

## Neospora caninum infection and neosporosis

วีระ อังวัชรปการ<sup>1</sup>  
ธเนศ แยมสุวรรณ<sup>1</sup>  
วิโรจน์ ไวนิชกิจ<sup>2</sup>  
สุพรรณ สุขอรุณ<sup>3</sup>

### Abstract:

#### Neospora caninum infection and neosporosis

Angwatcharaprakarn V, Yamsuwan T, Wiwanitkit V, Soogarun S.

Department of Clinical Microscopy, Faculty of Allied Health Sciences,

Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine,

Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 10330

Songkla Med J 2004;22(2):131-135

*Neosporosis, caused by Neospora caninum, a toxoplasma-like organism, is an important infectious disease of cattle worldwide. This infection causes abortion and neurological disorder in those animals. The definitive host is dog. The main mode of transmission is transplacental. The main diagnosis is by a immunohistochemical method. The vaccination for this disease is still controversial. Although there is some evidence of human infections from serological study, there is no in-depth study in human beings.*

**Key word:** neosporosis

<sup>1</sup>วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) <sup>2</sup>วท.ม. (พยาธิคลินิก), นบ., DAP&E., รองศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะสหเวชศาสตร์

<sup>3</sup>พ.บ., อาจารย์ ภาควิชาเวชศาสตร์ชั้นสูติร คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

รับต้นฉบับวันที่ 11 เมษายน 2546 รับลงตีพิมพ์วันที่ 28 มีนาคม 2547

## บทคัดย่อ:

Neosporosis เป็นโรคที่เกิดจาก *Neospora caninum* ซึ่งเป็นปรสิตในสัตว์ที่มีความคล้ายคลึงกับ *Toxoplasma gondii* ทำให้เกิดปัญหาทางปศุสัตว์ได้ทั่วโลก โดยเฉพาะโค กระบือ และสุนัข ทำให้เกิดการแท้งในสัตว์หลายสปีชีส์และมีส่วนเกี่ยวข้องกับความผิดปกติทางระบบประสาทในตัวอย่างแรกเกิด มีสุนัขเป็น definitive host รวมทั้งการติดต่อส่วนใหญ่เป็นการติดต่อจากแม่สู่ลูกในสัตว์ การวินิจฉัยโรคนี้ทำได้หลายวิธีแต่วิธีที่จะชี้เฉพาะได้นั้นจะใช้วิธีทาง immunohistochemistry วัคซีนที่จะนำมาใช้ป้องกันนั้นก็ยังเป็นที่ถกเถียงกันอยู่ และถึงแม้ว่าเชื่อกันจะมีความเหมือนและใกล้เคียงกับ *Toxoplasma gondii* และมีรายงานการตรวจพบทางน้ำเหลือง แต่ก็ยังไม่มีการศึกษาการติดเชื้อในคนอย่างจริงจัง

คำสำคัญ: neosporosis

## บทนำ

*Neospora caninum* เป็นปรสิตที่อาศัยในเซลล์ซึ่งถูกพบครั้งแรกในสุนัขที่มีอาการ encephalomyelitis และ myositis ในปี 1984<sup>1,2</sup> ซึ่งสามารถทำให้เกิดการแท้งในสัตว์หลาย ๆ สปีชีส์และมีการติดต่อของเชื้อมานี้ได้ทั่วโลก รวมทั้งทำให้เกิดปัญหาทางปศุสัตว์ในหลาย ๆ ประเทศซึ่งการติดเชื้อส่วนใหญ่จะเกิดในสุนัข โค และกระบือ<sup>3</sup> นอกจากนี้ยังเคยพบว่ามีการติดเชื้อในสัตว์อีกหลาย ๆ ชนิด เช่น แพะ<sup>4</sup> แกะ<sup>5</sup> หรือม้า<sup>6</sup> เป็นต้น *Neospora* มีรูปร่างคล้ายคลึงกับ *Toxoplasma gondii* ในครั้งแรกจึงจัดเป็น variant หนึ่งของ toxoplasma แต่ปัจจุบันพบว่ามียีนที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยมีความต่างกันที่คุณสมบัติ antigenicity โดยวิธีทาง immunohistochemistry<sup>7</sup> โดย *Neospora* จะมีผนังเซลล์ที่หนากว่าเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์และโครงสร้าง ultrastructure ที่มีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างจาก *Toxoplasma gondii*<sup>7,8</sup> (ตารางที่ 1)

## ระบาดวิทยาและการติดต่อ

วงจรชีวิตของ *N.caninum* ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดนัก และแม้ว่าสัตว์หลายชนิดสามารถที่จะติดเชื้อนี้และทำให้เกิดโรคได้ แต่สัตว์ที่เป็น definitive host คือ สุนัข<sup>9</sup> การติดต่อนั้นสามารถติดต่อกันได้หลายทางโดยสุนัขซึ่งเป็น definitive host จะมีการปล่อย unsporulated oocysts ออกมาในอุจจาระสุนัข หลังจากนั้นกระบวนการ sporulation จะเกิดขึ้นภายนอกของร่างกายของ host และ intermediate host เช่น โค กระบือ แพะ แกะ กวาง ก็จะได้รับเชื้อนี้เข้าไปโดยการได้รับอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อน oocyst ซึ่ง tachyzoites, tissue cysts และ oocysts เป็นระยะของเชื้อที่พบได้โดย tachyzoites เป็นระยะที่เพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วและจะ

เข้าไปในเซลล์ ทำให้เกิดแผลที่เป็นลักษณะเฉพาะของโรค Neosporosis และ tachyzoites จะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป latent form คือ เป็น tissue cysts ซึ่งจะมี bradyzoite อยู่ภายในและยังสามารถพบ bradyzoite ในเนื้อเยื่อประสาททั้งส่วนกลางและส่วนปลาย เมื่อผนังของ oocyst ถูกทำลายก็จะปล่อย sporozoites และมีการแบ่งตัวจนได้ tachyzoites ซึ่งการติดต่อทางการกิน oocyst เข้าไปนั้นไม่ค่อยเป็นปัญหาทางปศุสัตว์ เพราะพบว่าในอุจจาระของสุนัขนั้นพบว่ามีปริมาณของ oocyst ค่อนข้างต่ำ<sup>11</sup> แต่การติดต่อที่เป็นปัญหาทางปศุสัตว์นั้นจะเป็นการติดต่อทางรกซึ่งการติดต่อนี้เป็นการติดต่อชนิด vertical transmission โดยในโคและกระบือพบว่ามีเชื้อติดเชื้อมาโดยวิธีนี้ค่อนข้างมาก<sup>13</sup> คือการติดต่อผ่านทางรกจากแม่ไปสู่ลูก<sup>10</sup> (transplacenta) โดย tachyzoites จากแม่จะผ่านไปสู่ลูกทำให้เกิดการติดเชื้อในตัวอย่างแรกเกิด ซึ่งการติดเชื้อของตัวอย่างแรกเกิดจะทำให้เกิดการแท้ง อ่อนเพลีย และมีอาการเกี่ยวกับประสาทหรืออาจจะได้รับเชื้อแต่ไม่แสดงอาการเลย ตัวอย่างที่เกิดจากการแท้งนั้นจะเป็นแหล่งที่ทำให้สัตว์กินเนื้อเป็นอาหารได้รับเชื้อนี้และการได้รับ oocyst ซึ่งจะเป็นการติดเชื้อแบบ horizontal transmission ในตัวอย่างแรกเกิดที่ไม่แข็งแรงอาจตายหรือรอดก็ได้ แต่ถ้ารอดจะเจริญไปเป็นสัตว์ปกติที่เป็นแหล่งสะสมเชื้อซึ่งสามารถให้ตัวอย่างที่มีเชื้ออีกต่อไป ซึ่งเรียกการติดต่อแบบนี้ว่า vertical transmission<sup>12, 14, 20</sup> การติดต่อแบบ horizontal transmission จะเกิดในสุนัขเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งจะทำให้เกิดการระบาดของเชื้อมีเป็นครั้งคราว ส่วนการติดเชื้อเรื้อรังในฝูงโคกระบือนั้นจะมีการติดเชื้อแบบ vertical transmission เป็นสำคัญ<sup>19</sup> และจนกระทั่งปัจจุบันความเข้าใจอย่างถ่องแท้เกี่ยวกับวงจรชีวิตของ *N.caninum* นั้นก็ยังเป็นที่ถกเถียงกันอยู่

## อาการแสดง

*Neospora caninum* เป็น coccidian ในกลุ่ม apicomplexan ซึ่งสามารถทำให้เกิดการแท้งในสัตว์หลาย ๆ สปีชีส์ เช่น รวมทั้งโค กระบือ แพะ แกะ ซึ่งพบว่าเชื้อมีส่วนเกี่ยวข้องกับความผิดปกติทางระบบประสาทในตัวอ่อนแรกเกิดและโรคเกี่ยวกับระบบประสาทของกล้ามเนื้อในสัตว์หลาย ๆ ชนิด เช่น สุนัข โค กระบือ แพะ และกวาง ในสุนัขอาการแสดงหลักที่เกิดขึ้นคืออาการ hindlimb paresis หรือ ataxia ซึ่งจะทำได้กล้ามเนื้ออ่อนแรง<sup>15</sup> ในสุนัขที่มีอายุต่ำกว่า 6 เดือนจะมีอาการที่ค่อนข้างรุนแรง เช่น myocarditis<sup>16</sup> pneumonia<sup>17</sup> dermatitis<sup>18</sup> ส่วนในโคและกระบือไม่มีอาการแสดงที่ชัดเจนแต่ตั้งแต่มิมีการพบว่าเชื้อมีสาเหตุของการแท้งในโค กระบือ ซึ่งการแท้งนั้นเป็นอาการทางคลินิกเพียงอย่างเดียวในโค กระบือโตเต็มวัยที่เป็นโรค Neosporosis แต่จะมีผลร้ายแรงในตัวอ่อนของวัวที่มีอายุครรภ์ตั้งแต่ 3-9 เดือน ลูกวัวที่ติดเชื้ออาจมีอาการปกติหรืออาจแสดงอาการทางประสาท อาการแสดงอื่น ๆ ที่เกิดขึ้นอาจจะพบ neurological signs เช่น hyperextended, loss of proprioception<sup>3</sup> ส่วนการติดเชื้อ *N.caninum* ในม้านั้นจะมีอาการเกี่ยวกับ encephalomyelitis, polyradiculoneuritis และ myeloencephalitis ในม้าที่โตเต็มวัย

## การวินิจฉัย

การวินิจฉัยหลักในห้องปฏิบัติการ จำเป็นต้องอาศัยการตรวจ histologic tissue lesions โดยการย้อมทาง immunohistochemical (IHC) ซึ่งจะเป็นการย้อมเนื้อเยื่อเพื่อดู cyst หรือ *N.caninum* tachyzoites ในเนื้อเยื่อ นอกจากนี้ยังมีเทคนิคทั่วไปที่จะตรวจหา antibody ในน้ำเหลืองต่อ *N.caninum* ได้แก่วิธี indirect fluorescent antibody test (IFAT), enzymelinked immunosorbent assay (ELISA) and PCR<sup>21</sup> ซึ่งแต่ละวิธีนั้นจะมีค่า sensitivity และ specificity ที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาวิธีการตรวจใหม่ ๆ เพิ่มขึ้น เช่น modified direct agglutination test (MAT) ซึ่งให้ sensitivity ถึงร้อยละ 100<sup>22</sup>

ตารางที่ 1 แสดงข้อแตกต่างบางประการระหว่าง *Neospora caninum* และ *Toxoplasma gondii*

ข้อพิจารณา	<i>Neospora caninum</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
1. definitive host	สุนัข	แมว
2. พยาธิสภาพในคน	ไม่มีรายงานการศึกษาในคน	เกิดที่ lymphoreticular system
3. ผนัง cyst	หนา	บาง
4. โปรตีนจำเพาะ	43 kDa	30 kDa (SAG1), 22 kDa (SAG2)
5. กลุ่มเสี่ยง	ผู้มีภูมิต้านทานต่ำ, ผู้เลี้ยงสุนัขและปศุสัตว์	ผู้มีภูมิต้านทานต่ำ, ผู้เลี้ยงแมวและสุนัข

## การป้องกันและควบคุม

วิธีการป้องกันและการควบคุมคือการลดความเสี่ยงในการได้รับ oocyst จากมูลสุนัขในปศุสัตว์ ซึ่งจะประสบความสำเร็จได้จากการควบคุมประชากรสุนัขในฟาร์ม ป้องกันไม่ให้สุนัขถ่ายอุจจาระใกล้แหล่งอาหารและแหล่งน้ำ รวมถึงกำจัดซากสุนัขและสัตว์ที่ตายในปศุสัตว์ การคัดตัวที่ตรวจพบ seropositive ต่อ *N. caninum* ออกจากฝูงสัตว์เพื่อลดความเสี่ยงของการติดต่อไปสู่สัตว์อื่น ค่า cut-off ของระดับ antibody ใน serum ระหว่าง seronegative และ seropositive อาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ การให้วัคซีนไม่สามารถที่จะทำให้เหมือนกับการติดเชื้อโดยธรรมชาติได้ แม้ว่าวัคซีนสำหรับ neosporosis นั้นสามารถผลิตได้ แต่ผลที่ได้จากการให้วัคซีนนั้นยังไม่เป็นที่แน่ชัด<sup>23</sup>

## การเกิดโรค neosporosis ในมนุษย์

ถึงแม้ว่าเชื้อมีความเหมือนและใกล้เคียงกับ *Toxoplasma gondii* แต่ก็ยังไม่มีการศึกษาการติดเชื้อนี้ในคนอย่างจริงจัง มีเพียงบางรายงานเท่านั้นที่ได้ทำการศึกษาการติดเชื้อนี้ในคน โดย Tranas และคณะ พบว่า 62 จาก 1,029 ตัวอย่างน้ำเหลืองจากผู้บริจาคเลือดที่ทำการศึกษาพบผลบวกต่อการติดเชื้อ *N.caninum* โดยวิธี IFA (ซึ่งในจำนวนนี้ 12 ตัวอย่างพบ immunodominant antigen (35 kDa) อย่างชัดเจน)<sup>24</sup> นอกจากนี้ Nam และคณะ ยังได้แสดงถึงปฏิกิริยาที่ให้ผลบวกต่อ *N.caninum* antigen ในน้ำเหลืองของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ toxoplasma<sup>25</sup> อย่างไรก็ตาม พยาธิสภาพในคนนั้นยังไม่มีการศึกษาที่ชัดเจน สำหรับในประเทศไทยก็มีการตรวจหา seroprevalence ของ antibody ต่อ *N.caninum* พบว่าโคกระบือในภาคกลางให้ผลบวกต่อการตรวจด้วยวิธี indirect fluorescent antibody test (IFAT) เพียงร้อยละ 6 เท่านั้น<sup>26</sup> แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาในมนุษย์

## สรุป

*N.caninum* เป็นปรสิตที่มีการติดต่อได้ทั่วโลก สำหรับในประเทศไทยก็มีการตรวจหา seroprevalence ของ antibody ต่อ *N.caninum* พบว่าโคกระบือในภาคกลางให้ผลบวกต่อการตรวจด้วยวิธี indirect fluorescent antibody test (IFAT) เพียงร้อยละ 6 เท่านั้น และถึงแม้ว่าเชืื่อนี้จะมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ *Toxoplasma gondii* และมีรายงานการตรวจพบในน้ำเหลือง แต่ก็ยังไม่มีการศึกษาการติดเชื้อในคนอย่างจริงจัง

## เอกสารอ้างอิง

1. Dubey JP, Lindsay DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol* 1996;67:1-59.
2. Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1988;192:1269-85.
3. Dubey JP. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet Parasitol* 1999;84:349-67.
4. Dubey JP, Acland HM, Hamir AN. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a still born goat. *J Parasitol* 1992; 78:532.
5. Dubey JP, Hartly WJ, Lindsay DS, Topper MJ. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. *J Parasitol* 1990;76:127.
6. Dubey JP, Porterfield ML. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. *J Parasitol* 1990;76: 732-4.
7. Barr BC, Conrad PA, Dubey JP, Anderson ML. *Neospora* like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultrastructure and immunoreactivity. *J Vet Diag Invest* 1991;3:39.
8. Lindsay DS, Speer CA, Toivio-Kinnucan MA, Dubey JP, Blagburn BL. Use of infected culture cells to compare ultrastructural features of *Neospora caninum* from dogs and *Toxoplasma gondii*. *J Am Vet Res* 1993; 54: 103.
9. McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 1998;28:1473-8.
10. Dubey JP, Lindsay DS. Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. *Am J Vet Res* 1989;50:1578-9.
11. Lindsay DS, Dubey JP, Duncan RB. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 1999;82:327-3.
12. Anderson ML, Andrianarivo AG, Conrad PA. Neosporosis in cattle. *Anim Reprod Sci* 2000;60-61:417-31.
13. Barber JS, Trees AJ. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *Int J Parasitol* 1998;28:57-64.
14. French NP, Clancy D, Davison HC, Trees AJ. Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: transmission and options for control. *Int J Parasitol* 1999;29:1691-704.
15. Barber JS, Trees AJ. Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. *Vet Rec* 1996;139:439-43.
16. Odin M, Dubey JP. Sudden death associated with *Neospora caninum* myocarditis in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 1993;203:831-3.
17. Greig B, Rossow KD, Collins JE, Dubey JP. *Neospora caninum* pneumonia in an adult dog. *J Am Vet Med Assoc* 1995;206:1000-1.
18. Ordeix L, Lloret A, Fondevila D, Dubey JP, Ferrer L, Fondati A. Cutaneous neosporosis during treatment of pemphigus foliaceus in a dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 2002;38:415-9.
19. Anderson ML, Reynolds JP, Rowe JD, Sverlow KW, Packham AE, Barr BC, et al. Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp infection in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 1997;210:1169-72.
20. Hemphill A. The host-parasite relationship in neosporosis. *Adv Parasitol* 1999;43:47-104.
21. Jenkins M, Baszler T, Bjorkman C, Schares G, Williams D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Int J Parasitol* 2002; 32:631-6.
22. Packham AE, Sverlow KW, Conrad PA, Loomis EF, Rowe JD, Anderson ML, et al. A modified agglutination test for *Neospora caninum*: development, optimization

- tion, and comparison to the indirect fluorescent-antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Diagn Lab Immunol* 1998;5:467-73.
23. Nishikawa Y, Mikami T, Nagasawa H. Vaccine development against *Neospora caninum* infection. *J Vet Med Sci* 2002;64:1-5.
24. Tranas J, Heinzen RA, Weiss LM, McAllister MM. Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6:765-7.
25. Nam HW, Kang SW, Choi WY. Antibody reaction of human anti-Toxoplasma gondii positive and negative sera with *Neospora caninum* antigens. *Korean J Parasitol* 1998;36:269-75.
26. Suteeraparp P, Pholpark S, Pholpark M, Charoenchai A, Chompoochan T, Yamane I, et al. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and associated abortion in dairy cattle from central Thailand. *Vet Parasitol* 1999; 86:49-57.