

## 5. เอกสารอ้างอิง

Ahmed S, Colmenares M, Soong L, Goldsmith-Pestana K, Munstermann L, Molina R, McMahon-Pratt D. Intradermal infection model for pathogenesis and vaccine studies of murine visceral leishmaniasis. *Infection & Immunity*. 2003; 71: 401–410

Ana Nieto, Gustavo Domínguez-Bernal, José A Orden, Ricardo De La Fuente, Nadia Madrid-Elena, and Javier Carrión Mechanisms of resistance and susceptibility to experimental visceral leishmaniasis: BALB/c mouse versus syrian hamster model. *Vet Res* 2011; 42(1): 39

Apiwathanasorn C, Sucharit S, Surathin K, Deesin T. Anthropophilic and zoophilic phlebotomine sand flies (Diptera, Psychodidae) from Thailand. *J Am Mosq Control Assoc* 1993 Jun; 9(2): 135-7

Bualert L, Charungkiattikul W, Thongsuksai P, *et al.* Autochthonous disseminated dermal and visceral leishmaniasis in an AIDS patient, southern Thailand, caused by *Leishmania siamensis* [case report]. *Am J Trop Med Hyg* 2012; 86: 821-4

Carrión J., Nieto A., Iborra S., Iniesta V., Soto M., Folgueira C., Abanades D. R., Requena J. M., Alonso C. Immunohistological features of visceral leishmaniasis in BALB/c mice. *Parasite Immunol*. 2006. 28

Chusri S, Hortiwakul T, Silpapojakul K, Siriyasatien P. Consecutive cutaneous and visceral leishmaniasis manifestations involving a novel leishmania species in two HIV patients in Thailand [case report]. *Am J Trop Med Hyg* 2012; 87: 76-80

Chusri S, Thammapalo S, Silpapojakul K, Siriyasatien P. Animal reservoirs and potential vectors of *Leishmania siamensis* and potential vectors of *Leishmania Siamensis* in southern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2014 Jan; 45: 13-18

Croft SL, Buffet PA. Leishmaniasis. In: Goldman L, Ausiello D, eds. *Cecil Medicine*. 24th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2011: chap 356.

Day M. Immunoglobulin G subclass distribution in canine leishmaniasis: a review and analysis of pitfalls in interpretation. *Vet Parasitol*. 2007. 147:2-8.

de Moura TR, Novais FO, Oliveira F, Clarencio J. Toward a Novel Experimental Model of Infection To Study American Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania braziliensis*. *Infection and Immunity* 2005 Sept; 5827–5834

Kanjanopas K, Siripattanapipong S, Ninsaeng U, Hitakarun A, Jitkaew S, Kaewtaphaya P, Tanariya P, Mungthin M, Charoenwong C and Leelayoova S. *Sergentomyia* (Neophlebotomus) gemmea, a potential vector of *Leishmania siamensis* in southern Thailand. *BMC Infectious Diseases* 2013; 13: 333

Kongkaew, P Siriarayaporn, S Leelayoova, K Supparatpinyo, D Areechokchai, K Chanachai, TSukmee, Y Samung and P Sridurongkathum. Autochthonous visceral leishmaniasis: a report of a second case in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2007; 38: 8-12

Lafuse WP, Story R, Mahylis J. *Leishmania donovani* Infection Induces Anemia in Hamsters by Differentially Altering Erythropoiesis in Bone Marrow and Spleen. 2013. Plos one.10.1371/journal.pone.0059509

Lobsiger L, Muller N, Schweizer T, *et al.* An autochthonous case of cutaneous bovine leishmaniasis in Switzerland. *Vet Parasitol* 2010; 169: 408-14

Lobsiger L, Müller N, Schweizer T, Frey CF, Wiederkehr D, Zumkehr B, Gottstein B: An autochthonous case of cutaneous bovine leishmaniasis in Switzerland. *Vet Parasitol* 2010, 169: 408–414.

Magill AJ. *Leishmania* species. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7th ed. Philadelphia, Pa: Elsevier Churchill Livingstone; 2009: chap 256.

Maharom P, Siripattanapipong S, Mungthin M, *et al.* Visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2008; 39: 988-90

Müller N, Welle M, Lobsiger L, Stoffel MH, Boghenbor KK, Hilbe M, Gottstein B, Frey CF, Geyer C, von-Bomhard W: Occurrence of *Leishmania* sp. In cutaneous lesions of horses in Central Europe. *Vet Parasitol* 2009, 166: 346–351.

Nieto, G. Dominguez-Bernal, J.A. Orden, R. De La Fuente, N. Madrid-Elena, J. Carrion. Mechanisms of resistance and susceptibility to experimental visceral leishmaniasis: BALB/c mouse versus Syrian hamster model. *Vet. Res* 2011; 42: 39

Pirdel L, Hosseini AZ, Rasouli M. Immune response in susceptible BALB/c mice immunized with DNA encoding Lipophosphoglycan 3 of *Leishmania infantum*. *Parasite Immunol.* 2014. 36:700-707.

Prianti MG, Yokoo M, Saldanha LC. *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi*-infected mice as a model for the study of glomerular lesions in visceral leishmaniasis. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40: 819-823

Reuss SM, Dunbar MD, Calderwood Mays MB, Owen JL, Mallicote MF, Archer LL, Wellehan JF Jr: Autochthonous *Leishmania siamensis* in Horse, Florida, USA. *Emerg Infect Dis* 2012, 18: 1545–1547.

Rohousova I. Volf P. Sand fly saliva: effects on host immune response and *Leishmania* transmission. *Folia Parasitol (Praha)* 2006 Sep; 53(3): 161-71

Siripattanapipong, Khositnithikul R, Naaglor T, Ravel C, Baidouri FE, and Leelayoova S. Autochthonous Disseminated Dermal and Visceral Leishmaniasis in an AIDS Patient, Southern Thailand, Caused by *Leishmania siamensis*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2012; 86: 821–824

Suankratay C, Suwanpimolkul G, Wilde H, Siriyasatien P. Case report: Autochthonous visceral leishmaniasis in a human immunodeficiency virus (HIV)-infected patient: The first in Thailand and review of the literature *Am J Trop Med Hyg* 2010; 82: 4-8

Sukmee T, Siripattanapipong S, Mungthin M, Worapong J, Rangsin R, Samung Y, Kongkaew W, Bumrungsana K, Chanachai K, Apiwathanasorn C, Rujirojindakul P, Wattanasri S, Ungchusak K, Leelayoova S: A suspected new species of *Leishmania*, the causative agent of visceral leishmaniasis in a Thai patient. *Int J Parasitol* 2008; 38: 617–622

Sukmee T, Juntasiriyakorn S, Kanjanophas K. Situation of Leishmaniasis in Thailand. *Weekly Epidemiological Surveillance Report* 2011; 42: 260-264

Sukra K, Kanjanopas K, Amsakul S, Rittaton V, Mungthin M, Leelayoova S: A survey of sandflies in the affected areas of leishmaniasis, southern Thailand. *Parasitol Res* 2013; 112: 297–302

Tiwananthakorn S, Iwabuchi K, Ato M, Sakurai T, Kato H, Katakura K. Involvement of CD4+ Foxp3+ regulatory T cells in persistence of *Leishmania donovani* in the liver of alymphoplastic aly/aly mice. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(8):e1798. doi: 10.1371/journal.pntd.0001798.

Wiwanitkit V. Bone marrow leishmaniasis: a review of situation in Thailand. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 2011: 757-759

Zijlstra EE, Musa AM, Khalil EA, El-Hassan IM, El-Hassan AM. Post-kala-azar dermal leishmaniasis. *Lancet Infect. Dis*. 2003. 3:87–98

## 6. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณแหล่งทุนวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา และทุนรัชดาภิเษกสมโภช จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ขอขอบคุณ ศ. พ.อ.หญิง เสาวนีย์ ลีละยูวะ และ จ.ส.อ. ทวี นาคหล่อ วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้าในความเอื้อเฟื้อเชื้อ *Leishmania siamensis* ที่ใช้ในการทดลอง ขอขอบคุณนักวิจัยจากสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ในความอนุเคราะห์ด้านสถานที่เลี้ยงสัตว์ทดลอง และการร่วมเก็บตัวอย่าง ได้แก่ สพ.ญ.มนทกานต์ วงษ์ภากร และนักวิจัยที่ให้ความร่วมมือในการทำการทดลองนำร่อง ได้แก่ สพ.ญ.ดวงทอง ปัจฉิมะศิริ สพ.ญ. ลัดดา ตรงวงศา น.สพ. เจษฎา รัตโณภาส สพ.ญ. จันทรา วัฒนะเมธานนท์ ขอขอบคุณ น.สพ. อรุณ ชุมแก้ว นายสัตวแพทย์ชำนาญการ สังกัดสำนักงานปศุสัตว์จังหวัดสงขลา ในคำแนะนำการคำนวณจำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง และนายพันธ์พิภช ครุฑคำ อดีตนักวิทยาศาสตร์ประจำหน่วยปรสิตวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 7. ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

### 7.1 วิธีการตรวจหาการติดเชื้อ

นอกเหนือจากวิธีการประเมินการติดเชื้อเชิงคุณภาพ ได้แก่ การตรวจหา amastigote ในเนื้อเยื่อเป้าหมาย (ตับ ม้าม และเลือด) โดยวิธีทางกล้องจุลทรรศน์ (microscopic examination) และการตรวจด้วยวิธีกึ่งเชิงปริมาณโดยเทคนิค conventional PCR แล้วนั้น นักวิจัยสามารถประเมินระดับของการติดเชื้อได้จากเทคนิค quantitative real-time PCR ซึ่งจะทำให้สามารถประเมินจำนวนเชื้อปรสิตได้มีความไวและแม่นยำมากขึ้น

### 7.2 อวัยวะอื่นที่เชื่ออาจแพร่กระจายไป

นอกเหนือจากตับและม้ามที่เป็นอวัยวะเป้าหมายของเชื้อ *Leishmania* spp. ในการเพิ่มจำนวนและมีการตอบสนองต่อการติดเชื้อในระดับเซลล์แล้ว ไชกระดูกก็เป็นอีกอวัยวะที่เชื่อมักแฝงตัวอยู่ และเป็นอวัยวะที่นิยมใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อ *Leishmania* species อื่นอย่างเรื้อรังทั้งในสุนัขและในคน นอกจากนี้ มีรายงานการตรวจพบ DNA ของ *Leishmania siamensis* จากน้ำลายและปัสสาวะของผู้ป่วย สังกัดหลังทั้ง 2 ชนิดนี้จึงเป็นเป้าหมายที่นักศึกษาต่อไปสำหรับ animal model เนื่องจากวิธีการเก็บตัวอย่างจะไม่ทำให้สัตว์เจ็บ (non-invasive technique) และสามารถเป็นแหล่งประเมินการติดเชื้อได้

### 7.3 การพัฒนาหนูทดลองต้นแบบ BALB/c โดยการฉีดเชื้อเข้าทางผิวหนัง

จากที่ได้ทดลองฉีดเชื้อเข้าทางใต้ผิวหนังฝ่าเท้า พบว่าหนูอายุ 6-8 สัปดาห์มีฝ่าเท้าที่เล็กมาก จึงไม่สามารถรับปริมาตรเชื้อได้ตามกำหนด การรอให้หนูมีขนาดตัวที่ใหญ่ขึ้นอาจสามารถช่วยแก้ปัญหาได้ และสามารถตอบคำถามได้ว่าหนูสายพันธุ์นี้จะเป็นต้นแบบในการเหนี่ยวนำให้เกิดรอยโรคที่ผิวหนังได้หรือไม่ รวมทั้งเชื้อ *Leishmania siamensis* สามารถแพร่กระจายไปยังอวัยวะภายในได้หรือไม่

### 7.4 การฉีดเชื้อที่มีจำนวนเชื้อที่แตกต่างกันเป็นลำดับ

จากรายงานวิจัยของการติดเชื้อ *Leishmania* species อื่นในหนู พบว่าจำนวนเชื้อ (inoculum size) มีผลต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ต่างประเภทกัน บางรายงานพบว่าการฉีดเชื้อจำนวนน้อย สามารถเหนี่ยวนำการตอบสนองที่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ดี ในขณะที่เชื้อจำนวนมากสามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาได้อย่างชัดเจน แต่หนูเสียชีวิตจากการเกิดโรคอย่างรุนแรง การฉีดเชื้อที่มีจำนวนเชื้อที่แตกต่างกันเป็นลำดับจึงสามารถพัฒนาเป็นต้นแบบใน

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางภูมิคุ้มกันทั้งชนิดมีมาแต่กำเนิดและแบบฟุ้งเชลล์ได้ และอาจนำไปสู่การใช้เป็นต้นแบบของการผลิตวัคซีนป้องกันเชื้อ รวมถึงสามารถฉีดเชื้อพิษหัดเพื่อประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนภายหลังได้

### 7.5 การพัฒนาต้นแบบหนูทดลองสายพันธุ์เลือดชนิดอื่น

นอกจากหนู BALB/c ซึ่งเป็นหนูสายพันธุ์เลือดชนิดที่นิยมใช้เป็นต้นแบบในการศึกษาการติดเชื้อ intracellular pathogen หลายชนิด ได้แก่ *Toxoplasma gondii* รวมทั้งเชื้อ *Leishmania* เนื่องจากมีพันธุกรรมที่ตอบสนองต่อการติดเชื้อเหล่านี้ในแบบ T helper 2 response (Th2-prone mouse strain) ยังมีหนูอีกหลายสายพันธุ์ที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นต้นแบบได้ในแง่ของการมีความบกพร่องทางภูมิคุ้มกัน ซึ่งสามารถเลียนแบบการติดเชื้อในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV ได้

### 7.6 การศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันสารน้ำ

นอกเหนือจากการตรวจหาการตอบสนองทางซีรั่มวิทยาด้วยวิธี direct agglutination test แล้ว การตรวจแยกประเภทของ immunoglobulin จากน้ำเลือดก็จะสามารถเปรียบเทียบการตอบสนองทางซีรั่มวิทยาในเชิงลึกและมีหลักฐานสนับสนุนการเกิดพยาธิสภาพได้ว่าหนูมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบประเภท Th1 หรือ Th2