

Penulis:

1. Paisal
2. Liestiana Indriyati

Korespondensi :

Balai Litbang P2B2 Tanah Bumbu Kementerian Kesehatan RI. Kawasan Perkantoran Pemda Kab. Tanah Bumbu, Gunung Tinggi Tanah Bumbu, Kalsel. Email : paisal.zain@yahoo.com

Keywords :

Malaria
Plasmodium knowlesi
Macaques
Leucosphyrus

Kata Kunci :

Malaria
Plasmodium knowlesi
Kera
Leucosphyrus

Diterima :

29 Agustus 2014

Direvisi :

02 September 2014

Disetujui :

04 September 2014

The overview of *Plasmodium Knowlesi* in humans

Abstract

The incidence of malaria in the world in 2012 reported 207 million and 37% occurred in Southeast Asia. In Indonesia, malaria cases in the same year was 3,534,331 and mortality rate is estimated more than 10,000 per year. Malaria is caused by *Plasmodium* infection. In recent years, found a new type of *Plasmodium* that can infect humans, namely *Plasmodium knowlesi*. *Plasmodium knowlesi* naturally infects long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*), pig-tailed macaques (*Macaca nemestrina*), and langur (*Presbytis melalophos*). Vector of *Plasmodium knowlesi* is mosquito from Leucosphyrus groups, namely *Anopheles latens* and *Anopheles cracens*. The clinical symptoms are similar to other malaria, but on *knowlesi* malaria, gastrointestinal symptoms are common and thrombocytopenia is more prominent. *Knowlesi* malaria mortality rate ranges from 1-2%. Microscopic examination is unreliable for diagnosis *knowlesi* malaria. While the PCR assay gave good results, but this examination is expensive and requires skilled personnel. *Knowlesi* malaria infections respond well to malaria drugs, namely artemisin and chloroquine.

Gambaran *Plasmodium Knowlesi* pada manusia

Abstrak

Insiden malaria di dunia pada 2012 dilaporkan 207 juta dan 37% diantaranya berada di Asia Tenggara. Sedangkan di Indonesia, kasus malaria pada tahun tersebut adalah 3.534.331 dengan perkiraan angka kematian lebih dari 10.000 per tahun. Penyakit malaria disebabkan oleh infeksi plasmodium. Selama ini dikenal empat jenis plasmodium yang dapat menginfeksi manusia. Tetapi beberapa dekade terakhir, ditemukan jenis plasmodium kelima yang dapat menginfeksi manusia yaitu *Plasmodium knowlesi*. Plasmodium ini sebenarnya lazim ditemukan pada kera ekor panjang (*Macaca fascicularis*), kera ekor babi (*Macaca nemestrina*), dan langur (*Presbytis melalophos*). Vektor *Plasmodium knowlesi* adalah nyamuk grup Leucosphyrus yaitu *Anopheles latens* dan *Anopheles cracens*. Gejala klinis malaria akibat infeksi *Plasmodium knowlesi* mirip dengan gejala malaria lainnya, tetapi pada malaria *knowlesi* keluhan gastrointestinal sering terjadi dan trombositopenia lebih menonjol. Angka kematian malaria *knowlesi* berkisar 1-2%. Pemeriksaan mikroskopis tidak dapat diandalkan untuk menegakkan diagnosis malaria *knowlesi*. Pemeriksaan yang paling baik adalah PCR, tetapi pemeriksaan ini mahal dan butuh tenaga dengan keterampilan khusus. Infeksi malaria *knowlesi* memberikan respon yang baik terhadap obat malaria yang ada saat ini, yaitu artemisin dan klorokuin.

Pendahuluan

Insiden malaria di seluruh dunia pada 2010 diperkirakan sebanyak 216 juta, dan pada 2012 sebanyak 207 juta dengan jumlah kematian sekitar 627.000. Dari keseluruhan kasus malaria di dunia, sekitar 37% ditemukan di Asia Tenggara.^{1,2}

Di Indonesia, dari 2010-2012, kasus malaria terus meningkat, yaitu berturut-turut 3.089.222, 3.174.612, dan 3.534.331 dan jumlah kematian berturut-turut 432, 388, dan 252 kasus. Walaupun jumlah kematian yang tercatat relatif membaik, sebuah penelitian memperkirakan bahwa kematian mungkin lebih dari 10.000 per tahun.^{2,3}

Malaria adalah penyakit infeksi yang disebabkan oleh parasit dari genus *Plasmodium* yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Anopheles* betina. Sifat dari plasmodium adalah parasit intraseluler obligat yang dapat menginfeksi dan bereplikasi di dalam eritrosit setelah fase replikasi asimtomatik di hepar.⁴

Plasmodium pertama kali diidentifikasi dari darah pasien oleh Alphonse Laveran pada 1880.^{5,6} Sejak saat itu, pengetahuan mengenai plasmodium terus berkembang. Beberapa tahun kemudian diketahui ada empat spesies plasmodium yang dapat menginfeksi manusia yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium vivax*. Tetapi pada beberapa dekade terakhir teridentifikasi satu spesies *Plasmodium* yang biasa menginfeksi kera ternyata secara alami dapat menginfeksi manusia. Spesies tersebut adalah *Plasmodium knowlesi*. Spesies ini dianggap sebagai parasit *Plasmodium* kelima yang dapat menginfeksi manusia.^{7,8,9}

Walaupun kemampuan *Plasmodium knowlesi* menginfeksi manusia secara alami baru diketahui, tetapi spesies ini diperkirakan sudah menginfeksi manusia sejak lama. Selama ini pemeriksaan mikroskopis yang menjadi standar emas pemeriksaan malaria gagal mendeteksi *Plasmodium knowlesi*. Pada pemeriksaan mikroskopis, *Plasmodium knowlesi* sering disimpulkan sebagai *Plasmodium falciparum* atau *Plasmodium vivax* karena kemiripan morfologinya. Setelah digunakannya pemeriksaan molekuler untuk mendeteksi *Plasmodium knowlesi*, ketiga

jenis *Plasmodium* ini baru dapat dibedakan secara jelas.^{10,11}

Metode

Artikel ini merupakan tinjauan kepustakaan terhadap artikel-artikel mengenai *Plasmodium knowlesi* yang telah diterbitkan oleh berbagai jurnal. Artikel ini bertujuan memberikan gambaran mengenai *Plasmodium knowlesi* pada manusia. Hasil dari tinjauan kepustakaan disajikan dengan struktur penulisan yaitu epidemiologi, parasit, vektor, inang, gejala klinis, pemeriksaan, dan pengobatan *Plasmodium knowlesi*.

Epidemiologi

Infeksi *Plasmodium knowlesi* terbatas pada negara-negara di Asia Tenggara.^{9,11} Kasus terbanyak ditemukan di Malaysia, terutama di negara bagian yang terletak di pulau Kalimantan. Bahkan, kasus malaria akibat infeksi *Plasmodium knowlesi* bertanggungjawab terhadap lebih dari 50% kasus malaria yang dirawat di rumah sakit di Wilayah Kapit, Negara Bagian Serawak.¹² Pada mulanya berdasarkan pemeriksaan mikroskopis, kasus malaria tersebut diduga disebabkan oleh *Plasmodium malariae*. Tetapi ketika diperiksa dengan pemeriksaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR), diketahui bahwa sebagian besar kasus disebabkan oleh *Plasmodium knowlesi*.¹³ Kasus infeksi *Plasmodium knowlesi* tidak hanya terbatas pada Malaysia Timur, tetapi juga terjadi di Semenanjung Malaysia, walaupun jumlah kasusnya lebih sedikit.¹⁴

Selain di Malaysia, di negara Asia Tenggara lainnya juga dilaporkan terjadi kasus malaria akibat infeksi *Plasmodium knowlesi*. Negara tersebut adalah Indonesia,^{15,16} Thailand,¹⁷ Kamboja,¹⁸ Vietnam,¹⁹ Filipina,²⁰ dan Singapura.²¹ Data kasus infeksi *Plasmodium knowlesi* kebanyakan berasal dari rumah sakit dan diduga bahwa jumlah infeksi yang sebenarnya jauh lebih besar.¹¹

Penderita malaria *knowlesi* umumnya adalah mereka yang beraktifitas di dalam hutan maupun mereka yang tinggal di sekitar hutan.²² Selain warga lokal, warga asing dari negara yang bukan endemis juga dapat terkena saat berkunjung ke wilayah dimana ada penularan malaria *knowlesi*, contohnya dari Australia,¹⁵ Selandia Baru,²³ Skotlandia,²⁴

Belanda,²⁵ Spanyol,²⁶ Swedia,²⁷ Finlandia.²⁸ Ditinjau dari jenis pekerjaan, yang banyak terserang adalah petani atau pekerja perkebunan.²⁹ Sedangkan dari segi usia penderita, malaria *knowlesi* dilaporkan dapat mengenai bayi berusia 6 bulan sampai dengan orang tua berusia 82 tahun.¹⁴ Walaupun demikian, usia yang banyak terinfeksi adalah antara 16-45 tahun.³⁰ Tinjauan dari segi jenis kelamin, laki-laki lebih banyak menderita malaria *knowlesi* dibandingkan dengan wanita.^{14,31} Hal ini kemungkinan disebabkan oleh aktifitas di hutan atau kebun lebih banyak dilakukan oleh laki-laki dan mereka yang berusia dewasa.³² Dari segi waktu, penularan malaria *knowlesi* tinggi pada bulan tertentu. Jiram *et al*²² melaporkan bahwa penularan tertinggi terjadi pada November 2007 dan Januari 2008.

Parasit

Parasit *Plasmodium knowlesi* pertama kali diisolasi pada 1931 di *Kolkata School of Tropical Medicine* di India dari kera ekor panjang (*Macaca fascicularis*) yang diimpor dari Singapura.¹¹ Selanjutnya pada 1932, Knowles dan Das Gupta berhasil menginfeksi manusia dengan *Plasmodium knowlesi* yang diperoleh dari kera. Untuk menghargai keberhasilan tersebut, *Plasmodium* ini dinamai sesuai dengan nama Dr. R. Knowles.

Infeksi alami pertama pada manusia oleh *Plasmodium knowlesi* tercatat pada 1965. Infeksi ini terjadi di Semenanjung Malaysia, mengenai seorang warga negara Amerika berusia 37 tahun yang ketika itu memasuki hutan selama 5 hari.^{22,33} Saat ini, infeksi malaria *knowlesi* sudah banyak ditemui, tidak terbatas hanya di Malaysia tapi di negara Asia Tenggara lainnya.

Seperti halnya spesies lain, *Plasmodium knowlesi* juga dapat menginfeksi manusia bersama dengan spesies *Plasmodium* berbeda, misalnya *Plasmodium falciparum* atau *Plasmodium vivax*. Kasus infeksi seperti ini sering ditemukan, terutama jika pemeriksaan dilakukan menggunakan metode PCR.^{14,30} Di samping itu, siklus hidup *Plasmodium knowlesi* juga menyerupai spesies *Plasmodium* lainnya. Siklus hidup terbagi menjadi dua, yaitu fase seksual eksogen (sporogoni) yang terjadi pada tubuh

nyamuk Anopheles, dan fase aseksual endogen (skizogoni) yang berlangsung di dalam tubuh inang vertebrata. Perbedaan utama *Plasmodium knowlesi* dengan spesies *Plasmodium* manusia lainnya adalah siklus replikasi pada eritrosit. Jika *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax* adalah 48 jam, *Plasmodium malariae* adalah 72 jam, dan *Plasmodium ovale* adalah 50 jam, maka *Plasmodium knowlesi* memiliki siklus terpendek yaitu 24 jam. Oleh karena itu, *Plasmodium knowlesi* disebut juga malaria quotidian. Tetapi siklus ini dapat menjadi tidak jelas jika perkembangan parasit pada eritrosit terjadi secara asinkronus.^{4,9,11}

Plasmodium knowlesi merupakan parasit malaria kera pertama yang berhasil diurai genomnya. Panjangnya adalah 23,5 Mb, terdiri dari 5.188 gen. Panjang genom *Plasmodium knowlesi* lebih pendek dari pada genom *Plasmodium vivax* (26,8 Mb) tetapi lebih panjang daripada genom *Plasmodium falciparum* (23,3 Mb).^{4,34}

Plasmodium knowlesi menginfeksi manusia dengan perantara nyamuk vektor melalui dua cara yaitu dari kera ke manusia dan dari manusia ke manusia.³⁵ Penularan dari kera ke manusia terjadi jika manusia masuk ke dalam habitat kera dan nyamuk vektor, biasanya di hutan lebat, perkebunan, atau di daerah pinggiran hutan.^{12,32}

Vektor

Vektor *Plasmodium knowlesi* adalah nyamuk Anopheles dari grup Leucosphyrus. Nyamuk ini tersebar di negara Asia Tenggara.^{31,33} Nyamuk dari grup lain sampai saat ini belum dilaporkan dapat menularkan *Plasmodium knowlesi*.³²

Grup Leucosphyrus terdiri dari kompleks Dirus (tujuh spesies) dan kompleks Leucosphyrus (empat spesies). Nyamuk grup ini termasuk ke dalam golongan nyamuk hutan, tetapi kadang-kadang ditemukan pada pinggiran hutan, lahan pertanian, dan tempat yang lebih terbuka.³⁶ Spesies dari grup Leucosphyrus yang terbukti dapat menularkan *Plasmodium knowlesi* ke manusia adalah *Anopheles latens* dan *Anopheles cracens*.²²

Tan *et al*³⁷ menemukan bahwa *Anopheles latens* tertarik menggigit manusia maupun kera. Di hutan, waktu menggigit mulai pukul 18.00 dan puncak waktu menggigit adalah pukul 19.00 - 20.00. Di,

lahan pertanian, waktu menggigit juga mulai pukul 18.00 dan terus menerus menggigit sampai pagi hari (06.00). Waktu puncak menggigit adalah pukul 01.00-02.00. Sedangkan di pemukiman, *Anopheles latens* memiliki waktu puncak gigitan di luar rumah dari pukul 23.00 - 02.00 dan di dalam rumah pada pukul 02.00. Vythilingam *et al*³⁸ menemukan bahwa *Anopheles cracens* mulai menggigit manusia pada pukul 19.00 dan waktu puncak menggigit adalah 19.00-21.00. Di dalam hutan, nyamuk ini mulai kurang menggigit setelah pukul 22.00, tetapi di kebun, nyamuk ini terus menggigit sepanjang malam. Di antara kedua spesies nyamuk di atas, tidak satupun yang ditemukan terinfeksi oleh spesies parasit Plasmodium manusia lainnya (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, atau *Plasmodium ovale*).³⁹ Infeksi *Plasmodium knowlesi* pada manusia dapat terjadi hanya karena satu gigitan dari nyamuk vektor.

Inang

Inang alami parasit *Plasmodium knowlesi* adalah kera yang banyak ditemui di Asia Tenggara, yaitu kera ekor panjang (*Macaca fascicularis*), kera ekor babi (*Macaca nemestrina*), dan langur (*Presbytis melalophos*).^{33,40}

Vythilingam *et al*³⁸ menemukan bahwa dari 145 kera yang tertangkap di wilayah Kuala Lipis, Malaysia Semenanjung, 10 ekor positif *Plasmodium knowlesi* melalui PCR. Sedangkan Lee *et al*⁴¹ menemukan bahwa di wilayah Kapit, Serawak, Malaysia Timur, dari 108 kera (82 ekor panjang, 26 ekor babi), 101 ekor terinfeksi malaria dari 5 spesies, yaitu *Plasmodium inui* (82%), *Plasmodium knowlesi* (78%), *Plasmodium coatneyi* (66%), *Plasmodium cynomolgi* (56%), and *Plasmodium Fieldi* (4%). Dari 108 kera, ada 91 kera yang terinfeksi lebih dari satu spesies Plasmodium.

Sebuah penelitian yang mencoba menginfeksi *Plasmodium knowlesi* ke kera Rhesus, menyebabkan gejala klinis yang berat pada kera tersebut. Terjadi hemolisis akut pada hari kelima dan semua kera mati pada hari keenam dan ketujuh.⁴²

Gejala Klinis

Gejala klinis malaria *knowlesi* mirip dengan malaria

lainnya. Demam menggigil dan kaku terjadi pada hampir semua pasien, disertai dengan gejala non spesifik seperti sakit kepala, mialgia, arthralgia, anoreksia, dan batuk. Keluhan gastrointestinal juga sering ditemukan.⁴³

Pada infeksi sinkronous tunggal, pola demam *Plasmodium knowlesi* adalah quotidian (harian), berbeda dengan *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium malariae*, dimana pola demamnya adalah tertiana dan quartana. Pola demam *quotidian* disebabkan oleh pelepasan merozoit saat skizon ruptur dari sel darah merah yang terjadi setiap 24 jam. Tetapi, pola ini dapat tidak spesifik, terutama pada awal terjadinya penyakit atau jika ada infeksi campuran bersama spesies plasmodium lain.¹¹

Siklus parasit yang terjadi sangat cepat menyebabkan jumlah parasit *Plasmodium knowlesi* dalam tubuh juga meningkat dengan cepat. Hal ini menjadi penyebab gejala klinis infeksi *Plasmodium knowlesi* dapat berat dan fatal. Angka mortalitasnya sekitar 1-2%.^{31,41}

Pada kasus yang parah, gejala klinis yang timbul antara lain adalah distres pernapasan, hemolisis, ikterus, gagal ginjal, hipotensi, hipoglikemia, dan trombositopenia.^{35,44} Lebih dari 90% pasien anak-anak maupun dewasa diketahui mengalami trombositopenia. Oleh karena itu, trombositopenia dapat dipertimbangkan sebagai penanda adanya infeksi *Plasmodium knowlesi*.⁴⁵ Trombositopenia diduga berperan pada perdarahan intraserebral yang mengakibatkan kematian.⁴⁶

Malaria *knowlesi* tidak mengalami relaps seperti halnya *Plasmodium vivax* atau *Plasmodium ovale* karena tidak ada fase hipnozoit pada hepar. Tetapi, seorang pasien dapat terinfeksi dua kali oleh *Plasmodium knowlesi* berbeda pada selang waktu tertentu.⁴⁴

Pemeriksaan

Metode pemeriksaan malaria yang paling banyak digunakan adalah pemeriksaan mikroskopis, karena pemeriksaan ini cepat, murah, dan cukup sensitif. Umumnya, ahli laboratorium di Asia Tenggara yang melakukan pemeriksaan mikroskopis lebih terlatih mengidentifikasi tiga spesies utama Plasmodium, yaitu *Plasmodium*

falciparum, *Plasmodium vivax*, dan *Plasmodium malariae*. Oleh karena itu, *Plasmodium knowlesi* sering salah didiagnosis sebagai spesies plasmodium lain, terutama *Plasmodium malariae*, disamping *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*.¹⁴ Kesalahan diagnosis kemungkinan disebabkan oleh kemiripan morfologi *Plasmodium knowlesi* dengan plasmodium lain. Pada pemeriksaan mikroskop, morfologi tahap awal *Plasmodium knowlesi* tidak dapat dibedakan dengan *Plasmodium falciparum*, yaitu titik kromatin ganda, infeksi multipel per eritrosit, dan tidak ada pembesaran sel darah merah yang terinfeksi; dan tahap selanjutnya mirip dengan *Plasmodium malariae*, contohnya trofozoit yang berbentuk pita.^{11,47}

Metode pemeriksaan yang akurat mengidentifikasi *Plasmodium knowlesi* adalah PCR. Metode ini terbukti sensitif dan spesifik dibandingkan dengan metode mikroskopis, terutama pada kasus kepadatan parasit rendah.¹⁴ Teknik PCR yang sering digunakan adalah metode *nested*. Gen yang menjadi target PCR adalah gen *small subunit ribosomal RNA* (SSUrRNA). Primer yang digunakan pada reaksi pertama adalah rPLU3 (TTT TTA TAA GGA TAA CTA CGG AAA AGC TGT) dan rPLU4 (TAC CCG TCA TAG CCA TGT TAG GCC AAT ACC). Sedangkan primer untuk reaksi kedua adalah Pmk8 (GTT AGC GAG AGC CAC AAA AAA GCG AAT) dan Pmkr9 (ACT CAA AGT AAC AAA ATC TTC CGT A). Fragmen hasil PCR adalah sebesar 153 bp.²¹

Kekurangan metode PCR adalah metode ini tidak dapat digunakan untuk diagnosis cepat, alat dan bahannya mahal, dan tidak dapat dilakukan di fasilitas kesehatan primer seperti puskesmas. Oleh karena itu, untuk kepentingan pengobatan jika fasilitas PCR tidak tersedia, gejala klinis yang berat, parasitemia lebih dari 5000/ μ l darah, pemeriksaan mikroskopis menunjukkan *Plasmodium malariae*, dan ada riwayat bepergian ke hutan atau pinggiran hutan di daerah Asia Tenggara, maka infeksi malaria yang terjadi patut dicurigai adalah malaria *knowlesi*.⁴⁸

Pengobatan

Karena *Plasmodium knowlesi* bereplikasi setiap 24

jam sehingga jumlah parasit bertambah dengan cepat, maka diagnosis dan pengobatan secara cepat harus dilakukan untuk menghindari komplikasi fatal. Infeksi *Plasmodium knowlesi* tanpa komplikasi dapat diobati dengan obat malaria yang ada saat ini. Obat yang paling sensitif adalah artemisin, disusul dengan klorokuin. Sedangkan meflokuin terbukti kurang sensitif.^{35,49} Pengobatan dengan primakuin tidak diperlukan, karena *Plasmodium knowlesi* tidak mempunyai bentuk residual di hepar, seperti halnya malaria *vivax* atau *ovale*.³³ Infeksi *Plasmodium knowlesi* dengan komplikasi sebaiknya ditangani sesuai dengan panduan pengobatan malaria berat dari WHO.¹² Komplikasi biasanya terjadi jika jumlah parasit 35,000/ l atau jumlah trombosit 45,000/ l.⁵⁰

Kesimpulan

Plasmodium knowlesi telah lama dikenal sebagai parasit yang menginfeksi kera. Tetapi beberapa dekade terakhir diketahui bahwa *Plasmodium knowlesi* dapat menginfeksi manusia melalui perantara nyamuk Anopheles grup Leucosphyrus. Gejala klinis malaria *knowlesi* hampir sama dengan malaria lain. Perbedaannya terletak pada siklus demam yaitu quotidian, disamping gejala gastrointestinal dan trombositopenia. Pemeriksaan mikroskopis sulit membedakan *Plasmodium knowlesi* dengan spesies plasmodium lainnya. Pemeriksaan paling baik adalah dengan PCR. Infeksi *Plasmodium knowlesi* memberikan respon yang baik terhadap artemisin dan klorokuin.

Saran

Plasmodium knowlesi dapat mengakibatkan penyakit yang berat, oleh karena itu penularannya perlu diwaspadai terutama jika pada suatu daerah ditemukan kera ekor panjang (*Macaca fascicularis*), kera ekor babi (*Macaca nemestrina*), atau langur (*Presbytis melalophos*) dan nyamuk Anopheles grup Leucosphyrus. Selain itu, perlu dicari cara yang lebih praktis untuk mendeteksi infeksi *Plasmodium knowlesi* secara laboratorium karena pemeriksaan mikroskopis tidak dapat diandalkan dan pemeriksaan PCR membutuhkan alat yang canggih, biaya yang mahal, dan tenaga laboratorium yang terlatih.

Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. Amrul Munif, M.Sc dan Prof. Dr. Setiawan Koesdarto, drh, M.Sc atas kesediaan Beliau memberikan masukan untuk artikel ini.

Daftar pustaka

1. WHO. World Malaria Report 2011. Geneva: World Health Organization; 2012.
2. WHO. World Malaria Report 2013. Geneva: World Health Organization; 2014.
3. Herdiana H, Fuad A, Asih PB, Zubaedah S, Arisanti RR, et al. Progress towards malaria elimination in Sabang Municipality, Aceh, Indonesia. *Malar J.* 2013 Jan 30;12:42.
4. Antinori S, Galimberti L, Milazzo L, Corbellino M. Biology of human malaria plasmodia including *Plasmodium knowlesi*. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2012;4(1):e2012013.
5. Bruce-Chwatt LJ. Alphonse Laveran's discovery 100 years ago and today's global fight against malaria. *J R Soc Med.* 1981 Jul;74(7):531-6.
6. Cox FE. History of the discovery of the malaria parasites and their vectors. *Parasit Vectors.* 2010 Feb 1;3(1):5.
7. White NJ. *Plasmodium knowlesi*: the fifth human malaria parasite. *Clin Infect Dis.* 2008 Jan 15;46(2):172-3.
8. Alias H, Surin J, Mahmud R, Shafie A, Mohd Zin J, et al. Spatial distribution of malaria in Peninsular Malaysia from 2000 to 2009. *Parasit Vectors.* 2014 Apr 15;7:186.
9. Jeremiah S, Janagond AB, Parija SC. Challenges in diagnosis of *Plasmodium knowlesi* infections. *Trop Parasitol.* 2014 Jan;4(1):25-30.
10. Cox-Singh J, Singh B. Knowlesi malaria: newly emergent and of public health importance? *Trends Parasitol.* 2008 Sep;24(9):406-10.
11. Singh B, Daneshvar C. Human infections and detection of *Plasmodium knowlesi*. *Clin Microbiol Rev* 2013;26:165784.
12. Singh B, Daneshvar C. *Plasmodium knowlesi* malaria in Malaysia. *Med J Malaysia.* 2010 Sep;65(3):166-72.
13. Singh B, Kim Sung L, Matusop A, Radhakrishnan A, Shamsul SS, et al. A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *Lancet.* 2004 Mar 27;363(9414):1017-24.
14. Yusof R, Lau YL, Mahmud R, Fong MY, Jelip J, et al. High proportion of knowlesi malaria in recent malaria cases in Malaysia. *Malar J.* 2014 May 3;13:168.
15. Figtree M, Lee R, Bain L, et al. *Plasmodium knowlesi* in human, Indonesian Borneo. *Emerg Infect Dis.* 2010; 16: 672-4.
16. Sulistyaningsih E, Fitri LE, Loscher T, Berens-Riha N. Diagnostic difficulties with *Plasmodium knowlesi* infection in humans. *Emerg Infect Dis.* 2010; 16:1033-4.
17. Sermwittayawong N, Singh B, Nishibuchi M, Sawangjaroen N, Vuddhakul V. Human *Plasmodium knowlesi* infection in Ranong province, southwestern border of Thailand. *Malar J.* 2012 Feb 8;11:36.
18. Khim N, Siv S, Kim S, Mueller T, Fleischmann E, et al. *Plasmodium knowlesi* infection in humans, Cambodia, 2007-2010. *Emerg Infect Dis.* 2011 Oct;17(10):1900-2.
19. Cox-Singh J. Knowlesi malaria in Vietnam. *Malar J.* 2009 Nov 26;8:269.
20. Luchavez J, Espino F, Curameng P, Espina R, Bell D, et al. Human Infections with *Plasmodium knowlesi*, the Philippines. *Emerg Infect Dis.* 2008 May;14(5):811-3.
21. Ng OT, Ooi EE, Lee CC, Lee PJ, Ng LC, et al. Naturally acquired human *Plasmodium knowlesi* infection, Singapore. *Emerg Infect Dis.* 2008 May;14(5):814-6.
22. Jiram AI, Vythilingam I, Noor Azian YM, Yusof YM, Azahari AH, Fong MY. Entomologic investigation of *Plasmodium knowlesi* vectors in Kuala Lipis, Pahang, Malaysia. *Malar J* 2012;11:213.
23. Hoosen A, Shaw MT. *Plasmodium knowlesi* in a traveller returning to New Zealand [ABSTRACT]. *Travel Med Infect Dis.* 2011 May;9(3):144-8.
24. Cordina CJ, Culleton R, Jones BL, Smith CC, MacConnachie AA, Coyne MJ, Alexander CL. *Plasmodium knowlesi*: Clinical Presentation and Laboratory Diagnosis of the First Human Case in a Scottish Traveler [ABSTRACT]. *J Travel Med.* 2014 May 26.

25. Link L, Bart A, Verhaar N, van Gool T, Pronk M, Scharnhorst V. Molecular detection of *Plasmodium knowlesi* in a Dutch traveler by real-time PCR. *J Clin Microbiol*. 2012 Jul;50(7):2523-4.
26. Ta TT, Salas A, Ali-Tammam M, Martínez Mdel C, Lanza M, Arroyo E, Rubio JM. First case of detection of *Plasmodium knowlesi* in Spain by Real Time PCR in a traveller from Southeast Asia. *Malar J*. 2010 Jul 27;9:219.
27. Bronner U, Divis PC, Färnert A, Singh B. Swedish traveller with *Plasmodium knowlesi* malaria after visiting Malaysian Borneo. *Malar J*. 2009 Jan 16;8:15.
28. Kantele A, Marti H, Felger I, Müller D, Jokiranta TS. Monkey malaria in a European traveler returning from Malaysia. *Emerg Infect Dis*. 2008 Sep;14(9):1434-6.
29. Sabbatani S, Fiorino S, Manfredi R (2012) *Plasmodium knowlesi*: from Malaysia, a novel health care threat. *Infez Med* 20: 5–11.
30. Jongwutiwes S, Buppan P, Kosuvin R, Seethamchai S, Pattanawong U, et al. *Plasmodium knowlesi* Malaria in humans and macaques, Thailand. *Emerg Infect Dis*. 2011 Oct;17(10):1799-806.
31. Cox-Singh J, Davis TM, Lee KS, Shamsul SS, Matusop A, et al. *Plasmodium knowlesi* malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. *Clin Infect Dis*. 2008 Jan 15;46(2):165-71.
32. Imai N, White MT, Ghani AC, Drakeley CJ. Transmission and control of *Plasmodium knowlesi*: a mathematical modelling study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014 Jul 24;8(7):e2978.
33. Collins WE. *Plasmodium knowlesi*: a malaria parasite of monkeys and humans. *Annu Rev Entomol*. 2012;57:107-21.
34. Pain A, Böhme U, Berry AE, Mungall K, Finn RD, et al. The genome of the simian and human malaria parasite *Plasmodium knowlesi*. *Nature*. 2008 Oct 9;455(7214):799-803.
35. Vadivelan M, Dutta T. Recent advances in the management of *Plasmodium knowlesi* infection. *Trop Parasitol*. 2014 Jan;4(1):31-4.
36. Manguin S, Garros C, Dusfour I, Harbach RE, Coosemans M. Bionomics, taxonomy, and distribution of the major malaria vector taxa of *Anopheles* subgenus *Cellia* in Southeast Asia: an updated review. *Infect Genet Evol*. 2008 Jul;8(4):489-503
37. 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;7:52
38. Vythilingam I, Noorazian YM, Huat TC, Jiram AI, Yusri YM, et al. *Plasmodium knowlesi* in humans, macaques and mosquitoes in peninsular Malaysia. *Parasit Vectors*. 2008 Aug 19;1(1):26.
39. 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
40. Garnham PC. A new sub-species of *Plasmodium knowlesi* in the long-tailed macaque. *J Trop Med Hyg*. 1963; 66:156–158.
41. Lee KS, Divis PC, Zakaria SK, Matusop A, Julin RA, et al. *Plasmodium knowlesi*: reservoir hosts and tracking the emergence in humans and macaques. *PLoS Pathog*. 2011 Apr;7(4):e1002015.
42. Spangler WL, Gribble D, Abildgaard C, Harrison J. *Plasmodium knowlesi* malaria in the Rhesus monkey. *Vet Pathol*. 1978 Jan;15(1):83-91.
43. Rajahram GS, Barber BE, Yeo TW, Tan WW, William T. Case Report: Fatal *Plasmodium knowlesi* Malaria Following an Atypical Clinical Presentation and Delayed Diagnosis. *Med J Malaysia*. 2013 Feb;68(1):71-72.
44. Lau YL, Tan LH, Chin LC, Fong MY, Noraishah MA, et al. *Plasmodium knowlesi* reinfection in human. *Emerg Infect Dis*. 2011 Jul;17(7):1314-5.
45. Barber BE, William T, Jikal M, Jilip J, Dhararaj P, et al. *Plasmodium knowlesi* malaria in children. *Emerg Infect Dis*. 2011 May;17(5):814-20.
46. Daneshvar C, Davis TM, Cox-Singh J, Rafa'ee MZ, Zakaria SK, et al. Clinical and laboratory features of human *Plasmodium knowlesi* infection. *Clin Infect Dis*. 2009 Sep 15;49(6):852-60.
47. Sermwittayawong N, Singh B, Nishibuchi M, Sawangjaroen N, Vuddhakul V. Human *Plasmodium knowlesi* infection in Ranong province, southwestern

- border of Thailand. *Malar J.* 2012 Feb 8;11:36.
48. Lee KS, Cox-Singh J, Singh B. Morphological features and differential counts of *Plasmodium knowlesi* parasites in naturally acquired human infections. *Malar J.* 2009 Apr 21;8:73.
 49. Fatih FA, Staines HM, Siner A, Ahmed MA, Woon LC, et al. Susceptibility of human *Plasmodium knowlesi* infections to anti-malarials. *Malar J.* 2013 Nov 19;12:425.
 50. Willmann M, Ahmed A, Siner A, Wong IT, Woon LC, et al. Laboratory markers of disease severity in *Plasmodium knowlesi* infection: a case control study. *Malar J.* 2012 Oct 30;11:363.