

**GENETIC CHARACTERIZATION OF *TOXOPLASMA GONDII*
FROM FREE-RANGE CHICKENS IN THAILAND**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY (TROPICAL MEDICINE)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2009**

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

GENETIC CHARACTERIZATION OF *TOXOPLASMA GONDII*
FROM FREE-RANGE CHICKENS IN THAILAND

KAMLANG CHUMPOLBANCHORN 4838804 TMTM/D

Ph.D. Ph.D. (TROPICAL MEDICINE)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: YAOWALARK SUKTHANA, DIP. THAI BOARD
IN OTO-RHINO-LARYNGOLOGY, PONGRAMA RAMASOOTA, Ph.D., ANDREW
THOMPSON, Ph.D., HANNES WICKERT, Ph.D

ABSTRACT

Toxoplasma gondii infection in free-range (FR) chicken (*Gallus domesticus*) is a potential public health risk. Since chickens are resistant to clinical toxoplasmosis, humans may become infected with this parasite after eating undercooked infected chicken meat. There have been no reports of confirmed *T. gondii* infection in Thai chickens. The objectives of this present study are to explore prevalence of the infection and genotype of *T. gondii* from FR chickens in Thailand. Antibodies for *T. gondii* were found in 194 out of 303 serum samples (64.03 %) tested by the indirect fluorescent antibody test (IFAT, 1:16). To verify the validity of serologic data in this survey, sera from chickens experimentally infected with the RH strain of *T. gondii* were tested by the IFAT over a 12-week period. Antibodies against *T. gondii* were detected as early as 7 days post inoculation, peaked at 2 weeks, and then declined for the remaining 10 weeks post inoculation.

No viable *T. gondii* was successfully isolated from tissues of seropositive chickens (n=15). However, *T. gondii* DNA was detected in 2 out of 40 chickens. The positive samples were found in the spleen and brain of the chickens with IFAT titer of 1:16 and <1:16, respectively. Both of them were *B1* genes nested-PCR positive. Even though *SAG1* and *SAG2* genes were also used as genetic markers, neither of them gave positive results. Based on the phylogenetic tree, *T. gondii* found in FR chickens in Thailand (Ck5NjTh2009 and Ck7NjTh2009) were approximately 99.7% and 100% similar to the RH strain (genotype I), respectively.

The high seroprevalence of *T. gondii* in this study stresses the need to raise chickens in a biosecure environment for food safety purposes since chicken meat and offal are involved in the human food chain.

KEY WORDS: *Toxoplasma gondii* / SEROPREVALENCE / FREE-RANGE CHICKENS /
Gallus domesticus / GENETIC CHARACTERIZATION

103 pages

ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อ *Toxoplasma gondii* จากไก่เลี้ยงปล่อยในประเทศไทย

GENETIC CHARACTERIZATION OF *TOXOPLASMA GONDII* FROM
FREE-RANGE CHICKENS IN THAILAND

กำลัง ชุมพลบุญชร 4838804 TMTM/D

ปร.ด. (อายุรศาสตร์เขตร้อน)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: เขวาลักษณ์ สุขชนะ, DIP. THAI BOARD IN OTO-RHINO-
LARYNGOLOGY, พงศ์ราม รามสุต, Ph.D., ANDREW THOMPSON, Ph.D., HANNES WICKERT, Ph.D.

บทคัดย่อ

ไก่เลี้ยงปล่อย (*Gallus domesticus*) ที่ติดเชื้อ *Toxoplasma gondii* จัดเป็นปัจจัยเสี่ยงประการหนึ่งทางด้านสาธารณสุข เนื่องจากมนุษย์อาจติดเชื้อนี้ได้จากการบริโภคเนื้อไก่ที่ติดเชื้อและปรุงไม่สุก โดยที่ไก่ติดเชื้อเหล่านี้จะไม่แสดงอาการผิดปกติให้เห็น ในประเทศไทยยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาเชื้อโปรโตซัวนี้ในไก่เลี้ยงปล่อยมาก่อน ดังนั้นการศึกษารุ่นนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่ต้องการทราบความชุกของการติดเชื้อและชนิดของเชื้อนี้ในไก่เลี้ยงปล่อย จากการตรวจทางซีรัมวิทยาด้วยวิธี indirect fluorescent antibody test (IFAT, 1:16) พบว่าไก่เลี้ยงปล่อยที่ศึกษาจำนวนทั้งสิ้น 303 ตัวอย่าง มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *T. gondii* เป็นจำนวน 194 ตัวอย่าง หรือคิดเป็นร้อยละ 64.03 เพื่อเป็นการยืนยันว่าผลการตรวจทางซีรัมวิทยาด้วยวิธี IFAT ในครั้งนี้มีความถูกต้องและน่าเชื่อถือ จึงได้ทำการทดลองโดยการฉีดเชื้อ *T. gondii* สายพันธุ์ RH เข้าไปในไก่ทดลอง แล้วตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นด้วยวิธี IFAT ปรากฏว่าสามารถตรวจพบระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ *T. gondii* ได้เร็วที่สุดภายหลังจากที่ฉีดเชื้อไปแล้ว 7 วัน และพบระดับภูมิคุ้มกันสูงสุดในสัปดาห์ที่ 2 ภายหลังจากที่ฉีดเชื้อ หลังจากนั้นระดับภูมิคุ้มกันจะค่อยๆ ลดลงในสัปดาห์ที่ 10 หลังจากที่ฉีดเชื้อ

ถึงแม้ว่าในการศึกษารุ่นนี้ จะไม่ประสบความสำเร็จในการเพาะแยกเชื้อ *T. gondii* จากอวัยวะภายในของไก่ที่มีภูมิคุ้มกันจำนวน 15 ตัวอย่าง แต่สามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ *T. gondii* ได้ใน 2 ตัวอย่าง จากไก่จำนวน 40 ตัว สารพันธุกรรมที่ตรวจพบนี้ได้มาจากม้ามของไก่ที่มีระดับภูมิคุ้มกัน 1:16 และจากเนื้อสมองของไก่ที่มีระดับภูมิคุ้มกันต่ำกว่า 1:16 โดยสารพันธุกรรมของเชื้อ *T. gondii* ทั้ง 2 ตัวอย่างนี้ตรวจพบด้วยวิธี nested-PCR และตรวจพบได้เฉพาะกับยีน *BI* เท่านั้น ส่วนยีน *SAG1* และ *SAG2* ไม่สามารถตรวจพบสารพันธุกรรมได้ จากการเปรียบเทียบรหัสพันธุกรรมด้วย phylogenetic tree ของ 2 ตัวอย่างที่พบในไก่เลี้ยงปล่อยในประเทศไทย พบว่า Ck5NjTh2009 และ Ck7NjTh2009 มีความเหมือนกับตัวอย่างอ้างอิง (RH strain) ซึ่งเป็นชนิด I (genotype I) ประมาณร้อยละ 99.7 และ ร้อยละ 100 ตามลำดับ

การตรวจพบความชุกของการติดเชื้อ *T. gondii* ในไก่เลี้ยงปล่อยที่สูงครั้งนี้ จึงเป็นข้อมูลที่ชี้ถึงการที่ต้องให้ความสำคัญในการเลี้ยงไก่ในสภาพแวดล้อมที่มีความปลอดภัยทางชีวภาพ เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค เนื่องจากเนื้อและเครื่องในไก่อยู่ในห่วงโซ่อาหารของมนุษย์