



การศึกษาปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่มีผลต่อการป่วย ด้วยมาลาเรียและค่าจุดตัดที่ช่วยในการวินิจฉัยโรค

(The study of hematological parameters affected by malaria
and appropriate cut-off point for the diagnosis)

วรรณาศรี สัจจารักษ์ วท.ม.(จุลชีววิทยา)
ศูนย์ฝึกอบรม กรมควบคุมโรค จ.สระบุรี

Wanna Srisatjarak M.Sc.(Microbiology)
Department of Disease Control Training Center, Saraburi

Abstract

This research aim to study the hematological changes and their diagnostic value to indicate malaria infection and also the clinical symptom effect in order to improve patients screening at the hospitals or health service which complete blood count (CBC) have done.

Blood samples were collected from 223 patients who visited malaria clinic that is in the endemic area of Tak province. CBC was analyzed by automated hematology analyzer. Thick blood film was examined using microscope as a gold standard method. The result showed that hematological parameters toward malaria infection were the decrease of lymphocyte and platelet. Platelet was the best parameter for predicting malaria infection. The appropriate cut-off point was platelet less than 205,500 cell/ μ l with sensitivity at 90.4 % (47 true positive samples from 54 malaria infected cases by microscope). When the parasite density increased, WBC and platelet count decreased significantly. Chill, body aches and muscle pain are clinical symptoms which help in primary screening malaria patient. Therefore, if a patient has chills, body aches symptom and lower platelet count than cut-off point. They may be suspected to malaria infection. Blood film examination under the microscope should be carefully determined.

Keywords: Hematology, Malaria parasite, Screening of disease, Prediction, Platelet, Sensitivity, Cut-off point

บทคัดย่อ

การศึกษาวินิจฉัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบปัจจัยทางโลหิตวิทยาและค่าที่น่าจะใช้ในการวินิจฉัยโรค รวมถึงอาการทางคลินิกที่มีผลต่อการเป็นไข้มาลาเรียเพื่อประโยชน์ในการคัดกรองผู้ป่วยในโรงพยาบาลหรือสถานพยาบาลที่มีการตรวจนับเม็ดโลหิต ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

โดยเก็บตัวอย่างโลหิตจากผู้มารับบริการในมาลาเรียคลินิกในพื้นที่แพร่เชื้อของจังหวัดตากจำนวน 223 ราย มาอ่านผลด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาเปรียบเทียบกับผลตรวจจากฟิล์มโลหิตหน้าด้วยกล้องจุลทรรศน์ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานผลการศึกษาพบว่าปัจจัยด้านโลหิตวิทยาที่มีผลต่อการเป็นไข้มาลาเรียคือเม็ดโลหิตขาวชนิดลิมโฟไซต์และเกล็ดโลหิตซึ่งจะมีปริมาณลดลงเมื่อป่วยเป็นไข้มาลาเรียโดยเกล็ดโลหิตเป็นปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่บ่งชี้การป่วยเป็นไข้มาลาเรียได้ดีที่สุดค่าจุดตัดที่เหมาะสมเป็นเกณฑ์การวินิจฉัยโรคคือปริมาณเกล็ดโลหิตต่ำกว่า 205,500 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตรโดยให้ผลบวกจริง 47 รายจากจำนวนผู้ติดเชื้อมาลาเรียเมื่อตรวจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ 52 ราย คิดเป็นค่าความไวร้อยละ 90.4 นอกจากนี้เมื่อความหนาแน่นเชื้อเพิ่มขึ้นปริมาณเม็ดโลหิตขาวและเกล็ดโลหิตยิ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติส่วนอาการทางคลินิกที่จะช่วยในการคัดกรองผู้ป่วยมาลาเรียเบื้องต้นคืออาการหนาวสั่นและปวดเมื่อยร่างกายตามกระดูกและกล้ามเนื้อ

ดังนั้นหากผู้ป่วยมีอาการหนาวสั่นเป็นเวลาปวดกล้ามเนื้อและสังเกตพบมีปริมาณเกล็ดโลหิตต่ำกว่าค่า Cut-off ที่กล่าวข้างต้นควรคัดกรองเบื้องต้นได้ว่าป่วยด้วยไข้มาลาเรียให้ทำการตรวจวินิจฉัยฟิล์มโลหิตด้วยกล้องจุลทรรศน์อย่างละเอียดอีกครั้ง

คำสำคัญ โลหิตวิทยา เชื้อมาลาเรีย คัดกรองโรค ทำนายโรค เกล็ดโลหิต ความไว ค่าจุดตัด

บทนำ

แม้ว่าสถานการณ์ไข้มาลาเรียของประเทศไทยมีแนวโน้มลดลงแต่ยังคงมีการแพร่ระบาดอยู่โดยเฉพาะพื้นที่ตามแนวตะเข็บชายแดนนอกจากนี้ยังคงพบผู้ป่วยอีกจำนวนหนึ่งในพื้นที่ใช้ตำหรือพื้นที่ปลอดโรคซึ่งได้ถ่ายโอนงานมาลาเรียให้จังหวัดแล้ว อันเนื่องมาจากมีการเดินทางเข้าไปในพื้นที่แพร่ระบาดและรับเชื้อกลับมาจนกระทั่งมีอาการป่วยซึ่งงานตรวจวินิจฉัยไข้มาลาเรียในพื้นที่เหล่านี้จะเป็นหน้าที่ของโรงพยาบาลในการให้บริการเมื่อผู้ป่วยมาโรงพยาบาลหากซักประวัติไม่ตีพหรือแสดงอาการ

ไม่ชัดเจนอาจทำให้แพทย์ไม่นึกถึงการป่วยจากไข้มาลาเรียหรือถ้าเจ้าหน้าที่ชั้นสูตรขาดความชำนาญในการวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์จะทำให้ผลตรวจผิดพลาดได้โดยเฉพาะสถานพยาบาลที่ทำการตรวจวินิจฉัยมาลาเรียจากฟิล์มโลหิตบางเพียงอย่างเดียว เมื่อเชื้อมีปริมาณน้อย อาจทำให้ตรวจไม่พบ เป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยไม่ได้รับการรักษาที่ถูกต้องและอาจถึงแก่ความตายได้

ปกติเมื่อป่วยด้วยไข้มาลาเรียร่างกายจะมีการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยา^{1, 2} โดยมีการเปลี่ยนแปลงที่หลากหลายรูปแบบที่จำเพาะของการ

เปลี่ยนแปลงจะแปรผันตามพื้นที่การระบาดความผิดปกติของโรคโลหิตทางพันธุกรรมของผู้ป่วยภาวะโภชนาการความแตกต่างของเชื้อชาติและระบบภูมิคุ้มกัน³ เช่นมีการรายงานการศึกษาในหลายประเทศพบว่าผู้ป่วยมาลาเรียชนิดฟัลซิพาร์มัมมักจะพบภาวะโลหิตจาง (anemia) หรือภาวะเกล็ดโลหิตน้อย (thrombocytopenia) เช่นปากีสถาน⁴ อินเดีย⁵ ไนจีเรีย⁶ รวมถึงในประเทศไทยด้วย³ ส่วนการเปลี่ยนแปลงของเม็ดโลหิตขาวในผู้ป่วยมีความไม่แน่นอนมีทั้งพบว่าเม็ดโลหิตขาวมากผิดปกติ^{7, 8} หรือน้อยกว่าปกติ⁹ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาให้ทราบถึงรูปแบบและปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่มีผลต่อการป่วยด้วยไข้มาลาเรียของแต่ละประเทศเพื่อเป็นข้อมูลด้านการวินิจฉัยโรคอย่างทันที่ทันที่ในอนาคต

สำหรับประเทศไทยมีผู้ศึกษาปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่มีผลต่อโรคไข้มาลาเรียอยู่บ้าง²³ ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาถึงรูปแบบและผลกระทบอย่างกว้างๆ ไม่เน้นศึกษาสำหรับเป็นเกณฑ์ในการบ่งชี้การป่วยงานวิจัยนี้จึงจะทำการศึกษาผลทางโลหิตวิทยาและค่าที่ช่วยในการวินิจฉัยโรครวมถึงผลของอาการทางคลินิกเพื่อประโยชน์ในการคัดกรองผู้ป่วยหรือทำนายการป่วยเบื้องต้นได้ดียิ่งขึ้นตลอดจนช่วยสนับสนุนการตรวจวินิจฉัยให้แม่นยำมากขึ้นโดยเฉพาะในผู้ป่วยที่ไม่แสดงอาการและมารับการตรวจในสถานพยาบาลซึ่งมีเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาสำหรับตรวจนับเม็ดโลหิตอัตโนมัติอยู่แล้วจึงน่าจะช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้นได้กล่าวคือหากแพทย์สั่งตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาเพื่อหาสาเหตุของโรคอื่นเนื่องจากไม่ทันคิดถึงการป่วยจากโรคไข้มาลาเรียการทราบค่าโลหิตที่ผิดปกติจะช่วยสนับสนุนให้มีการตรวจโลหิตด้วยกล้องจุลทรรศน์

เพื่อหาเชื้อมาลาเรียที่ละเอียดมากยิ่งขึ้นทำให้ทราบสาเหตุที่แท้จริงของการป่วยได้

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบและปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่มีผลต่อการเป็นไข้มาลาเรียหาค่าจุดตัด (Cut-off) และค่าความไวที่เหมาะสมที่ช่วยในการวินิจฉัยโรคใช้เป็นเกณฑ์บ่งชี้การป่วยด้วยไข้มาลาเรียตลอดจนศึกษาอาการทางคลินิกที่ช่วยคัดกรองโรค

วัสดุและวิธีการศึกษา

ประชากรและพื้นที่ศึกษา

ผู้ป่วยที่มารับการตรวจรักษาในมาลาเรียคลินิกซึ่งอยู่ในพื้นที่แพร่เชื้อมาลาเรียของจังหวัดตากโดยมีอาการไข้สูงตั้งแต่ 38 องศาเซลเซียสจากการวัดอุณหภูมิทางปากหรือมีประวัติไข้ใน 72 ชั่วโมงที่ผ่านมาหรือเข้าไปในพื้นที่แพร่เชื้อมาลาเรียมีอายุ 18 ปี ขึ้นไป โดยยกเว้นหญิงมีครรภ์ ผู้มีโรคประจำตัวเช่นโลหิตจางลึกลับเปิดเลือดออกไม่หยุด (Hemophilia) เป็นต้นรวมถึงผู้ป่วยมีอาการแสดงของมาลาเรียชนิดรุนแรงตามหลักเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก

เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บข้อมูล

ฟิล์มโลหิตหนา-บางของประชากรศึกษาที่ย้อมด้วยสียิมซากล่องจุลทรรศน์เครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา และแบบสัมภาษณ์เก็บข้อมูลอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการ

วิธีดำเนินการศึกษา

1) การเก็บตัวอย่างโลหิตโดยเจาะโลหิตจากเส้นโลหิตดำที่แขนมาทำฟิล์มโลหิตทั้งแบบหนาและแบบบางเพื่อนำมาอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์

ส่วนโลหิตที่เหลือประมาณ 4 มล. ใส่ในหลอดซึ่งมีสารกันโลหิตแข็ง EDTA เคลือบอยู่เก็บรักษาที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียสเพื่อรอนำไปอ่านผลด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาในห้องปฏิบัติการภายใน 4 ชั่วโมง

2) การตรวจวินิจฉัยหาการติดเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์^{10, 11} ใช้เป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิง (Gold Standard) โดยฟิล์มโลหิตถูกย้อมด้วยสียิมซาเข้มชั้น 3% เป็นเวลา 30 นาทีทำการตรวจโดยผู้เชี่ยวชาญการดูกล้อง 2 คนโดยแต่ละคนต้องไม่ทราบผลตรวจซึ่งกันและกันเพื่อไม่ให้เกิดอคติในการอ่านสไลด์ในการตัดสินไม่พบเชื้อจะต้องดูฟิล์มจนครบ 200 วงกล้องถ้าพบเชื้อต้องดูจนครบ 100 วงกล้องก่อนตัดสินชนิดเชื่อนับจำนวนพาราไซต์ต่อ 200 เม็ดโลหิตขาวคำนวณความหนาแน่นต่อโลหิต 1 ไมโครลิตรและในกรณีผู้เชี่ยวชาญทั้งสองอ่านผลได้แตกต่างกันจะส่งต่อให้ผู้เชี่ยวชาญคนที่สามอ่านผลเพื่อการตัดสิน

3) ตรวจโลหิตด้วยเครื่องวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา (Hematology analyzer) นำหลอดโลหิตไปเข้าเครื่อง CELL-DYN[®]3500 (Abbott, Santa Clara, Calif.) ให้ทำการตรวจวิเคราะห์ Complete Blood Count แบบอัตโนมัติซึ่งจะถูกประมวลผลออกมาบนหน้าจอกอมพิวเตอร์แสดงค่าต่างๆ ได้แก่ชนิดและปริมาณของเม็ดโลหิตขาวปริมาณเม็ดโลหิตแดงเกล็ดโลหิตปริมาณฮีมาโตคริต เป็นต้น

4) การวิเคราะห์ผล นำผลการตรวจทางโลหิตวิทยาอาการป่วยและผลตรวจมาตรฐานจากกล้องจุลทรรศน์มาเข้าตารางเพื่อหาความสัมพันธ์กับการป่วยเป็นไข้มาลาเรียโดยใช้สถิติไคสแควร์สำหรับตัวแปรที่เป็นอิสระต่อกัน (Categorical data)

และ independent-sample *t*-tests สำหรับตัวแปรต่อเนื่อง (Continuous data) และใช้ Kruskal-Wallis test ในการเปรียบเทียบความหนาแน่นเชื้อกับผลทางโลหิตวิทยาถ้าค่า *p*-value น้อยกว่า 0.05 แสดงว่าข้อมูลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้วิเคราะห์ค่าความไว ความจำเพาะ ค่าจุดตัด (Cut-off) ที่เหมาะสมที่ช่วยในการวินิจฉัยโรคใช้เป็นเกณฑ์บ่งชี้การป่วยด้วยไข้มาลาเรีย ด้วย ROC Curve โดยใช้โปรแกรม MS Excel และ SPSS ในการคำนวณและวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการศึกษา

จากตัวอย่างโลหิตผู้มารับบริการในมาลาเรียคลินิก 223 รายเป็นเพศชาย 135 ราย (ร้อยละ 61.0) เพศหญิง 88 ราย (ร้อยละ 39.0) มีอายุตั้งแต่ 15-67 ปี เฉลี่ย 32 ปี เมื่อตรวจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์พบเชื้อจำนวน 52 ราย คิดเป็นร้อยละ 23.3 ของตัวอย่างทั้งหมดโดยคิดเป็นสัดส่วนชนิดเชื้อ *P.falciparum* ร้อยละ 69.2 และ *P.vivax* ร้อยละ 30.8 โดยไม่พบเชื้อผสมหรือ *P.malariae* หรือ *P.ovale*

เมื่อศึกษาปัจจัยทางโลหิตวิทยา (Hematological parameter) ต่อการเป็นไข้มาลาเรียดังตารางที่ 1 พบว่าในผู้ป่วยมาลาเรียจะมีเม็ดโลหิตขาวและเกล็ดโลหิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนปริมาณเม็ดโลหิตแดงฮีโมโกลบินและฮีมาโตคริตในกลุ่มผู้เป็นมาลาเรียและไม่เป็นมาลาเรียไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบเม็ดโลหิตขาวแต่ละชนิดพบว่าผู้ป่วยมาลาเรียจะมีปริมาณลิมโฟไซต์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เป็นไข้มาลาเรีย

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; SD) ของการตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยา

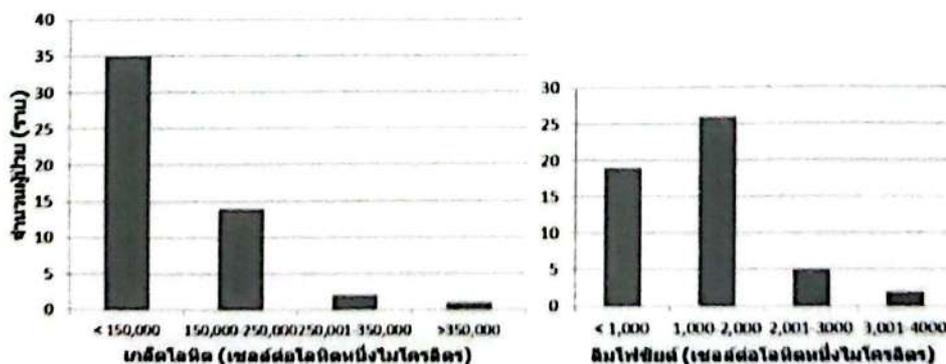
ปัจจัย	ไม่เป็นมาลาเรีย(n=171)	เป็นมาลาเรีย (n=52)	P-value*
- เม็ดโลหิตแดง ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	5.15(0.65)	5.07(0.77)	0.47
- เม็ดโลหิตขาว ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	6.98 (2.09)	5.67 (1.84)	< 0.0001**
- เกล็ดโลหิต ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	266.32 (91.74)	132.17 (79.02)	< 0.0001**
- ฮีโมโกลบิน (g/dl)	13.6 (1.84)	13.6 (1.93)	0.79
- ฮีมาโตคริต (%)	41.5 (5.24)	40.6 (6.33)	0.66
เม็ดโลหิตขาวแต่ละชนิด ($\times 10^3/\mu\text{l}$)			
- Neutrophile	3.78 (1.73)	3.98 (2.00)	0.48
- Lymphocyte	2.06 (1.1)	1.30 (0.69)	< 0.0001**
- Monocyte	0.53 (0.30)	0.55 (0.27)	0.806
- Eosinophile	0.43 (0.55)	0.34 (0.47)	0.293
- Basophile	0.08 (0.07)	0.06 (0.04)	0.104

หมายเหตุ* คือค่า P-value จากIndependent T-test และ** คือ P-value < 0.05

สำหรับเกล็ดโลหิตปกติในร่างกายจะมีประมาณ 150,000 – 350,000 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร¹² ซึ่งการศึกษานี้พบผู้ป่วยมาลาเรียที่มีภาวะ Thrombocytopenia คือมีเกล็ดโลหิตน้อยกว่า 150,000 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร² ร้อยละ 67.3 (35 ใน 52 ราย) ดังรูปที่ 1

สำหรับลิมโฟไซต์ปกติในร่างกายจะมีประมาณ 1,000-4,000 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่ง

ไมโครลิตร^{12,13} ซึ่งผู้ป่วยมาลาเรีย ร้อยละ 63.5 (33 จาก 52 ราย) ยังมีปริมาณลิมโฟไซต์อยู่ในเกณฑ์ปกติ โดยส่วนใหญ่ (26 ใน 33 ราย) มีปริมาณลิมโฟไซต์ในระหว่าง 1,000-2,000 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตรและมี 19 ราย (ร้อยละ 36.5) พบภาวะที่ร่างกายมีลิมโฟไซต์ต่ำกว่าปกติ (Lymphocytopenia) คือมีปริมาณน้อยกว่า 1,000 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร¹³ ดังรูปที่ 1



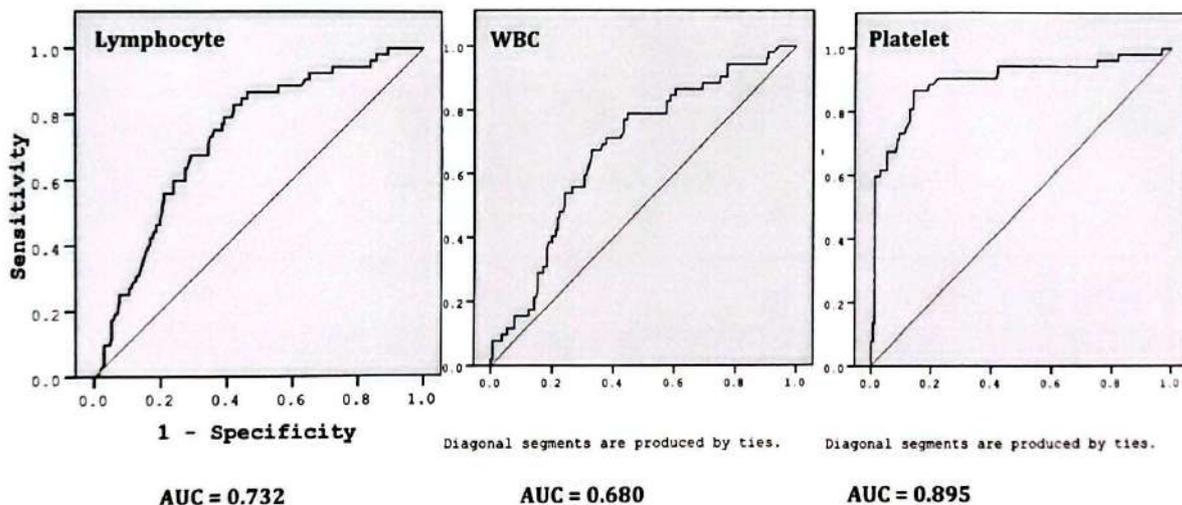
รูปที่ 1 ปริมาณเกล็ดโลหิตและลิมโฟไซต์ในผู้ป่วยมาลาเรีย

ต่อมาศึกษาหาค่าที่เหมาะสมของเม็ดโลหิตขาว ชนิดลิมโฟซัยต์เม็ดโลหิตขาวโดยรวมและเกล็ดโลหิต ที่จะสามารถใช้เป็นเกณฑ์บ่งชี้ทำนายการป่วยด้วย ไข้มาลาเรียด้วยการสร้างกราฟ ROC โดยพบว่า เกล็ดโลหิตมีพื้นที่ใต้กราฟ (Area Under Curve; AUC) มากที่สุด แสดงว่าสามารถนำมาใช้ทำนายการป่วย ได้ดีที่สุดรองลงมาคือ ลิมโฟซัยต์ และเม็ดโลหิตขาว โดยรวม ตามลำดับ ดังรูปที่ 2

สำหรับเกล็ดโลหิต ยิ่งปริมาณเกล็ดโลหิต สูงขึ้น ค่าความไวยิ่งสูงขึ้น แต่ความจำเพาะก็จะลดลง ด้วยเช่นกัน ซึ่งเกณฑ์ของเกล็ดโลหิตที่จะใช้เป็นค่า บ่งชี้ทำนายการป่วยเป็นไข้มาลาเรียคือ ใช้ปริมาณ เกล็ดโลหิตไม่เกินกว่า 205,500 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่ง ไมโครลิตรเป็นตัวคัดแยก (Cut-off) โดยให้ค่าความไว

ร้อยละ 90.4 ความจำเพาะ ร้อยละ 77.8 ดังรูปที่ 2 และตารางที่ 2 เนื่องจากให้ค่าความไว ความจำเพาะ สูงเพียงพอ แต่หากเลือกจุดตัดที่มีค่าความไวสูงกว่านี้ จะมีปริมาณเกล็ดโลหิตสูงขึ้นจนใกล้เคียงกับปริมาณ ที่พบในคนปกติจนทำให้คัดกรองได้ไม่มีประสิทธิภาพ

ค่าจุดตัดของลิมโฟซัยต์ที่จะใช้บ่งชี้ทำนาย การป่วยเป็นไข้มาลาเรียคือ มีปริมาณต่ำกว่า 2,075 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร โดยให้ค่าความไว ร้อยละ 88.5 ความจำเพาะ ร้อยละ 44.4 แสดงดัง รูปที่ 2 และตารางที่ 2 หากใช้ปริมาณลิมโฟซัยต์ ต่ำกว่านี้เป็นจุดตัด จะมีค่าความไวต่ำเกินไป หรือใช้ ปริมาณสูงเกินกว่านี้ก็จะทำให้การคัดกรองผู้ป่วย ไม่มีประสิทธิภาพด้วยเช่นเดียวกัน



รูปที่ 2 ROC Curve ของการใช้ลิมโฟซัยต์เม็ดโลหิตขาวรวม และเกล็ดโลหิต ในการวินิจฉัยการป่วยเป็นไข้

ถ้านำลิมโฟซัยต์และเกล็ดโลหิตมาเป็น ปัจจัยร่วมกันในการบ่งชี้การป่วยเป็นไข้มาลาเรีย โดยใช้ลิมโฟซัยต์ต่ำกว่า 2,000 และเกล็ดโลหิตต่ำ กว่า 200,000 เป็น Cut-off พบว่ามีความไวน้อยกว่า

การใช้เกล็ดโลหิตเพียงปัจจัยเดียวคือร้อยละ 75 แสดงว่าการใช้ปัจจัยร่วมกันไม่ช่วยให้บ่งชี้ทำนาย การเป็นมาลาเรียได้แม่นยำขึ้น

ตารางที่ 2 ความไวความจำเพาะค่าการทำนายโรค (Predictive Value) Likelihood ratio และ odd ratio ของปัจจัยทางโลหิตวิทยาในการวินิจฉัยโรคมาลาเรีย

ปัจจัย	TF/FP	ความไว* (95% CI)	ความจำเพาะ* (95% CI)	PPV* (95% CI)	NPV* (95% CI)	LR+ (95% CI)	LR- (95% CI)	Odd ratio (95% CI)
- ลิ้มโพซัยต์ <1.000 ($\times 10^3/\mu$)	19/26	36.5 (25.5-47.8)	84.8 (81.4-88.2)	42.2 (29.5-55.3)	81.5 (78.2-84.8)	2.4 (1.4-4.1)	0.7 (0.6-0.9)	3.2 (1.5-6.9)
- ลิ้มโพซัยต์ <1.300 ($\times 10^3/\mu$)	29/36	55.8 (43.4-67.3)	78.9 (75.2-82.4)	44.6 (34.7-53.8)	85.4 (81.4-89.2)	2.6 (1.8-3.8)	0.6 (0.4-0.8)	4.7 (2.3-9.6)
- ลิ้มโพซัยต์ <2.000 ($\times 10^3/\mu$)	45/86	86.5 (75.0-93.8)	49.7 (46.2-51.9)	34.4 (29.8-37.2)	92.4 (85.5-96.5)	1.7 (1.4-2.0)	0.2 (0.1-0.5)	6.4 (2.6-16.4)
- ลิ้มโพซัยต์ <2.075 ($\times 10^3/\mu$)	46/95	88.5 (77.2-95.1)	44.4 (41.0-46.5)	32.6 (28.5-35.1)	92.7 (85.5-96.9)	1.6 (1.3-1.8)	0.3 (0.1-0.6)	6.1 (2.4-16.9)
- เกล็ดโลหิต <132.2 ($\times 10^3/\mu$)	31/5	59.6 (49.8-65.4)	97.1 (94.1-98.8)	86.1 (72.0-94.5)	88.8 (86.0-90.4)	20.4 (8.4-56.9)	0.4 (0.3-0.5)	49.0 (15.8-162.7)
- เกล็ดโลหิต <150.0 ($\times 10^3/\mu$)	35/10	67.3 (56.6-75.4)	94.2 (90.9-96.6)	77.8 (65.4-87.1)	90.4 (87.3-92.8)	11.5 (6.2-22.2)	0.3 (0.3-0.5)	33.1 (13.0-87.0)
- เกล็ดโลหิต <200.0 ($\times 10^3/\mu$)	46/33	88.5 (77.6-95.0)	80.7 (77.4-82.7)	58.2 (51.1-62.6)	95.8 (91.9-98.2)	4.6 (3.4-5.5)	0.1 (0.1-0.3)	32.1 (11.8-91.7)
- เกล็ดโลหิต <205.5 ($\times 10^3/\mu$)	47/38	90.4 (79.7-96.3)	77.8 (74.5-79.6)	55.3 (48.7-58.9)	96.4 (92.3-98.6)	4.1 (3.1-4.7)	0.1 (0.0-0.3)	32.9 (11.5-101.7)
- ลิ้มโพซัยต์ <2.000 และเกล็ด	39/21	75.0 (63.5-84.1)	87.7 (84.2-90.5)	65.0 (55.0-72.9)	92.0 (88.3-94.9)	6.1 (4.0-8.8)	0.3 (0.2-0.4)	21.4 (9.3-50.6)

หมายเหตุ TF = True positive, FP= False positive, PPV = Positive Predictive Value, NPV = Negative Predictive Value, LR+ = Positive Likelihood Ratio, LR- = Negative Likelihood Ratio CI คือ ช่วงความเชื่อมั่น (Confidence Interval)* คือ ค่าเป็นร้อยละ

เมื่อเปรียบเทียบชนิดเชื้อกับปัจจัยทางโลหิตวิทยา ดังตารางที่ 3 พบว่าในแต่ละชนิดเชื้อ มีปริมาณเม็ดโลหิตแดง เม็ดโลหิตขาว เกล็ดโลหิตฮีโมโกลบิน และฮีมาโตคริตไม่แตกต่างกัน

โดยเชื้อ *P.falciparum* มีความหนาแน่นตั้งแต่ 39-196.522 ตัวต่อไมโครลิตร ค่าเฉลี่ยเรขาคณิต (Geometric mean; GM) เท่ากับ 14,314 ตัวต่อ

ไมโครลิตร โดยส่วนใหญ่พบอยู่ในช่วงความหนาแน่น 5,001-50,000 ตัวต่อไมโครลิตร คิดเป็นร้อยละ 58.8 ส่วนเชื้อ *P.vivax* มีความหนาแน่นตั้งแต่ 114 - 22,547 ตัวต่อไมโครลิตรเฉลี่ย (GM) 3,976 ตัวต่อไมโครลิตร โดยส่วนใหญ่พบอยู่ในช่วงความหนาแน่น 501-50,000 ตัวต่อไมโครลิตร และไม่พบเชื้อที่มีความหนาแน่นสูงกว่า 50,000 ตัวต่อไมโครลิตร

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยเรขาคณิต ของการตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาในแต่ละชนิดเชื้อ

ปัจจัย	<i>P.falciparum</i> (n=36)	<i>P.vivax</i> (n=16)	P-value*
- เม็ดโลหิตแดง ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	4.89	5.26	0.170
- เม็ดโลหิตขาว ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	5.31	5.54	0.938
- เกล็ดโลหิต ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	108.45	124.49	0.484
- ฮีโมโกลบิน (g/dl)	13.08	14.24	0.051
- ฮีมาโตคริต (%)	39.44	43.02	0.087

หมายเหตุ* คือ ค่า P-value จาก Independent T-test และ** คือ P-value < 0.05

เมื่อเปรียบเทียบความหนาแน่นเชื้อกับปัจจัยทางโลหิตวิทยา (ตารางที่ 4) พบว่าเมื่อความหนาแน่นเชื้อเพิ่มขึ้น ปริมาณเม็ดโลหิตขาวและเกล็ดโลหิตยิ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยของการตรวจวิเคราะห์ทางโลหิตวิทยาในแต่ละระดับความหนาแน่นเชื้อ

ปัจจัย	ความหนาแน่นเชื้อ (ตัวต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร)				P-value*
	≤ 500 (n=4)	501-5,000 (n=14)	5,001-50,000 (n=28)	>50,000 (n=6)	
- เม็ดโลหิตแดง ($\times 10^6/\mu\text{l}$)	4.66	5.18	5.10	4.92	0.527
- เม็ดโลหิตขาว ($\times 10^3/\mu\text{l}$)	6.69	5.32	6.06	3.88	0.014**

ปัจจัย	ความหนาแน่นเชื้อ (ตัวต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร)				P-value*
	≤ 500 (n=4)	501-5,000 (n=14)	5,001-50,000 (n=28)	>50,000 (n=6)	
- เกล็ดโลหิต (x10 ³ /μl)	251	154	122	50	<0.0001**
- ฮีโมโกลบิน (g/dl)	13.1	13.08	13.86	13.67	0.566
- ฮีมาโตคริต (%)	39.13	40.02	42.11	39.95	0.590

หมายเหตุ* คือค่า P-value จาก Kruskal-Wallis Test และ ** คือ P-value < 0.05

นอกจากนี้เมื่อศึกษาอาการป่วยทางคลินิก (Clinical symptom) ต่อการเป็นไข้มาลาเรียดังตารางที่ 5 พบว่าอาการทางคลินิกที่สัมพันธ์กับการป่วยเป็นมาลาเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้แก่อาการหนาวสั่นและการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ (P-value < 0.05)

ตารางที่ 5 จำนวนผู้มีอาการทางคลินิกในผู้เป็นและไม่เป็นมาลาเรีย

ปัจจัย	ไม่เป็นมาลาเรีย (n=171)	เป็นมาลาเรีย (n=52)	P-value*
- ไข้ > 37.5 °C	26	13	0.10
- หนาวสั่น	21	15	0.004**
- ปวดศีรษะ	63	24	0.23
- ปวดเมื่อยกระดูกและกล้ามเนื้อ	46	6	0.02**
- มีประวัติเป็นไข้ใน 3 วันที่ผ่านมา	23	9	0.49
- อาเจียน	9	2	0.68
- ไม่มีแรง	7	0	0.14

หมายเหตุ* คือค่า P-value ได้จาก Pearson Chi-square test และ ** คือ P-value < 0.05

วิจารณ์ผลการศึกษา

แม้ว่าการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยากับการเป็นไข้มาลาเรียจะไม่ใช่วิธีใหม่แต่วิจัยนี้ช่วยเพิ่มเติมข้อมูลเกี่ยวกับค่าที่เหมาะสมทางโลหิตที่บ่งชี้การเป็นมาลาเรียได้ การศึกษานี้พบว่าปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่มีผลต่อการเป็นไข้มาลาเรียคือเม็ดโลหิตขาวลิมโฟซัยต์และเกล็ดโลหิตโดยจะมี

ปริมาณลดลงเมื่อเป็นไข้มาลาเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่จากผลการศึกษาที่ผ่านมาของประเทศไทยนอกจากเม็ดโลหิตขาวและเกล็ดโลหิตแล้วเม็ดโลหิตแดงและฮีโมโกลบินก็มีผลต่อการเป็นมาลาเรียด้วยเช่นเดียวกันโดยมีปริมาณลดลงเมื่อเป็นไข้มาลาเรีย^{2,3} นอกจากนี้จากการศึกษาของ Imoru และคณะ (2013)¹⁴ ที่ศึกษาในกลุ่มเด็กอายุ 1-12 ปี ในประเทศไนจีเรียพบว่าฮีโมโกลบินฮีมาโตคริต

และเกล็ดโลหิตจะมีปริมาณลดลงเมื่อเป็นไข้มาลาเรีย ในขณะที่เม็ดโลหิตขาวไม่มีผลต่อการเป็นมาลาเรีย ส่วนการศึกษาของ Lathia และคณะ (2004)⁵ ในประเทศอินเดียพบว่าฮีโมโกลบินและเกล็ดโลหิตจะมีปริมาณลดลงเมื่อเป็นไข้มาลาเรียส่วนเม็ดโลหิตขาวไม่มีผลต่อการเป็นมาลาเรียดังนั้นจากผลการศึกษา นี้และที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าเกล็ดโลหิตเป็นปัจจัยหลักทางโลหิตวิทยาที่สำคัญที่สุดที่ได้รับผลกระทบ เมื่อป่วยเป็นไข้มาลาเรียโดยจะมีปริมาณลดลงอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนปัจจัยอื่น ๆ จะมีการเปลี่ยนแปลงที่ไม่แน่นอน

การศึกษานี้พบผู้ป่วยมาลาเรียที่มีภาวะ Thrombocytopenia ร้อยละ 67 โดยมีปริมาณเกล็ดโลหิตระหว่าง 31,500-145,000 เซลล์ต่อไมโครลิตร โลหิตเฉลี่ย 90,860 เซลล์ต่อไมโครลิตรซึ่งจัดเป็น mild thrombocytopenia⁴ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา ในประเทศปากีสถานที่พบผู้ป่วยมาลาเรียมีภาวะ Thrombocytopenia ร้อยละ 70⁴ การที่ผู้ป่วยมาลาเรีย มีความเด่นชัดที่มีเกล็ดโลหิตลดต่ำกว่าปกติ เนื่องจากหลายสาเหตุเช่นกลไกการแข็งตัวของ โลหิตถูกกระตุ้นอย่างผิดปกติทำให้เกิดภาวะลิ่ม โลหิตกระจายทั่วไปในหลอดเลือด (disseminated intravascular coagulation) ระบบเรติคูลูเอนโดทีเลียม (Reticuloendothelial system) กำจัดเกล็ดโลหิตมากเกินไปการที่ malaria Ag-Ab complex ไปจับกับเกล็ด โลหิตทำให้ถูก macrophage กำจัดเกล็ดโลหิตสูญเสีย กรดไซอะลิก (sialic acid) จากเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เซลล์แตก^{1,5} นอกจากนี้พบภาวะ Leucopenia ร้อยละ 11.5 ส่วน ภาวะ Anemia พบเพียงร้อยละ 3.8 ซึ่งปกติมีรายงานว่าพบภาวะ Anemia ถึงร้อยละ 80 ในผู้ป่วยมาลาเรีย ที่มีอาการรุนแรง¹ อาจเนื่องจาก ผู้ป่วยที่มารับ

บริการในมาลาเรียคลินิกส่วนใหญ่เป็นผู้ที่ไม่มีอาการ แทรกซ้อนรุนแรงในการศึกษานี้จึงพบภาวะนี้บ่อย

เกล็ดโลหิตเป็นปัจจัยทางโลหิตวิทยาที่สามารถใช้ทำนายการป่วยเป็นมาลาเรียได้ดีที่สุด โดยค่า cut-off ที่เหมาะสม คือปริมาณเกล็ดโลหิต ไม่เกิน 205,500 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร โดยให้ค่าความไว ร้อยละ 90.4 ความจำเพาะ ร้อยละ 77.8 ซึ่งไม่เหมือนกับการศึกษาของ Lathia และคณะ (2004) ที่ประเทศอินเดีย⁵ และ Kotepui และคณะ (2014) ที่ประเทศไทย² โดยเป็นการเก็บตัวอย่างจาก ผู้ป่วยในโรงพยาบาลและใช้ภาวะ Thrombocytopenia คือ มีปริมาณเกล็ดโลหิตต่ำกว่า 150,000 เซลล์ต่อ หนึ่งไมโครลิตรเพียงอย่างเดียวมาคำนวณค่าความไว ในการวินิจฉัยไข้มาลาเรียโดยพบว่ามีค่าความไวร้อยละ 60 และ 85 ตามลำดับแต่ในงานวิจัยนี้ใช้ ROC curve ช่วยในการคำนวณ เพื่อเลือก cut-off ที่เหมาะสมแทน ทั้งนี้หากเลือกที่จุดตัด 150,000 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่ง ไมโครลิตร เหมือนสองงานวิจัยดังกล่าว จะมีความไว ลดเหลือเพียง ร้อยละ 67.3 แต่ความจำเพาะเพิ่มเป็น ร้อยละ 94.2 ซึ่งค่าความไวนี้ต่ำกว่าของ Kotepui และคณะ⁵ ซึ่งมีจำนวนตัวอย่างศึกษาถึง 4,900 ตัวอย่าง จากฐานข้อมูลคนไข้ของโรงพยาบาล แต่งานวิจัยนี้เป็นการเก็บข้อมูลปฐมภูมิโดยตรงจาก ภาคสนามทำให้มีจำนวนตัวอย่างแตกต่างกันมาก แต่อย่างไรก็ตามจำนวนตัวอย่างในงานวิจัยนี้ก็ เป็นไปตามวิธีการคำนวณจำนวนตัวอย่างในทางสถิติ

การศึกษานี้พบว่า ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *P.falciparum* จะมีปริมาณเม็ดโลหิตแดงเม็ดโลหิตขาว เกล็ดโลหิตฮีโมโกลบินและฮีมาโตคริตต่ำกว่าผู้ป่วย ที่ติดเชื้อ *P.vivax* แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติซึ่งไม่เหมือนกับการศึกษาของ Kotepui และ

คณะ (2015)¹⁵ รายงานว่าสำหรับประเทศไทยเม็ดโลหิตแดงและเกล็ดโลหิตในแต่ละชนิดเชื่อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยเชื้อ *P.falciparum* มีปริมาณเม็ดโลหิตแดงและเกล็ดโลหิตต่ำกว่าเชื้อ *P.vivax* ในขณะที่เม็ดโลหิตขาวและฮีโมโกลบินไม่มีความแตกต่างกันแต่การศึกษาของ Saha และคณะ (2014)¹⁶ ในประเทศอินเดียพบว่าปริมาณของเม็ดโลหิตแดงเม็ดโลหิตขาวฮีโมโกลบินและฮีมาโตคริตมีความแตกต่างกันในแต่ละชนิดเชื้อส่วนเกล็ดโลหิตไม่มีความแตกต่างกันจากผลการศึกษาต่างๆ จึงแสดงถึงการไม่มีรูปแบบโลหิตวิทยาที่ชัดเจนในแต่ละชนิดเชื้อจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมมาสนับสนุนต่อไป

ส่วนปัจจัยทางโลหิตวิทยากับความหนาแน่นเชื่อพบว่าเมื่อความหนาแน่นเชื่อเพิ่มขึ้นปริมาณเม็ดโลหิตขาวและเกล็ดโลหิตยิ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในขณะที่การศึกษาในประเทศไทยที่ผ่านมาของ Erhart และคณะ (2004)³ พบว่าเฉพาะเกล็ดโลหิตเท่านั้นที่มีปริมาณลดลงเมื่อความหนาแน่นเชื่อเพิ่มขึ้นส่วนการศึกษาของ Kotepui และคณะ (2015)¹⁵ พบว่าเมื่อความหนาแน่นเชื่อเพิ่มขึ้นปริมาณเม็ดโลหิตขาวจะเพิ่มขึ้นแต่ปริมาณเกล็ดโลหิตและฮีโมโกลบินจะลดลงซึ่งเห็นได้ว่าเกล็ดโลหิตเป็นปัจจัยที่ได้รับผลกระทบอย่างเด่นชัดผกผันกับความหนาแน่นเชื่อที่เพิ่มขึ้นส่วนปัจจัยทางโลหิตอื่นๆ จะมีการเปลี่ยนแปลงที่ไม่แน่นอน

อาการทางคลินิกที่จะช่วยในการคัดกรองผู้ป่วยมาลาเรียเบื้องต้นคืออาการหนาวสั่นและปวดเมื่อยร่างกายตามกระดูกและกล้ามเนื้อซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chandramohan และคณะ (2001) ใน

ประเทศอินเดีย¹⁷ ในขณะที่ผลการศึกษาในประเทศแถบอาฟริกาพบว่าอาการทางคลินิกไม่ช่วยในการทำนายโรคเนื่องจากไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในผู้ป่วยและผู้ไม่ป่วย^{18,19} ส่วนในประเทศปาปัว-นิวกินีการมีประวัติเป็นไข้โดยไม่มีอาการอื่นจะช่วยในการทำนายโรคได้²⁰

สรุปผลการศึกษา

การพบปริมาณเกล็ดโลหิตต่ำกว่าปกติช่วยในการทำนายการป่วยด้วยไข้มาลาเรียได้ โดยคัดกรองจากผู้ที่มีการหนาวสั่นเป็นเวลาปวดกล้ามเนื้อและมีปริมาณเกล็ดโลหิตต่ำกว่า 205,500 เซลล์ต่อโลหิตหนึ่งไมโครลิตร หรือร่วมกับมีปริมาณลิโฟซัยต์ต่ำกว่า 2,075 เซลล์ต่อไมโครลิตรซึ่งสันนิษฐานได้ว่าอาจป่วยด้วยไข้มาลาเรียควรทำการตรวจวินิจฉัยหาเชื้อจากฟิล์มโลหิตหนาด้วยกล้องจุลทรรศน์อย่างละเอียดอีกครั้ง

อย่างไรก็ตามข้อจำกัดของงานวิจัยนี้คือใช้กลุ่มควบคุม (Control group) เป็นผู้ป่วยที่มารับการตรวจที่มาลาเรียคลินิกแต่ตรวจไม่พบเชื้อเพียงกลุ่มเดียวไม่ได้มีตัวอย่างจากคนที่มีสุขภาพดีซึ่งคนเหล่านี้บางครั้งอาจจะป่วยด้วยโรคอื่นที่อาจส่งผลต่อค่าทางโลหิตวิทยาได้เช่นเดียวกันทำให้มีค่าเฉลี่ยของกลุ่มควบคุมสูงหรือต่ำกว่ากลุ่มประชากรอื่นแต่อย่างไรก็ตามค่าเฉลี่ยนี้ก็ยังคงอยู่ในช่วงปกติ (Normal range) นอกจากนี้เป็นการศึกษาในพื้นที่ที่มีไข้สูงซึ่งควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในพื้นที่อื่นของประเทศด้วยเพื่อให้ทราบข้อมูลได้ครอบคลุมมากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านจากศูนย์ควบคุมโรคติดต่อไทยแมลงที่ 9.3 แม่สอด จ.ตาก ที่ให้การสนับสนุนในการเก็บตัวอย่างโลหิตผู้ป่วย ที่มารับการรักษาในมาลาเรียคลินิกเป็นอย่างดี ขอขอบคุณอาจารย์ไพศาล พักแพ้ว และอาจารย์ปราณีต อุตตระภิญโญ ผู้เชี่ยวชาญในการจำแนกชนิดเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่ช่วยในการอ่านยีนฮันผลตรวจฟิล์มโลหิต รวมถึงขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกท่าน จากศูนย์อบรมโรคติดต่อไทยแมลงและสำนักโรคติดต่อไทยแมลง ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกต่างๆ จนโครงการสำเร็จลงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Srichaikul T. Hematologic changes in malaria. *Thai J Hematol Transfusion Med.* 1993; 3(3) Oct-Sep: 239-255.
2. Kotepui M, Phunphuech B, Phiwklam N, Chupeerach C and Duangmano S. Effect of malarial infection on haematological parameters in population near Thailand-Myanmar border. *Malaria J.* 2014; 13: 218-234.
3. Erhart LM, Yingyuen K, Chuanak N, Buathong N, Laoboonchai A, Miller RS, Meshnick SR, Gasser RJ and Wongsrichanalai C. Hematologic and clinical indices of malaria in a semi-immune population of western Thailand *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2004; 70(1): 8-14.
4. Khan AH, Hayat AS, Baloch GH, Shaikh N and Ghorri R. Thrombocytopenia: A predictor of falciparum malaria at tertiary care hospital. *World ApplSciJ* 2012. 19 (2): 159-162.
5. Lathia TB and Joshi R. Can hematological parameters discriminate malaria from nonmalarious acute febrile illness in the tropics? *Indian J Med Sci.* 2004. 58(6) June: 239-244.
6. Chidoka CP and Tochukwu OR. Haematologic and biochemical indices of *Plasmodium falciparum* infected

inhabitants of Owerri, Imo State, Nigeria. *J. Med. Lab. Diag.* 2013. 4(3) August: 38-44.

7. Ladhani S, Lowe B, Cole AO, Kowuondo K and Newton CR. Changes in white blood cells and platelets in children with falciparum malaria: relationship to disease outcome. *Br J Haematol.* 2002; 119:839-847.

8. Fleming AF. Hematological manifestations of malaria and other parasitic diseases. *ClinHematol.* 1981; 10: 983-1011.

9. Maina RN, Walsh D, Gaddy C, Hongo G, Waitumbi J, Otieno L, Jones D and Ogutu BR. Impact of *Plasmodium falciparum* infection on haematological parameters in children living in Western Kenya. *Malar J.* 2010; 9(Suppl 3):S4.

10. Iqbal J, Khalid N and Hira PR. Comparison of two commercial assays with expert microscopy for confirmation of symptomatically diagnosed malaria. *J. Clin. Microbiol.* 2002; Dec: 4675-4678.

11. Palmer CJ, Bonilla JA, Bruckner DA, Barnett ED, Miller NS, Haseeb MA, Masci JR and Stauffer WM. Multicenter study to evaluate the OptiMAL test for rapid diagnosis of malaria in U.S Hospital. *J. Clin. Microbiol.* 2003; Nov: 5178-5182.

12. พรเทพเทียนสิวกุล. โลหิตวิทยาคลินิก. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: บริษัทด้านสุขภาพการพิมพ์จำกัด; 2544. หน้า 1-6.

13. Wolfswinkel M, Jongbloed KV, Melo MM, Wever PC, McCall MB, Koelewijn R et al. Predictive value of lymphocytopenia and the neutrophil-lymphocyte count ratio for severe imported malaria. *Malaria J.* 2013; 12: 101-108.

14. Imoru M, Shehu UA, Ihesiolor UG and Kwaru AH. Haematological changes in malaria-infected children in North-West Nigeria. *Turk J Med Sci.* 2013; 43(5): 838-842.

15. Kotepui M, Piwklam D, PhunPhuech B, Phiwklam N, Chupeerach C and Duangmano S. Effects of malaria parasite density on blood cell parameters. *PLoS One.* 2015; 10(3) Mar: e0121057. 11 pages.

16. Saha AK, Maitra S and Hazra SC. Comparison of hematological parameters between *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax* and control group. *InterJ Med Research Health Sci.* 2014; 3(1): 120-127.

17. Chandramohan D, Carneiro I, Kavishwar A, Brugha R, Desai V and Greenwood B. A clinical algorithm for

the diagnosis of malaria: results of an evaluation in an area of low endemicity. *Trop Med Int Health*. 2001; 6(7) Jul: 505-510.

18. Muwonge H, Kikomeko S, Sembajje LF, Seguya A and Namugwanya C. How reliable are hematological parameters in predicting uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria in an endemic region? *ISRN Tropical Medicine*. 2013; 2013 Article ID 673798, 9 pages.

19. Tahita MC, Tinto H, Menten J, Ouedraogo JB, Guiguemde RT, Geertruyden JP, Erhart A and Alessandro U.

Clinical signs and symptoms cannot reliably predict *Plasmodium falciparum* malaria infection in pregnant women living in an area of high seasonal transmission. *Malaria J* 2013; 12: 464-470.

20. Genton B, Smith T, Baea K, Narara A, Al Yaman F, Beck HP, Hii J, Alpers M. Malaria: how useful are clinical criteria for improving the diagnosis in a highly endemic area? *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1994; 88: 537-541.