

# Plasmodium knowlesi – den femte malarian

Potentiellt dödlig infektion som även kan drabba turister



ANNA FÄRNERT, docent  
anna.farnert@karolinska.se  
ULF BRONNER, med dr, överlä-

kare; båda infektionskliniken,  
Karolinska Universitetssjukhu-  
set Solna

Malaria har sedan årtusenden plågat människorna på jorden. Infektionen dödar upp emot en miljon varje år, varav de flesta är barn i Afrika söder om Sahara [1]. Under modern tid har man betraktat enbart fyra arter av Plasmodium som humanpatogena, men ny kunskap gör att vi nu måste räkna apparasiten Plasmodium knowlesi till de arter som kan orsaka malaria hos människa.

Det finns mer än 100 arter av Plasmodium som infekterar olika djur (däggdjur, reptiler och fåglar). Fyra arter (*P falciparum*, *P vivax*, *P ovale* och *P malariae*) sprids mellan människor genom bitt av Anophelesmyggor. Flera av de arter som infekterar apor (*P brasilianum*, *P cynomolgi*, *P inui*, *P knowlesi*, *P schwetzi* och *P simium*) kan även smitta människor. Den humana parasiten *P malariae* kan infektera både människor och apor. Malariaparasiter är dock i övrigt starkt arts specifika, varför apmalaria har ansetts mycket ovanlig hos människor. Fynden av ett stort antal *P knowlesi*-infekterade patienter i malaysiska Borneo har ändrat denna syn, och parasiten räknas nu som den femte humana malariaparasiten [2].

## Plasmodium knowlesi – historik

*P knowlesi*-parasitens huvudsakliga värd är två olika makakapor i Sydostasien: krabmakaken (*Macaca fascicularis*) (Figur 1) och svinmakaken (*Macaca nemestrina*) (Figur 2). Parasiten isolerades första gången från en långsvansad apa från Singapore 1931, och året därpå lyckades man experimentellt infektera människor. Parasiten användes därefter som behandlingsmetod mot neurosyfilis. Genom att framkalla feber med malariainfektion kunde man minska den paralytiska ledde till döden på psykiatriska avdelningar före antibiotikaeran. Redan 1927 hade Julius Wagner-Jauregg belönats med Nobelpriset i medicin för metoden att med *P vivax* behandla CNS-symtom av lues. När man överförde *P knowlesi* mellan människor ledde detta dock till allvarliga sjukdomsförlopp och även dödsfall, varför man återgick till att främst använda den mer ofarliga *P vivax*-parasiten.

Den första naturliga *P knowlesi*-infektionen hos människa påvisades 1965 hos en amerikansk militär som vistats i Pahang i västra Malaysia. Ytterligare ett misstänkt fall rapporterades från detta område 1971. En stor epidemiologisk kartläggning under 1970-talet, som inkluderade försök att smitta apor med blod från över 1000 personer i Malaysia, kunde inte belägga att infektionen var vida spridd [3]. *P knowlesi*-infek-



Foto: Jean-Paul Ferrero/ardea.com

Figur 1. Krabmakak (*Macaca fascicularis*).

tioner hos människor har därför betraktats som ovanliga händelser fram till 2004, då Balbar Singhs forskargrupp påvisade infektionen hos 120 patienter i Sarawak på malaysiska Borneo [4]. Upptäckten gjordes när infektioner som i mikroskopi bedömdes vara *P malariae* utföll negativa med gängse PCR-metod. Vidare sekvensering av den sk small subunit ribosomal RNA (SSU-rRNA)-genen visade att dessa infektioner i stället var *P knowlesi*. Även om rapporten fick stor uppmärksamhet ansågs fynden huvudsakligen vara av akademiskt intresse, eftersom infektionen bedömdes vara ofarlig och kunna behandlas som *P malariae* [5].

I januari 2008 kom dock en ny, intressant och omvälvande rapport, som visade att *P knowlesi* är en vanlig och potentiellt dödlig infektion. I en retrospektiv analys av sparade mikroskopglas från 960 malariapatienter som sjukhusvårdades 2001–2006 i Sarawak, malaysiska Borneo, befanns 28 procent

## SAMMANFATTAT

**Apparasiten *P knowlesi*** har påvisats hos ett stort antal människor i Sydostasien, främst efter vistelse i skogsområden på malaysiska Borneo. Enstaka dödsfall har rapporterats. Även turister har insjuknat. **Mikroskopiskt** liknar parasiten den mer ofarliga *P malariae*.

**Diagnostiska snabbtest** kan vara negativa. Säkerställande av *P knowlesi* kräver genetisk typning. **Patienter med** mikroskopi-verifierad malaria från Sydostasien bör handläggas som potentiellt allvarliga sjukdomsfall och läggas in på sjukhus.



Figur 2. Svinmakak (*Macaca nemestrina*).

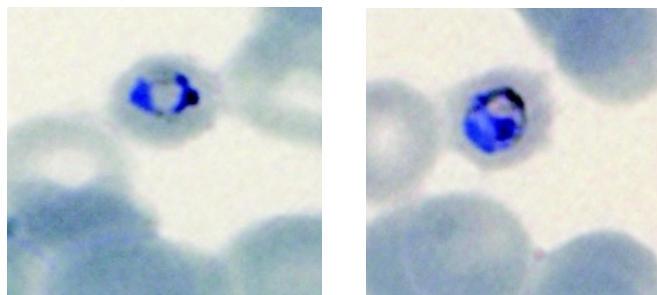
ha varit infekterade med *P knowlesi*. Fyra av dessa patienter avled [6]. Parasiten påträffades även som blandinfektion med andra arter (*P falciparum*, *P vivax* eller *P ovale*) hos 2,4 procent av patienterna. *P malariae*, som i den malaysiska nationella statistiken ansetts utgöra 15 procent av malariafallen, detekterades hos endast 0,5 procent av patienterna i denna studie.

I en senare studie från västra Malaysia rapporteras om ytterligare 77 humana fall av *P knowlesi* i sju av elva delstater [7]. Den stora utbredningen och det allvarliga förloppet har således ändrat synen på *P knowlesi*-malaria hos människa.

#### Svenskt fall

I Sverige diagnostiserades *P knowlesi* hos en 35-årig svensk man 2006. Mannen uppsökte infektionsakuten på Karolinska Universitetssjukhuset Solna med två dagars anamnes på feber, svettningar, huvudvärk och trötthet. Vid ankomsten befanns han ha 40 °C; i övrigt var kroppsundersökningen utan anmärkning med normal andning och normalt blodtryck. Laboratorieanalyser visade Hb 154 g/l, leukopeni (LPK  $2,2 \cdot 10^9/l$ ), trombocytopeni (TPK  $58 \cdot 10^9/l$ ), CRP 109 mg/l, normalt kreatinin och lätt förhöjda levervärden (bilirubin 31  $\mu\text{mol/l}$  och ALAT 1,68  $\mu\text{kat/l}$ ).

Mannen hade nyligen återvänt från en två veckor lång semesterresa i Sarawak, malaysiska Borneo. Han hade besökt städerna Kuching och Miri, tillbringat tre dagar i Bako National Park och vandrat en vecka i Bario-höglandets djungler utan att inta någon malariaproylax. Symtomen började elva dagar efter att han lämnat Bario. Infektionsjouren på Karolinska Universitetssjukhuset Solna hade stark misstanke om malaria, och trots negativt snabbtest (Now Malaria Test, Bi-



Figur 3. *P knowlesi*-trofozoiter i perifert blod på en svensk resenär från Borneo.

Foto: Lillemor Karlsson, parasitologiska laboratoriet, Karolinska Universitetssjukhuset Solna

nax Inc) påbörjades behandling med meflokin (T Lariam) i väntan på mikroskopisk analys.

Det parasitologiska laboratoriet påvisade malariaparasiter i 0,1 procent av erythrocyterna (Figur 3). Typningen var dock osäker men tydde i första hand på *P malariae*. Patienten förbättrades snabbt under meflokinbehandlingen och fick lämna sjukhuset efter två dagars vård. Hemoglobinvärdet var som lägst 95 g/l och trombocyterna  $34 \cdot 10^9/l$ . Två blododlingar var negativa och lungröntgen normal. Vid uppföljning efter två veckor var patienten besvärsfri och parasitnegativ.

Med anledning av den osäkra mikroskopiska typningen utfördes speciesspecifik PCR för de humanpatogena malariaarterna (*P falciparum*, *P vivax*, *P ovale* och *P malariae*) på Karolinska Universitetslaboratoriet i Solna. PCR-analysen var negativ, vilket tillsammans med patientens reseanamnes ledde till misstanken om *P knowlesi*-infektion. Blodprov skickades därför till Balbir Singhs laboratorium i Malaysia, där diagnosen fastställdes med SSU-rRNA-specifik PCR, sekvensering och fylogenetisk analys, som visade att vår resenärs malariaparasiter var närbesläktade med övriga *P knowlesi*-parasiter som isolerats i Malaysia [8].

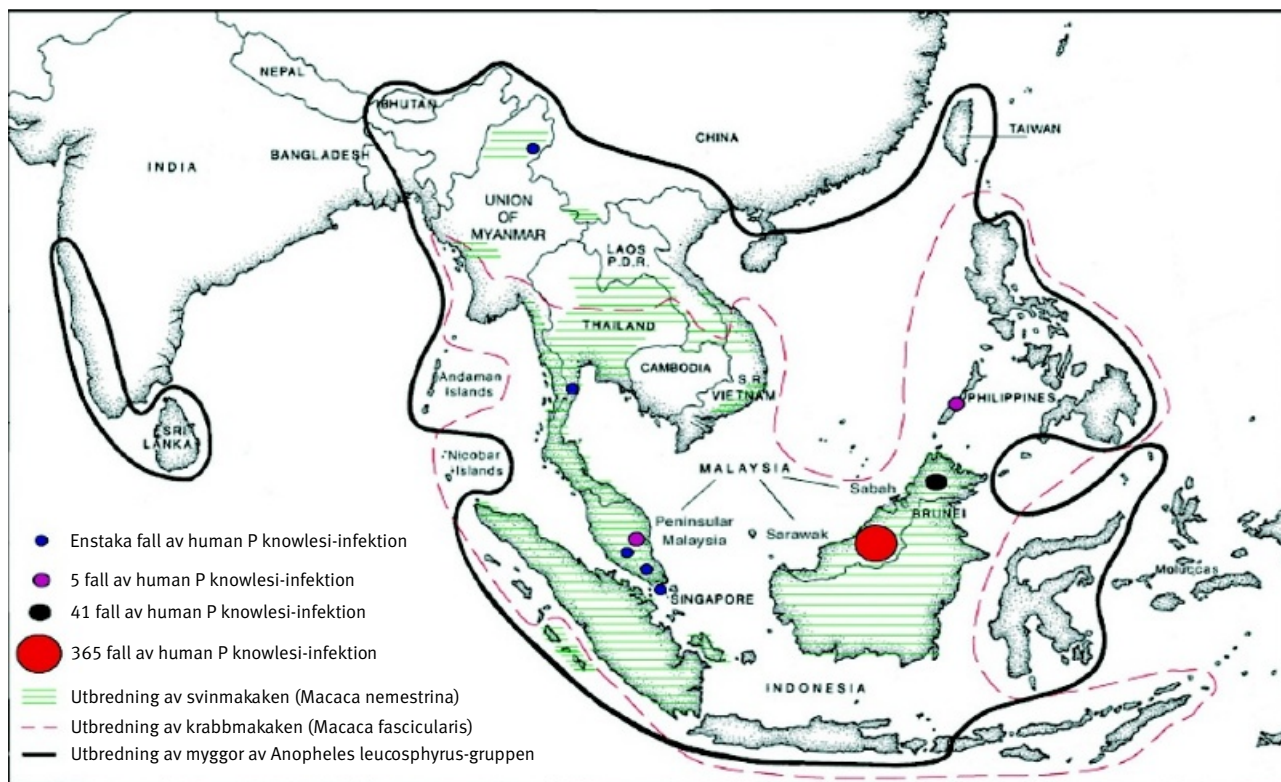
#### Ytterligare rapporter om *P knowlesi*

Även andra turister har drabbats. År 2007 insjuknade en finsk man i *P knowlesi*-malaria efter fyra veckors vistelse i västra Malaysia [9]. I Storbritanniens hälsostatistik för 2006 rapporteras om två fall av *P knowlesi*, dock utan närmare beskrivning. Utöver rapporterna från Malaysia har det under 2008 publicerats flera inhemska fall av *P knowlesi* i andra delar av Sydostasien: ett fall i Thailand [10], fem fall i Filippinerna [11], ett fall i Singapore [12] och tidigare även ett fall från Burma [13]. Infektionen är således spridd utanför Malaysia. Att turister insjuknat visar att infektionen kan smitta under korta vistelser i endemiska områden.

#### Ny epidemi eller gammal odiagnostiserad infektion?

Utbredningen av *P knowlesi* är fortfarande ofullständigt känd men anses vara begränsad till Sydostasien, beroende på förekomsten av de två makakerna och den mygga (*Anopheles leucosphyrus*-gruppen) som framför allt sprider parasiten (Figur 4) [14].

Det är oklart om det stora antalet fall som diagnostiserats under senare år är tecken på en ny epidemi eller om infektionen varit vida spridd men misstagits för andra arter, främst *P malariae*, innan den nuvarande molekylärbiologiska kartläggningen utförts. Det har spekulerats över om *P knowlesi* har börjat spridas från människa till människa [2]. Att allvarligt förlopp och dödsfall förekommit skulle kunna tyda på detta, i enlighet med de observationer som gjordes under neurosyfilisbehandlingen. En mer allvarlig sjukdomsbild observer-



**Figur 4.** Utbredningen av *Plasmodium knowlesi* påvisad hos människa, makakaporna *Macaca fascicularis* och *Macaca nemestrina* samt *Anopheles leucosphyrus*-myggan. Reproducerad med tillstånd från Elsevier efter Cox-Singh et al [14].

rades nämligen hos patienter som infekterats via människor jämfört med de lindrigare symtom som uppträdde hos patienterna som smittades från apor [2].

Det som talar emot att myggorna spridit infektionen mellan människor är att de som insjuknat huvudsakligen har varit vuxna män som arbetat i eller nära djungelområden [14]. Dessutom har man inte kunnat finna någon ansamling av fall i eller kring människors bosättningar, vilket tyder på att infektionen sprids främst från apor. I en undersökning av makakapor i Kuala Lipis, ett område i västra Malaysia, befanns 97 procent (73/75) vara smittade med malariaparasiter, varav 13 procent med *P knowlesi* [7]. I Kuala Lumpur däremot var 7

procent av aporna infekterade med parasiter men ingen med *P knowlesi*. Det förefaller således finnas lokala skillnader i utbredningen. Dessutom verkar endast vissa myggarter i *Anopheles leucosphyrus*-gruppen kunna överföra *P knowlesi*. Dessa arter suger blod från både människor och apor och förekommer främst i eller i utkanten av skogsområden [15].

Förutsättningen för *P knowlesi*-parasiter att infektera människor är inte ett nytt fenomen utan kan ha funnits i tusentals år. Varför skulle då spridningen till människan öka nu? Malariabekämpningen i Malaysia har varit framgångsrik, och fallen har minskat avsevärt sedan 1960-talet: från 240 000 till 5 000 per år. En teori är att minskad förekomst av

**TABELL I.** Kännetecknen för de fem humana malariaarterna.

Art	Utbredning <sup>1</sup> , procent	Replikation, timmar	Feberintervall, dagar	Allvarliga symtom	Barn <sup>3</sup>	Vuxna <sup>4</sup>	Dödlighet
<i>P falciparum</i>	Afrika 80–90	48	Kontinuerlig/ oregelbunden	Cerebral malaria, anemi, acidosis, hypoglykemi	Cerebral malaria, njursvikt, leversvikt, ARDS, lungödem	Ja	
<i>P vivax</i>	Asien 50–80	48	2	(Acidosis, anemi, medvetandepå- verkan, njursvikt) <sup>5</sup>	Mjältruftur	Ovanligt	
<i>P ovale</i>	Afrika 5–8	48	2				Nej
<i>P malariae</i>	Globalt 0,5–3	72	3	Nefrotiskt syndrom efter kronisk infektion	Nefrotiskt syndrom	Nej	
<i>P knowlesi</i>	Sydostasien Malaysia 28 <sup>2</sup>	24	1	?	Njur- och leversvikt	Ovanligt	

<sup>1</sup> Världsdel där arten är vanligast [19]. Procent anger andel av infektioner i respektive världsdel. <sup>2</sup> Sarawak, Borneo [6]. <sup>3</sup> Barn i endemiska områden.

<sup>4</sup> Icke-immuna vuxna. <sup>5</sup> Nya rön från huvudsakligen barn i Papua Nya Guinea och Indonesien [20, 21].

de övriga humana malariarterna kan ha medfört en reducerad malariainmunitet hos befolkningen och att denna immunitet tidigare även skyddade mot *P knowlesi*-infektion. Därför kan nu *P knowlesi* sprida sig lättare till människor i dessa områden [14]. Dessutom uppges att fler människor vistas i djungeln numera, främst på grund av arbete. Förändringar i naturen med skogsskövling synes också ha lett till att aporna närmast sig människorna, men även myggorna kan ha ändrat beteende.

## Klinisk bild

Parasiten har en 24-timmars livscykel i blodet. Denna snabba replikation leder till höggradig parasitemi, som kan orsaka allvarlig sjukdom och dödlig utgång. Vid *P knowlesi*-infektion har patienten daglig feber men kan vara feberfri vid undersökningstillfället. Inkubationstiden är ca 9–12 dagar. De fyra retrospektivt funna dödsfallen i Malaysia (39–66 år gamla) hade samtliga höggradig parasitemi (1,5–15 procent infekterade erythrocyter), kraftig buksmärta, njur- och leversvikt med ikterus samt trombocytopeni [6]. I övrigt sågs olika symptom, såsom kräkningar, diarré, hosta, huvudvärk, acidosis, ARDS, hypotension och perforerat ulcus. Däremot hade ingen patient cerebral malaria med koma. *P knowlesi*-infekterade röda blodkroppar verkar inte kunna sekvestrera, dvs fästa till endotel i kapillärsystemen i hjärnan (eller andra organ). Sekvestrering är en av de huvudsakliga förklaringarna till att allvarliga cerebrala symptom uppkommer vid *P falciparum*-malaria [16].

Studier pågår för att ytterligare kartlägga den kliniska bilden hos människa. Rhesusapan (*Macaca mulatta*) utvecklar allvarliga symptom vid experimentell *P knowlesi*-infektion, och studier på dessa apor kommer förhoppningsvis att kunna bidra till förståelsen av patogenesen hos människa. Det är ännu okänt om parasiten har en hypnozoitfas, dvs vilofas i levern som kan leda till återfall. *P knowlesi*-genomet har nyligen kartlagts, och det uppvisar 80 procents homologi med *P falciparum*- och *P vivax*-parasiterna. Den nyvunna kunskapen om genomet möjliggör ytterligare förståelse av parasiten [17].

## Diagnostik

Genetisk typning är i dag den enda diagnostiska metoden för att fastställa *P knowlesi*-infektion. Påvisning av *P knowlesi* görs med PCR-typning av SSU-rRNA [4]. Man planerar att införa metoden på Karolinska Universitetslaboratoriet i Solna. Analystiden för malaria-PCR är i nuläget 1–2 dygn, och metoden kan därför inte användas i akut diagnostik.

Vid mikroskopisk undersökning liknar parasiten mest *P malariae*, men de tidiga stadierna kan även likna *P falciparum*. Till skillnad från *P malariae*, som sällan når högre nivåer än 0,1 procent, kan *P knowlesi* förorsaka mycket höggradig parasitemi (>10 procent). Om malariaparasiter påvisas vid mikroskopi hos en patient som vistats i Sydostasien måste *P knowlesi* hållas i åtanke. Blandinfektioner med *P knowlesi* och *P falciparum*, *P vivax* respektive *P ovale* kan förekomma, vilket försvårar diagnostiken.

På jourtid förlitar sig många läkare på diagnostiskt snabbtest (framför allt antigendetektionstest, som påvisar parasit-specifikt histidinrikt protein 2 och aldolas) för att fastställa/utesluta malaria. Testet är känsligt för *P falciparum* men inte tillförlitligt för de övriga arterna. Detta accepteras dock av de flesta, eftersom infektion med *P vivax*, *P ovale* och *P malariae* oftast inte är allvarlig, och diagnosen kan fastställas dagtid av kunnig personal på parasitologiska laboratorier. Även om snabbtest ger stöd i diagnostiken kan man inte helt förlita sig

på testets sensitivitet, och dessutom ger det inget kvantitativt mått på parasitemi, vilket är mycket viktigt vid bedömningen av framför allt *P falciparum*-infektionens allvarlighetsgrad.

Det är oklart om olika snabbtest kan påvisa *P knowlesi*. I vårt fall med den svenske patienten var snabbtestet negativt. Även om snabbtestens förmåga att detektera *P knowlesi* måste undersökas vidare, och nya test är under utveckling [18], illustrerar detta fall vikten av att alltid utföra mikroskopi, även på jourtid, vid misstänkt malaria. Om det inte är möjligt bör behandling sättas in på klinisk misstanke tills diagnosen säkerställs.

Det är angeläget att understryka att all malariaprovtagning ska ske så fort som misstanke uppstår (oavsett tidpunkt på dygnet) och att patienten inte måste ha feber eller frossa vid provtagningstillfället.

## Handläggning och behandling

*P knowlesi*-infektioner ska handläggas och behandlas som *P falciparum*-malaria. Patienten ska vårdas inlaggande på sjukhus och, precis som för alla fall av misstänkt malaria, handläggas av eller i nära samråd med infektionsspecialist eller annan malariakunnig läkare.

Effekten av olika malarialäkemedel på *P knowlesi* är fortfarande ofullständigt känd. De flesta patienter i Malaysia behandlades med klorokin och primakin, med god effekt. Av de fyra patienter som avled hade två även fått sulfadoxin-pyrimetamin och kinin [6]. Den svenske mannen behandlades med meflokin och den finske resenären med kinin och doxycyklin, båda med gott resultat. Mer kunskap behövs dock om parasitens känslighet för olika läkemedel.

Patienter med suspekt eller säkerställd *P knowlesi*-infektion som uppvisar symptom tydande på svår sjukdom ska behandlas på samma sätt som patienter med allvarlig *P falciparum*-infektion.

Huruvida gängse malariaprofylaxmedel ger skydd mot *P knowlesi* är inte känt. Baserat på uppgifterna om att klorokin fungerat bra som behandling av *P knowlesi* kan man dock förmoda att detta medel skulle vara effektivt även som profylax, men inga studier föreligger som kan styrka detta. Inte heller finns någon dokumentation rörande den profylaktiska effekten av meflokin, atovakvon/proguanil eller doxycyklin mot *P knowlesi*.

## Konklusion

*P knowlesi*-infektion bör misstänkas hos resenärer från Sydostasien, speciellt efter vistelse i skogsområden på västra Malaysia och i djungeln på malaysiska Borneo. Alla fall av malaria från Sydostasien bör handläggas som potentiellt allvarliga och läggas in på sjukhus. Diagnostiska snabbtest kan vara negativa, vilket lyfter fram vikten av mikroskopi för att påvisa malariaparasiter i blodet. Säkerställande av *P knowlesi* kräver dock genetiska metoder. De nya rönen om *P knowlesi* har förändrat vår syn på malaria hos människa. Kommande rapporter om parasitens utbredning och sjukdomsbild förväntas öka vår kunskap om denna och eventuellt även andra apparater som kan förorsaka malaria hos människa.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

## REFERENSER

1. World Health Organization. World Malaria Report 2008. Geneva, Switzerland; 2008.
2. White N. Plasmodium knowlesi: the fifth human malaria parasite. Clin Infect Dis. 2008;46:172-3.
3. Warren M, Cheong WH, Fredericks HK, Coatney GR. Cycles of jungle malaria in West

- Malaysia. *Am J Trop Med Hyg.* 1970;19:383-93.
4. Singh B, Sung LK, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul SS, Cox-Singh J, et al. A large focus of naturally acquired Plasmodium knowlesi infections in human beings. *Lancet.* 2004;363:1017-24.
  5. Abegunde AT. Monkey malaria in man. *Lancet.* 2004;364:1217.
  6. Cox-Singh J, Davis TME, Lee KS, Shamsul SS, Matusop A, Ratnam S, et al. Plasmodium knowlesi malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *Clin Infect Dis.* 2008;46:165-71.
  7. Vythilingam I, Noorazian YM, Huat TC, Jiram AI, Yusri YM, Azahari AH, et al. Plasmodium knowlesi in humans, macaques and mosquitoes in peninsular Malaysia. *Parasit Vectors.* 2008;1:26.
  8. Bronner U, Divis PCS, Färnert A, Singh B. Swedish traveller with Plasmodium knowlesi malaria after visiting Malaysian Borneo: case report. *Malar J.* 2009;8:15.
  9. Kantele A, Marti H, Felger I, Müller D, Jokiranta TS. Monkey malaria in a European traveler returning from Malaysia. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:1434-6.
  10. Jongwutiwes S, Putaporntip C, Iwasaki T, Sata T, Kanbara H. Naturally acquired Plasmodium knowlesi malaria in human, Thailand. *Emerg Infect Dis.* 2008;10:2211-3.
  11. Luchavez J, Espino F, Curameng P, Espina R, Bell D, Chiadini P, et al. Human infections with Plasmodium knowlesi, the Philippines. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:811-3.
  12. Ng OT, Ooi EE, Lee CC, Lee PJ, Ng LC, Pei SW, et al. Naturally acquired human Plasmodium knowlesi infection, Singapore. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:814-6.
  13. Zhu HM, Li J, Zheng H. Human natural infection of Plasmodium knowlesi. *Chinese J Parasitol Parasit Dis.* 2006;24:70-1.
  14. Cox-Singh J, Singh B. Knowlesi malaria: newly emergent and of public health importance? *Trends Parasitol.* 2008;24:406-10.
  15. Tan CH, Vythilingam I, Matusop A, Chan ST, Singh B. Bionomics of Anopheles latens in Kapit, Sarawak, Malaysian Borneo in relation to the transmission of zoonotic simian malaria parasite Plasmodium knowlesi. *Malar J.* 2008;31:52.
  16. Mackintosh CL, Beeson JG, Marsh K. Clinical features and pathogenesis of severe malaria. *Trends Parasitol.* 2004;20:597-603.
  17. Pain A, Böhme U, Berry AE, Mungall K, Finn RD, Jackson AP, et al. The genome of the simian and human malaria parasite Plasmodium knowlesi. *Nature.* 2008;45:799-804.
  18. McCutchan TF, Piper RC, Makler MT. Use of malaria rapid diagnostic test to identify Plasmodium knowlesi infection. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:1750-2.
  19. Carter R, Mendis KN. Evolutionary and historical aspects of the burden of malaria. *Clin Microbiol Rev.* 2002;15:564-94.
  20. Genton B, D'Acremont V, Rare L, Baea K, Reeder JC, Alpers MP, et al. Plasmodium vivax and mixed infections are associated with severe malaria in children: a prospective cohort study from Papua New Guinea. *PLoS Med.* 2008;5:127.