

บทคัดย่อ

เชื้อโปรโตซัว *Leishmania siamensis* เป็นปรสิตที่ก่อโรคติดเชื้ออุบัติใหม่ในคนไทยที่ไม่มีการเดินทางไปยังต่างประเทศ รวมทั้งมีรายงานความก่อโรคในโคและม้าในทวีปยุโรปและอเมริกา ปัจจุบันยังไม่มีการวิจัยความรู้พื้นฐานด้านความก่อโรคของการติดเชื้อ *L. siamensis* ในหนูทดลองต้นแบบ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการติดเชื้อและพยาธิวิทยาในหนูทดลอง BALB/c ที่ได้รับการฉีดเชื้อ *L. siamensis* ระยะ metacyclic promastigote จำนวน 5×10^6 ตัว/หนูทดลอง เข้าทางใต้ผิวหนัง ช่องท้อง และหลอดเลือดดำ ส่วนหนูกลุ่มควบคุมได้รับการฉีดด้วย 1xPBS แทน ในวันที่ 7 14 28 และ 112 วันหลังการฉีดเชื้อ ได้ตรวจหาเชื้อจาก impression smear ของตับ ม้าม และจาก buffy coat smear ภายใต้อกล้องจุลทรรศน์ร่วมกับเทคนิค PCR เพื่อตรวจหา DNA ของ *L. siamensis* นอกจากนี้ได้เปรียบเทียบค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น น้ำหนักตับและม้าม และตรวจทางจุลพยาธิวิทยาของตับ ม้าม และไตโดยย้อมเนื้อเยื่อด้วยสี H&E ผลการตรวจ impression smear พบว่าหลังจากการติดเชื้อเข้าทางหลอดเลือดดำในวันที่ 7 14 และ 28 พบเชื้อแพร่กระจายในตับและม้ามในระดับสูงกว่ากลุ่มควบคุมและเส้นทางอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยในวันที่ 112 ตรวจไม่พบเชื้อในตับ แต่ยังคงพบเชื้อในม้ามในระดับสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลการตรวจพบ DNA ของเชื้อในทั้ง 2 อวัยวะในวันดังกล่าว ในวันที่ 7 และ 14 หลังการติดเชื้อเข้าทางหลอดเลือดดำพบค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) น้ำหนักของตับมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมในวันที่ 7 14 และ 28 หลังการติดเชื้อเข้าทางหลอดเลือด และน้ำหนักของม้ามมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมในทุกๆระยะเวลาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) การติดเชื้อเข้าทางหลอดเลือดดำ พบจำนวน granuloma ในตับมากกว่ากลุ่มควบคุมในทุกๆระยะเวลาที่ทำการศึกษา ($p < 0.05$) ส่วนการตอบสนองทางซีรั่มวิทยาพบว่าหนู BALB/c ให้ผลบวกต่อการติดเชื้อ *L. siamensis* ในวันที่ 112 หลังการติดเชื้อเข้าทางช่องท้องเท่านั้น ผลการศึกษานี้เป็นงานวิจัยแรกที่ได้ยืนยันว่าเชื้อ *L. siamensis* สามารถก่อโรคในหนูทดลอง BALB/c ได้ โดยการติดเชื้อเข้าทางหลอดเลือดดำและทางช่องท้อง ซึ่งสามารถเป็นต้นแบบในการศึกษาโรคการติดเชื้อลิวมาเนียในอวัยวะภายในได้

คำหลัก: *Leishmania siamensis*, หนูสายพันธุ์ BALB/c, การทำให้เกิดเชื้อโดยการทดลอง, พยาธิวิทยา

Abstract

Leishmania siamensis is a newly emerged parasitic protozoan causing autochthonous infection in human in Thailand as well as in cattle and horse in Europe and USA. Since fundamental pathologic research of *L. siamensis* infection using murine experimental model is lacking, the aim of this research was to study parasite burden and pathology in BALB/c mice experimentally inoculated with 5×10^6 *L. siamensis* promastigotes via subcutaneous (s.c.), intraperitoneal (i.p.) and intravenous route (i.v.). Control group was injected with 1x PBS via the same routes. On 7, 14, 28 and 112 days post-infection, dpi, microscopic examination of Giemsa-stained impression smear and molecular detection of *L. siamensis* DNA of liver and spleen were conducted to evaluate parasite burden. Hematocrit values, weights of livers and spleens were determined and comparatively evaluated among different routes and time points. Histopathology of liver, spleen and kidney was performed from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections and H&E staining. By enumeration of amastigote-positive tissues from impression smear, levels of parasite burden in liver and spleen on 7, 14 and 28 dpi via i.v. route were found significantly higher than did other treatment and control groups ($p < 0.05$). On 112 dpi via i.v. route, no parasite was detected in liver whereas significantly high level of amastigotes was still persistent in spleen ($p < 0.05$). These results were also correlated with findings of *L. siamensis* DNAs in both organs during these time points. Compared to the control group, hematocrit values of intravenously inoculated mice were significantly lower on 7 and 14 dpi ($p < 0.05$). The weights of liver in such group were significantly higher on 7, 14, 28 dpi similar to the weights of spleen in which they were significantly higher in all time points ($p < 0.05$). The numbers of liver granuloma were significantly greater in all time points ($p < 0.05$). Infection with *L. siamensis* via i.p. route was the only route of inoculation capable of inducing serological responses using direct agglutination test on 112 dpi. This study is the first to demonstrate that *L. siamensis* is pathogenic in experimental BALB/c mouse via i.v. and i.p. routes hence serving as a murine model for visceral leishmaniasis.

Keywords: *Leishmania siamensis*; BALB/c mouse; experimental infection; pathology