



## อัตราการติดเชื้อพลาสโมเดียมโนวลิไซต์ใน ยุงก้นปล่อง คน ลิง และ ค่างในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน

**โดย** สกฤตทิพย์ เอมสกุล วท.บ\*  
 ชำนาญ อภิวัดมนตร Ph.D\*\*  
 พันเอกมัทริฐ มุ่งถิ่น Ph.D\*\*\*  
 สุพิชญ์ ยศเมฆ ส.บ\*  
 อรัญญา ภิญโญรัตน์โชติ วท.ม\*  
 กชพรรณ สุกระ วท.บ\*  
 ดารารัตน์ เพชรจันทร์ วท.บ\*  
 ประเมศร์ เวือนประโคน วท.บ\*  
 ปิยะ แก้วเงิน วท.บ\*  
 ศตคุณ สมบัติโพธิอุดม วท.บ\*  
 ยุทธนา สามัง วท.ม\*\*

**By** Sakutip Amsakul  
 Chamnarn Apiwathnasorn  
 Col. Mathirut Mungthin  
 Supit Yodmek  
 Arunya Pinyoratthanachote  
 Kotchapan Sukra  
 Dararat Patjun  
 Paramete Vuanprakhon  
 Piya Keawngeun  
 Satakun Sumbutphotiodom  
 Yudthana Samung

\* สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 11 จังหวัดนครศรีธรรมราช  
 \*\* คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล  
 \*\*\* ภาควิชาปรสิตวิทยาวิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

\* The office of Prevention and Control Disease Region 11 Nakhon Si Thammarat\*  
 \*\* Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University  
 \*\*\* Department of Parasitology, Phramongkutklao College of Medicine

### Abstract

In 2004, human malaria caused by *Plasmodium knowlesi* was reported from Southeast Asian countries. The natural hosts of *P. knowlesi* are Long-tailed macaques, Pig-tailed macaques and Leaf monkeys. Morphological identification of *P. knowlesi* can easily confused with *P. falciparum* and *P. malariae*. A few reports showed that *Anopheles leucosphyrus* group such as *An. hackeri*, *An. cracens*, and *An. latens* were the vector of *P. knowlesi*. In Thailand, malaria caused by *P. knowlesi* was reported from different areas such as Prajuebkirikhan, Narathiw, Yala, Tak and Chonburi. The upper south of Thailand comprises forest and hill areas which are inhabited by these natural reservoirs of *P. knowlesi*. Some people in this area have forest-related activities so that they could be at risk of getting malaria caused by *P. knowlesi*.

Our study was to identify *P. knowlesi* infection in human, macaque and also *Anopheles* mosquitoes in 3 provinces of the upper south of Thailand, i.e., Chumphon, Ranong and Suratthani from December 2009 to September 2011 using PCR technique.

Mosquitoes were collected from 3 different levels from the ground, i.e., 0, 3 and 6 meters from 0600 pm to 0600 am. *Anopheles* spp., *Mansonia* spp., *Culex* spp., *Stegomye* spp., *Armigeres* spp. and *Adeomyei* spp. were identified. Using PCR technique, *P. knowlesi* was found in *An. minimus*, *An. maculatus*, *An. barbirostris* and *An. nivipes* collected from Suratthani. From Ranong, the parasite was identified in *An. maculatus*, *An. peditaeniatus*, *An. tessellatus* and *An. nigerrimus*. *Anopheles minimus* and *An. tessellatus* collected from Chumporn were also positive for *P. knowlesi*. However no *P. knowlesi* was identified in human and macaque samples.

Our study showed that *Anopheles* mosquitoes in the study areas contained *P. knowlesi*. This parasite was not found in humans and macaques. However the transmission of *P. knowlesi* in this area could not be ruled out. A larger scale of study should be further conducted.

### บทคัดย่อ

ในปี พ.ศ. 2547 พบผู้ป่วยมาลาเรียจากเชื้อ *Plasmodium knowlesi* ในกลุ่มประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งเป็นเชื้อมาลาเรียที่เคยพบในลิงแสม หรือลิงทางยาว ลิงกัง และค่าง การวินิจฉัยซึ่งคงสับสนกับเชื้อมาลาเรีย เช่น *P. falciparum* และ *P. malariae* ที่พบในคนมีรายงานพบว่ายุงก้นปล่องกลุ่ม *Leucosphyrus* ได้แก่ *An. hackeri*, *An. cracens*, และ *An. latens* เป็นพาหะนำโรค ปัจจุบันในประเทศไทยมีรายงานว่าพบผู้ติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P. knowlesi* ในหลายจังหวัด เช่น จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ นราธิวาส ยะลา ตาก และชลบุรี สำหรับพื้นที่ภาคใต้ตอนบน ส่วนใหญ่มีภูมิประเทศเป็นป่าเขา เป็นที่อยู่ของสัตว์จำพวกลิง และค่าง ซึ่งเป็นแหล่งรังโรคของเชื้อมาลาเรียชนิดดังกล่าว ประชาชนบางส่วนในพื้นที่ก็มีอาชีพหาของป่าหรือจับสัตว์ป่าจึงมีความเสี่ยงต่อการเป็นมาลาเรียจากเชื้อ *P. knowlesi* ได้

การศึกษาในครั้งนี้เพื่อหาความหนาแน่นของยุงก้นปล่องและตรวจหาเชื้อมาลาเรียชนิด *P. knowlesi* ในคน ลิง และยุง *Anopheles* ในพื้นที่ 3 จังหวัดภาคใต้ตอนบนได้แก่ จังหวัดชุมพร จังหวัดระนอง และจังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งศึกษาในช่วงพฤศจิกายน พ.ศ. 2552 ถึงกันยายน พ.ศ. 2554 ด้วยการตรวจวิเคราะห์ในระดับโมเลกุล โดยวิธี PCR

ในการจับยุงที่ระดับความสูง 3 ระดับ คือ 0, 3 และ 6 เมตร ในช่วงเวลาตั้งแต่ 18.00 น.-06.00 น. ยุงที่พบได้แก่ *Anopheles* spp., *Mansonia* spp., *Culex* spp., *Stegomye* spp., *Armigeres* spp. และ *Adeomyei* spp. และจากการตรวจหาเชื้อมาลาเรียในยุงก้นปล่อง (*Anopheles* spp.) สามารถพบเชื้อ *P. knowlesi* ในยุง *An. minimus*, *An. maculatus*, *An. barbirostris* และ *An. nivipes* ของพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี *An. maculatus*, *An. peditaeniatus*, *An. tessellatus* และ *An. nigerrimus* ของพื้นที่จังหวัดระนองและ *An. minimus* และ *An. tessellatus* ของพื้นที่จังหวัดชุมพร ส่วนในคนและลิงจากการวิเคราะห์เชื้อมาลาเรียไม่พบเชื้อ *P. knowlesi*

จากการศึกษาอาจแสดงได้ว่ายุงในพื้นที่ทำการวิจัยมีการพบเชื้อ *P. knowlesi* แต่ไม่พบเชื้อในคน และลิงในพื้นที่ อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถบอกได้ว่ายุงในพื้นที่ไม่มีความสามารถในการแพร่เชื้อจากยุงสู่คนได้ ควรจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยทำในกลุ่มประชากรที่ใหญ่กว่านี้

## บทนำ

โรคมาลาเรียเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ โปรโตซัว พลาสโมเดียมมียุงก้นปล่องเป็นพาหะนำโรค ยุงก้นปล่องที่พบในไทย มีมากกว่า 73 ชนิด<sup>(1)</sup> แต่ชนิดที่พาหะหลัก ได้แก่ *Anopheles dirus*, *An. minimus*, *An. maculatus* ส่วนพาหะรอง ได้แก่ *An. sudaicus*, *An. aconitus*, *An. pseudowillmori* และอื่นๆ

เชื้อพลาสโมเดียมที่พบในคนและมีความสำคัญทางสาธารณสุขในปัจจุบันมี 4 ชนิด คือ *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* และ *P. ovale* แต่ในธรรมชาติเชื้อมาลาเรียมีมากกว่า 120 ชนิด พบได้ในสัตว์เลื้อยคลาน สัตว์ปีก ตลอดจนสัตว์เลี้ยงลูกนมหลายชนิด *P. knowlesi* เป็นเชื้อมาลาเรียชนิดหนึ่งที่พบในสัตว์ โดยมีโฮสต์หลักธรรมชาติ คือ ลิงแสม หรือ ลิงหางยาว (*Macaca fascicularis*)<sup>(2)</sup> และยังสามารถพบได้ในลิงกัง (*Macaca nemestrina*)<sup>(3)</sup> และค่าง (*Presbytis melalophos*)<sup>(4)</sup> นอกจากนี้ยังมีอีกหลายชนิดที่ไม่ใช่โฮสต์แต่สามารถติดเชื้อได้<sup>(5)</sup> อีกทั้งลักษณะของเชื้อยังมีความคล้ายคลึงกับเชื้อที่พบในคนโดยเฉพาะ *P. falciparum* และ *P. malariae*<sup>(6)</sup> ในปี พ.ศ. 2547 มีรายงานพบผู้ป่วยติดเชื้อ *P. knowlesi* ในรัฐซาราวักบนเกาะบอร์เนียวของประเทศมาเลเซีย ซึ่งมีลิงแสม (*M. fascicularis*) เป็นโฮสต์ธรรมชาติ<sup>(7)</sup> โดยมี *An. hackeri*, *An. lescracens*, และ *An. latens*<sup>(6,8,9,10)</sup> เป็นพาหะและยังพบว่าในปี พ.ศ. 2552 ที่ประเทศเวียดนามยังสามารถพบเชื้อ *P. knowlesi* ในยุง *An. dirus*<sup>(11)</sup> ซึ่งยุงชนิดนี้เป็นชนิดที่สามารถพบในพื้นที่ป่าเขาของภาคใต้ เช่น สุราษฎร์ธานี ระนอง และ ชุมพร เป็นต้น ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ดำเนินการในครั้งนั้น<sup>(1)</sup>

ภาคใต้ตอนบนประกอบด้วย จังหวัด ชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี พังงา ภูเก็ต นครศรีธรรมราช และกระบี่ ซึ่งมีภูมิประเทศเป็นที่ราบ ที่ราบสูงภูเขา

ป่าไม้ สวนผลไม้ และบางส่วนก็เป็นเกาะ ซึ่งประชาชนบางส่วนมีอาชีพเข้าป่าเพื่อหาของป่า หรือจับสัตว์ป่า ซึ่งอาจต้องพักค้างแรมในป่าเมื่อกลับมาก็คงป่วยเป็นโรคมาลาเรีย ซึ่งในป่าเขาเป็นแหล่งที่อยู่ของยุงก้นปล่องหลายชนิด เช่น *An. minimus*, *An. maculatus* และ *An. aconitus* โดยเฉพาะ *An. dirus* ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม *Leucosphyrus*<sup>(1)</sup> ซึ่งเป็นกลุ่มเดียวกับยุงก้นปล่องที่พบว่าเป็นพาหะนำเชื้อ *P. knowlesi* ในต่างประเทศ นอกจากนี้ในบางพื้นที่ เช่น ที่ อ.ท่าชนะ อ.คีรีรัฐนิคม จ.สุราษฎร์ธานี อ.กระบี่ จ.ระนอง อ.ท่าแซะ จ.ชุมพร ก็ยังมีลิงแสม ลิงกัง และลิงเสน ซึ่งเป็นโฮสต์ธรรมชาติเป็นจำนวนมาก ดังนั้น พื้นที่ภาคใต้ตอนบนจึงจัดเป็นพื้นที่ที่เหมาะสมอีกพื้นที่หนึ่งที่จะมีการระบาดของ *P. knowlesi* ได้

ในปี พ.ศ. 2548 พบผู้ป่วยติดเชื้อ *P. knowlesi* รายแรกเป็นชายอายุ 30 ปีซึ่งมีพฤติกรรมพักแรมในป่าบริเวณจังหวัดประจวบคีรีขันธ์<sup>(14)</sup> และในปี พ.ศ. 2552 คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำการศึกษาเพื่อค้นหาเชื้อ *P. knowlesi* ด้วยวิธี PCR สามารถตรวจพบเชื้อ *P. knowlesi* ในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ นราธิวาส ยะลา ตาก และชลบุรี ซึ่งมีทั้งผู้ป่วยที่พบเฉพาะเชื้อ *P. knowlesi* อย่างเดียว และพบเชื้อ *P. knowlesi* ร่วมกับเชื้อชนิดอื่น คือ *P. falciparum* และ *P. vivax*<sup>(15)</sup> ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 0.6 ของผู้ป่วยที่ตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ทั้งหมดเนื่องจากการวินิจฉัยลักษณะของเชื้อ *P. knowlesi* ด้วยกล้องจุลทรรศน์ทำได้ยากจึงเป็นสาเหตุทำให้การตรวจพบเชื้อ *P. knowlesi* ด้วยกล้องจุลทรรศน์มีค่าน้อยกว่าที่ควรจะเป็น<sup>(6,15)</sup> นอกจากนี้การศึกษาของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ยังพบว่า การตรวจเลือดคนในพื้นที่ที่มีการระบาดของเชื้อมาลาเรีย จะสามารถพบเชื้อ *P. knowlesi* ได้ง่ายกว่าการพบเชื้อ

ในยุงหรือในโฮสต์ธรรมชาติ<sup>(6)</sup> และต่อมาในปี พ.ศ. 2553 ก็ยังพบผู้ป่วยชายติดเชื้อ *P. knowlesi* ในพื้นที่ อ.กระบุรี จ.ระนองซึ่งเป็นพื้นที่จังหวัดภาคใต้ตอนบน ที่ทำการศึกษาครั้งนี้ด้วย<sup>(16)</sup>

ด้วยเหตุนี้เองผู้ศึกษาจึงมีความสนใจศึกษา ยุงพาหะที่สามารถนำเชื้อ *P. knowlesi* ได้ และตรวจหาเชื้อ *P. knowlesi* ทั้งในคน ลิง และค้าง ในพื้นที่ภาค ใต้ตอนบนที่มีผู้ป่วยมาลาเรีย เพื่อเป็นข้อมูลในการ เฝ้าระวังและป้องกันการเกิดโรคมาลาเรียจาก *P. knowlesi* ต่อไป

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาความหนาแน่นของยุงก้นปล่อง ในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน
2. เพื่อทราบชนิดของยุงพาหะนำเชื้อ *P. knowlesi* ในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน
3. เพื่อตรวจหาเชื้อ *P. knowlesi* ในคน ลิง และค้างในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน

## วิธีการดำเนินการ

### 1. พื้นที่ศึกษา

ดำเนินการศึกษาในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน โดยคัดเลือกพื้นที่ที่พบผู้ป่วยมาลาเรีย ประชาชนที่มี พฤติกรรมเข้าป่าเพื่อหาของป่า และลักษณะพื้นที่มี ป่าเขาซึ่งเป็นที่อยู่ของสัตว์ป่าจำพวก ลิง และค้าง จำนวน 3 จังหวัดๆ ละ 1 พื้นที่ คือพื้นที่ในอำเภอ ท่าชะะ จังหวัดชุมพร อำเภอกระบุรี จังหวัดระนอง และ อำเภอท่าชนะ จังหวัดสุราษฎร์ธานี

### 2. ศึกษาเชื้อ *Plasmodium knowlesi*

#### ในยุงก้นปล่อง

จับยุงพื้นที่ละ 2 ครั้ง (ช่วงระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ และเดือนมีนาคม) ครั้งละ 3 คืนติดต่อกัน โดยจับยุงที่เกาะพักบนร่างกายทันทีก่อนที่ยุงจะ

กินเลือด และใช้ผู้มีประสบการณ์ในการจับยุงโดยนั่ง จับยุงที่เกาะพักบนขาหรือส่วนเปิดของร่างกาย เช่น แขน โดยใช้หลอดครอบ หรือใช้ท่อดูดยุงดูดก่อน ที่ยุงจะกินเลือด ทำการจับยุงเป็นเวลา 45 นาที พัก 15 นาทีที่ระดับความสูงต่างๆ ดังนี้ ระดับ 0 เมตร (พื้นดิน) ระยะ 3 เมตร และระยะ 6 เมตร ตั้งแต่เวลา 18.00น.-06.00น. นำยุงที่ได้มาแยกชนิด (species) ตามหลักอนุกรมวิธานภายใต้กล้อง Microscope โดยผู้ชำนาญการของคณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล คำนวณหาความหนาแน่นของ ยุงทุกชนิดที่จับได้ในระดับต่างๆ ด้วยสูตรคำนวณ จำนวนยุงที่จับได้/(จำนวนคนที่นั่งจับxจำนวนชั่วโมง ที่จับ) และตรวจหาเชื้อ *P. knowlesi* ด้วยวิธี PCR<sup>(7)</sup> ในยุงก้นปล่องทุกชนิดโดยผู้ชำนาญการของภาควิชา ปาฐาณัติวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

### 3. ศึกษาเชื้อ *Plasmodium knowlesi*

#### ในลิงและค้าง

ลิงและค้างที่จะศึกษาในครั้งนี้ จะทำการ ศึกษาทั้งลิงและค้างที่เป็นสัตว์เลี้ยง และลิง/ค้างที่ เป็นสัตว์ป่า โดยจะทำการเก็บเลือดจากลิง/ค้างเลี้ยง ทุกตัวที่อยู่ในพื้นที่เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำ ตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยวิธี PCR<sup>(7)</sup> และด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่ภาควิชาปาฐาณัติวิทยา วิทยาลัย แพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้าและนำผลที่ได้มา คำนวณหาร้อยละอัตราการติดเชื้อด้วยสูตร (จำนวน ลิงหรือค้างที่พบเชื้อ/จำนวนลิงหรือค้างที่จับได้ ทั้งหมด)X100

### 4. ศึกษาเชื้อ *Plasmodium knowlesi*

#### ในผู้ป่วยมาลาเรีย

เก็บตัวอย่างเลือดประชาชนชาวไทย อายุ 18 ปีขึ้นไป จำนวนประมาณ 640 คน อาศัย การคำนวณจากสูตร  $N = Z^2pq/d^2$  โดยผู้วิจัย กำหนดการประมาณค่าที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ค่า

p หรือค่าสัดส่วนของการตรวจพบ *P. knowlesi* ในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นมาลาเรีย ซึ่งมีค่าเท่ากับ ร้อยละ 0.6<sup>(15)</sup> และค่า d = 0.6 จะทำให้ได้จำนวนตัวอย่าง 636 คน<sup>(15)</sup> ทำฟิล์มโลหิตชนิดหนา 1 แผ่นเพื่อ ตรวจหาเชื้อมาลาเรียเบื้องต้น พร้อมทั้งเก็บเลือดหยดบนกระดาษกรองแผ่นละ 2-3 หยด จำนวน 2 แผ่น ส่ง ไปยังภาควิชาปรสิตวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้าเพื่อแยกชนิดเชื้อด้วยวิธี PCR<sup>(7, 17)</sup> จากนั้น นำผลที่ได้มาคำนวณหาร้อยละการติดเชื้อด้วยสูตร (จำนวนผู้ป่วยที่พบเชื้อ/จำนวนประชาชนที่เจาะเลือด ทั้งหมด) X 100

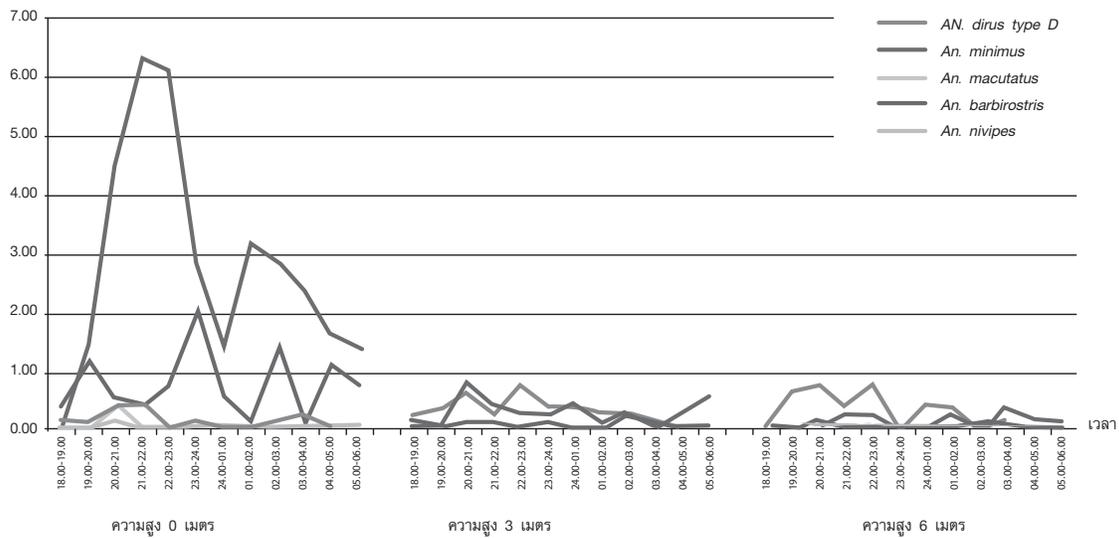
## ผลการศึกษา

### 1. ศึกษาเชื้อ *Plasmodium knowlesi* ในยุงก้นปล่อง

#### 1.1 การศึกษาของยุงก้นปล่อง

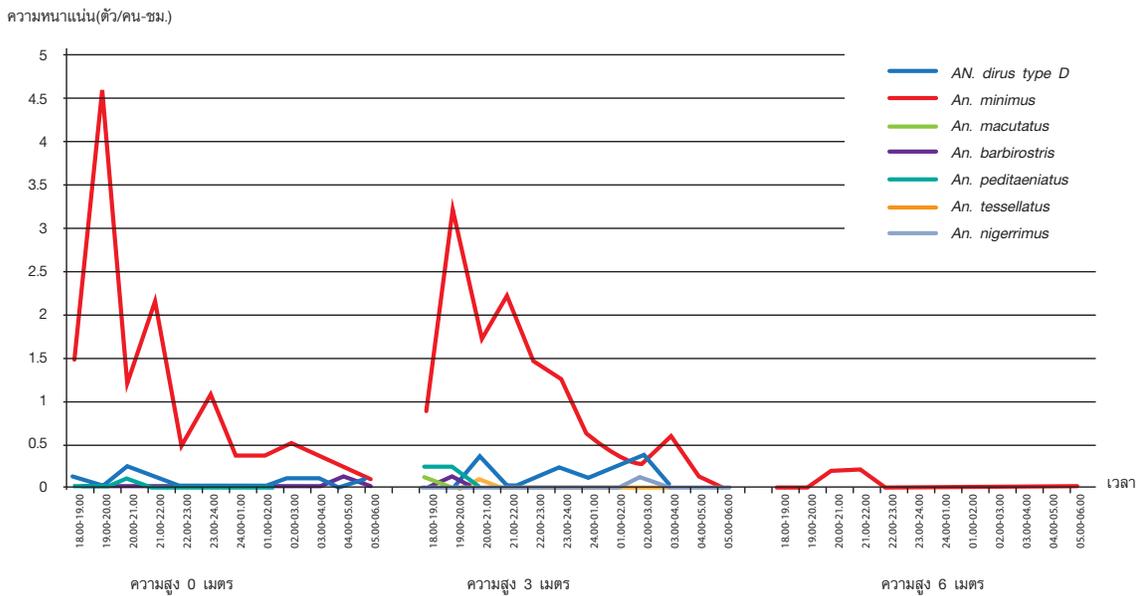
การสำรวจยุงในพื้นที่ อำเภอกำแพง จังหวัดสุราษฎร์ธานี พบยุงก้นปล่อง ดังนี้ *An. dirus type D*, *An. minimus*, *An. maculatus*, *An. barbirostris* และ *An. nivipes* ความหนาแน่นของยุงแตกต่างกันในแต่ละระดับ โดยที่ระดับความสูง 0 เมตร มียุงหนาแน่นมากกว่าระดับความสูงอื่นๆ ชนิดยุงที่พบมากที่สุด คือ *An. minimus* เท่ากับร้อยละ 59.75 ของจำนวนยุงที่จับได้ทั้งหมด ซึ่งมีความหนาแน่น 34.25 ตัว/คน-คืน และพบมากที่สุดในช่วงเวลา 21.00-22.00 น. (6.38 ตัว/คน-ชม.) ส่วนที่ระดับความสูง 3 และ 6 เมตร พบยุง *An. dirus type D* มากที่สุด **ดังภาพที่ 1**

ความหนาแน่น(ตัว/คน-ชม.)



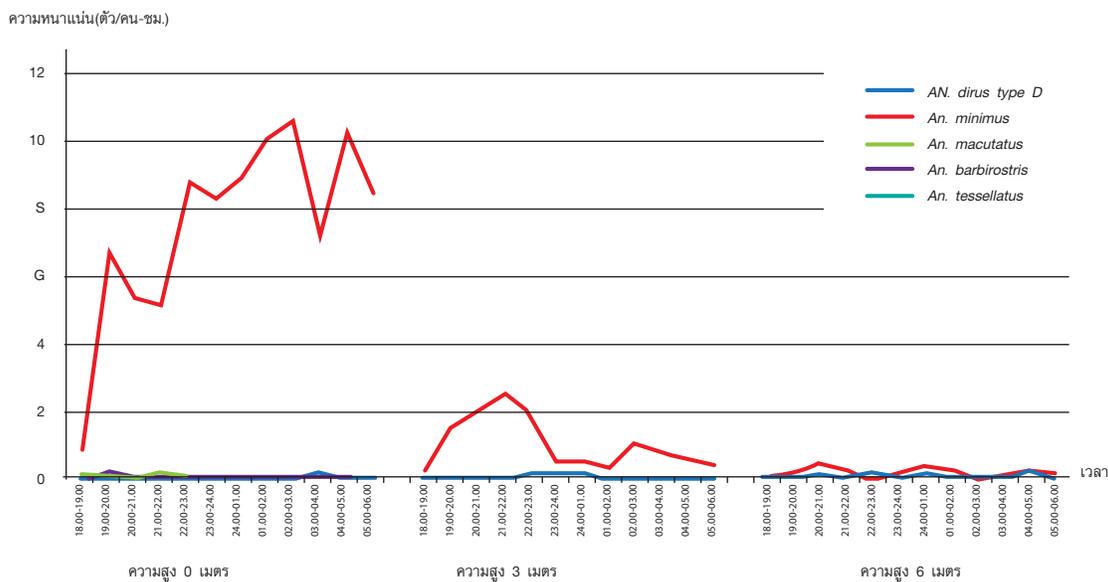
**ภาพที่ 1** แสดงความหนาแน่นของยุงก้นปล่องที่ระดับความสูง 0, 3, 6 เมตร ในช่วงเวลาต่างๆ ในพื้นที่อำเภอกำแพง จังหวัดสุราษฎร์ธานี

จากการสำรวจยุงในพื้นที่ อำเภอกะบุรี จังหวัดระนอง พบยุงก้นปล่องดังนี้ *An. dirus type D*, *An. minimus*, *An. maculatus*, *An. barbirostris*, *An. peditaeniatus*, *An. tessellatus* และ *An. nigerrimus* ความหนาแน่นของยุงแตกต่างกันในแต่ละระดับ ซึ่งยุงก้นปล่องชนิดที่พบมากที่สุดทั้งสามระดับความสูงคือ ยุงก้นปล่อง *An. minimus* แต่ที่ระดับความสูง 0 เมตรพบว่ายุงก้นปล่อง *An. minimus* พบมากที่สุดเท่ากับ ร้อยละ 27.27 ของจำนวนยุงที่จับได้ทั้งหมด ซึ่งมีความหนาแน่น 13.25 ตัว/คน-คืน และพบมากในช่วงเวลา 19.00-20.00น. (4.63 ตัว/คน-ชม) **ดั่งภาพที่ 2**



**ภาพที่ 2** แสดงความหนาแน่นของยุงก้นปล่องที่ระดับความสูง 0, 3, 6 เมตร ในช่วงเวลาต่างๆ ในพื้นที่อำเภอกะบุรี จังหวัดระนอง

ผลการสำรวจยุงในพื้นที่ อำเภอกาตาแซะ จังหวัดชุมพร พบชนิดยุงก้นปล่องดังนี้ *An. dirus type D*, *An. minimus*, *An. maculatus*, *An. barbirostris* และ *An. tessellatus* ความหนาแน่นของยุงแตกต่างกันในแต่ละระดับโดยที่ทุกระดับความสูง พบยุงก้นปล่องชนิด *An. minimus* มากที่สุดแต่พบยุงชนิดนี้มากที่สุดอยู่ที่ระดับความสูง 0 เมตร คิดเป็น ร้อยละ 98.23 ของจำนวนยุงที่จับได้ทั้งหมด ซึ่งมีความหนาแน่น 90.13 ตัว/คน-คืน และพบมากในช่วงเวลา 02.00-03.00 น. (10.6 ตัว/คน-ชม) **ดั่งภาพที่ 3**



ภาพที่ 3 แสดงความหนาแน่นของยุงก้นปล่องที่ระดับความสูง 0, 3, 6 เมตร ในช่วงเวลาต่างๆ ในพื้นที่อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร

### 1.2 การศึกษาเชื้อมาลาเรียในยุงก้นปล่อง

ยุงก้นปล่องที่จับได้จากพื้นที่ศึกษาทั้งสามพื้นที่ในระดับความสูงต่างๆ เมื่อนำมาตรวจหาเชื้อมาลาเรียจะไม่พบเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* (Pf), *P. vivax* (Pv), *P. malariae* (Pm) และ *P. ovale* (Po) แต่จะพบเชื้อมาลาเรีย *P. knowlesi* (Pk) ในทุกพื้นที่ (ตารางที่ 1) โดยที่อำเภอท่าชนะ จังหวัดสุราษฎร์ธานี ตรวจพบเชื้อ *P. knowlesi* ในยุงก้นปล่องที่จับได้จากทั้งสามระดับความสูง คือ พบในยุงก้นปล่อง *An. minimus*, *An. maculatus*, *An. barbirostris* และ *An. nives* ที่ระดับความสูง 0 เมตร พบในยุงก้นปล่อง *An. minimus* และ *An. barbirostris* ที่ระดับความสูง 3 เมตร และพบในยุงก้นปล่อง *An. minimus*, *An. maculatus* และ *An. barbirostris* ที่ความสูง 6 เมตร ซึ่งต่างจากที่อำเภอกระบุรี จังหวัดระนอง เฉพาะที่ระดับความสูง 3 เมตร เท่านั้นที่พบว่ายุงก้นปล่องที่จับได้ที่ตรวจพบเชื้อมาลาเรีย *P. knowlesi* ซึ่งพบในยุงก้นปล่อง *An. maculatus*, *An. tessellatus*, *An. pedtaeniatus* และ *An. nigerimus* สำหรับพื้นที่อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร พบว่า ยุงก้นปล่องที่จับได้ทั้งสามระดับความสูง สามารถตรวจพบเชื้อมาลาเรีย *P. knowlesi* โดยที่ระดับความสูง 0 เมตร พบในยุงก้นปล่อง *An. minimus* และ *An. tessellatus* และในระดับความสูง 3 และ 6 เมตรพบเฉพาะในยุงก้นปล่อง *An. minimus* (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจเชื้อมาลาเรียในยุงก้นปล่อง

พื้นที่ดำเนินการ	ระดับความสูง(เมตร)	ชนิดยุง	ชนิดเชื้อมาลาเรียที่ตรวจด้วยวิธีPCR					
			Pf*	Pv*	Pm*	Po*	Pk*	
อำเภอท่าชนะ จังหวัด สุราษฎร์ธานี	0	<i>An. minimus</i>	-	-	-	-	/	
		<i>An. maculatus</i>	-	-	-	-	/	
		<i>An. barbirostris</i>	-	-	-	-	/	
		<i>An. nivipes</i>	-	-	-	-	/	
	3	<i>An. minimus</i>	-	-	-	-	/	
		<i>An. barbirostris</i>	-	-	-	-	/	
	6	<i>An. minimus</i>	-	-	-	-	/	
		<i>An. maculatus</i>	-	-	-	-	/	
		<i>An. barbirostris</i>	-	-	-	-	/	
	อำเภอกระบุรี จังหวัดระนอง	3	<i>An. maculatus</i>	-	-	-	-	/
			<i>An. tessellatus</i>	-	-	-	-	/
			<i>An. peditaeniatus</i>	-	-	-	-	/
<i>An. nigerimus</i>			-	-	-	-	/	
อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร	0	<i>An. minimus</i>	-	-	-	-	/	
		<i>An. tessellatus</i>	-	-	-	-	/	
	3	<i>An. minimus</i>	-	-	-	-	/	
	6	<i>An. minimus</i>	-	-	-	-	/	

หมายเหตุ \*Pf คือ *Plasmodium falciparum*, Pv คือ *Plasmodium vivax*, Pm คือ *Plasmodium malariae*,  
Po คือ *Plasmodium ovale*, Pk คือ *Plasmodium knowlesi*, - คือ ตรวจไม่พบเชื้อ, / คือ ตรวจพบเชื้อ

## 2. ศึกษาเชื้อ *Plasmodium knowlesi* ในคน

ดำเนินการเก็บตัวอย่างโลหิตคนตั้งแต่เดือนมีนาคม-เดือนกรกฎาคม 2553 และ เดือนกุมภาพันธ์-เดือนกรกฎาคม 2554 มีจำนวน 798 ตัวอย่าง ผลการตรวจเชื้อด้วยกล้อง (Microscope) และผลการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี PCR(PCR) สามารถพบเชื้อมาลาเรียชนิด Pf ,Pv และ Mix (Pf+Pv) ได้ทั้งสองวิธี โดยเชื้อ Pf สามารถตรวจพบได้มากที่สุดในพื้นที่ อำเภอกะบุรี จังหวัดระนอง ส่วนอำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร สามารถพบเชื้อ Pv ได้มากที่สุด ซึ่งผลที่ได้ตรงกันทั้งสองวิธี แต่เชื้อ Mix(Pf+Pv) ผลการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์และ PCR ต่างกันคือ หากตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์สามารถพบเชื้อ Mix(Pf+Pv) ในพื้นที่ อำเภอกะบุรี จังหวัดระนอง ได้มากที่สุด แต่เมื่อตรวจด้วยวิธี PCR พบเชื้อ Mix(Pf+Pv) ได้มากที่สุด อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร **ดังตารางที่ 2**

**ตารางที่ 2** ผลการเก็บตัวอย่างเลือดคน

ชนิดเชื้อมาลาเรีย	ร้อยละการพบเชื้อ					
	สุราษฎร์ธานี		ระนอง		ชุมพร	
	PCR	microscope	PCR	microscope	PCR	microscope
Pf*	5.56	1.19	22.55	5.53	1.95	2.27
Pv*	0.40	0.40	19.57	12.34	22.73	12.99
Pm*	0	0	0	0	0	0
Po*	0	0	0	0	0	0
Pk*	0	0	0	0	0	0
Mix(Pf*+Pv*)	0	0	0.43	0.43	3.25	0
negative	94.05	92.46	57.45	39.15	72.08	56.82

หมายเหตุ \* Pf คือ *Plasmodium falciparum*, Pv คือ *Plasmodium vivax*, Pm คือ *Plasmodium malariae*, Po คือ *Plasmodium oval*, Pk คือ *Plasmodium knowlesi*

## 3. ศึกษาเชื้อ *Plasmodium knowlesi* ในลิง และค้าง

จากการเก็บตัวอย่างเลือดลิงหรือค้างในพื้นที่ศึกษาทั้ง 3 พื้นที่ พบว่าเฉพาะลิงกังเท่านั้นที่สามารถเก็บตัวอย่างโลหิตได้ โดยเก็บจากลิงกังจำนวนทั้งหมด 21 ตัว จากอำเภอท่าชนะ จังหวัดสุราษฎร์ธานี เป็นตัวเมีย 3 ตัว และตัวผู้ 1 ตัว อายุ 1-17 ปี น้ำหนักตัว 1-6 กิโลกรัม จากอำเภอกะบุรี จังหวัดระนอง เป็นตัวเมีย 3 ตัว และตัวผู้ 3 ตัว อายุ 9 เดือน - 6 ปี น้ำหนักตัว 2-3 กิโลกรัม และจากอำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร เป็นตัวเมีย 4 ตัว และตัวผู้ 7 ตัว อายุ 2-17 ปี น้ำหนักตัว 3-10 กิโลกรัม เมื่อนำตัวอย่างโลหิตมาตรวจหาเชื้อมาลาเรีย ด้วยเทคนิคทาง PCR ไม่พบเชื้อมาลาเรียทั้ง 5 ชนิด

## สรุปผล

ความหนาแน่นของยุงก้นปล่องในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน ที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี ระนองและชุมพร อยู่ที่ระดับความสูง 0 เมตรมากที่สุด ยุงก้นปล่องชนิด *An. minimus* เป็นยุงที่พบทุกระดับความสูงแต่พบหนาแน่นที่สุดอยู่ในช่วงระดับความสูง 0 เมตร และในทุกพื้นที่ที่ดำเนินการสามารถพบเชื้อ *P. knowlesi* ในยุงได้ทุกพื้นที่ ยุงที่สามารถตรวจพบเชื้อมาลาเรียชนิดนี้ ได้แก่ *An. minimus*, *An. maculatus*, *An. barbirostris*, *An. nivipes*, *An. peditaeniatus*, *An. tessellatus* และ *An. nigerrimus* ส่วนในคนไม่พบเชื้อ *P. knowlesi* พบเฉพาะเชื้อ *P. falciparum*, *P. vivax* และ Mix(Pf+Pv) ในลิงไม่พบเชื้อมาลาเรียชนิดใดเลย

## วิจารณ์ผล

จากการศึกษาความหนาแน่นของยุงก้นปล่องในพื้นที่ภาคใต้ตอนบนยังสามารถพบยุงพาหะหลักของโรคมาลาเรียอยู่ และพบว่าในระดับพื้นดินสามารถพบยุง *An. minimus* ได้เป็นส่วนใหญ่ และที่ระดับสูงจากพื้นดินขึ้นไปก็ยังสามารถพบยุงพาหะหลักได้เช่น *An. dirus* type D, *An. minimus* จึงสรุปได้ว่าในพื้นที่ที่มียุงที่กินเลือดคนและเลือดสัตว์ที่อาศัยอยู่ที่สูง 0-6 เมตรได้ การศึกษาหาเชื้อ *P. knowlesi* ในยุงก้นปล่องในประเทศไทยยังไม่มีรายงานการพบเชื้อมีเพียงแต่ในต่างประเทศ เช่น ปี พ.ศ. 2547 มีรายงานพบผู้ป่วยติดเชื้อ *P. knowlesi* ในรัฐซาราวัก บนเกาะบอเนียว ของประเทศมาเลเซีย ซึ่งมีลิงแสม (*Maca fascicularis*) เป็นโฮสต์ธรรมชาติ<sup>(7)</sup> โดยมี *An. hackeri*, *An. cracens*, และ *An. latens*<sup>(6,8,9,10)</sup> น่าจะเป็นพาหะนำโรค ในปี พ.ศ. 2552 การศึกษาที่ประเทศเวียดนามยังสามารถพบเชื้อ *P. knowlesi* ในต่อมน้ำลายของยุง *An. dirus*<sup>(11)</sup>

การศึกษาที่ Pahang ประเทศมาเลเซีย พบยุง *An. cracens* (*An. dirus* type B) มี sporozoites ของเชื้อ *P. knowlesi* โดยยุงที่พบเชื้อมีเป็นยุงที่ได้มาจากการล่อจับโดยใช้คนและลิงเป็นเหยื่อ ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นว่ายุงชนิดนี้สามารถเป็นพาหะของ *P. knowlesi* ได้เนื่องจากยุงชนิดนี้กัดทั้งคนและลิง<sup>(18)</sup> จากการศึกษาในประเทศไทยครั้งนี้ยุงที่ได้มาจากการล่อจับโดยใช้คน ดังนั้นยุงเหล่านี้จึงอาจเป็นพาหะของ *P. knowlesi* ได้โดยพบว่ามียุง *Anopheles* หลายชนิดที่มีเชื้อ *P. knowlesi* อย่างไรก็ตามในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ผู้วิจัยพบ *An. dirus* ได้น้อย และทั้งหมดเป็น *An. dirus* type D ในขณะการศึกษาที่ Pahang ประเทศมาเลเซียพบ *An. cracens* (*An. dirus* type B) เป็นส่วนใหญ่ในประเทศไทยมีรายงานพบ *An. cracens* ได้เยอะในบริเวณภาคใต้ตอนล่างเช่น พัทลุง และสงขลา เป็นต้น ในขณะที่ชายแดนไทยพม่า เช่น ระนอง จะพบ *An. dirus* type D เป็นส่วนใหญ่<sup>(19)</sup> ซึ่งจากการสำรวจครั้งนี้ในจังหวัดระนองพบ *An. dirus* type D เช่นกัน

ในการศึกษาค้นคว้านี้ได้ทำการตรวจหาเชื้อในยุงโดยวิธี PCR โดยแยก DNA จากยุงทั้งตัว โดยไม่ได้ตรวจหาระยะ sporozoite ในต่อมน้ำลายยุงหรือ oocyst ที่กระเพาะยุง ดังนั้นการตรวจพบเชื้ออาจเป็นผลบวกจากเลือดที่ยุงเพิ่งกินเข้าไป ซึ่งยังอาจจะพิสูจน์ไม่ได้ว่ายุงที่พบเชื้อเป็นพาหะนำโรคได้อย่างชัดเจนการศึกษาที่ Pahang ประเทศมาเลเซีย ยังพบว่ายุง *An. cracens* มีพฤติกรรมกัดคนนอกบ้าน โดยเวลาที่ออกหากินสูงสุดอยู่ในช่วงหัวค่ำ และมีอัตราการกัดลดลงต่อคน เท่ากับ 1:2.6 ซึ่งพฤติกรรมเหล่านี้บ่งชี้ว่ายุง *An. cracens* สามารถเป็นพาหะของ *P. knowlesi* ได้ พฤติกรรมของยุงเหล่านี้จะนำไปสู่วิธีการป้องกันการติดโรคนี้ได้ อย่างไรก็ตาม

ในการศึกษาในประเทศไทยครั้งนี้ยังไม่ได้ทำการศึกษาพฤติกรรมของยุงชนิดต่างๆ ที่ตรวจพบเชื้อ *P. knowlesi*

ในปี พ.ศ. 2552 โดยคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยใน 5 จังหวัด ได้แก่ ตาก ประจวบคีรีขันธ์ จันทบุรี ยะลา และนราธิวาสได้สำรวจหาเชื้อ *P. knowlesi* จากการตัวอย่างเลือด 1,751 ตัวอย่างที่มีเชื้อมาลาเรีย ไม่พบเชื้อ *P. knowlesi* จากการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์แต่สามารถตรวจพบเชื้อ *P. knowlesi* ได้โดยเทคนิค PCR เป็นจำนวน 10 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 0.57 โดยทุกตัวอย่างที่พบเชื้อ *P. knowlesi* จะพบร่วมกับเชื้อมาลาเรียชนิดอื่นด้วย ในปี 2554 นักวิจัยกลุ่มเดียวกันนี้ได้รายงานผลการตรวจตัวอย่างเลือดผู้ป่วยจากพื้นที่เดิมจำนวน 3,446 ตัวอย่าง พบ *P. knowlesi* ร้อยละ 0.67<sup>(20)</sup> ในการสำรวจหาเชื้อ *P. knowlesi* ในผู้ป่วยมาลาเรียที่เป็นคนไทย และพม่า ที่จังหวัดระนอง ในช่วงปี 2551 ถึง 2553 จากตัวอย่างเลือดจำนวน 419 ตัวอย่างพบเชื้อ *P. knowlesi* 2 ตัวอย่าง จากรายงานเหล่านี้จะเห็นได้ว่าการติดเชื้อ *P. knowlesi* ในประเทศไทยพบค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับที่มีรายงานจากประเทศมาเลเซีย<sup>(7, 22, 23)</sup> จากผลการศึกษาในครั้งนี้ตรวจไม่พบเชื้อ *P. knowlesi* ในคน ซึ่งอาจเป็นการยืนยันว่ามาลาเรียที่เกิดจากเชื้อ *P. knowlesi* ในประเทศไทยมีความชุกต่ำ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากภูมิประเทศที่แตกต่างจากประเทศมาเลเซีย ซึ่งยังมีป่าที่อุดมสมบูรณ์กว่า หรืออาจเกิดจากยุงในพื้นที่ที่ไม่มีความสามารถในการแพร่เชื้อจากยุงสู่คนได้นอกจากนี้อาจเกิดจากรังโรคในธรรมชาติที่แตกต่างกัน การศึกษาในมาเลเซีย มีรายงานพบเชื้อ *P. knowlesi* ในลิงแสมร้อยละ 6.9<sup>(23)</sup> ในประเทศไทยมีรายงานพบเชื้อ *P. knowlesi* ใน

ลิงกังในจำนวนที่จำกัด<sup>(20)</sup>ในการศึกษานี้ยังได้ตรวจหารังโรคของเชื้อ *P. knowlesi* ในธรรมชาติโดยตรวจหาเชื้อในเลือดลิงกังและค่าง แต่ไม่พบการติดเชื้อ *P. knowlesi* ในตัวอย่างเลือดเหล่านี้

### ข้อเสนอแนะ

- จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าที่ระดับความสูง 3 เมตร และ 6 เมตร ซึ่งเป็นความสูงที่ลิงและค่างในพื้นที่อาศัยอยู่ได้มีการพบเชื้อ *P. knowlesi* จึงควรมีการเฝ้าระวังการติดเชื้อ *P. knowlesi* ในลิงและค่างต่อไป
- ควรมีการเก็บตัวอย่างเลือดคนในสถานพยาบาลอื่นๆ ด้วยเพื่อให้ได้ตัวอย่างเลือดมากขึ้น
- ในขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์หาเชื้อมาลาเรียในยุงควรแยกวิเคราะห์ส่วนต่างๆ ของยุง ได้แก่ ต่อมน้ำลาย หัว ออก และท้อง เพื่อจะได้ทราบให้แน่ชัดว่ายุงชนิดนี้มีโอกาสแพร่เชื้อมาสู่คนได้หรือไม่

### กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่องอัตราการติดเชื้อพลาสโมเดียมโนวลิไซต์ในยุงก้นปล่อง คน ลิง และ ค่าง ในพื้นที่ภาคใต้ตอนบนได้สำเร็จลุล่วงด้วยดี โดยได้รับความร่วมมือจากหลายๆ ท่านดังมีรายนามต่อไปนี้

ผู้อำนวยการสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 11 จังหวัดนครศรีธรรมราช หัวหน้าและทีมกีฏวิทยาของศูนย์ควบคุมโรคติดต่อไทยแมลงที่ 11.3 จังหวัดสุราษฎร์ธานี, 11.4 จังหวัดชุมพร และ 11.5 จังหวัดระนอง ที่ได้ให้การสนับสนุนการดำเนินงาน และร่วมเก็บตัวอย่างยุง เลือดคน และลิง

รศ.ดร.ชำนาญ อภิวัดนศร หัวหน้าภาควิชา  
กัญญาวิทยาทางการแพทย์ อาจารย์จิราภรณ์  
เรืองสิทธิ์ชัย และนายยุทธนา สามังจากคณะ  
เวชศาสตร์เขตร้อนมหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำ  
ปรึกษาแนะนำในการดำเนินงานโครงการวิจัยครั้งนี้  
จนประสบความสำเร็จ

พันเอกมจิรุท มุ่งถิ่น รองศาสตราจารย์  
ภาควิชาปรสิตวิทยา กองการศึกษาวิทยาลัย  
แพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า ที่ให้คำปรึกษาแนะนำ  
ในการดำเนินงานโครงการวิจัยครั้งนี้จนประสบ  
ความสำเร็จ

เจ้าหน้าที่สำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัย  
ที่ 8 และปศุสัตว์จังหวัดสุราษฎร์ธานี ที่ให้ความร่วมมือ  
ในการเจาะเลือดลิง

## เอกสารอ้างอิง

- Rattanarithikul R, Harrison BA, Harbach RE, Panthusiri P. Illustrated key to the mosquitoes of Thailand, IV, *Anopheles*. Bangkok.Thunwa; 2006
- Vu TT, Phan NT, et al. Screening doner blood for malaria by poly-chain Reactim. Trans R Soc Trop Med Hyg 1995; 89:47.
- Purdy E, Perry E, Gorlin J, Jensen K. Transfusion-transmitted malaria : unpreventable by current donor exclusion guidelines? Transfusion 2004 ;44:464.
- Smith TG, Kain KC. Inactivation of heme-cycle intermediates derived from delta aminolevulinic acid. J Infect Dis 2004; 190:184-191.
- Thellier M, Lusina D, Guiguen C. et al. Is airport malaria a transfusion-transmitted malaria risk? Transfusion 2001; 41:301-302.
- สมชาย จงวุฒิเวศ และจตุรงค์ พุทธิพรทิพย์. การสมมนาเรื่อง วช:บูรณาการงานวิจัยด้านการแพทย์และสาธารณสุขโดยภารกิจโครงการและประสานงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 24-25 มีนาคม 2551; โรงแรมมิลาเคิลแกรนด์ คอนเวนชัน กรุงเทพมหานคร. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช); 2551.
- Singh B, Lee K S, Matusop A, Radhakrishnan A, ShamsulSSG, Cox-Singh J, Thomas A, Conway DJ. A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. Lancet. 2004; 363:1017-1024.
- Vythilingam I, Tan CH, Asmad M, Chan ST, Lee KS, Singh B. Natural transmission of *Plasmodium knowlesi* to humans by *Anopheles latens* in Sarawak, Malaysia. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2006; 100: 1087-1088.
- Wharton RH, Eyles DE. *Anopheles hackeria* vector of *Plasmodium knowlesi* in Malaya. Science. 1961 ;134:279-280.
- Cheong H, Indra V, Asmad M, Seng T and Balbir S. Bionomics of *Anopheles latens* in Kapit, Sarawak, Malaria Borneo in relation to the transmission of zoonotic simian malaria parasite *Plasmodium knowlesi*. Malaria Journal. 2008; 7:52.
- Nakazawa et al. *Anopheles dirus* co-infection with human and monkey malaria parasites in Vietnam. Int J parasitol. 2009;39:1533-1537
- McCutchan TF, Piper RC, Makler MT . Use of malaria rapid diagnostic test to identify *Plasmodium knowlesi*-infection. Emerg Infect Dis. 2008; 14(11): 1750-1752.
- Cox-Singh J, Davis TM, Lee KS, Shamsul SS, Matusop A, Ratnam S, Rahman HA, Conway DJ, Singh B. *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. Clin Infect Dis. 2008; 46(2): 165-171.
- Jongwutiwes S, Putaporntip C, Iwasaki T, Sata T, Kanbara H. Naturally acquired *Plasmodium knowlesi* malaria in human Thailand. Emerg Infect Dis. 2004; (12):2211-3.
- Putaporntip C, Hongsrimuang T, Seethamchai S, Kobasa T, Limkitikul K, Cui L, Jongwutiwes S. Differential Prevalence of Plasmodium Infection and Cryptic *Plasmodium knowlesi* malaria in humans in Thailand. Th Infect Dis 2009;199:1143-50.
- ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อมาโดยแมลงที่ 11.5 จังหวัดระนอง. รายงานประจำปีงบประมาณ 2553. 2553; 35.
- Snounou G, Viriyakosol S, Jarra W, Thaithong S, Brown KN. Identification of the four human malaria parasite species in field samples by the *Polymerase chain reaction* and detection of a high prevalence of mixed infections. Mol Biochem Parasitol. 1993 ;58(2):283-92.

18. Jiram AI, Vythilingam I, NoorAzian YM, Yusof YM, Azahari AH, Fong MY. Entomologic investigation of *Plasmodium knowlesi* vectors in Kuala Lipis, Pahang, Malaysia. *Malar J*. 2012 Jun 22;11:213.

19. Baimai V, Kijchalao U, Sawadwongporn P, Green CA. Geographic distribution and biting behaviour of four species of the *Anopheles dirus* complex (Diptera: Culicidae) in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Pub Health*. 1988;19:151-161.

20. Jongwutiwes S, Buppan P, Kosuvin R, Seethamchai S, Pattanawong U, Sirichaisinthop J, Putaporntip C. *Plasmodium knowlesi* malaria in humans and macaques, Thailand. *Emerg Infect Dis*. 2011 Oct;17(10):1799-806.

21. Sermwittayawong N, Singh B, Nishibuchi M, Sawangjaroen N, Vuddhakul V. Human *Plasmodium knowlesi* infection in Ranong province, southwestern border of Thailand. *Malaria J*. 2012 Feb 8;11:36.

22. Cox-Singh J, Davis TM, Lee KS, Shamsul SS, Matusop A, Ratnam S, Rahman HA, Conway DJ, Singh B. *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *Clin Infect Dis*. 2008 Jan 15;46(2):165-71.

23. Vythilingam I, Noorazian YM, Huat TC, Jiram AI, Yusri YM, Azahari AH, Norparina I, Noorain A, Lokmanhakim S. *Plasmodium knowlesi* in humans, macaques and mosquitoes in peninsular Malaysia. *Parasit Vectors*. 2008 Aug 19;1(1):26.