

ABSTRACT

Toxoplasma gondii is an intracellular parasite that causes the disease called toxoplasmosis in humans and animals worldwide. This study was aimed to investigate the seroprevalence of *Toxoplasma* infection and molecular genotyping of *T. gondii* isolated from humans, retail meat samples and cat feces. Serum from 1,400 pregnant women and 735 HIV-infected patients were determined for anti-*Toxoplasma* antibodies using ELISA method. The overall seroprevalence of *Toxoplasma* infection among pregnant women was 30.9% (432/1,400). The seropositive rate of only anti-*Toxoplasma* IgG antibodies or only IgM seropositivity was 21.8% (305/1,400) and 4.4% (61/1,400) respectively. 4.6% (66/1,400) of pregnant women were tested positive for both IgG and IgM. In HIV-infected patients, the overall seroprevalence of *Toxoplasma* infection was 27.5% (202/735). Out of the 735 HIV subjects, 26.4% (194/735) and 0.8% (6/735) were positive for only *Toxoplasma* IgG or only IgM respectively. Two cases were seropositive for both IgG and IgM. The proportion of *Toxoplasma* seroprevalence among pregnant women and HIV cases found in this study indicated the highly risk of contracting *Toxoplasma* infections; thus, the knowledge about preventive measures of this infection should be continuously informed in these people to decrease the important risk of congenital toxoplasmosis during pregnancy and to minimize the risk of reactivation of latent infection among HIV-infected patients. The DNA was extracted from blood samples of all HIV cases and 432 seropositive pregnant women to confirm the presence of *T. gondii* DNA using PCR amplification of the 529 bp repeat element. The results from all tested samples were negative for *T. gondii* DNA. Two hundreds of pork and beef meat obtained from 5 different part of each animal including brain, heart, liver, lung, and tenderloin were also negative for *T. gondii* tissue cysts when detected by PCR. This finding indicated that *Toxoplasma* infections in humans in this studied area may be not obtained from eating raw meat. We were then analyzed the molecular genotyping of 13 *T. gondii* isolated from some cat feces obtained from Hat Yai area. The PCR-RFLP patterns of *SAG1*, *SAG2*-new, *SAG3*, *BTUB* and *GRA6* markers were revealed that 1 (7.7%) isolate was type I, 2 (15.4%) isolates were type III and 1 (7.7%) isolate was type II or type III. In addition, 4 *T. gondii* isolates were characterized as mixed genotypes of alleles at different loci. The remaining 5 *Toxoplasma* isolates were not able to amplify with all markers. The presence of unusual genotypes indicated that these isolates may possibly have new virulent traits that are able to cause *Toxoplasma* infections more

severe. This is the first report of genotypic characteristics of *T. gondii* isolated from naturally infected animals in Thailand.

บทคัดย่อ

Toxoplasma gondii เป็นเชื้อปรสิตที่อาศัยอยู่ในเซลล์ ซึ่งทำให้เกิดโรคท็อกโซพลาสโมซิสทั้งในคนและสัตว์ทั่วโลก การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาความชุกของแอนติบอดีต่อการติดเชื้อ *T. gondii* และศึกษาชนิดสายพันธุ์ของเชื้อที่แยกได้จากคน เนื้อสัตว์ และอุจจาระแมว โดยเก็บตัวอย่างซีรัมจากหญิงมีครรภ์จำนวน 1,400 ราย และผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 735 ราย นำมาตรวจหาแอนติบอดีต่อ *T. gondii* ด้วยวิธี ELISA ผลการทดลองพบว่า หญิงมีครรภ์มีความชุกของการติดเชื้อรวมเท่ากับ 30.9% (432/1,400) โดย 21.8% (305/1,400) และ 4.4% (61/1,400) ให้ผลบวกต่อแอนติบอดีชนิด IgG หรือ IgM เพียงอย่างเดียวตามลำดับ และ 4.6% (66/1,400) ให้ผลบวกต่อแอนติบอดีทั้งชนิด IgG และ IgM ส่วนผู้ติดเชื้อเอชไอวี พบความชุกของการติดเชื้อรวมเท่ากับ 27.5% (202/735) โดย 26.4% (194/735) และ 0.8% (6/735) ให้ผลบวกต่อแอนติบอดีชนิด IgG หรือ IgM เพียงอย่างเดียวตามลำดับ และมี 2 รายที่ให้ผลบวกต่อแอนติบอดีทั้งชนิด IgG และ IgM จากผลการทดลองบ่งชี้ว่าหญิงมีครรภ์และผู้ติดเชื้อเอชไอวีมีความเสี่ยงสูงต่อการติดเชื้อ *T. gondii* ดังนั้น ควรมี การให้ความรู้เกี่ยวกับวิธีการป้องกันการติดเชื้อแก่ผู้ป่วยเหล่านี้อย่างต่อเนื่องเพื่อช่วยลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อจากมารดาไปยังทารกในครรภ์ และลดความเสี่ยงของการกลับเป็นซ้ำของการติดเชื้อแบบแอบแฝงในผู้ติดเชื้อเอชไอวี การตรวจหาดีเอ็นเอของ *T. gondii* จากตัวอย่างเลือดทุกรายของผู้ติดเชื้อเอชไอวีและหญิงมีครรภ์ที่ให้ผลบวกต่อการตรวจหาแอนติบอดีต่อ *T. gondii* จำนวน 432 ราย ด้วยวิธีการเพิ่มปริมาณของชิ้นส่วน 529 bp repeat element โดยวิธี PCR พบว่า ตัวอย่างที่ทดสอบตรวจไม่พบดีเอ็นเอของ *T. gondii* นอกจากนี้ การตรวจหา tissue cysts ของ *T. gondii* จากชิ้นส่วนที่แตกต่างกันของตัวอย่างเนื้อสุกรและโค ได้แก่ สมอง หัวใจ ตับ ปอด และเนื้อสะโพก จำนวน 200 ตัวอย่าง โดยวิธี PCR พบว่า ตัวอย่างที่ทดสอบทั้งหมดตรวจไม่พบ tissue cyst ของเชื้อ *T. gondii* ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อของคนที่อยู่ในบริเวณที่ทำการศึกษานี้อาจไม่ได้ติดเชื้อมาจากการรับประทานเนื้อสัตว์ดิบ ต่อมา ผู้วิจัยได้ศึกษาลักษณะสายพันธุ์ของเชื้อ *T. gondii* ด้วยวิธี PCR-RFLP โดยวิเคราะห์รูปแบบดีเอ็นเอของยีน SAG1, SAG2-new, SAG3, BTUB และ GRA6 จากเชื้อจำนวน 13 สายพันธุ์ที่แยกได้จากตัวอย่างอุจจาระแมวภายในเขตพื้นที่ของอำเภอหาดใหญ่ ผลการทดลองพบเชื้อ *T. gondii* สายพันธุ์ชนิด type I จำนวน 1 สายพันธุ์ (7.7%) สายพันธุ์ชนิด type III จำนวน 2 สายพันธุ์ (15.4%) และสายพันธุ์ชนิด type II หรือ type III จำนวน 1 ตัวอย่าง (7.7%) นอกจากนี้ พบเชื้อ *T. gondii* จำนวน 4 สายพันธุ์ที่เป็นสายพันธุ์ผสม (mixed

genotypes) ซึ่งมีการผสมของอัลลีลในตำแหน่งของยีนที่ทดสอบ ส่วนเชื้อ *T. gondii* อีก 5 สายพันธุ์พบว่าไม่สามารถเพิ่มจำนวนยีนที่ทำการศึกษาได้ทุกยีน การตรวจพบเชื้อ *T. gondii* ชนิดสายพันธุ์ที่มีความแตกต่างจากสายพันธุ์ดั้งเดิมแสดงให้เห็นว่า เชื้อสายพันธุ์เหล่านี้อาจมีความเป็นไปได้ที่จะมียีนก่อโรคชนิดใหม่ ที่สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อ *T. gondii* ที่มีความรุนแรงมากขึ้น