



ลักษณะทางคลินิกของมาลาเรียที่วินิจฉัยในพื้นที่ระบาดใกล้ชายแดนไทย-ลาว อำเภอบุญทริก จังหวัดอุบลราชธานี ประเทศไทย

กริพล สุตาวงษ์^{1*}, อรอนงค์ กฤษเพชรรัตน์², สุรศักดิ์ แว่นรัมย์³, สุทธิพรธณ กิจเจริญ⁴,
พรทิพย์ ปิ่นละอ⁵ จิราพร สิทธิถาวร⁶ และ ภาณุพรรณศรี กฤษเพชรรัตน์⁴

Received: October 6, 2017

Revised: December 7, 2017

Accepted: December 26, 2017

บทคัดย่อ

ในปี พ.ศ. 2557 มีรายงานผู้ติดเชื้อมาลาเรียในจังหวัดอุบลราชธานีมากที่สุดในประเทศไทย โดยเฉพาะอำเภอบุญทริกซึ่งมีพื้นที่ติดชายแดนสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาเกณฑ์ทางคลินิกสำหรับเป็นแนวทางวินิจฉัยมาลาเรียในพื้นที่ที่มีการระบาดตามแนวชายแดนไทย-ลาว อำเภอบุญทริก จังหวัดอุบลราชธานี และศึกษาชนิดมาลาเรียในเขตอำเภอบุญทริก โดยวิธีการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ในงานประจำวัน และวิธี nested PCR ผลการศึกษาพบว่า จากจำนวนอาสาสมัครทั้งหมด 90 ราย ตรวจพบเชื้อมาลาเรียด้วยวิธีกล้องจุลทรรศน์ 45 ราย ส่วนวิธี nested PCR ตรวจพบเชื้อมาลาเรีย 47 ราย โดย 2 รายที่ตรวจพบเพิ่มขึ้น เป็นเชื้อ *P.vivax* ที่มีจำนวนเชื้อมาลาเรียในเลือดน้อยกว่า 50 เซลล์/ไมโครลิตร ซึ่งทำให้มีโอกาสตรวจไม่พบเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ และยังพบอีกว่า มี 2 รายที่ตรวจพบว่าเป็นเชื้อผสมระหว่าง *P.vivax* และ *P.falciparum* แม้ว่าการตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเป็นวิธีมาตรฐานแต่ก็มีข้อจำกัด วิธีตรวจทางอนุชีววิทยาจึงเป็นวิธีที่มีความสำคัญในการหาเชื้อมาลาเรียอีกวิธีหนึ่ง เพราะมีความไวและความจำเพาะสูงกว่า นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ของอาการทางคลินิกและพื้นที่เสี่ยง โดยพบว่าอาสาสมัครที่มีอาการไข้ ปวดศีรษะ และหนาวสั่น ที่มีประวัติเดินทางไปจุดผ่อนปรนช่องตาอู โอกาสได้รับเชื้อมาลาเรียมากกว่าคนทั่วไป 9-10 เท่า ข้อมูลเหล่านี้แพทย์ผู้ตรวจต้องตระหนักในการสั่งตรวจหาเชื้อมาลาเรีย แม้ว่าตรวจไม่พบเชื้อมาลาเรียโดยกล้องจุลทรรศน์ก็ควรส่งตรวจซ้ำและเฝ้าระวังผู้ป่วยอย่างใกล้ชิดเพื่อเพิ่มโอกาสในการตรวจพบเชื้อมาลาเรีย

คำสำคัญ: มาลาเรีย, วิธีกล้องจุลทรรศน์, อาการทางคลินิก, วิธีอนุชีววิทยา

¹กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลบุญทริก อำเภอบุญทริก จังหวัดอุบลราชธานี 34230

²ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

³กลุ่มวิชาแพทยศาสตร์ วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี 34190

⁴กลุ่มวิชาจุลทรรศน์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

⁵กลุ่มวิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

⁶ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม 44000

*ผู้รับผิดชอบบทความ



Clinical features of malaria diagnosed in endemic area near Thailand-Lao border, Buntharik district, Ubon Ratchathani province, Thailand

Kreepol Sutawong^{1*}, Onanong Kritpetcharat², Surasak Wanram³, Suttiphan Kitcharoen⁴
Porntip Pinlaor⁵, Jiraporn Sitthitawon⁶ and Panutas Kritpetcharat⁴

Abstract

In 2014, the largest number of malaria cases was reported in Ubon Ratchathani province, especially in Buntharik district which is situated along the Thai-Lao border. This study was carried out to develop clinical criteria as guidelines to diagnose malaria in the endemic areas along the Thai-Lao border, Buntharik district, Ubon Ratchathani province and to investigate malaria infections in Buntharik district, Ubon Ratchathani province by using a microscopic method in routine settings and a nested PCR method. The results showed that of the 90 voluntary patients, the microscopic method identified 45 cases as infected with malaria parasites while the nested PCR method detected malaria parasites in 47 cases. The two additionally diagnosed cases were observed to be infected with *P. vivax*, whose parasite numbers in blood were lower than 50 cells/ μ L, thereby decreasing a tendency for malaria detection through microscopic technique. It was also found that two cases had a mixed-species infection of *P. vivax* and *P. falciparum*. It can be seen that the microscopy diagnosis, despite being a gold-standard method, has still suffered from such aforementioned limitations. Therefore, a molecular biological method has played a crucial role in detecting malaria parasites, given its higher sensitivity and specificity. In addition, the results revealed a correlation between clinical symptoms and endemic areas. The voluntary patients with fever, headache, and chill who reported visiting Chong Ta-Au Border Checkpoint were 9-10 times more likely to have malaria infections than other people. These data indicate that doctors must be alerted to performing the diagnosis of malaria in the endemic areas. Although malaria cannot be microscopically diagnosed, re-examination and surveillance can increase a chance of malaria detections.

Keywords: Malaria, Microscopic method, Clinical features, nested PCR

¹Medical Technology Buntharik hospital, Buntharik district, Ubon Ratchathani 34230

²Department of Pathology, Faculty of medicine, Khon Kaen University 40002

³Department of Medicine, Faculty of college of medicine and public health, Ubon Ratchathani University 34190

⁴Department of Clinical Microscope, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University 40002

⁵Department of Microbiology, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University 40002

⁶Department of Pathology, Faculty of medicine, Mahasarakham University 44000

*Corresponding author: (e-mail: lovekimhun@gmail.com)

บทนำ

โรคมาลาเรียยังเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของโลกรวมทั้งในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ บริเวณชายแดน ไทย,เมียนมาร์, ลาว, กัมพูชา และ เวียดนาม ซึ่งเชื้อมาลาเรียที่ระบาดเป็น *P.falciparum* และ *P.vivax*⁽¹⁾ องค์การอนามัยโลกประมาณการไว้ว่ามีประชากร 270 - 300 ล้านคนทั่วโลกเป็นโรคนี้อยู่⁽²⁾ สถานการณ์โรคมาลาเรียของประเทศไทยในปัจจุบัน แม้ว่าโรคมาลาเรียจะลดลงอย่างต่อเนื่อง แต่ใน พ.ศ. 2556 กับพบมีผู้ป่วยโรคมาลาเรียเพิ่มขึ้น โดยระบาดเป็นหย่อม ๆ อยู่ทั่วไป โดยเฉพาะในพื้นที่สวนยางพารา อีกทั้งตามแนวชายแดนของประเทศไทยทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ พื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดของเชื้อมาลาเรียในประเทศไทยพบว่ามีภาระการกระจายของผู้ป่วยโรคมาลาเรียส่วนใหญ่อยู่ในจังหวัดตามแนวชายแดนของประเทศไทยกับประเทศเพื่อนบ้าน จากรายงานสรุปผลงานประจำปี 2557 ของสำนักโรคติดต่ออันตราย กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ได้จัดอันดับจังหวัดที่พบผู้ติดเชื้อมาลาเรียมากที่สุดในประเทศไทย พบว่าจังหวัดอุบลราชธานีเป็นจังหวัดที่มีผู้ติดเชื้อมาลาเรียมากเป็นอันดับ 1 ของประเทศ โดยพบผู้ติดเชื้อทั้งหมด 7,219 ราย ส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อมาลาเรียชนิด *P.vivax*⁽³⁾

อำเภออุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี เป็นอำเภอชายแดนที่มีการแพร่ระบาดของเชื้อมาลาเรีย โดยตรวจพบผู้ป่วยมาลาเรียมากที่สุดในจังหวัดอุบลราชธานี เนื่องจากลักษณะพื้นที่ที่เป็นภูเขา น้ำตก และมีป่าไม้ที่อุดมสมบูรณ์ อีกทั้งติดกับชายแดนไทย-ลาว พื้นที่เสี่ยงหลายแห่งในอำเภออุบลราชธานี ที่มีโอกาสติดเชื้อมาลาเรียโดยเฉพาะจุดผ่อนปรนช่องตาอุ ซึ่งเป็นจุดผ่านแดนระหว่างประเทศไทย - ลาว การตรวจหาเชื้อมาลาเรียที่ใช้เป็นวิธีหลักในพื้นที่แห่งนี้คือ การตรวจฟิล์มโลหิตทั้งฟิล์มหนาและฟิล์มบาง สำหรับในพื้นที่ที่มีการระบาดอาจยังไม่เพียงพอ ควรต้องใช้ปัจจัยหลาย ๆ อย่างมาประกอบเช่น อาการทางคลินิก, พื้นที่เสี่ยง เป็นต้น เพื่อให้เจ้าหน้าที่ทางห้องปฏิบัติการมีความมั่นใจในการรายงานผลการตรวจมากขึ้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาเกณฑ์วินิจฉัยมาลาเรีย

ทางคลินิกสำหรับพื้นที่ที่มีการระบาดตามแนวชายแดนไทย - ลาว อำเภออุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี และเพื่อศึกษาชนิดมาลาเรียในเขตอำเภออุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี โดยวิธีการดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ในงานประจำวันและวิธี nested PCR

วัสดุและวิธีการ

อาสาสมัครและสิ่งส่งตรวจ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาภาคตัดขวาง (cross sectional study) โดยกลุ่มอาสาสมัครประกอบด้วยอาสาสมัคร 90 ราย ที่เข้ารับการตรวจแผนกผู้ป่วยนอกและมีอาการต่อไปนี้ มีไข้ หนาวสั่น เหงื่อออก ปวดศีรษะ กล้ามเนื้ออ่อนแรง อาเจียน หรือปัสสาวะสีดำอย่างใดอย่างหนึ่งหรือหลายอย่างร่วมกัน ระหว่าง เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2559 ถึง เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2559 โดยผู้ป่วยที่เข้าร่วมวิจัยตอบแบบสอบถาม เกี่ยวกับข้อมูลพื้นฐาน อาการสำคัญทางคลินิก และประวัติการเดินทางเข้าพื้นที่เสี่ยง ได้แก่ จุดผ่อนปรนช่องตาอุ น้ำตกห้วยทราย ภูหินด่าง ภูผอยลุม และภูชี้แกลบ ก่อนมาพบแพทย์ ซึ่งมีอาสาสมัครที่คัดเข้า 90 รายส่งส่งตรวจเป็นเลือดที่เหลือจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

การเตรียมฟิล์มบาง และฟิล์มหนา

เลือดจากอาสาสมัครนำมาทำฟิล์มบาง และฟิล์มหนาอย่างละ 2 แผ่น นำมาย้อมด้วยสีจิมซา เพื่อใช้ตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ ทำการตรวจหาเชื้อและชนิดของมาลาเรียตามวิธีขององค์การอนามัยโลก⁽⁴⁾

การสกัดดีเอ็นเอ

เลือดที่เหลือจากการทำฟิล์มบางและฟิล์มหนา จะนำมาเก็บรวบรวมไว้ในตู้เย็นที่ควบคุมอุณหภูมิ ± 4 องศา เพื่อจะนำมาสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด Genomic DNA mini kit (Geneaid company,Taiwan) นำดีเอ็นเอที่สกัดได้หาปริมาณด้วย NanoVue™ spectrophotometer (Fisher Scientific,UK) ที่ 260 nm. เก็บดีเอ็นเอที่สกัดได้ไว้ที่ -70°C

การตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วย nested PCR

ตรวจหาเชื้อมาลาเรีย 4 ชนิดได้แก่ *P.falciparum*, *P.vivax*, *P.malariae* และ *P.ovale* ด้วย nested PCR ตามวิธีของ Snounou และคณะ⁽⁵⁾ (ตารางที่ 1) การทำ Master Mix (ตารางที่ 2) และ PCR Thermal cycling (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 1 Primer Sequences ที่ใช้ตรวจหาเชื้อมาลาเรียในคนโดยใช้วิธี nested PCR

PCR	Primer name	Primer sequence
Nested – 1 st	rPLU 6	TTA AAA TTg TTC CAg TTA AAA Cg
	rPLU 5	CCT gTT gTT gCC TTA AAC TTC
Nested – 2 nd	rFAL 1	TTA AAC Tgg TTT ggg AAA ACC AAA TAT ATT
	rFAL 2	ACA CAA TgA ACT CAA TCA TgA CTA CCC gTC
	rVIV 1	CgC TTC TAg CTT AAT CCA CAT AAC TgA TAC
	rVIV 2	ACT TCC AAg CCg AAg CAA AgA AAg TCC TTA
	rOVA 1	ATC TCT TTT gCT ATT TTT TAg TAT Tgg AgA
	rOVA 2	ggA AAA ggA CAC ATT AAT TgT ATC CTA gTg
	rMAL 1	ATA ACA TAg TTg TAC gTT AAg AAT AAC CgC
	rMAL 2	AAA ATT CCC ATg CAT AAA AAA TTA TAC AAA

Gibthai company USA.

ตารางที่ 2 Protocol master mix การทำ nested PCR

Master mix	Genus	Species
My tag HS red mix	12.5 ไมโครลิตร	12.5 ไมโครลิตร
Primer F	1 ไมโครลิตร	1 ไมโครลิตร
Primer R	1 ไมโครลิตร	1 ไมโครลิตร
H ₂ O	4.5 ไมโครลิตร	5 ไมโครลิตร
DNA template	1 ไมโครลิตร	1 ไมโครลิตร

ตารางที่ 3 PCR thermal cycling

	First-round PCR*		Second-round PCR**	
	Temp (°C)	Time (min)	Temp (°C)	Time (min)
Initial denaturation	95	5	95	5
Denaturation	95	0.45	95	0.30
Primer annealing	56	0.30	56	0.30
Primer extension	72	0.45	72	0.30
Final extension	72	5	72	5

หมายเหตุ * 35 cycles, ** 30 cycles

การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้โปรแกรม Excel 2007 ในการบันทึกข้อมูล และคำนวณข้อมูลเบื้องต้น สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และวิเคราะห์การกระจายของข้อมูลจะใช้โปรแกรมสำเร็จรูป STATA version 10 กำหนดค่านัยสำคัญที่ $p < 0.05$ โดยแสดงข้อมูลในรูปค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของพารามิเตอร์ต่าง ๆ รวมทั้งการหา Odds Ratio

จริยธรรมการวิจัย

งานวิจัยนี้ผ่านการพิจารณาและรับรองโดยคณะกรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น เลขที่ HE592035

ผลการศึกษา

ข้อมูลพื้นฐานและคุณลักษณะของอาสาสมัคร 90 รายที่มาพบแพทย์ มีอายุระหว่าง 20-58 ปี ค่ากลาง (median) เท่ากับ 40 ปี เป็นเพศชาย 93.33% อายุระหว่าง 20-58 ปี ค่ากลางเท่ากับ 40 ปี เพศหญิง 6.67% อายุระหว่าง 29 - 50 ปี ค่ากลางเท่ากับ 36 ปี อาชีพส่วนใหญ่ของอาสาสมัครจะหาของป่า รองลงมาเป็นเกษตรกร (ทำนา ทำไร่และหรือทำสวน) และอาชีพรับจ้างทั่วไป อาการทางคลินิกที่พบมาก ได้แก่ มีไข้ (fever) หนาวสั่น (chills) และปวดศีรษะ (headache) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 คุณลักษณะของอาสาสมัคร อาการทางคลินิก ประวัติการเดินทางเข้าพื้นที่เสี่ยงและผลการตรวจหาเชื้อมาลาเรีย ด้วยกล้องจุลทรรศน์และ nested PCR

คุณลักษณะของอาสาสมัคร	จำนวน (%)	กล้องจุลทรรศน์		Nested PCR		
		<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	Mixed *
เพศ						
ชายอายุระหว่าง 20 - 58 ปี (ค่ากลาง 40 ปี)	84 (93.33)	4 (4.44)	39 (43.33)	4 (4.44)	39 (43.33)	2 (2.22)
หญิงอายุระหว่าง 29 - 50 ปี (ค่ากลาง 36 ปี)	6 (6.67)	0 (0)	2 (2.22)	0 (0)	2 (2.22)	0 (0)
อาชีพ						
หาของป่า	46 (51.11)	4 (4.44)	20 (22.22)	4 (4.44)	20 (22.22)	2 (2.22)
เกษตรกร (ทำนา/ทำไร่/ทำสวน)	38 (42.22)	2 (2.22)	18 (20.00)	2 (2.22)	18 (20.00)	0 (0)
รับจ้างทั่วไป	4 (4.44)	0 (0)	1 (1.11)	0 (0)	1 (1.11)	0 (0)
ตำรวจตระเวนชายแดน	2 (2.22)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
อาการทางคลินิก						
มีไข้	78 (86.67)	6 (6.67)	39 (43.33)	6 (6.67)	39 (43.33)	2 (2.22)
ปวดศีรษะ	71 (78.89)	6 (6.67)	39 (43.33)	6 (6.67)	39 (43.33)	2 (2.22)
หนาวสั่น	64 (71.11)	6 (6.67)	39 (43.33)	6 (6.67)	39 (43.33)	2 (2.22)
อาเจียน	13 (14.44)	1 (1.11)	3 (3.33)	1 (1.11)	3 (3.33)	0 (0)
กล้ามเนื้ออ่อนแรง	5 (5.56)	0 (0)	3 (3.33)	0 (0)	3 (3.33)	0 (0)
เหงื่อออก	2 (2.22)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2.22)	0 (0)
พื้นที่เสี่ยงและพิกัด**						
จุดผ่อนปรนช่องตาอุ	40 (44.44)	2 (2.22)	28 (31.11)	2 (2.22)	28 (31.11)	2 (2.22)
น้ำตกห้วยทราย	27 (30.00)	2 (2.22)	7 (7.78)	2 (2.22)	7 (7.78)	0 (0)
ภูชี้แกลบในภูจอง-นายอย	9 (10.00)	0 (0)	2 (2.22)	0 (0)	2 (2.22)	0 (0)
ภูฝอยลม	7 (7.78)	0 (0)	2 (2.22)	0 (0)	2 (2.22)	0 (0)
ภูหินด่าง	7 (7.78)	0 (0)	2 (2.22)	0 (0)	2 (2.22)	0 (0)

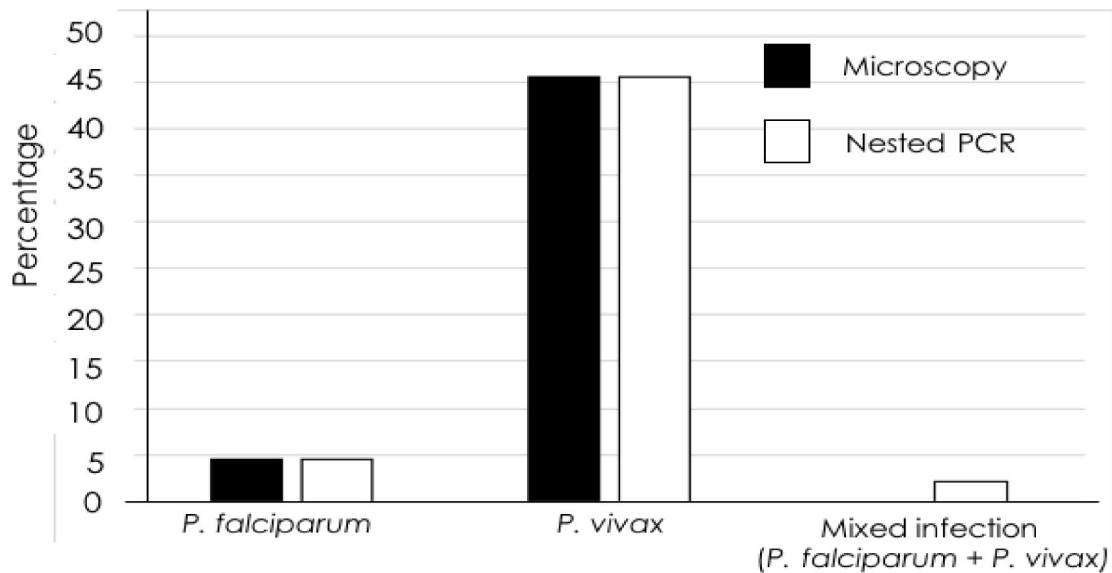
หมายเหตุ * Mixed, mixed infection (*P.falciparum* + *P.vivax*)

** จุดผ่อนปรนช่องตาอุ พิกัด 14° 42' 13.4"N 105° 31' 27.6"E

น้ำตกห้วยทราย พิกัด 14° 55' 04.7"N 105° 30' 18.2"E, ภูฝอยลม พิกัด 14° 52' 32.4"N 105° 27' 16.6"E,

ภูหินด่าง พิกัด 14° 36' 24.4"N 105° 23' 54.9", ภูชี้แกลบในภูจอง-นายอย พิกัด 14° 26' 19.4"N 105° 20' 41.1"E

จำนวนอาสาสมัครที่ติดเชื้อมาลาเรียเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เท่ากับ 50% (45/90 ราย) เป็น *P.falciparum* 4.33% (4/90 ราย) และ *P.vivax* 45.56% (41/90 ราย) และตรวจไม่พบมาลาเรีย 50% (45/90 ราย) เมื่อตรวจด้วย nested PCR พบการติดเชื้อผสม (mixed infection) ระหว่าง *P.falciparum* และ *P.vivax* 2.22% (2/90 ราย) และพบ *P.vivax* 2 รายซึ่งตรวจไม่พบด้วยกล้องจุลทรรศน์ (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 ผลการตรวจมาลาเรียในอาสาสมัคร 90 รายด้วยวิธีดูด้วยกล้องจุลทรรศน์และ nested PCR

การวิเคราะห์อัตราส่วนปัจจัยเสี่ยง (Odds ratio) ของพื้นที่เสี่ยงต่อการติดเชื้อมาลาเรียพบว่าอาสาสมัครที่เดินทางไปจุดผ่อนปรนช่องตาอุมีอัตราส่วนปัจจัยเสี่ยง

เท่ากับ 9.3333 (95%CI=3.4927-24.9408, p -value < 0.0001) ในขณะที่พื้นที่เสี่ยงแห่งอื่น ๆ ได้แก่ น้ำตกห้วยทราย ภูฝอยลม ภูหินด่างและภูชี้แกลบมีอัตราส่วนปัจจัยเสี่ยงต่ำ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 พื้นที่และอัตราส่วนปัจจัยเสี่ยง (Odds ratio)

พื้นที่เสี่ยง	ติดเชื้อมาลาเรีย (คน)	ไม่ติดเชื้อมาลาเรีย (คน)	Odds ratio	95% CI	p -value
มีประวัติไปจุดผ่อนปรนช่องตาอุ	32	8	9.3333	3.4927-24.9408	< 0.0001
ไม่มีประวัติไปจุดผ่อนปรนช่องตาอุ	15	35			
มีประวัติไปน้ำตกห้วยทราย	9	18	0.3289	0.1277-0.8472	0.0213
ไม่มีประวัติไปน้ำตกห้วยทราย	38	25			
มีประวัติไปภูฝอยลม	2	5	0.3733	0.0687-2.0292	0.2540
ไม่มีประวัติไปภูฝอยลม	45	42			
มีประวัติไปภูหินด่าง	2	5	0.3733	0.0687-2.0292	0.2540
ไม่มีประวัติไปภูหินด่าง	45	42			
มีประวัติไปภูชี้แกลบ(ในภูจอง-นายอย)	2	7	0.2413	0.0473-1.2311	0.0873
ไม่มีประวัติไปภูชี้แกลบ	45	38			

สำหรับอาการทางคลินิก ที่ระบุว่าเป็นมาลาเรียมากที่สุด ได้แก่ มีไข้ หนาวสั่น และปวดศีรษะ ส่วนที่รองลงมา คือ อาการเหงื่อออก สำหรับอาการที่ไม่จำเพาะต่อมาลาเรีย คือ กล้ามเนื้ออ่อนแรงและอาเจียน การศึกษาครั้งนี้ไม่พบผู้ป่วยปัสสาวะดำ (hemoglobinuria) เมื่อพิจารณาอาการ

มีไข้ หนาวสั่น และปวดศีรษะกับการทำนายผลบวกของมาลาเรียด้วยวิธีกล้องจุลทรรศน์และ nested PCR พบว่าอาการมีไข้ หนาวสั่น และปวดศีรษะ มีความไว (sensitivity) และ ความจำเพาะ (specificity) ต่อการเป็นมาลาเรีย สูงที่สุดทั้งการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์และ nested PCR มีค่าทำนายผลบวก เท่ากับ 100% (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) ค่าทำนายผลบวก (positive predictive value; PPV) และค่าทำนายผลลบ (negative predictive value; NPV) ของอาการทางคลินิกกับการเป็นมาลาเรีย เมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ และ nested PCR

อาการ*	Sensitivity (%)		Specificity (%)		Positive predictive value (%)		Negative predictive value (%)	
	Microscopy	Nested PCR	Microscopy	Nested PCR	Microscopy	Nested PCR	Microscopy	Nested PCR
มีไข้	61.60	64.38	100	100	100	100	37.80	39.53
หนาวสั่น	69.23	72.30	100	100	100	100	55.55	58.13
ปวดศีรษะ	63.38	66.19	100	100	100	100	42.22	44.18
เหงื่อออก	50	100	50	50	4.44	8.50	95.55	100
อาเจียน	33.33	41.66	46.15	47.43	8.88	10.63	82.22	83.72

หมายเหตุ *อาการ คำจำกัดความที่ผู้วิจัยใช้ในการคัดเลือกอาสาสมัคร

-มีไข้ คือภาวะที่อาสาสมัครมีอุณหภูมิร่างกาย $\geq 37.8^{\circ}\text{C}$

-หนาวสั่น คือภาวะที่อาสาสมัครมีความรู้สึกหนาวเย็น ซึ่งมักจะเกิดร่วมกันกับการสั่นของร่างกาย

-ปวดศีรษะ คือภาวะที่อาสาสมัครปวดเพียงตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งของศีรษะ หรือปวดทั้งศีรษะหรือปวดร้าวไปยังอวัยวะอื่น ๆ ในศีรษะ เช่น ตาหรือขมับ เป็นต้น

-เหงื่อออก คือภาวะที่อาสาสมัครมีเหงื่อออกตามร่างกาย พร้อมทั้งอ่อนเพลีย

-อาเจียน คือภาวะที่อาสาสมัครคลื่นไส้และอาเจียน

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการวิจัยครั้งนี้พบว่า การตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ มีข้อจำกัดในอาสาสมัครที่ติดเชื้อผสม เนื่องจากระยะ ring forms แยกกันได้ยาก ระหว่าง *P.falciparum* และ *P.vivax*⁽⁶⁾ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบอาสาสมัครติดเชื้อผสม 2 ราย (2.22%) การติดเชื้อมาลาเรียผสมระหว่าง *P.falciparum* และ *P.vivax* พบได้ในความชุกใกล้เคียงกันกับรายงานอื่น ๆ ทั้งในประเทศไทย เมียนมาร์, เวียดนาม และลาว^(1, 7) อนึ่งเมื่อมีการติดเชื้อผสมระหว่าง *P.falciparum* และ *P.vivax* ส่วนมากเมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์จะรายงานเป็น *P.vivax* อย่างเดียว

เพราะมีเชื้อหลายระยะ แต่ *P.falciparum* ส่วนใหญ่จะพบเป็นระยะ ring forms ทำให้ไม่มั่นใจในการรายงาน เนื่องจากระยะ ring forms คล้ายกัน ส่วนอาสาสมัครที่มีเชื้อในกระแสเลือดน้อยซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบอาสาสมัคร 2 ราย เป็น *P.vivax* เมื่อตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ครั้งแรกไม่พบเชื้อ แต่ให้ผลบวกกับ nested PCR และเมื่อนำมาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ซ้ำพบว่าผู้ป่วยมีเชื้อ *P.vivax* ในเลือดเท่ากับ 27 และ 47 เซลล์/ไมโครลิตร ซึ่งมีรายงานว่าในกรณีที่มีเชื้อมาลาเรียในเลือดน้อยกว่า 50 เซลล์/ไมโครลิตร ทำให้มีโอกาสตรวจไม่พบเชื้อมาลาเรียด้วย

กล้องจุลทรรศน์ได้มาก ซึ่งต้องอาศัยวิธีทางอนุชีววิทยาช่วยวินิจฉัยซึ่งมีความไวสูงกว่า^(8,9) อาการทางคลินิกที่ถือว่ามีความสำคัญในผู้ป่วยมาลาเรียที่มารักษาที่โรงพยาบาล บุณฑริก ได้แก่ มีไข้ หนาวสั่น และปวดศีรษะ ซึ่งเป็นอาการหลักที่พบในผู้ป่วยติดเชื้อ *P.falciparum* และ *P.vivax* ทั่วโลก ในกลุ่มอาการที่ติดเชื้อมาลาเรีย (symptomatic malaria)⁽¹⁰⁻¹²⁾

สำหรับประวัติการเดินทางไปในพื้นที่เสี่ยงในเขตอำเภอบุณฑริก จังหวัดอุบลราชธานีของอาสาสมัครพบว่า การเดินทางไปจุดผ่อนปรนช่องตาอุมีโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นมาลาเรียสูงมาก Odds ratio 9 - 10 เท่า ส่วนบริเวณอื่น ๆ ที่ศึกษา ได้แก่ น้ำตกห้วยทราย ภูผอยลุม ภูหินด่าง และภูชี้แกลบ มีความเสี่ยงต่ำ และเมื่อพิจารณาประวัติการเดินทางไปจุดผ่อนปรนช่องตาอุร่วมกับอาการ มีไข้ หนาวสั่น และ/หรือ ปวดศีรษะ 2 - 3 อาการ โอกาสที่อาสาสมัครจะเป็นมาลาเรียสูงมาก ดังนั้นแพทย์ผู้ตรวจต้องส่งตรวจหาเชื้อมาลาเรียหากผู้ป่วยมีประวัติและอาการดังกล่าว แม้ว่า จะตรวจไม่พบเชื้อมาลาเรียโดยกล้องจุลทรรศน์ ก็ควรส่งตรวจซ้ำและเฝ้าระวังผู้ป่วย อีกทั้งห้องปฏิบัติการก็ควรเพิ่มวงล้อและเวลาในการตรวจหาเชื้อมาลาเรียให้มากขึ้น อย่างไรก็ตามในพื้นที่และอาการทางคลินิกของการติดเชื้อมาลาเรียมีความคล้ายกับไข้เลือดออก (dengue fever) มากโดยเฉพาะในกรณีที่ตรวจเลือดทางจุลทรรศน์จะพบเกล็ดเลือดต่ำ ซึ่งภาวะเกล็ดเลือดต่ำมีโอกาสพบเชื้อมาลาเรียได้ รวมทั้งการศึกษานี้อาสาสมัครที่เป็นมาลาเรียจะมีเกล็ดเลือดต่ำเช่นเดียวกัน ดังนั้นในกรณีนี้ควรวินิจฉัยตัดออก (rule out) จากไข้เลือดออก และยังมีรายงานว่า มีโอกาสที่จะพบผู้ป่วยที่เป็นทั้งมาลาเรียและไข้เลือดออก Wiwanitkit เสนอว่าอาการทางคลินิกและการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ช่วยแยก การติดเชื้อมาลาเรีย ไข้เลือดออก และการติดเชื้อมาลาเรียร่วมกับไข้เลือดออก ได้แก่ อาการปวดกล้ามเนื้อ (myalgia) ภาวะเลือดขึ้นเกล็ดเลือดต่ำ การพบ reactive lymphocyte และ tourniquet test มักให้ผลบวกในรายที่เป็นไข้เลือดออก และรายที่ติดเชื้อมาลาเรียร่วมกับไข้เลือดออก ส่วนผู้ป่วยที่เป็นมาลาเรียอย่างเดียวพบลักษณะและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติ

การดังกล่าวน้อยกว่า⁽¹³⁾ และยังพบอีกว่าผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *P.falciparum* และ *P.vivax* จะไม่มีความแตกต่างกันของอาการทางคลินิก อีกทั้งจะไม่พบอาการทางคลินิกเพียงอาการเดียวแต่จะพบหลาย ๆ อาการร่วมกัน⁽¹⁴⁾

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และได้อาสาสมัครจากโรงพยาบาลบุณฑริก อำเภอบุณฑริก จังหวัดอุบลราชธานี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Imwong M, Nguyen TN, Tripura R, et al. The epidemiology of subclinical malaria infections in South-East Asia: findings from cross-sectional surveys in Thailand-Myanmar border areas, Cambodia, and Vietnam. *Malaria J* 2015; 14: 381.
2. Kaojareen S, Wilirut P, Kruthsut S, et al. Guidelines for the Treatment of Malaria patients in Thailand 2014; 1-5.
3. Annual report 2014. Bureau of vector borne disease. Department of disease control, Ministry of Public Health. Thailand; 16-17.
4. WHO Malaria Microscopy Quality Assurance Manual-Version 2. Geneva: WHO Press; 2016.
5. Snounou G, Viriyakosol S, Zhu XP, et al. High sensitivity of detection of human malaria parasites by the use of nested polymerase chain reaction. *Mol Biochem Parasitol* 1993; 61: 315-20.
6. Barber BE, William T, Grigg MJ, et al. Limitations of microscopy to differentiate Plasmodium species in a region co-endemic for Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax and Plasmodium knowlesi. *Malaria J* 2013; 12: 8.

7. Khaminsou N, Kritpetcharat O, Daduang J, et al. A survey of malarial infection in endemic areas of Savannakhet province, Lao PDR and comparative diagnostic efficiencies of Giemsa staining, acridine orange staining, and semi-nested multiplex PCR. *Parasitol* 2008; 57:143-9.
8. Fontecha GA, Mendoza M, Banegas E, et al. Comparison of molecular tests for the diagnosis of malaria in Honduras. *Malaria J* 2012; 11:119.
9. Shahwani Z, Aleem A, Ahmed N, et al. A PCR method based on 18S rRNA gene for detection of malaria parasite in Balochistan. *J Pak Med Assoc* 2016; 66:1587-91.
10. O'Brien AT, Ramirez JF, Martinez SP, et al. A descriptive study of 16 severe *Plasmodium vivax* cases from three municipalities of Colombia between 2009 and 2013. *Malaria J* 2014; 13:404.
11. Arevalo-Herrera M, Lopez-Perez M, Medina L, et al. Clinical profile of *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* infections in low and unstable malaria transmission settings of Colombia. *Malaria J* 2015; 14:154.
12. Gupta BK, Gupta A, Nehra HR, et al. Clinical profile and prognostic indicators in adults hospitalized with severe malaria caused by different *Plasmodium* species. *Infect Dis (Auckl)* 2015; 8:45-50.
13. Wiwanitkit V. Concurrent malaria and dengue infection: a brief summary and comment. *Asian Pac J Trop Biomed* 2011; 1:326-7.
14. Luxemberger C, Nesten F, Dennis EK, et al. Clinical features cannot predict a diagnosis of malaria or differentiate the infecting species in children living in an area of low transmission. *Oxford journals*, 1997:45-49.