

**COMPARATIVE STUDY OF TOXOPLASMOSIS AND
NEOSPOROSIS IN PREGNANT DAIRY CATTLE**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
(TROPICAL MEDICINE)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2008

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การศึกษาเปรียบเทียบโรคที่ออกโซพลาสโมซิสและโรคนีโอสปอโรซิสในโคตั้งท้อง
(COMPARATIVE STUDY OF TOXOPLASMOSIS AND NEOSPOROSIS IN PREGNANT DAIRY CATTLE)

จิตรบรรจง เวียงเจริญ 4537229 TMTM/D

ปร.ด.(อายุรศาสตร์เขตร้อน)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : เยาวลักษณ์ สุขชนะ, M.D. (Hons), Andrew Thompson, Ph.D.(Biology),
ปานเทพ รัตนากร, M.SC. (Pathobiology), Hannes Wickert, Ph.D.

บทคัดย่อ

Toxoplasma gondii และ *Neospora caninum* เป็นเชื้อโปรโตซัวที่มีความคล้ายคลึงกันมากทั้งรูปร่าง ลักษณะโครงสร้าง, พันธุกรรม, และภูมิคุ้มกัน ในปัจจุบันเชื่อว่าเชื้อ *N.caninum* เป็นสาเหตุสำคัญของการแท้งในโคเนื้อและโคนมทั่วโลก ในขณะที่ไม่มีรายงานว่าเชื้อ *T.gondii* เป็นสาเหตุของการแท้งในโค โคจึงจัดว่าเป็นโฮสต์ที่สำคัญที่สุดของเชื้อ *N.caninum* แต่ถือเป็นโฮสต์ที่มีความต้านทานสูงต่อเชื้อ *T.gondii* กล่าวคือโคสามารถติดเชื้อ *T.gondii* ได้แต่มีจะไม่แสดงอาการป่วยใดๆ

อย่างไรก็ตามเชื้อสายพันธุ์รุนแรงอาจให้ผลที่แตกต่างกัน การทดลองนี้จึงทำขึ้นเพื่อศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการถ่ายทอดเชื้อระหว่าง *T.gondii* กับ *N.caninum* ผ่านทางรกของแม่โคไปสู่ลูกโคระหว่างที่แม่โคกำลังตั้งท้องระยะกลางโดยแบ่งโค 8 ตัวออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 โคจำนวน 3 ตัวจะถูกฉีดเชื้อ *N.caninum* สายพันธุ์ NC-1 strain จำนวน 3.0×10^8 tachyzoites เข้าได้ผิวหนัง กลุ่มที่ 2 โคจำนวน 4 ตัวจะถูกฉีดเชื้อ *T.gondii* สายพันธุ์ RH strain จำนวน 3.0×10^8 tachyzoites เข้าได้ผิวหนัง และวัวอีก 1 ตัวจะเป็น control ไม่ฉีดเชื้ออะไรเลย อาการของโรค การถ่ายทอดเชื้อผ่านทางรกจากแม่โคไปสู่ลูกโค การแพร่กระจายตัวของเชื้อในโค รวมทั้งการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของแม่โคจะถูกบันทึกเพื่อนำมาเปรียบเทียบ

ผลการทดลองปรากฏว่าแม่โคทั้งหมดมีไข้ตั้งแต่วันที่ 2 จนถึงวันที่ 4 หลังจากถูกฉีดเชื้อเข้าไป แม่โค 2 ตัวจากทั้งหมด 4 ตัวในกลุ่มที่ถูกฉีดเชื้อ *T.gondii* แท้งในวันที่ 6 และ 11 หลังฉีดเชื้อและตรวจพบ tachyzoites ของ *T.gondii* หรือ DNA ของ *T.gondii* โดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีสตรี้ (immunohistochemistry) หรือปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) ตามลำดับ ในแม่โคทั้ง 4 ตัวกับลูกโคอีก 3 ตัว ดังนั้นการแพร่ของเชื้อ *T.gondii* ผ่านทางรกจากแม่สู่ลูกนั้นเกิดขึ้นในโค 3 ตัวหรือร้อยละ 75 ส่วนแม่โคทั้ง 3 ตัวในกลุ่มที่ถูกฉีดเชื้อ *N.caninum* เข้าไปนั้นไม่มีตัวใดแท้งเลย แม่โคคลอดลูกโคที่มีอาการปกติออกมา 2 ตัวโดยทั้ง 2 ตัวมีแอนติบอดี IgG ที่จำเพาะต่อ *N.caninum* ตั้งแต่แรกเกิด ดังนั้นการแพร่ของเชื้อ *N.caninum* ผ่านทางรกจากแม่สู่ลูกนั้นเกิดขึ้นในโค 2 ตัวหรือร้อยละ 66.7

สำหรับการตอบสนองของแอนติบอดี IgG เฉพาะต่อเชื้อ *N.caninum* และ *T.gondii* ที่พบในแม่โคนั้น มีรูปแบบการตอบสนองที่คล้ายกัน ในแม่โคทั้งสองกลุ่มคือเริ่มตรวจพบเป็นครั้งแรกตั้งแต่วันที่ 7 หรือวันที่ 14 หลังจากถูกฉีดเชื้อและค่อยๆสูงขึ้นเรื่อยๆจนสูงสุดในวันที่ 35-42 หลังจากถูกฉีดเชื้อจากนั้นจะค่อยๆลดลงแต่ก็ยังคงมีอยู่จนกระทั่งจบการทดลองแต่ค่าเฉลี่ยของระดับไตเตอร์ของแอนติบอดี IgG ที่เฉพาะต่อ *T.gondii* นั้นจะมีระดับสูงกว่าค่าเฉลี่ยของไตเตอร์ของแอนติบอดี IgG ที่เฉพาะต่อ *N.caninum* เกือบตลอดการทดลอง ส่วนการตอบสนองของแอนติบอดี IgM ในโคทั้งสองกลุ่มนั้นพบว่าเริ่มตรวจพบครั้งแรกตั้งแต่วันที่ 2 หลังจากโคถูกฉีดเชื้อและมีระดับสูงสุดในวันที่ 6 – 10 หลังจากฉีดเชื้อแล้วจะค่อยๆลดลงแต่ก็ยังอยู่ตลอดการทดลอง

ผลการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่า *T.gondii* RH strain ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่รุนแรงนั้นมีความสามารถในการแบ่งตัวหรือพัฒนาเจริญเติบโตในร่างกายของโคได้และเมื่อแม่โคติดเชื้อครั้งแรกขณะที่กำลังตั้งท้องอยู่ เชื้อสามารถทำให้เกิดการแพร่กระจายผ่านทางรกจากแม่โคสู่ลูกโคและทำให้เกิดการแท้งในโคได้เช่นเดียวกับ

N.caninum

COMPARATIVE STUDY OF TOXOPLASMOSIS AND NEOSPOROSIS IN PREGNANT DAIRY CATTLE

JITBANJONG WIENGCHAROEN 4537229 TMTM/D

Ph.D.(TROPICAL MEDICINE)

THESIS ADVISOR: YAOWALARK SUKTHANA, M.D. (HONS); ANDREW THOMPSON, Ph.D. (BIOLOGY); PARNTEP RATTANAKORN, M.SC. (PATHOBIOLOGY), HANNES WICKERT, Ph.D.

ABSTRACT

Although *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* are very similar in their structure, genetics and immunology, only *N. caninum* is now recognized as the major cause of abortion and congenital infection in cattle worldwide. Cattle are susceptible to *N. caninum* but are resistant to *T. gondii*. Transplacental transmission of bovine neosporosis is thought to be very common, while transplacental transmission of toxoplasmosis in cattle is rare. However, virulent parasite strains might cause the different consequences. This experiment was performed to compare transplacental transmission ability of *T. gondii* RH strain and *N. caninum* NC1 strain in pregnant cattle. One uninfected pregnant heifer served as a control. Two groups of pregnant heifers were inoculated subcutaneously with 3.0×10^8 tachyzoites of *N. caninum* NC1 strain or *T. gondii* RH strain at mid-gestation. The resultant disease in both dams and fetuses, indicated by clinical manifestations, parasite distribution, and the specific parasite antibody responses, were investigated and compared.

All infected dams showed low fever. Two of four pregnant heifers from the *T. gondii*-infected group aborted on days 6 and day 11 pi, respectively. *T. gondii* tachyzoites or *T. gondii* DNA were detected by immunohistochemistry (IHC) or polymerase chain reaction (PCR), respectively, from sample tissues from all four dams, and three of four fetuses from the *T. gondii*-infected group. The evidence showed transplacental transmission of toxoplasmosis in 3 of 4 dams (75%). No abortion occurred in the *N. caninum*-infected group. Two of three dams gave birth to clinically normal, but seropositive, newborn calves. *N. caninum* DNA was found only in the placental tissue of one dam, which gave birth to a full-term calf, but no other dam tissues or fetal tissues. *N. caninum* tachyzoites were not found in the tissues of dams, calves, or fetus. Thus, transplacental transmission of neosporosis occurred in 2 of 3 dams (67%).

The specific antibody response patterns to both pathogens in the dams were similar. Specific IgG antibodies were first detected from day 7 or 14 pi, and reached a peak on days 35 – 42 pi. Specific IgM antibodies were first detected on day 2 pi, reached a peak on days 6-10 pi, then gradually declined and remained positive throughout the experiment. The mean specific antibodies to *T. gondii* in the *T. gondii*-infected group were higher than those of the *N. caninum* group.

The results showed that *T. gondii* RH strain can propagate in cattle; it has the potential to cause transplacental transmission and abortion like *N. caninum* NC1 strain in cattle following primary infection during gestation.

KEY WORDS: *TOXOPLASMA GONDII* / *NEOSPORA CANINUM* / ABORTION /
TRANSPLACENTAL TRANSMISSION / CATTLE

132 pp.