

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

Canine monocytic ehrlichiosis หรือ CME เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ehrlichia canis* (*E. canis*) ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการป่วยและตายทั้งในสุนัขป่าและสุนัขบ้าน การติดต่อ สามารถติดต่อจากการได้รับเลือดจากสุนัขที่มีเชื้อและมีการติดเชื้อโดยมีเห็บเป็นพาหะ โดยเห็บที่เป็นพาหะของเชื้อนี้ได้แก่ *Rhipicephalus sanguineus* หรือเห็บสีน้ำตาล นอกจากนี้ยังพบมีรายงานว่า *Dermacenter variabilis*, *Amblyomma americana* สามารถนำเชื้อ *E. canis* ได้ (Goldman et al., 1999) การติดเชื้อ *E. canis* นั้นมีรายงานครั้งแรกในประเทศอิตาลีในปี ค.ศ. 1935 (Donatien and Lestoquard, 1935) ปัจจุบันพบมีการระบาดของเชื้อ *E. canis* และโรค CME ทั่วโลก เชื้อเออร์ลิเชียที่พบในสุนัขไทยได้แก่ *E. canis* และ *A. platys* (Suksawat et al., 2001) ซึ่งเห็บที่เป็นพาหะที่สำคัญคือ *Rhipicephalus sanguineus*

หลังจากสุนัขได้รับเชื้อ จะมีระยะฟักตัวประมาณ 8-20 วัน และจะเข้าสู่การติดเชื้อระยะเฉียบพลัน (acute phase) ซึ่งกินเวลาประมาณ 2-4 สัปดาห์ (Parnell, 2003) อาการที่พบมีความหลากหลายและไม่จำเพาะตั้งแต่เบาจนรุนแรงถึงตายเช่น มีไข้สูง มีน้ำมูก น้ำตา เยื่อตาอักเสบ อ่อนเพลีย น้ำหนักลด เบื่ออาหาร เลือดหยุดไหลช้า โดยอาจยังตรวจไม่พบระดับแอนติบอดีในระยะนี้เพราะต้องใช้เวลอย่างน้อย 1-2 สัปดาห์ในการสร้างแอนติบอดีขึ้นหรืออาจตรวจพบในระดับที่น้อย นอกจากนี้ยังตรวจพบภาวะเกล็ดเลือดต่ำ (thrombocytopenia) ที่มีสาเหตุจาก immune-mediated และสามารถตรวจพบกลุ่มเชื้อหรือที่เรียกว่า มอรูลาร์ (morulae) ภายในเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดได้ จากนั้นจะเข้าสู่ระยะติดเชื้อแต่ไม่แสดงอาการ (subclinical phase) ซึ่งช่วงนี้กินเวลาไม่นานอน อาจจะเป็นเดือนจนถึงปี ซึ่งสุนัขจะเข้าสู่ระยะนี้เป็นเพราะได้รับการรักษาที่ไม่เหมาะสมหรือไม่ได้รับการรักษา ระยะนี้จะพบภาวะ thrombocytopenia เล็กน้อยและตรวจพบระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อสูงกว่าระยะเฉียบพลันเมื่อตรวจด้วยวิธี immunofluorescent (Waner, 1998) ในสุนัขที่ระบบภูมิคุ้มกันดีจะสามารถกำจัดเชื้อได้ในระยะนี้ แต่ถ้าระบบภูมิคุ้มกันไม่สามารถกำจัดเชื้อได้ก็จะเข้าสู่ระยะเรื้อรัง (chronic phase) ต่อไป อย่างไรก็ตามเป็นการยากที่จะแยกระยะเหล่านี้จากการติดเชื้อตามธรรมชาติ

ปัจจัยที่มีผลต่อการกำจัดเชื้อออกจากร่างกายนั้นมีหลายอย่างเช่น สายพันธุ์ของเชื้อ ภาวะที่มีการติดเชื้อแทรกซ้อน สภาพร่างกาย สภาพของระบบภูมิคุ้มกันของสุนัข ซึ่งพบว่าภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ (cell mediated immunity: CMI) มีบทบาทสำคัญในการกำจัดเชื้อมากกว่าภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำ (humoral mediated immunity: HMI) (Harrus et al., 1999) ในสุนัขพันธุ์เยอรมันเชพเพอร์ด์

ซึ่งมีลักษณะด้อยประจำพันธุ์ที่พบว่า CMI มีประสิทธิภาพน้อยเมื่อเทียบกับพันธุ์อื่น จึงเป็นพันธุ์ที่มีความไวต่อการติดเชื้อ *E. canis* มากที่สุด (Searcy, 2001) ผลเสียที่เกิดตามมาจากแอนติบอดีที่สร้างขึ้นจากการติดเชื้อจะทำให้เกิดความเสียหายต่อระบบต่างๆของร่างกาย โดยเมื่อแอนติบอดีที่เกิดขึ้นจับกับแอนติเจนเกิดเป็น immune complex และไปยังอวัยวะต่างๆ แล้วโน้มนำให้เกิดการอักเสบตามมาด้วยกระบวนการภูมิคุ้มกันไวเกินชนิดที่ 3 (hypersensitivity type III) โดยมักจะมีไตเป็นอวัยวะหนึ่งที่ได้รับผลกระทบจาก immune complex นี้ (Codner and Farris-Smith, 1986; Codner et al., 1992) ในระยะเรื้อรังของการติดเชื้อ *E. canis* จะพบพยาธิสภาพที่ไตในลักษณะ immune-mediated glomerulonephritis (Grauer, 2003) ซึ่งมีสาเหตุจากการมีแอนติเจนสะสมในร่างกายเป็นเวลานานและกระตุ้นให้การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายเกิดความผิดปกติไป โดยพยาธิกำเนิดของ immune-mediated glomerulonephritis เริ่มต้นจากการเกิด immune complex ไปสะสมตามโกลเมอรูลัส กระตุ้นปฏิกิริยาอักเสบพร้อมกับการเข้ามาของคอมพลีเมนต์ชนิดที่สำคัญได้แก่ C3a, C5a และ C567 (Coufer and Panciera, 2001) เกิดการทำลายของเซลล์และเนื้อเยื่อบริเวณนั้น ปัจจัยที่ทำให้เกิด immune-mediated glomerulonephritis ได้แก่ ลักษณะของ immune complex ที่ต้องมีขนาดเล็กและจำนวนมากในระดับหนึ่ง ซึ่งจะพบได้ในภาวะที่มีระดับของแอนติเจนในร่างกายเท่ากับหรือสูงกว่าแอนติบอดีเล็กน้อย สำหรับ immune complex ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ไม่ค่อยอันตรายเนื่องจากจะถูกกำจัดโดยกระบวนการเก็บทำลาย (phagocytosis) และเนื่องจากมีการอักเสบในส่วนของโกลเมอรูลัส จึงสามารถพบภาวะ proteinuria ได้ในระยะเรื้อรัง (Grauer, 1993; Grauer, 2003)

เนื่องจากประเทศไทยเป็นบริเวณหนึ่งที่สามารถพบการติดเชื้อ *E. canis* เป็นจำนวนมาก และมีการระบาดของโรค และพบว่าสุนัขที่มีภาวะ proteinuria ทางคลินิกมักพบว่ามี การติดเชื้อ *E. canis* ร่วมด้วย ทั้งแบบเฉียบพลัน กึ่งเฉียบพลัน และเรื้อรัง (chronic form) อีกทั้งข้อมูลทางด้านพยาธิกำเนิดจากชนิด immunoglobulin ใน immune complex ของเชื้อในประเทศไทยยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาภาวะโปรตีนในปัสสาวะและพยาธิคลินิกของโรคไตจาก immune complex จากการติดเชื้อ *E. canis* ในประเทศไทย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาข้อมูลพยาธิคลินิกของ glomerulonephropathy จากการทดลองติดเชื้อ *E. canis* ในสุนัข

ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาโดยการทดลองติดเชื้อ *E. canis* ในสุนัขทดลอง โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาหลังจากติดเชื้อ โดยเน้นศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยาของไตเปรียบเทียบกับสุนัขกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ทำการติดเชื้อ การศึกษาประกอบด้วย การตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของค่า hematology, blood chemistry, urinalysis และศึกษารอยโรคจากการติดเชื้อ *E. canis* โดยการชันสูตรซาก ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาในส่วนโกลเมอรูลัสของไตโดยการย้อมสี H&E และการย้อมสีพิเศษ ทำการตรวจหาการสะสมของอิมมูโนโกลอบูลินที่ส่วนโกลเมอรูลัสด้วยเทคนิคอิมมูโน โนฮิสโตเคมี และศึกษาโกลเมอรูลัสของไตในระดับจุลกายวิภาค (ultrastructure) ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน

ข้อตกลงเบื้องต้น

การศึกษานี้เป็นการศึกษาการติดเชื้อ *E. canis* โดยทำการศึกษาโดยทำการติดเชื้อเข้าเส้นเลือดของสุนัขทดลอง และผลการวิจัยจะตอบคำถามดังต่อไปนี้

การติดเชื้อ *E. canis* ในสุนัขสามารถก่อให้เกิดพยาธิสภาพและการอักเสบของไตส่วนโกลเมอรูลัสได้หรือไม่

ข้อจำกัดของการวิจัย

งานวิจัยนี้มีข้อจำกัดที่สุนัขที่ใช้ในการทดลอง ซึ่งไม่ใช่สุนัขที่เลี้ยงมาเพื่อทำการวิจัยโดยเฉพาะ ทำให้การวิเคราะห์ผลการทดลอง กรณีที่เป็นผลสืบเนื่องมาจากการติดเชื้อทำได้ยาก

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

(ไทย) อิมมูโนคอมเพลกซ์ โมโนไซติกเออร์ลิชไอซิส สุนัข โกลเมอรูลัส

(อังกฤษ) immune complex, monocytic ehrlichiosis, canine, glomerulus

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้รับทราบข้อมูลและองค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับพยาธิคลินิกของ glomerulonephropathy จากการติดเชื้อ *E. canis* จากการทดลอง เพื่อใช้เป็นพื้นฐานในการค้นคว้าต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

แสดงระยะเวลาการดำเนินงานตั้งแต่ เดือนมีนาคม พ.ศ. 2547 จนถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2548

กิจกรรม	/2547												/2548		ดัชนีชี้วัด	
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	11	12	1	2		
1.ศึกษาข้อมูลเก่าและหาข้อมูลเพิ่ม	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*			1.ทราบข้อมูลการวิจัย
2.ฝึกปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการ	*	*	*	*	*	*										2.ได้ทักษะและปฏิบัติการวิจัยได้
3.เลี้ยงสุนัขและเตรียมตัวอย่าง					*	*	*	*	*	*	*	*				3.ได้ตัวอย่าง
4.ปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการ				*	*	*	*	*	*	*	*	*				4.ได้ข้อมูล
5.เก็บและรวบรวมข้อมูล				*	*	*	*	*	*	*	*	*	*			5.ได้ข้อมูล
6.วิเคราะห์และสรุปผล											*	*	*	*		6.ได้ข้อมูลสรุป
7.เขียนรายงานและนำเสนอ													*	*		7.ได้รายงานฉบับสมบูรณ์

ลำดับขั้นตอนในการเสนอผลการวิจัย

ประกอบด้วยผลจากการศึกษาทางคลินิก การศึกษาทางพยาธิวิทยา จุลพยาธิวิทยา การศึกษาทางอิมมูโน โนฮิสโตเคมี และผลการศึกษาในระดับจุลทรรศน์อิเล็กตรอน