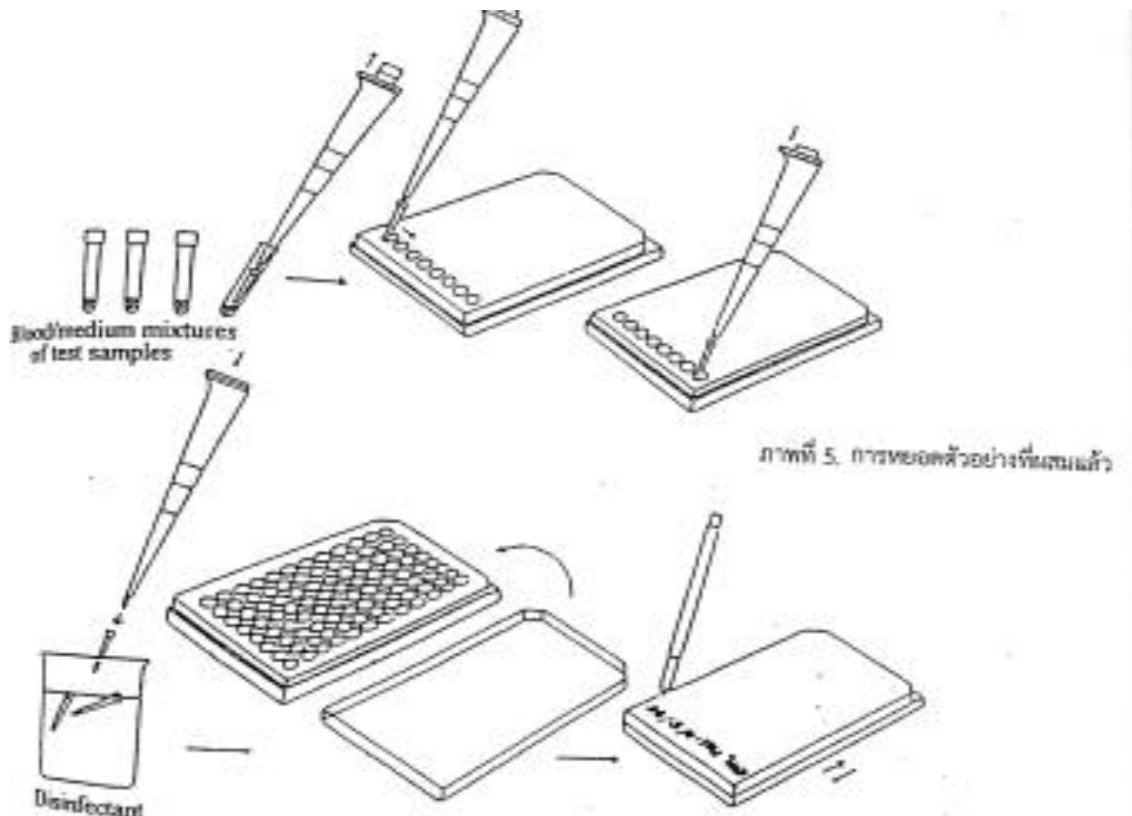
1.ใช้ micro plate ที่ผ่านการฆ่าเชื้อและมียาเคลือบอยู่ก้นหลุม เปิด plastic sealing ออกโดยใช้จำนวน 1 แถว (หลุม A-H) เท่ากับตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย 1 ราย โดยเปิดแผ่น plastic sealing ตามจำนวนรายผู้ป่วย



ภาพที่ 4 การเปิดแผ่น plastic ที่ปิด micro test plate

2.ใช้ Auto pipette 50 ไมโครลิตร ดูดอาหารที่ผสมเลือดผู้ป่วยแล้วใส่หลุมละ 50 ไมโครลิตร โดยเริ่มจากหลุมที่มียา (A) ไปหลุมที่ความเข้มข้นยามากขึ้นจนถึงหลุม H

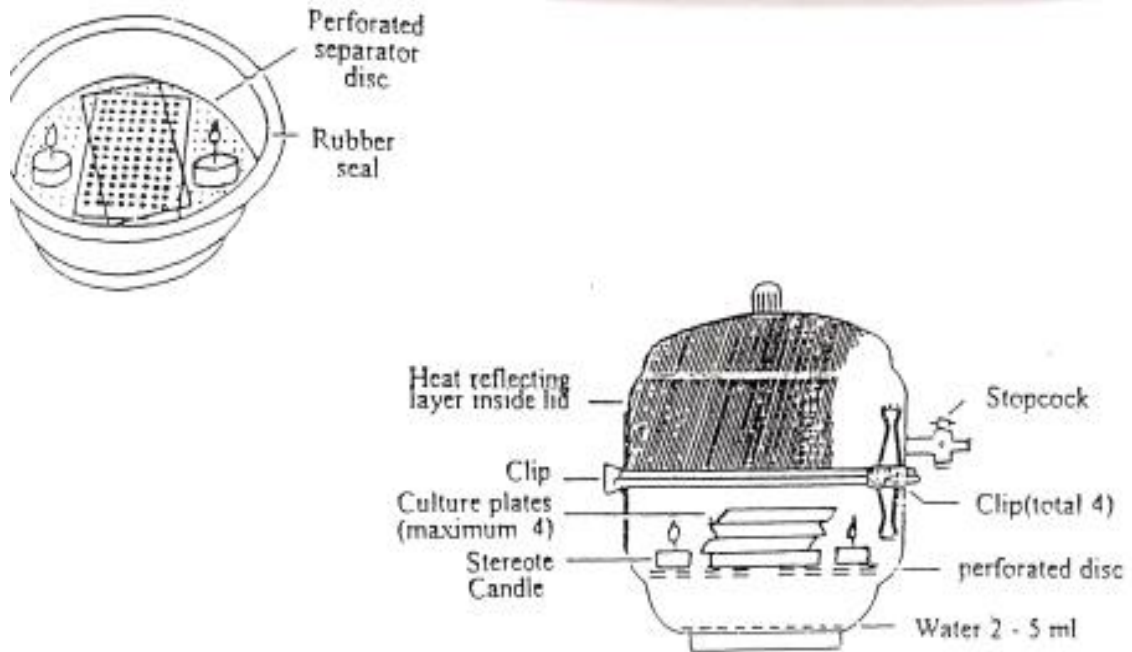
3.ปิดฝา micro plate เขียน No.ตัวอย่าง/วันที่ทำ (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 การหยอดตัวอย่างที่ผสมแล้ว

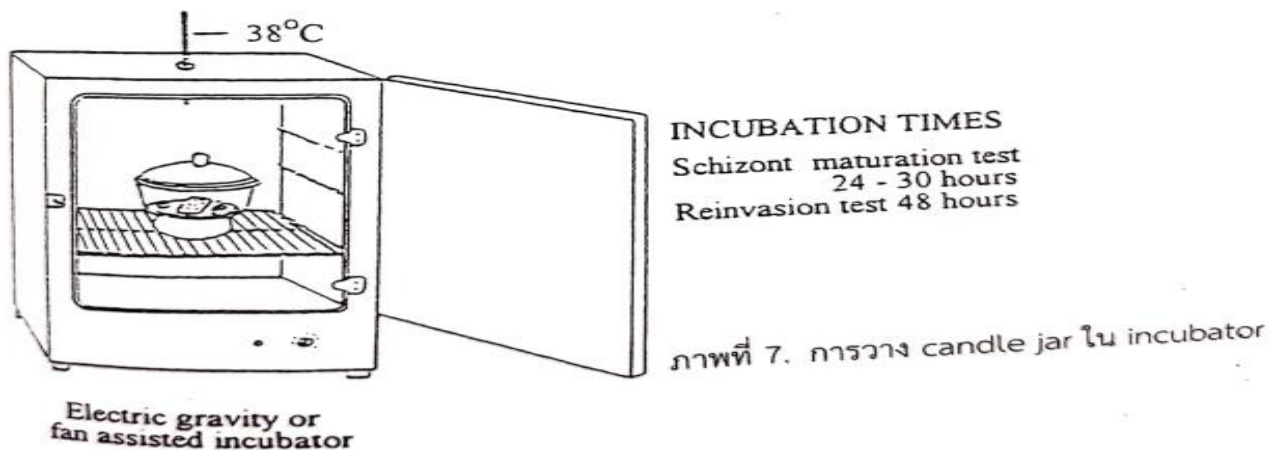
4. เขย่า plate เบาๆบนผิวหน้าราบของโต๊ะเพื่อให้ยาที่กั้นหลุมละลายเข้ากับส่วนผสม

5.เอา Candle jar ออกจาก incubator เพื่อให้อุณหภูมิประมาณ 37.5 องศาเซลเซียสที่กั้น candle jar ใส่ น้ำสะอาด 2-5 มิลลิลิตร หรือใช้สำลีสระอาดชุบน้ำพอชุ่มวางไว้ก็ได้ วาง plate ลงใน jar ให้วางซ้อน plate เยื้องกันอย่าซ้อนทับกันสนิท จุดเทียนไขที่ทำจาก paraffin 2 แท่งวางไว้ข้าง plate ปิดฝา candle jar ให้สนิท ในขณะที่ช่องถ่ายเทอากาศก็ต้องอยู่ในตำแหน่งปิดด้วย



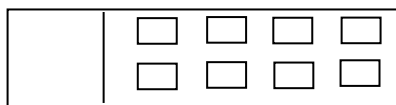
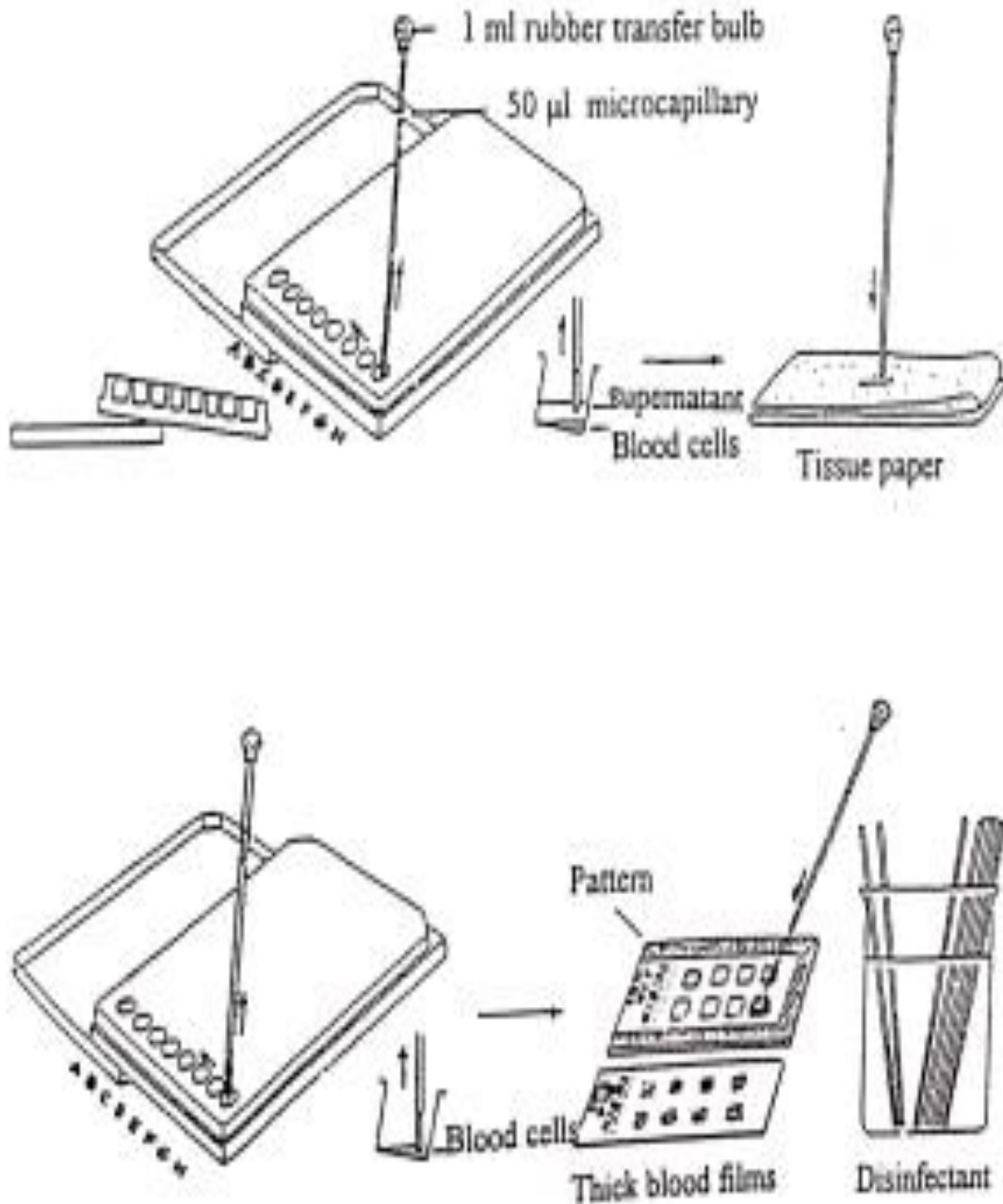
ภาพที่ 6. การวาง plate ใน candle jar

6.ใส่ candle jar และนำไป Incubate ที่อุณหภูมิ 37.5 (± 0.5) องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-30 ชั่วโมง สำหรับเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อขึ้นอยู่กับขนาดของ ring form ของเชื้อใน pre culture slide เช่นถ้ามี large ring และ medium ring ประมาณ 80-90% จะใช้เวลาประมาณ 23-24 ชั่วโมง ก็จะทำให้ระยะ Ring form พัฒนาเป็นระยะ schizont ได้เกือบทั้งหมด



3.7.การทำเสมียร์เลือดภายหลังเพาะเลี้ยงเชื้อ

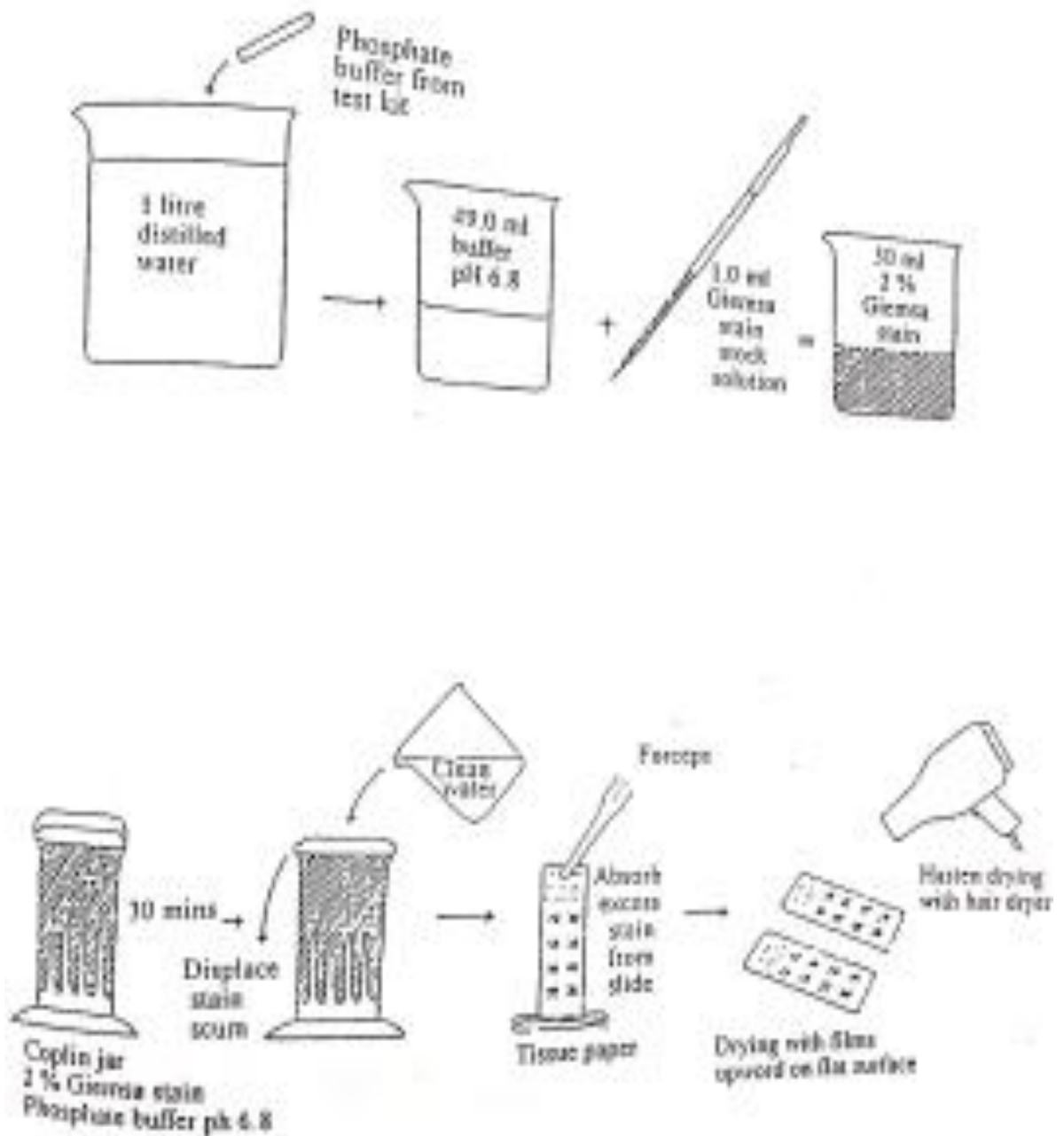
1. เมื่อเชื้อเจริญเติบโตอยู่ในระยะ schizont แล้ว (มี nucleus 3 อันขึ้นไป) นำ plate ออกจาก candle jar แล้วทำเสมียร์เลือด โดยดูดอาหารเลี้ยงเชื้อส่วน supernatant ออก ให้เหลือแต่เม็ดเลือดแดงที่ก้น หลุมแล้วนำมาสเมียร์บนกระจกสไลด์ที่เขียน ยาที่ทดสอบ รหัสผู้ป่วย วันที่ทดสอบ เริ่มดูเสมียร์หลุม H-A



ภาพที่ 8 การทำเสมียร์หลังการเพาะเชื้อ

2. วางกระจกสไลด์ที่สเมียร์ฟิล์มโลหิตแล้วในแนวราบ ทิ้งไว้ให้แห้งก่อนย้อมสี

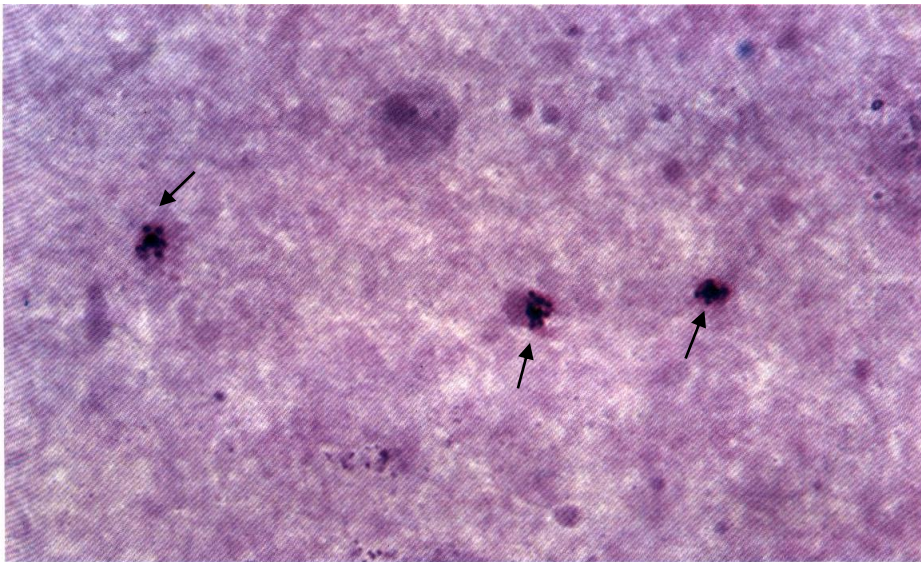
3. ย้อมฟิล์มโลหิตด้วยสี Giemsa pH 6.8 ความเข้มข้น 2% ให้ท่วมสไลด์ นาน 30 นาที เทน้ำสะอาดแทนที่สี และรอให้สไลด์ที่ย้อมแห้ง



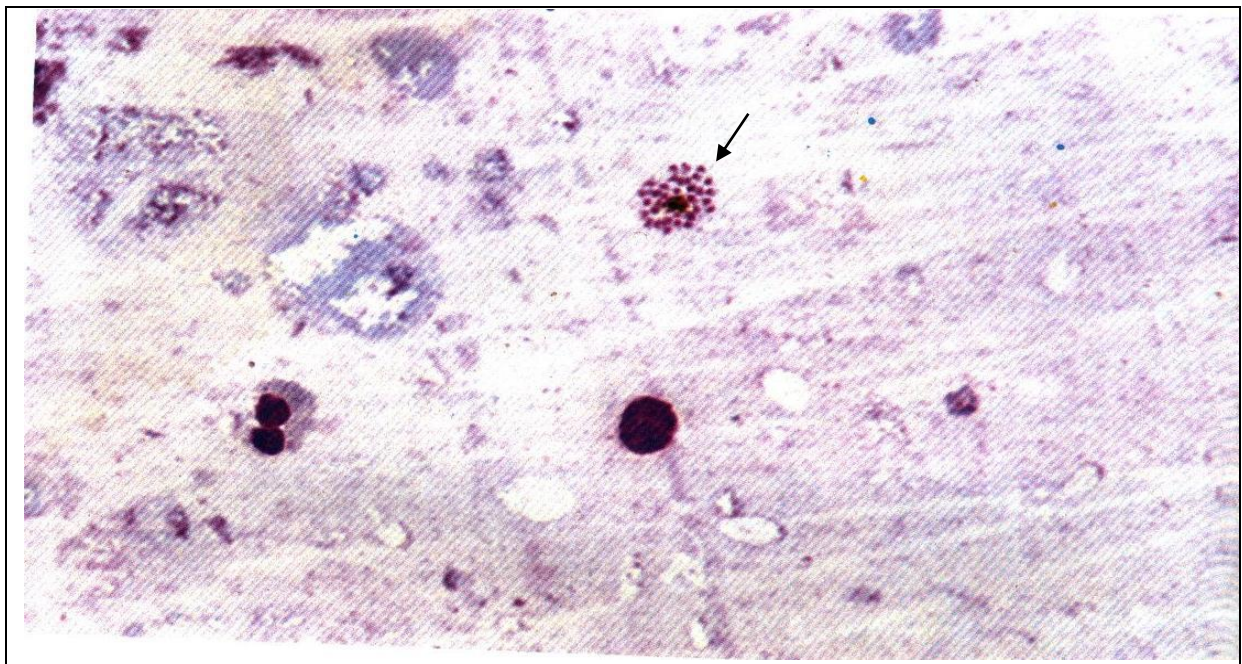
ภาพที่ 9 การผสมสี Giemsa 2% และการย้อมฟิล์มโลหิต

3.8.วิธีการนับเชื้อ

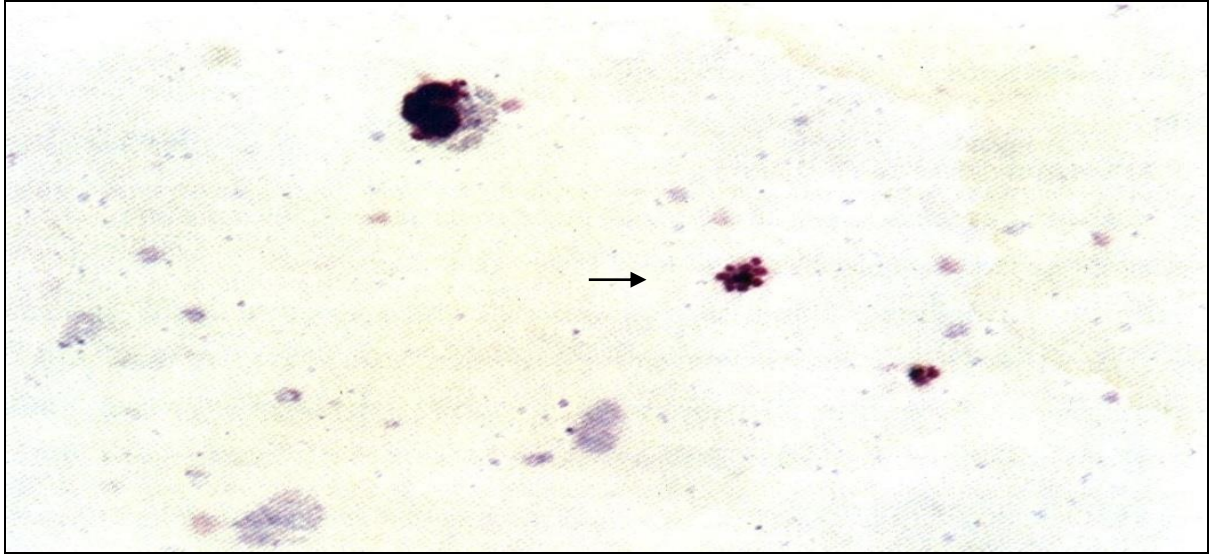
มีหลักการที่สำคัญคือ ให้นับจำนวน schizont รวมกับจำนวน Asexual parasite เป็น 200 ตัว โดยการนับจำนวน schizont ที่ทดสอบกับยา 3 ชนิด คือ Artemisinin, Mefloquine และ Quinine นับจำนวน Schizont ที่มี 3 Nuclei หรือมากกว่า 3 Nuclei ขึ้นไป รวมกับจำนวน Asexual parasite เป็น 200 ตัว



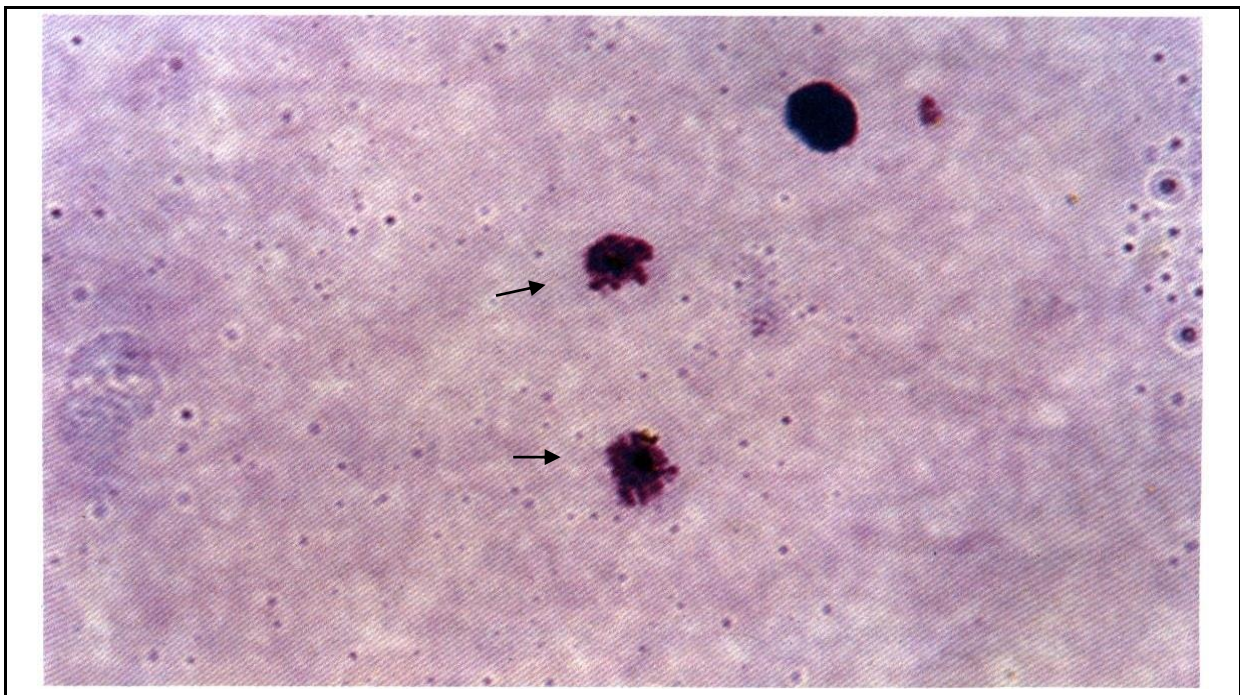
ภาพที่ 10 แสดง Schizont ที่มี 3 nuclei ขึ้นไป



ภาพที่ 11 แสดง Schizont ที่มีการแบ่งตัวโดยสมบูรณ์



ภาพที่ 12 แสดง Schizont ที่มีการเจริญแบ่งตัวปกติ และมี nuclei มากกว่า 8 nuclei



ภาพที่ 13 แสดง Schizont ที่มีการเจริญแบ่งตัวผิดปกติ และมี nuclei ไม่ชัดเจน

3.9.การแปลผล

1. มีการเจริญเติบโตของเชื้อที่เลี้ยงใน Control (กลุ่ม A) คือพบ Schizonts ซึ่งมี 3 nuclei ขึ้นไป 20 ตัว หรือมากกว่า รวมกับจำนวน Asexual parasite เป็น 200 ตัว
2. การยับยั้ง Schizont อย่างสมบูรณ์ แสดงถึงการตอบสนองที่น่าพอใจ
 - Chloroquine ที่ระดับยา 4 n mol หรือน้อยกว่า
 - Mefloquine ที่ระดับยา 32 n mol หรือน้อยกว่า
 - Quinine ที่ระดับยา 128 n mol หรือน้อยกว่า
3. ข้อบ่งชี้ถึงการดื้อยา คือถ้า Schizont เจริญที่ระดับของยาต่างๆดังนี้
 - Chloroquine ที่ระดับยา 8 n mol หรือน้อยกว่า
 - Mefloquine ที่ระดับยา 64 n mol หรือน้อยกว่า
 - Quinine ที่ระดับยา 256 n mol หรือน้อยกว่า
 - Artemisinin ที่ระดับยา 30 n mol หรือน้อยกว่า

3.10.การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์หา 50%, 90 % และ 99% Effective concentration หรือ Inhibitory concentrations (IC_{50} , IC_{90} , IC_{99}) และการคำนวณ regression จากโปรแกรม Probit analysis for log/dose response โดยความอนุเคราะห์จากองค์การอนามัยโลก ประจำประเทศไทยและสำนักโรคติดต่อฯ โดยแมลง

บทที่ 4

ผลการศึกษา

ตัวอย่างเลือดจำนวน 55 ตัวอย่าง จากผู้ป่วยติดเชื้อ *P.falciparum* จำนวน 74 ราย (ร้อยละ 74.32) คัดเลือกทำการทดสอบความไวต่อยา อายุอยู่ในช่วง 7-59 ปี (อายุเฉลี่ย 34 ปี) เป็นคนไทย จำนวน 8 ราย (ร้อยละ 14.55) แรงงานกัมพูชา จำนวน 47 ราย (ร้อยละ 85.45) เป็นเพศหญิง จำนวน 2 ราย (ร้อยละ 3.64) เพศชาย จำนวน 53 ราย (ร้อยละ 96.36)

ค่า IC₅₀, IC₉₀ และ IC₉₉ ของยา Artemisinin เท่ากับ 10.71, 55.77 และ 214.02 n mol/L ค่า IC₅₀, IC₉₀ และ IC₉₉ ของยา Mefloquine และ Quinine จากการศึกษาี้แสดงแนวโน้มการดื้อยาในหลอดทดลองอย่างชัดเจน (ตารางที่ 1)

ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลการศึกษาในครั้งนี้ (2003-2004) กับข้อมูลเดิม ที่เคยเฝ้าระวังตามแนวชายแดนอื่นๆ ต่อยา Artemisinin, Mefloquine และ Quinine แสดงในตารางที่ 2

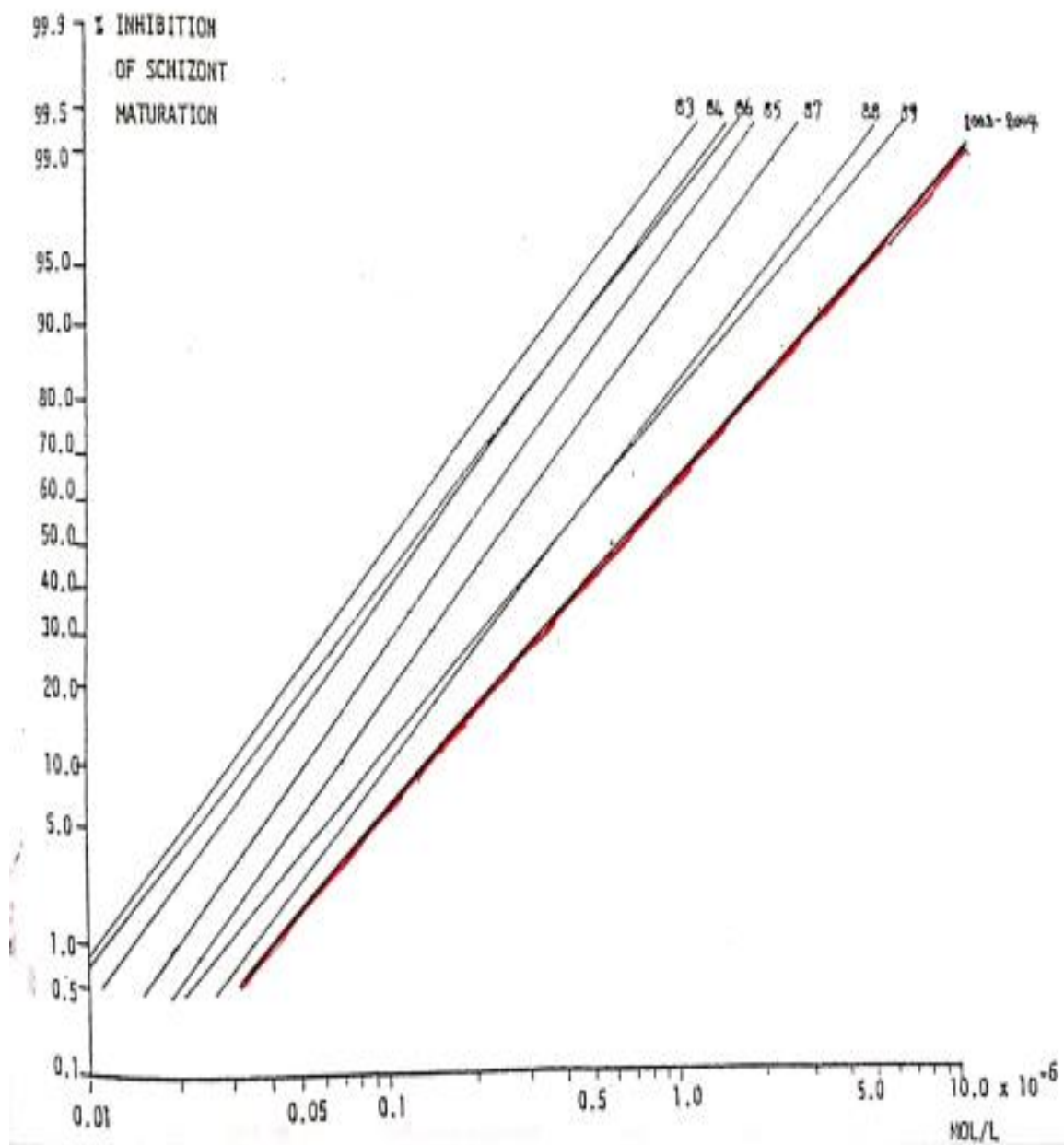
ผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลการศึกษาในครั้งนี้ (2003-2004) กับข้อมูลเดิม ที่เคยเฝ้าระวังตามแนวชายแดนอื่นๆ ปี พ.ศ.2526-2532 ต่อยา Mefloquine จากโปรแกรม Probit analysis for log/dose response โดยความอ่อนแอกะไร้จากโครงการเฝ้าระวังเชื้อมาลาเรียดื้อยาตามแนวชายแดนไทย ขององค์การอนามัยโลกประจำประเทศไทยพบว่ามีความไวต่อการดื้อยามากขึ้นทุกๆปี (decreased susceptibility ต่อ ยา Mefloquine) (ภาพที่ 14)

ตารางที่ 1. IC₅₀, IC₉₀ และ IC₉₉ ของยา Artemisinin, Mefloquine และ Quinine ต่อเชื้อ *P. falciparum* ที่อำเภอโป่งน้ำร้อน จังหวัดจันทบุรี ระหว่าง ตุลาคม 2546 - มกราคม 2547 (N=55)

Drug	Inhibitory concentration (IC) (95%CI)			Resistant value at IC ₅₀
	IC ₅₀	IC ₉₀	IC ₉₉	
Artemisinin (n mol/L)	10.71 (8.13-14.12)	55.77 (36.63-84.91)	214.02 (113.31-404.25)	Approx. > 30
Mefloquine (n mol/L)	84.53 (69.29-103.27)	278.74 (205.06-377.71)	736.71 (465.18-1166.90)	>64
Quinine (n mol/L)	308.07 (299.09-343.44)	1028.13 (907.35-1345)	3508.40 (2623.90-3974.20)	>256

ตารางที่ 2 sensitivity of *P.falciparum* from various areas of Thailand, with geometric mean IC_{50} to Artemisinin, Mefloquine and Quinine

Area, year	No. of isolates	IC_{50} (n mol/l) (95% CI)		
		Artemisinin	Mefloquine	Quinine
Maesod Tak,1994	21	3.39 (2.67-4.29)	95.48 (75.90-120.12)	403.87 (330.50-493.54)
Maesod Tak,1991-92	18	2.58 (1.80-3.71)	67.17 (46.77-96.48)	576.22 (460.51-720.99)
Borai Trat,1997	20	2.53 (1.51-4.23)	59.59 (44.97-78.94)	343.87 (289.30-408.73)
Nong Born,1993	17	2.43 (1.86-3.16)	74.02 (63.44-86.38)	322.93 (262.39-397.42)
Pong Num Ron, Chanthaburi, 2003-4	55	10.71 (8.13-14.12)	84.53 (69.29-103.27)	308.07 (299.09-343.44)



ภาพที่ 14 การตอบสนองของเชื้อ *P.falciparum* ต่อยา Mefloquine ในหลอดทดลอง ประเทศไทย

ปี พ.ศ.2526-2532 เปรียบเทียบกับการศึกษาจังหวัดจันทบุรี (2003-2004)

บทที่ 5

วิจารณ์สรุป

จากพิจารณาค่า IC_{50} การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงการดื้อยา Mefloquine และ Quinine ของเชื้อ *P. falciparum* ในหลอดทดลอง ส่วนยา Artemisinin แม้ยังไม่ดื้อยาแต่มีความไวต่อยาลดลงมากเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Congpuong K. และคณะ¹³ ที่ศึกษาที่อำเภอบ่อไร่ จังหวัดตราด เมื่อปี พ.ศ. 2540 เป็นแนวโน้มความไวต่อยาลดลงเรื่อยๆ อย่างชัดเจน (decreased susceptibility) (ตารางที่ 2) โดย ค่า IC_{50} Artemisinin จาก 2.43 n mol/l เป็น 10.71 n mol/l เพิ่ม 5 เท่าตัว ค่า IC_{50} Quinine ต่ำกว่ากว่าการศึกษาอื่นๆ เล็กน้อยซึ่งอาจเนื่องมาจากพื้นที่จังหวัดตามแนวชายแดนไทย-กัมพูชา การใช้สูตรยา Quinine ไม่ได้ใช้รักษาหรือใช้น้อยมากในบริเวณนี้เชื้อจึงอาจไม่ได้สัมผัสยานี้มานาน ค่า IC_{50} Mefloquine เพิ่มขึ้นจาก 59.59 n mol/l เป็น 84.53 n mol/l เพิ่มเกือบ 2 เท่าตัว แสดงถึงสัญญาณการดื้อยานี้ เมื่อการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลการศึกษาในครั้งนี้ (2003-2004) กับข้อมูลเดิมการเฝ้าระวังตามแนวชายแดนประเทศไทย ภาพรวม ปี พ.ศ.2526-2532 ขององค์การอนามัยโลกต่อยา Mefloquine จากโปรแกรม Probit analysis for log/dose response (โดยความอ่อนแอกะจากโครงการเฝ้าระวังเชื้อมาลาเรียดื้อยาตามแนวชายแดนไทยขององค์การอนามัยโลกประจำประเทศไทย) พบว่ามีแนวโน้มการดื้อยาเพิ่มขึ้นทุกปี (decreased susceptibility ต่อ ยา Mefloquine) (ภาพที่ 14) การที่เชื้อมีการดื้อยา Mefloquine นี้ เกิดจากมีการระบาดของเชื้อมาลาเรียดื้อยาในกัมพูชา¹⁴ และมีการอพยพย้ายถิ่นของแรงงานข้ามชาติเข้ามาในไทยจึงมีการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยาในระยะเวลาที่รวดเร็วในกลุ่มนี้และผู้ที่อยู่อาศัยตามแนวชายแดน การดื้อยาเกิดจากการรักษาที่ล้มเหลวและไม่ต่อเนื่องจากตัวผู้ป่วยเองหาซื้อยาในตลาดมืดตามแนวชายแดน กินเอง ทำให้กินยาไม่ครบสูตรตามมาตรฐาน/ไม่ต่อเนื่อง จึงทำให้ระดับยาที่ต่ำสุดในร่างกายในการกำจัดเชื้อมาลาเรียไม่เพียงพอเชื้อจึงดื้อยา ประกอบกับยา Mefloquine เป็นยาชนิด long course therapy จึงไม่เหมาะใช้รักษาในกลุ่มแรงงานอพยพ^{1,14} ผู้เชี่ยวชาญองค์การอนามัยโลกแนะนำให้ใช้ยาสูตรผลมโดยเฉพาะยาในกลุ่ม Artemisinin ที่มีสูตรยา 5 วัน/dose และมี pharmacokinetic ที่ดี ในผู้ป่วยมาลาเรีย *P. falciparum* แรงงานข้ามชาติที่มีอาการรุนแรง หรือใช้สูตรผสมกับยาตัวอื่นๆ เพื่อป้องกันการเสียชีวิตจากมาลาเรียและเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา

การรักษาผู้ป่วย Uncomplicated falciparum malaria นั้นนอกจากพิจารณาถึงยาที่มี efficacy, safety และ tolerability ที่ดีแล้ว ยังต้องนึกถึง compliance ของสูตรยานั้นๆ ด้วย ยาที่ต้องรับประทานนานๆ compliance มักไม่ดี ปัญหาการดื้อยาตามมา เนื่องจากการรับประทานยาไม่ครบ ปัญหาการดื้อยารักษามาลาเรีย *P.falciparum* ที่มีใช้อยู่ในปัจจุบันจึงแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ จึงจำเป็นต้องพัฒนาหาสูตรยาใหม่ๆ อยู่เสมอ

การรักษา severe falciparum malaria พบว่า artesunate IV ดีกว่า quinine IV อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ¹⁴ ช่วยลดอัตราการตายได้มากกว่า ถึงกระนั้น หัวใจของการรักษา severe malaria คือการวินิจฉัยที่รวดเร็ว และให้การรักษาด้วยยาที่มีประสิทธิภาพ

เป็นที่ทราบกันมานานกว่า 40 ปี ว่า ภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นแหล่งที่มีเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพาล์มดื้อยาต่อยารักษามาลาเรียในระดับที่รุนแรงที่สุดในโลก¹⁴⁻¹⁵ ทุกประเทศในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และ แปซิฟิกตะวันตกมีการดื้อยามาลาเรียทั้งสิ้น บริเวณที่มีเชื่อดื้อยามาลาเรียหลายขนาน ได้แก่ ประเทศในกลุ่มแม่น้ำโขง โดยเฉพาะแนวชายแดนไทย-พม่า แนวชายแดนไทย-กัมพูชา ต่อมาได้แพร่กระจายไปยังประเทศต่างๆ ในภูมิภาค ภาคตะวันออก และตะวันออกเฉียงเหนือของกัมพูชา เวียดนามตอนใต้ อินเดีย ในรัฐทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันออกของบังกลาเทศ นอกจากเชื้อฟัลซิพาล์มดื้อยาแล้วยังพบ *P.vivax* ดื้อต่อยาคลอโรควินในอินเดีย อินโดนีเซียและพม่าแต่ไม่แพร่กระจายกว้างขวางเหมือนมาลาเรียชนิดฟัลซิพาล์ม

ปัญหาการดื้อยามาลาเรียนอกจากเป็นปัญหาของเอเชียแล้วยังเป็นปัญหาของโลกด้วยซึ่งส่งผลกระทบต่อการใช้มาลาเรียอย่างมาก การแพร่กระจายของเชื้อสายพันธุ์ดื้อยาที่รวดเร็วสาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากมนุษย์มีการอพยพเคลื่อนย้ายในรูปแบบต่างๆที่เร็วมาก

ข้อสรุปของผลกระทบของเชื้อมาลาเรียดื้อยา คือ

1. อุบัติการณ์ไข้มาลาเรียลดลงอย่างไม่น่าพอใจในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สัดส่วนของเชื้อฟัลซิพาล์มเพิ่มสูงขึ้นในขณะที่เชื้อไวแวกลดลง ประเทศที่มีเชื้อฟัลซิพาล์มสูงขึ้นอย่าง คือ พม่า บังกลาเทศและอินเดีย ทำให้ไม่สามารถลดอัตราการตายของไข้มาลาเรียได้ตามเป้าหมาย

2.มีความจำเป็นต้องปรับนโยบายยารักษามาลาเรียมาใช้ยาที่มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้นแต่มีราคาแพงมากขึ้น เช่น ซัลฟาดอกซีน-พิเมธามีน เมโฟลควิน หรือกลุ่มยาผสมอื่นๆ ซึ่งแพงกว่ายาคลอโรควิน ถึง 20 เท่า จึงมีภาระค่าใช้จ่าย บางประเทศในภูมิภาคนี้จึงจำเป็นต้องใช้ยาเดิมที่มีประสิทธิภาพลดลงมาตลอด ในปี พ.ศ.2545 มีการนำยาผสมซึ่งมีตัวยานูฟวันอาร์ทิมิซินิน (กลุ่มซิงเฮาซู-Artemisinin-based Combination Therapy- ACT) มาใช้ ประมาณ 60 ประเทศทั่วโลกปรับเปลี่ยนนโยบายแห่งชาติ ให้ใช้ยา ACT เป็นหลัก ประเทศไทยใช้ยา ACT นี้ในจังหวัดชายแดนที่มีปัญหาการดื้อยาสูงมาตั้งแต่ ปี พ.ศ.2538 และขยายไปทั่วประเทศในปี พ.ศ. 2548 การรักษามาลาเรียทั้งที่มีอาการรุนแรงและไม่รุนแรงเป็นสิ่งที่ยุ่งยากซับซ้อนทำให้แพทย์ผู้รักษาต้องติดตามสถานการณ์อย่างใกล้ชิด

3. ราคายารักษามาลาเรียที่เพิ่มสูงขึ้น ทำให้โครงการมาลาเรียในประเทศไทยและในเอเชียมีมาตรการวินิจฉัยผู้ป่วยโดยการตรวจโลหิตก่อนจ่ายยา การค้นหาผู้ป่วยด้วยกล้องจุลทรรศน์หรือการตรวจด้วย Rapid diagnostic test –RDT จำเป็นต้องมีระบบควบคุมคุณภาพที่มีค่าใช้จ่ายสูง

4. การพบปัญหายาปลอมในกลุ่มเสี่ยงใช้มาลาเรีย เช่น ผู้อพยพ แรงงานย้ายถิ่น ทำให้สถานการณ์การดื้อยาเพิ่มสูงขึ้น

5. การเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาเป็นสิ่งที่ควรทำอย่างต่อเนื่อง ในทางปฏิบัติไม่สามารถดำเนินการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยาได้อย่างมีประสิทธิภาพในบางประเทศ ทำให้การใช้ยารักษามาลาเรียไม่ทันต่อสถานการณ์การดื้อยา

6. การใช้ยามาลาเรียอย่างไม่เหมาะสม เช่น การพิจารณาเลือกใช้ยาขนานเดียวหรือสูตรผสมที่ไม่ถูกต้องหรือกินยาไม่ครบชุด ส่งผลต่อสถานการณ์การดื้อยา

7. ผลกระทบด้านการท่องเที่ยว ในแหล่งท่องเที่ยวที่มีการแพร่เชื้อมาลาเรีย ต้องมีมาตรการป้องกันนักท่องเที่ยวไม่ให้ถูกยุงกัดและการควบคุมยุงในพื้นที่

8. การคิดค้นยาขนานใหม่ๆ ไม่ทันต่อสถานการณ์การดื้อยาที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว

เอกสารอ้างอิง

1. Wongsrichanalai C, Pickard AL, Wernsdorfer WH, Meshnick SR. Epidemiology of drug resistant malaria. *Lancet Infect Dis* 2002; 2:209-18.
2. ความรู้เรื่องมาลาเรียและการป้องกัน Faculty of Tropical Medicine
www.tm.mahidol.ac.th/hospital/hospital-faq-th.php
3. World Health Organization. *In Vitro* micro test (Mark II) for the assessment of the response of *Plasmodium falciparum* to chloroquine, mefloquine, Quinine, sulfadoxine/pyrimethamine and amodiaquine. MAP/87.2 (corr.I incl.)
4. มานพ พิทักษ์ภากร. หมอชาวบ้าน <http://www.doctor.or.th/ask/detail/3615>
5. สมทัศน์ มะลิกุล. มาลาเรียวิทยา. โรงพิมพ์อักษรพัฒนา. กรุงเทพมหานคร, 2525 : 23 -24 .
6. ความรู้ทั่วไปเรื่องไข้มาลาเรีย, นางมนัสนันท์ ลิ้มปิตยากุล นักวิชาการสาธารณสุขเชี่ยวชาญ หัวหน้ากลุ่มปฏิบัติการควบคุมโรคและตอบโต้ภาวะฉุกเฉินทางด้านสาธารณสุข
7. www.thaiclinic.com/medbible/malaria.htm
8. www.med.cmu.ac.th/dept/parasite/public/malaria.html
9. th.wikipedia.org/wiki/มาลาเรีย
10. วรณา ชัยเจริญกุล. การประเมินและเฝ้าระวังการดื้อยาของเชื้อมาลาเรียต่อยาต้านมาลาเรีย. วารสารโรคติดต่อหน้าโดยแมลง.ปีที่ 7 ฉบับที่ 2 หน้า47-60.
- 11.C. Wongssrichanalai, T.Wimonwattrawatee, P.Sookto, A. Laoboonchai, D.G. Heppner, DE Kyle, W.H. Wernsdorfer. *In Vitro* sensitivity of *Plasmodium falciparum* to artesunate in Thailand. *Bulletin of the World Health Organization*. 1999, 77(5) p. 392-398.
12. Grab B. and Wernsdorfer W.H. Evaluation of in vitro tests for drug sensitivity in *Plasmodium falciparum*: Probit analysis of log dose/response test from 3-8 points assay. World Health Organization, 1990.
13. Congpuong K, Yamokul P, Thimasarn K, Wernsdorfer W.H. *In vitro* susceptibility of *Plasmodium falciparum* to artemisinin, mefloquine and quinine in Trat Province, South-Eastern unpublished result, DDC.MOPH. 1998.
14. Wernsdorfer WH, et al. A symposium on containment of mefloquine-resistant falciparum malaria in Southeast Asia with special reference to border malaria. *Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 1994, 25; 11-18.
15. กรองทอง ทิมาสาร.สถานการณ์การดื้อยาของเชื้อมาลาเรียในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้. เอกสารเผยแพร่องค์อนามัยโลก. WHO SEARO. พ.ศ.2548.

