



กรณีศึกษา : Case Report

กรณีศึกษาผู้ป่วยติดเชื้อมาลาเรียชนิด *Plasmodium knowlesi* รายแรกของโรงพยาบาลสระบุรี
และหลุมพรางในการวินิจฉัยเชื้อมาลาเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์

สรวิษฐ์ พุดินาถ¹, พีรพงษ์ กำจาย^{2*}

¹กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลสระบุรี จังหวัดสระบุรี 18000

²ห้องปฏิบัติการผู้ป่วยนอก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลสระบุรี จังหวัดสระบุรี 18000

Received: 5th Aug 2022

Revised: 26th Oct 2022

Accepted: 27th Dec 2022

บทคัดย่อ

โรคไข้มาลาเรีย คือโรคติดเชื้อที่เกิดจากเชื้อโปรโตซัวในกลุ่มพลาสโมเดียม (*Plasmodium spp.*) ส่วนใหญ่สามารถติดต่อจากคนสู่คนโดยมียุงก้นปล่องเป็นพาหะ ยกเว้น *Plasmodium Knowlesi* (*P. knowlesi*) ที่สามารถติดต่อจากสัตว์สู่คนได้ การวินิจฉัยจำแนกเชื้อ *P. knowlesi* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์มีความซับซ้อนและต้องอาศัยความเชี่ยวชาญ เนื่องจากลักษณะของเชื้อ *P. knowlesi* ระยะ early trophozoite คล้ายกับเชื้อ *Plasmodium falciparum* (*P. falciparum*) ในขณะที่ระยะ growing trophozoite และ schizont มีลักษณะคล้ายกับเชื้อ *Plasmodium malariae* ทำให้มีโอกาสรายงานชนิดมาลาเรียผิดพลาดสูง องค์การอนามัยโลกจึงแนะนำให้ใช้การตรวจวินิจฉัยยืนยันเพื่อจำแนกเชื้อด้วยเทคนิคทางอณูชีวโมเลกุลในปี 2562 โรงพยาบาลสระบุรี รักษาผู้ป่วยชาย อายุ 23 ปี มีอาการไข้สูง หนาวสั่น ช่วงเย็น เวลา 6 วัน การตรวจ thin blood smear ผลเป็น positive 0.2% parasitemia with ring form and growing trophozoite suggestive non-*P. falciparum* infection (*Plasmodium vivax*) และได้นำตัวอย่าง EDTA blood ส่งตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค real-time polymerase chain reaction (rt-PCR) พบว่าผล positive for *P. knowlesi* infection จึงเป็นผู้ป่วยติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P. knowlesi* รายแรกของโรงพยาบาลสระบุรี อย่างไรก็ตามการตรวจวินิจฉัยเชื้อเชื้อ *P. knowlesi* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ยังมีข้อจำกัด อาจพิจารณาส่งตรวจยืนยันด้วยวิธีทางอณูชีวโมเลกุลในกรณีที่สงสัยเชื้อ *P. knowlesi* ที่พบปริมาณเชื้อมาลาเรียน้อยและไม่เพียงพอต่อการระบาด

คำสำคัญ : มาลาเรีย, *Plasmodium knowlesi*, การวินิจฉัยเชื้อมาลาเรีย

ผู้นิพนธ์ประสานงาน :

ผู้นิพนธ์ประสาน

ทพ.พีรพงษ์ กำจาย (วท.บ. เทคนิคการแพทย์)

ห้องปฏิบัติการผู้ป่วยนอก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลสระบุรี จังหวัดสระบุรี 18000

โทร. 036-343-500 ต่อ 1140, 1141

อีเมล pk.mtsbh@gmail.com

A first case report of Plasmodium knowlesi infection in Saraburi Hospital and pitfall of malaria diagnosis by microscopic technique

Sorrawit Putthinad¹, Peerapong Kamjai²

¹Department of Medicine, Saraburi Hospital, Saraburi 18000

²Outpatient laboratory unit, Department of Medical Technology and Clinical Pathology, Saraburi Hospital, Saraburi 18000 Thailand

Abstract

Malaria is caused by protozoa of the genus Plasmodium. All species can be transmitted from human to human but Plasmodium knowlesi (P. knowlesi) is a zoonotic infection. The differential diagnosis of P. knowlesi via a microscopic technique is complicated and required high experience. Because the characteristics of early trophozoite of P. knowlesi are similar to Plasmodium falciparum (P. falciparum), while growing trophozoite are similar to Plasmodium malariae (P. malariae). Therefore, the classification of this species is high rate of misidentification. According to WHO recommendations, P. knowlesi may be confirmed with molecular diagnostic technique. In 2019, a 23-year-old male patient admitted at Saraburi Hospital with high fever, chills and shaking in the evening period for 6 days. Thin blood smear was positive 0.2% of parasitemia with ring form and growing trophozoite suggestive non-P. falciparum malaria infection (Plasmodium vivax). Surprisingly, the real-time polymerase chain reaction (rt-PCR) was demonstrated positive with P. knowlesi infection as a first case of Saraburi Hospital. However, microscopic examination of differentiating P. knowlesi has several limitations and may be considered molecular technique support in complicated cases with low parasitemia, unclassified morphologic appearance and non-endemic area.

Keywords: malaria, Plasmodium knowlesi, microscopic technique, molecular technique

บทนำ

โรคไข้มาลาเรีย เป็นโรคติดต่อเขตร้อนที่อันตรายต่อชีวิตมนุษย์มายาวนาน และยังคงเป็นโรคที่มีความสำคัญและเป็นปัญหาสาธารณสุขทั่วโลกจนถึงปัจจุบัน กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ได้กำหนดเป้าหมายการกำจัดโรคไข้มาลาเรีย ภายใต้ยุทธศาสตร์มาลาเรียแห่งชาติ พ.ศ.2560-2569 ให้ประเทศไทยปลอดจากโรคไข้มาลาเรียหรือลดผู้ติดเชื้อรายใหม่น้อยลงกว่า 5% ภายในปี 2567 ซึ่งตลอดระยะเวลากว่า 20 ปี สถานการณ์ของโรคไข้มาลาเรียในประเทศไทยลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยในปี พ.ศ.2562 พบจำนวนผู้ป่วย 5,934 ราย (อัตราป่วย 0.88 ต่อประชากรพันคน) เป็นผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *Plasmodium vivax* (P. vivax) (ร้อยละ 84) และชนิด *Plasmodium falciparum* (P. falciparum) (ร้อยละ 13) ผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นเพศชาย (ร้อยละ 68) อายุมากกว่า 15 ปี (ร้อยละ 72) มีอาชีพทำสวนหรือทำไร่ (ร้อยละ 51) มีผู้ป่วยเป็นนักเรียนในสัดส่วนมาก (ร้อยละ 29) จังหวัดที่พบผู้ป่วยจำนวนมาก คือ ตาก (1,646 ราย) ยะลา (1,550 ราย) และกาญจนบุรี (425 ราย) ผู้ป่วยส่วนใหญ่ติดเชื้อในพื้นที่ประเทศไทย (ร้อยละ 70) ส่วนผู้เสียชีวิตจากโรคไข้มาลาเรียยังพบทุกปี แต่ได้ลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยในช่วงปี 2540 มีผู้เสียชีวิตประมาณ 300 ราย ข้อมูลล่าสุด พ.ศ. 2561 มีผู้เสียชีวิตด้วยโรคไข้มาลาเรีย 15 ราย โดยมีผู้เสียชีวิตอยู่ในจังหวัดตากถึง 7 ราย⁹ โดยมียุงก้นปล้องเพศเมีย (*female Anopheles spp.*) ที่พบบ่อยได้แก่ *Anopheles dirus*, *Anopheles minimus*, *Anopheles maculatus*, *Anopheles epiroticus* และ *Anopheles aconitus* เป็นพาหะของเชื้อโปรโตซัวในกลุ่มพลาสโมเดียม (*Plasmodium spp.*)² ที่ก่อโรคมมาลาเรียในคนมี 5 ชนิด (species) ได้แก่ *P. falciparum*, *P. vivax*, *Plasmodium malariae* (P. malariae), *Plasmodium ovale* (P. ovale curtisi and P. ovale wallikeri)³ และ *Plasmodium knowlesi* (P. knowlesi)⁴

เชื่อกันมาว่าเชื้อมาลาเรียที่พบความชุกบ่อยในประเทศไทยได้แก่ *P. falciparum* และ *P. vivax* ซึ่งเชื้อ *P. falciparum* จะทำให้เกิดอาการรุนแรงหรือมาลาเรียขึ้นสมอง (cerebral malaria) จนกระทั่งเสียชีวิต และปัจจุบันพบว่าเชื้อชนิดนี้มีการดื้อยาจำนวนมาก⁵ ส่วน *P. vivax* สามารถซ่อนอยู่ในตับ (hypnozoite) ได้และเข้าสู่กระแสเลือดได้ภายหลัง ทำให้เป็นโรคกลับซ้ำ (relapse) เมื่อมีภาวะภูมิคุ้มกันลดลง⁶ การติดต่อของเชื้อพลาสโมเดียมสามารถติดต่อจากคนสู่คนได้ ยกเว้น *P. knowlesi* ที่เป็นเชื้อมาลาเรียของลิงหางยาว (long-tailed macaque) หรือลิงกัง (pig-tailed macaque) แต่พบว่ามีอาการก่อโรคในมนุษย์ ซึ่งถือว่าเป็นมาลาเรียชนิดแรกที่มีการติดต่อจากสัตว์สู่คน (zoonosis) แต่ทั้งนี้ยังไม่พบหลักฐานชัดเจนว่าสามารถถ่ายทอดจากคนสู่คนได้ และมีข้อสันนิษฐานว่าอาจมีการติดเชื้อจากการรับประทานเนื้อลิงที่ปรุงไม่สุกหรือผ่านรกจากแม่สู่ลูก (congenital malaria)⁷

P. knowlesi พบการติดเชื้อครั้งแรกในคนเมื่อปี ค.ศ. 1965 และพบแหล่งระบาดที่รัฐ Sarawak ประเทศมาเลเซีย ในปี ค.ศ. 2004 ก่อนจะมีการแพร่กระจายไปยังภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ ประเทศอินโดนีเซีย สิงคโปร์ บรูไน กัมพูชา ลาว พม่า ฟิลิปปินส์ เวียดนาม รวมถึงไทย ซึ่งมีการรายงานว่าการระบาดน่าจะมีสาเหตุสำคัญมาจากการเดินทางเที่ยวหรือการอพยพจากฐานข้อมูล malaria online ของกรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ในปีงบประมาณ 2565 แสดงผู้ป่วยติดเชื้อทั้งหมด 6,623 ราย เป็นผู้ติดเชื้อ *P. knowlesi* 133 ราย (ร้อยละ 2.0)⁹ ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากปีก่อนหน้า เชื้อ *P. knowlesi* จะมีวงจรชีวิตในคน (schizogony) โดยการเพิ่มजनนอกเม็ดเลือดแดง เรียกว่า exo-erythrocytic schizogony ในเซลล์ตับ และมีการเพิ่มปริมาณในเม็ดเลือดแดง เรียกว่า erythrocytic schizogony ซึ่งแต่ละรอบของการเพิ่มจำนวนจะใช้ระยะเวลาประมาณ 24 ชั่วโมง ซึ่งเร็วกว่ามาลาเรียชนิดอื่น ๆ จึงทำให้ผู้ติดเชื้อมีอาการใช้เวลาเดิมทุกวัน แม้ว่าผู้ติดเชื้อชนิดนี้ส่วนใหญ่จะไม่มีอาการ แต่ร้อยละ 19 ของผู้ป่วยสามารถเกิดอาการรุนแรง อาทิ acute kidney injury (AKI) (ร้อยละ 45.6), jaundice (ร้อยละ 42), hyperparasitemia (ร้อยละ 32.5) หรือกระทั่งเสียชีวิตซึ่งมักสัมพันธ์กับการวินิจฉัยและรักษาที่ล่าช้า⁷

การวินิจฉัยการติดเชื้อมาลาเรียทางห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย 1) การวินิจฉัยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (microscopic technique) เช่น การย้อมด้วยสีฟลูออเรสเซนซ์ การย้อมสี Giemsa และ Wright's stain นิยมทำทั้งแบบฟิล์มหนาและบาง (thick and thin film blood smear) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย ราคาถูก แต่ผู้ตรวจต้องมีความสามารถตีความพอที่จะจำแนกชนิดของเชื้อได้ซึ่งต้องอาศัยประสบการณ์และความชำนาญอย่างมากการรายงานผลบวกควรตรวจอย่างน้อย 100 วงกลิ้ง และการรายงานผลลบควรตรวจอย่างน้อย 200 วงกลิ้ง ในกรณีที่ผู้ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ 2 คน รายงานผลการนับปริมาณเชื้อมาลาเรียแตกต่างกันเกินร้อยละ 25 ให้มีผู้ตรวจคนที่ 3 เป็นผู้ตัดสินผลการตรวจ¹³ 2) การตรวจด้วยวิธีทางภูมิคุ้มกันวิทยา (immunoassay) เช่น ชุดตรวจ rapid diagnostic test (RDT) ซึ่งอาศัยหลักการ immunochromatography เป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็ว¹ 3) การตรวจด้วยวิธีทางอณูชีวโมเลกุล (molecular technique) เช่น conventional PCR, multiplex real-time PCR และ DNA sequencing เป็นวิธีที่มีความไวและจำเพาะสูง แต่มีราคาแพง และต้องใช้เครื่องมือวิเคราะห์หลายชนิด ส่วนใหญ่มักใช้ในการยืนยันชนิดของเชื้อมาลาเรียที่ไม่สามารถแยกได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์^{10,11} อย่างไรก็ตามการวินิจฉัยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ยังเป็นวิธีมาตรฐานซึ่งมาลาเรียแต่ละชนิดจะมีลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) แต่ละระยะที่แตกต่างกัน ในขณะที่ *P. knowlesi* ระยะ early trophozoite หรือ ring form จะมีลักษณะคล้ายกับเชื้อ *P. falciparum* และระยะ growing trophozoite จะพบลักษณะ band form คล้ายกับเชื้อ *P. malariae*⁷ ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการรายงานชนิดด้วยการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของผู้ติดเชื้อชนิดนี้มีโอกาสผิดพลาดสูง ถ้าหากสงสัยการติดเชื้อ *P. knowlesi* จึงแนะนำให้ส่งตรวจยืนยันด้วยวิธีทางอณูชีวโมเลกุล¹²

การรักษามาลาเรียจะแบ่งผู้ป่วยออกเป็นกลุ่มไม่มีภาวะแทรกซ้อน กลุ่มที่มีความเสี่ยงสูง กลุ่มมาลาเรียรุนแรงหรือมีภาวะแทรกซ้อน และกลุ่มรักษาล้มเหลว ซึ่งการติดเชื้อ *P. knowlesi* ส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการหรือมีอาการไม่รุนแรง จะให้การรักษาแบบเดียวกับการติดเชื้อ *P. malariae* โดยให้ยา Chloroquine 3 วัน และติดตามอาการผู้ป่วยในวันที่ 3, 7, 28 และ 60 เช่นเดียวกับการติดเชื้อ *P. falciparum* หากพบมีอาการรุนแรงหรือมีความเสี่ยงสูงอาจพิจารณาให้ Artesunate 2.4 mg/kg IV¹³

ในปี พ.ศ. 2562 ได้มีการรายงานการติดเชื้อ *P. knowlesi* รายแรกของโรงพยาบาลสระบุรี จังหวัดสระบุรี ดังแสดงในรายงานนำเสนอผู้ป่วยต่อไปนี้

รายงานนำเสนอผู้ป่วย

Case: ผู้ป่วยชายไทย อายุ 23 ปี ไม่มีประวัติโรคประจำตัว

Chief complaint: ไข้สูง หนาวสั่น 6 วันก่อนมาโรงพยาบาล

Past illness: 5 days PTA ไข้สูง หนาวสั่นตอนเย็น กินยาลดไข้และเช็ดตัว ไข้ไม่ลง ปวดศีรษะ ปวดกระบอกตา ปวดเมื่อยตามตัว ไม่พบจุดเลือดออกตามตัว อาการไม่ดีขึ้นจึงไปพบแพทย์ที่คลินิกใกล้บ้าน สงสัยไข้หวัดใหญ่ ได้รับยาแก้ปวด ยาแก้อักเสบ ยาแก้ไอ เจียน หลังจากนั้นอาการดีขึ้น ตอนเช้าและกลางวันไม่มีไข้ ทำงานและรับประทานอาหารได้ปกติ ตอนเย็นมีไข้สูง หนาวสั่นอาการเดิม เป็นลักษณะนี้มาตลอด ให้ประวัติ 1 สัปดาห์ก่อนหน้านี้ไปเที่ยวน้ำตกมา

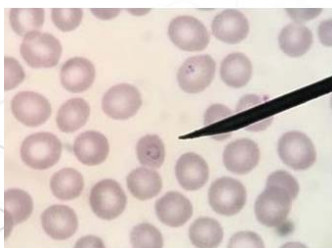
Patient history: no know U/D, no food and drug allergy, no current medicine, smoking 7 packs per year, ปฏิเสธคนแถวบ้าน/ที่ทำงานเป็นไข้เลือดออก, ไม่เคยเป็นไข้เลือดออกหรือได้รับวัคซีนไข้เลือดออกมาก่อน

Physical examination:

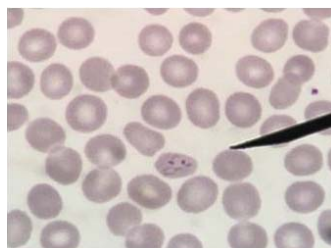
- GA: good consciousness, looked sick, no pallor, no jaundice
 - HEENT: no pale conjunctiva, anicteric sclera, no lymphadenopathy, mild injected pharynx
 - RS: clear and equal breath sound both lungs, no adventitious sound
 - CVS: normal, no murmur
 - Abdomen: no distension, not tender, no hepatosplenomegaly
 - Ext: no rash, no pitting edema, no joint pain, no joint stiffness, no petechiae, no eschar
- Impending: AFI day 7 ddx dengue infection and tropical infection

Laboratory investigation:

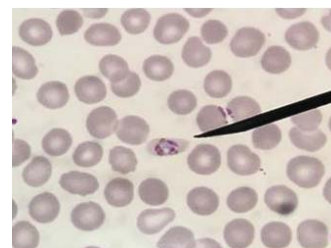
- CBC: WBC 10,100 cells/ μ L, Hb 16.1 g/dL, Hct 48.5%, PMN 72%, MN 26%, Atypical lymphocyte 2%, platelet count 56,000/ μ L, Normochromic normocytic RBC
- Coagulogram: normal
- Chemistry: BUN 16 mg/dL, Creatinine 0.65 mg/dL, Na 135 mmol/L, K 4.2 mmol/L, Cl 101 mmol/L, CO₂ 26 mmol/L, AST 60 IU/L, ALT 154 IU/L
- Serology: Dengue NS1 Ag, IgM, IgG = negative, Scrub typhus IgG = negative, Leptospirosis IgG = negative
- Thin film for malaria: positive 0.2% of parasitemia with ring form and growing trophozoite suggestive non-P. falciparum (P. vivax) (รูปที่ 1)



(A)



(B)



(C)

รูปที่ 1 ลักษณะของเชื้อมาลาเรียภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใน thin film blood smear ของรายงานผู้ป่วย



- (A) ระยะ early trophozoite หรือ ring form เห็นลักษณะ nucleus และ cytoplasm ขนาดเล็ก ติดสีม่วงแดง
(B) ระยะ early trophozoite หรือ ring form เห็นลักษณะของ double chromatin และ (C) ระยะ growing trophozoite เห็นลักษณะ cytoplasm เริ่มขยายตัวคล้ายกับ band form (ribbon like)

Differential diagnosis: Malaria infection due to *P. vivax*

Treatment: chloroquine 250 mg x 3 days plus primaquine 15 mg x 15 days then discharge due to improved

External laboratory investigation: real-time PCR = positive for *P. knowlesi* (เอกสารเพิ่มเติมที่ 1)

วิจารณ์

เนื่องจากจังหวัดสระบุรีเป็น non-endemic area การรายงานผู้ป่วยติดเชื้อมาลาเรียจึงมีจำนวนไม่มากนัก ประกอบกับนโยบายการควบคุมเชื้อมาลาเรียของกระทรวงสาธารณสุขทำให้จำนวนผู้ป่วยติดเชื้อมาลาเรียลดลง และการติดเชื้อส่วนใหญ่ที่พบมักเป็น *P. vivax* รองลงมาเป็น *P. falciparum* การรายงานกรณีศึกษาของผู้ป่วยรายนี้จะเห็นว่าในช่วงสัปดาห์แรกก่อนมาโรงพยาบาล ผู้ป่วยสงสัยการติดเชื้อไข้หวัดใหญ่ และเมื่อแรกรับเข้ารักษาในโรงพยาบาลมีการซักประวัติเพิ่มเติมและส่งตรวจ complete blood count แสดงค่า hematocrit สูงขึ้น และ platelet count ต่ำกว่า 100,000/ μ L มีลักษณะคล้ายกับการติดเชื้อไวรัสเดงกี (dengue fever) จึงทำให้ผู้ป่วยรายนี้ได้รับการเบื้องต้นเหมือนกับผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสเดงกี แพทย์ผู้รักษาพิจารณาส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการเพิ่มเติมในส่วน of tropical infectious diseases และส่งตรวจ thin and thick film for malaria โดยให้ผล positive 0.2% of parasitemia with ring form and growing trophozoite suggestive non-*P. falciparum* (*P. vivax*) ซึ่งจำนวน parasitemia ที่ในปริมาณน้อย สันนิษฐานว่าน่าจะเกิดจากผู้ป่วยได้รับยาปฏิชีวนะหรือสารน้ำที่ทำให้จำนวนเชื้อในกระแสเลือดน้อยลง ร่วมกับสัญญาณวิทยาของเชื้อที่ซับซ้อนในระยะ early trophozoite และ growing trophozoite จึงทำให้เกิดโอกาสรายงานผลตรวจผิดพลาดได้แต่อย่างไรก็ตามต้องสามารถแยกเชื้อระหว่าง *P. falciparum* และ non-*P. falciparum* ออกจากกันเพราะมีความสำคัญด้านคลินิกและการรักษาผู้ป่วยรายนี้จึงถูกวินิจฉัยการติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P. vivax* และได้รับการรักษาด้วยยา chloroquine และ primaquine หลังการรักษา 3 วัน ผู้ป่วยตรวจไม่พบ parasitemia ในกระแสเลือด จากสองประเด็นสำคัญข้างต้นที่ทำให้เกิดการวินิจฉัยผิดพลาด (misdiagnosis) และรายงานชนิดของเชื้อมาลาเรียผิดพลาด (misidentification) ห้องปฏิบัติการจึงได้นำตัวอย่างเลือด EDTA blood ส่งตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค real-time PCR for malaria โดยให้ผลเป็น positive for *P. knowlesi* ซึ่งให้การรักษาแบบเดียวกับการติดเชื้อ *P. malariae* โดยให้ยา chloroquine 3 วัน และติดตามอาการผู้ป่วยในวันที่ 3, 7, 28 และ 60 อาจไม่จำเป็นต้องได้รับยา primaquine เพื่อทำลาย hypnozoite เหมือนกับ *P. vivax* หรือ *P. ovale*¹³

กรณีศึกษาครั้งนี้จากข้อมูลประวัติเพิ่มเติมพบว่าก่อนอาการป่วย 1 สัปดาห์ผู้ป่วยได้ไปเที่ยวหน้าตก โดยไม่ได้ระบุจังหวัด ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการได้รับเชื้อสัมพันธ์กับการรายงานกรณีศึกษาการพบผู้ป่วยติดเชื้อ *P. knowlesi* รายแรกของโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า เป็นผู้ป่วยหญิงจากจังหวัดกาฬสินธุ์และย้ายมาอยู่จังหวัดกาญจนบุรีได้ 3 วัน มีอาการไข้หนาวสั่นไม่ทราบสาเหตุ ถูกส่งตัวมารักษาที่โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ผลการตรวจ thin blood smear พบ 0.5% of parasitemia with a morphologic appearance suggestive of *P. malariae* infection และการตรวจวิเคราะห์เพิ่มเติมด้วยเทคนิค direct nested PCR แสดงการพบ 153 bp small subunit ribosomal RNA (SSU rRNA) gene ซึ่งจำเพาะต่อเชื้อ *P. knowlesi* หลังจากนั้นผู้ป่วยรายนี้ได้รับการรักษาด้วย oral chloroquine 7 วันและจากการสอบสวนโรคพบว่าผู้ป่วยรายนี้มีประวัติได้รับเลือดจากหญิงวัยรุ่นซึ่งเคยมีประวัติการไปเที่ยวหน้าตกช่วงก่อนบริจาคเลือด 3 สัปดาห์¹⁴

การรายงานชนิดของเชื้อ *P. knowlesi* ผิดพลาดนั้น Mahittikorn et al.¹² ได้ทำการศึกษาแบบ systemic reviews and meta-analyses มีการรายงานเชื้อ *P. knowlesi* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ส่วนใหญ่เป็น *P. malariae* ประมาณร้อยละ 57 และการศึกษาในกลุ่มย่อยพบ misidentification ในอัตราสูงโดยเฉพาะในรัฐ Sarawak ประเทศมาเลเซีย ประมาณร้อยละ 87 รัฐ Sabah ประเทศมาเลเซีย ร้อยละ 85 ประเทศอินโดนีเซีย ร้อยละ 16 และประเทศไทย ร้อยละ 4 อาจเนื่องมาจากการพบ *P. knowlesi* ในประเทศไทยยังมีจำนวนน้อย หากตรวจพบ *P. malariae* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ในพื้นที่ที่เป็น endemic area ของ *P. knowlesi* องค์การอนามัยโลก (WHO) แนะนำให้รายงาน malaria positive with *P. malariae*/ *P. knowlesi* และพื้นที่ non-endemic area อาจพิจารณาส่งตรวจวิเคราะห์ทาง molecular technique เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อ¹²

สรุปผล

จากการรายงานผลตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้น ผู้ป่วยรายนี้ถูกวินิจฉัยติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P. vivax* ซึ่งพบได้บ่อยที่สุดจากการรายงานของโรงพยาบาลสระบุรี และปัญหาการพบเชื้อใน thin film blood smear มีปริมาณน้อย เพียงร้อยละ 0.2 ประกอบกับรูปร่างของเชื้อที่มีความซับซ้อนด้วยการจำแนกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จำเป็นต้องพิจารณาส่งตรวจด้วยเทคนิค real-time PCR เพิ่มเติม โดยผลพบว่า positive for *P. knowlesi* ซึ่งถือเป็นผู้ป่วยรายแรกของ โรงพยาบาลสระบุรี และให้การรักษามาลาเรียชนิด *P. vivax* ไม่รุนแรงแบบเดียวกับ *P. malariae* โดยให้ยา chloroquine นาน 3 วัน ในขณะการติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P. vivax* จะให้ยา primaquine ร่วมด้วยอีก 15 วัน ดังนั้นจากคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก (WHO) ในการรายงานเชื้อมาลาเรียที่มีลักษณะเข้าได้กับ *P. malariae* และ *P. Knowlesi* สามารถรายงาน malaria positive with *P. malariae*/ *P. knowlesi* ได้ และอาจพิจารณาส่งตรวจทาง molecular technique เพิ่มเติมในพื้นที่เป็น non-endemic area ทั้งนี้อาจต้องมีการอบรมการตรวจวินิจฉัยเชื้อมาลาเรียให้กับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเพื่อให้มีความชำนาญมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

เอกสารเพิ่มเติม

(1) เอกสารการรายงานผลการตรวจยืนยันชนิดมาลาเรียด้วยหลักการ real-time PCR จากภาควิชาพยาธิวิทยาโปรโตซัว คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล



ภาควิชาพยาธิโปรโตซัว คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

โทร. 0-2306-9182

วันที่ 13 พฤศจิกายน 2562

ผลการทดสอบหาเชื้อมาลาเรียด้วยวิธี real-time PCR

ชนิดของสิ่งส่งตรวจ EDTA blood

วันที่ทำการตรวจ 12 พฤศจิกายน 2562

รพ.4 (โรงพยาบาลสระบุรี)

ผลการตรวจ Positive for *Plasmodium knowlesi* by real-time PCR

พว.ร.ร. ร.ป.ระ.ร.
นายพญ.รุ่งนัฐ ธีระประเสริฐ
ผู้ตรวจ

รศ. ดร.พรทิพย์ เจริญมิตร
ผู้ตรวจ



เอกสารอ้างอิง (References)

1. พรทิพย์ เพ็ชรมิตร, รชตวรรณ เขียวฉลาด, แสงเดือน มูลสม, งามอาจ มหิตธิกร, ศรีวิชา ทรุฑสูตร.
“การตรวจวินิจฉัยเชื้อมาลาเรียและการรายงานผลตามมาตรฐานสากล” ภาควิชาโปรโตซัว คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล; 2562
2. สมชาย จงวุฒิเวศย์, อุษา ทิสยากร. มาลาเรีย (Malaria). โรงพิมพ์ ธนาเพรส จำกัด. กรุงเทพมหานคร; 2549
3. Mahittikorn, A., Masangkay, F. R., Kotepui, K. U., Milanez, G. J. & Kotepui, M. Comparison of *Plasmodium ovale curtisi* and *Plasmodium ovale wallikeri* infections by a meta-analysis approach. *Sci Rep*, 6409, doi:10.1038/s41598-021-85398-w (2021).
4. Varo, R., Chaccour, C. & Bassat, Q. Update on malaria. *Med Clin (Barc)*, 395-402, doi:10.1016/j.medcli.2020.05.010 (2020).
5. Hayton, K. & Su, X. Z. Drug resistance and genetic mapping in *Plasmodium falciparum*. *Curr Genet*, 223-239, doi:10.1007/s00294-008-0214-x (2008).
6. Milner, D. A., Jr. Malaria Pathogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Med*, doi:10.1101/cshperspect.a025569 (2018).
7. Singh, B. & Daneshvar, C. Human infections and detection of *Plasmodium knowlesi*. *Clin Microbiol Rev*, 165-184, doi:10.1128/CMR.00079-12 (2013).
8. Jeyaprakasam, N. K., Liew, J. W. K., Low, V. L., Wan-Sulaiman, W. Y. & Vythilingam, I. *Plasmodium knowlesi* infecting humans in Southeast Asia: What's next? *PLoS Negl Trop Dis*, e0008900, doi:10.1371/journal.pntd.0008900 (2020).
9. Malaria online. Thailand Malaria Elimination Program. [cited August 4, 2022] Available from: http://malaria.ddc.moph.go.th/malariaR10/index_newversion.php
10. Patel, J. C. et al. Field evaluation of a real-time fluorescence loop-mediated isothermal amplification assay, RealAmp, for the diagnosis of malaria in Thailand and India. *J Infect Dis*, 1180-1187, doi:10.1093/infdis/jiu252 (2014).
11. Mahittikorn, A., Masangkay, F. R., Kotepui, K. U., De Jesus Milanez, G. & Kotepui, M. Comparative performance of PCR using DNA extracted from dried blood spots and whole blood samples for malaria diagnosis: a meta-analysis. *Sci Rep*, 4845, doi:10.1038/s41598-021-83977-5 (2021).
12. Mahittikorn, A., Masangkay, F. R., Kotepui, K. U., Milanez, G. J. & Kotepui, M. Quantification of the misidentification of *Plasmodium knowlesi* as *Plasmodium malariae* by microscopy: an analysis of 1569 *P. knowlesi* cases. *Malar J*, 179, doi:10.1186/s12936-021-03714-1 (2021).
13. กองโรคติดต่อภายในโดยแมลง กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางเวชปฏิบัติในการรักษาผู้ป่วยโรคไข้มาลาเรีย. ประเทศไทย; 2564 [cited August 4, 2022] Available from: [http://malaria.ddc.moph.go.th/download/files/Malaria_Manual/\[Guideline\]_Malaria_Treatment_2564_NTG.pdf](http://malaria.ddc.moph.go.th/download/files/Malaria_Manual/[Guideline]_Malaria_Treatment_2564_NTG.pdf)
14. Traipattanakul J, Changpradub D, Trakulhun K, Phiboonbanakit D & M, M. A First Case of *Plasmodium knowlesi* Malaria in Phramongkutklao Hospital. *J Infect Dis Antimicrob Agents*, 91-100 (2014).