- 4 OCT 2001

A PATHOLOGICAL STUDY IN MICE EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *SARCOCYSTIS SPP.* FROM CATTLE

TAPEE SIRISOM

อภินันทนาการ
จาก
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENTS FOR

THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (PATHOBIOLOGY)

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

2001

ISBN 974-04-0525-8

Copyright by Mahidol University

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
T192P
2001
C.2

3936175 SCPA/M : MAJOR : PATHOBIOLOGY ; M.Sc. (PATHOBIOLOGY)

KEY WORDS : *SARCOCYSTIS*/PREVALENCE IN CATTLE/EXPERIMENT IN MICE/IMMUNOFLUORESCENT ANTIBODY TEST

TAPEE SIRISOM : A PATHOLOGICAL STUDY IN MICE EXPRIMENTALLY INFECTED WITH *SARCOCYSTIS SPP.* FROM CATTLE. THESIS ADVISORS : GALAYANEE DOUNGCHAWEE M.Sc., LAKANA HIMAKOUN M.Sc., PRAWAT NITIYANANT MD. 95 P. ISBN 974-04-0525-8

Sarcocystosis has recently been recognized as a significant clinical illness in human manifested as fever, eosinophilia, myositis, muscle weakness, and chronic discharging sinus. The cyst forming-like coccidian was suspected in intestinal tissue of patients with segmental eosinophilic enteritis and segmental necrotizing enteritis.

This thesis is concerned with the pathological study of *Sarcocystis* as it occurs in cattle to test if the implications are relevant for humans. *Sarcocystis* infections have been reported to be widespread in cattle throughout Thailand. In this study, prevalence of sarcocyst was found as high as 95.9 % of commonly consuming meat specimens studied (48 cattle, 17 buffalo). Of which 3.1 % was evident by naked eyes and 90.8 % supported by histology study. So, there is a high possibility of transmission to people who ingested improperly cooked meat. However, there is no conclusive evidence which indicates whether this parasite induces pathology in humans. Accordingly, we decided to investigate the pathologic potential of this commonly found *Sarcocystis* parasite in an experimental mouse model. After oral inoculation of meat containing 10^6 bradyzoite of *Sarcocystis* parasite to mouse, we attempted to evaluate the pathogenicity of such parasites on various tissues study by histopathology and direct immuno-fluorescent study with our own prepared FITC conjugate of anti-bradyzoite polyclonal antibodies and by stool examination. The tests showed no obvious evidence of any developmental stage of *Sarcocystis* parasite. Whereas study on internal organ tissues, showed sporadic infiltration of inflammatory cells such as eosinophils, lymphocytes, and plasma cells in the gastrointestinal mucosal area of experimental mice at day 1,7,14 30, and 45 after inoculation. Also fecal examination by flotation technique showed no evidence of infective oocyst in these animals. This tends to indicate that mice cannot develop an appropriate pathological feature as occur in human after artificial inducement of this parasite derived from cattle. It is also possible that mice are not the natural host for this species of *Sarcocystis*.

On the basis of our experimental results we conclude that the contagious spread of sarcocyst in meat through non-specific host is for the most part without foundation with regard to humans.

3936175 SCPA / M : สาขาวิชา : พยาธิชีววิทยา ; วท.ม. (พยาธิชีววิทยา)

เทพี สิริสม : การศึกษาพยาธิสภาพในหนูทดลองที่ได้รับพยาธิเม็ดข้าวสาร (A PATHOLOGICAL STUDY IN MICE EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *SARCOCYSTIS SPP.* FROM CATTLE) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : กัลลยานี ดวงฉวี วท.ม., ลักขณา หิมะคุณ วท.ม., ประวัติ นิธิยานันท์ พบ., 95 หน้า ISBN 974-04-0525-8

จากรายงานผู้ป่วยที่พบพยาธิเม็ดข้าวสารหรือของพยาธิซาร์โคซิสติส (*Sarcocystis spp.*) ในกล้ามเนื้อและมีอาการไข้สูง กล้ามเนื้ออักเสบ หายใจลำบาก และมีเซลล์อีโอสิโนฟิลในเลือดสูงขึ้น นอกจากนั้นมีผู้ป่วยจากโรคลำไส้อักเสบส่วนหนึ่งพบลักษณะคล้ายซีสต์ของพยาธิ์ซาร์โคซิสติสในชิ้นเนื้อส่วนที่เกิดพยาธิสภาพ แต่ยังไม่มีหลักฐานยืนยันบ่งชี้ชัดเจนว่าพยาธิ์ซาร์โคซิสติสเป็นสาเหตุที่ก่อพยาธิสภาพ อย่างไรก็ตามมีรายงานการตรวจพบพยาธิ์ซาร์โคซิสติสแพร่ระบาดสูงในสัตว์ที่คนใช้เป็นอาหารในชีวิตประจำวัน เช่น วัวควาย ผลการศึกษาครั้งนี้จากการสำรวจตัวอย่างเนื้อวัวควายที่วางขายตามท้องตลาดและจากโรงฆ่าสัตว์ในเขตกรุงเทพฯและจังหวัดใกล้เคียง พบว่าเนื้อวัวควายมีอัตราการติดพยาธิซาร์โคซิสติสสูงร้อยละ 95.9 ในจำนวนนี้สามารถตรวจพบได้ด้วยตาเปล่าซึ่งจะเห็นพยาธิลักษณะคล้ายเม็ดข้าวสารมีสีขาวขุ่นคิดเป็นร้อยละ 3.1 และเมื่อนำตัวอย่างชิ้นเนื้อดังกล่าวไปตรวจอย่างละเอียดทางพยาธิวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์พบร้อยละ 90.8

เนื่องจากสถิติการพบพยาธิ์ซาร์โคซิสติสในเนื้อวัวควายค่อนข้างสูงและไม่ทราบว่าจะก่ออันตรายหรือเป็นสาเหตุโดยตรงของการเกิดโรคในระบบทางเดินอาหารเหมือนที่รายงานในคนใช้ได้หรือไม่ จึงทำการทดลองในหนูขาว(mouse)ให้มีสภาพคล้ายการกินเนื้อสัตว์ที่มีพยาธิ์ซาร์โคซิสติส โดยการป้อนเนื้อบดที่มีระยะติดต่อของพยาธิ์ (bradyzoites) ในปริมาณ 1 ล้านตัว และติดตามผลโดยการตรวจหาเชื้อในอุจจาระและในเนื้อเยื่อด้วยวิธีทางพยาธิวิทยา (H & E staining) และทางอิมมูโนฟลูออเรสเซนต์ (direct immunofluorescent) ซึ่งใช้การติดฉลากแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ bradyzoite ปรากฏว่าไม่พบเชื้อหรือพยาธิในระยะใดๆในอุจจาระและในชิ้นเนื้อ รวมทั้งไม่พบพยาธิสภาพที่ชัดเจน ยกเว้นพบการอักเสบทั่วไปบริเวณเยื่อบุกระเพาะอาหารและลำไส้ของหนูทดลอง ซึ่งเป็นการตอบสนองของสิ่งมีชีวิตต่อภยันตรายที่เข้าสู่ร่างกายแบบไม่รุนแรง ดังนั้นการทดลองนี้สรุปว่าหนูขาว(mouse)ไม่ได้เป็นhostของพยาธิชนิดนี้ หรือพยาธิไม่ก่อพยาธิสภาพในหนูขาวที่ใช้ทดสอบ จึงไม่สามารถใช้เป็นแบบจำลองเพื่อศึกษาการก่อพยาธิสภาพภายหลังการกินเนื้อวัวที่มีพยาธิ์เม็ดข้าวสาร สำหรับคนป่วยที่มีความผิดปกติหรือมีพยาธิสภาพที่คาดว่าเกิดจากพยาธิตัวนี้ คงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อค้นหาสาเหตุที่แท้จริงต่อไป.

Copyright by Mahidol University