

## Abstract

*Plasmodium vivax* is the most widely distributed human malaria parasite and a major cause of morbidity of people outside Africa. One of the unique characteristics of this parasite is early gametocytogenesis which happened much earlier than other human malaria parasites. Most *P. vivax* patients are thus expected to carry gametocytes in their blood circulation before seeking treatment, allowing the parasites ample times to be transmitted. In the areas of stable malaria transmission, the villagers who have had multiple episodes of malaria seem to have a higher chance of carrying asymptomatic infection due to acquired immunity against the parasite. These infections, even at very low parasite density, have been shown to be infective to mosquitoes and therefore contribute to the reservoir of transmission. Although *P. vivax* infections in endemic areas are mostly asymptomatic and associated with very low parasite density called sub-microscopic carriers, they are deemed important for maintaining malaria transmission with unknown gametocytes and infectivity levels. The relative contribution to transmission of symptomatic and asymptomatic infected-*P. vivax* peoples is still unclear. We have developed a surrogate markers for detecting infective gametocytes and to demonstrate the transmissibility of *P. vivax* at low gametocyte density. Serial dilution of *P. vivax* infected blood from malaria patients was performed in this study as the presenter of very low density of *P. vivax*-gametocyte and used them in membrane feeding assays. The qPCR-based assay was used to quantify the expression level of the gametocyte specific markers, *pvs25* and *pvs16*, from the diluted blood samples and relate to the infectivity in the mosquito. In this study, both *Pvs25* and *Pvs16* were successfully used as molecular markers for gametocyte detection in sub-microscopic carrier and as a surrogate molecular markers for infective gametocytes of *P. vivax*.

Keyword: *Plasmodium vivax*, Gametocytogenesis, Mosquito Infectivity, and Transmission blocking vaccine.

## บทคัดย่อ

พลาสโมเดียมไวแวกซ์ (*P. vivax*) เป็นเป็นเชื้อมาลาเรียที่มีการแพร่กระจายมากที่สุดและเป็นสาเหตุสำคัญของการเจ็บป่วยของผู้คนที่อยู่นอกทวีปแอฟริกา ลักษณะเด่นที่สำคัญของเชื้อ *P. vivax* คือกระบวนการสร้างระยะสืบพันธุ์เกิดขึ้นเร็วกว่าเชื้อมาลาเรียชนิดอื่น โดยเชื้อสามารถสร้างระยะสืบพันธุ์ก่อนที่ผู้ติดเชื้อจะแสดงอาการป่วย ซึ่งทำให้การแพร่กระจายของเชื้อจากคนไปสู่คนเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ในพื้นที่ที่มีระบาดของเชื้อมาลาเรียอย่างต่อเนื่องคงที่ ชาวบ้านที่ติดเชื้อซ้ำๆ จะมีโอกาสพัฒนาไปเป็นผู้ติดเชื้อที่ไม่แสดงอาการได้เนื่องจากการสร้างภูมิคุ้มกันขึ้นมา แม้การติดเชื้อส่วนใหญ่จะเป็นแบบไม่แสดงอาการและมีความหนาแน่นของเชื้อต่ำมาก (sub-microscopic carriers) แต่ถือว่ามีส่วนสำคัญในการแพร่กระจายของเชื้อมาลาเรียในพื้นที่ การจะบอกถึง contribution ในการแพร่เชื้อจากคนไปสู่คนในกลุ่มผู้ป่วยแบบแสดงอาการและไม่แสดงอาการนั้นยังไม่มีวิธีที่ชัดเจน เราจึงได้พัฒนา Molecular markers สำหรับใช้ในการตรวจหาระยะสืบพันธุ์ของเชื้อ *P. vivax* โดยได้มีจำลองทำการเจือจางเชื้อให้มีปริมาณต่ำเพื่อ แล้วนำไปให้ยุงกินเลือดด้วยวิธี membrane feeding assay เพื่อแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการแพร่ของเชื้อ *P. vivax* ที่มีปริมาณต่ำๆ และทำการทดสอบโดยใช้ qPCR ใช้เพื่อหาปริมาณระดับการแสดงออกของgenes ในระยะมีเพศ โดยการตรวจหา pvs25 และ pvs16 ในการศึกษาพบว่าทั้ง Pvs25 และ Pvs16 มีความไวสูงสามารถใช้เป็น Molecular markers ในการตรวจหาความสามารถในการแพร่ของเชื้อ *P. vivax* จากคนไปสู่ยุง

คำสำคัญ: พลาสโมเดียมไวแวกซ์, กระบวนการสร้างระยะสืบพันธุ์, การติดเชื้อในยุง และ วัคซีน