Thesis Title

Genotype and Nucleotide Sequence Polymorphism of the

56-Kilodalton Major Protein Gene

tsutsugamushi in Thailand

Author

Mrs. Salakchit Chutipongvivate

Degree

Doctor of Philosophy (Biotechnology)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Jiradej Manosroi

Chairperson

Orientia

Dr. Wattana Auwanit

Member

Assoc. Dr. Aranya Manosroi

Member

ABSTRACT

Clotted blood samples from scrub typhus patients were collected from hospitals in eight Regional Medical Sciences Centers in Thailand to determine the genotype of Orientia tsutsugamushi and nucleotide sequence polymorphism of 56-kilodalton major protein gene. The patients were diagnosed as scrub typhus based on immunofluorescence assay (IFA). The nested polymerase chain reaction (PCR) was used to identify the genotypes of O. tsutsugamushi from 84 patients. The result were confirmed by the nucleotide sequencing technique. Two distinct genotypes, Karp genotype (97.5%) and Kato genotype (2.5%) were detected. No Gilliam genotype was detected from any of the study locations. The high prevalence of Karp genotype in this study might represent a unique pattern of O. tsutsugamushi circulation in this area. The nucleotide sequence polymorphism of the 56-kilodalton major protein gene from these samples showed a high sequence homology with the reference sequence of O. tsutsugamushi Karp and Kato serotypes by using the nucleotide sequence technique. O. tsutsugamushi Karp genotype was predominant throughout Thailand. The Kato genotype was detected only in the south whereas Gilliam genotype was not detected. The present study provides data on molecular epidemiology of O. tsutsugamushi as well as the sequence of the major gene coding the antigen. This sequence would be beneficial for vaccine and diagnostic test kit development.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

จีโนทัยป์และความหลากรูปในลำดับนิวคลิโอไทค์ของ 56 กิโลดาล ตันเมเจอร์โปรตีนยีนของเชื้อ Orientia tsutsugamushi ในประเทศ

ไทย

ผู้เขียน

นางสลักจิต ชุติพงษ์วิเวท

ปริญญา

วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. คร. จีรเคช มโนสร้อย

ประธานกรรมการ

คร. วัฒนา อู่วาณิชย์

กรรมการ

รศ. คร. อรัญญา มโนสร้อย

กรรมการ

บทคัดย่อ

ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยโรคใช้รากสาดใหญ่ได้ถูกเก็บจากโรงพยาบาลที่อยู่ในเขตความ รับผิดชอบของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ในประเทศไทยจำนวน 8 ศูนย์ และทำการตรวจหาจีโนทัยป์ และความหลากรูปในลำดับ นิวคลิโอไทด์ของ 56 กิโลดาลตัน เมเจอร์โปรตีนยืนของเชื้อ Orientia ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคไข้รากสาดใหญ่โดยวิธี immunofluorescence assay (IFA) ทำการเพิ่มขยาย DNA และจำแนกจีโนทัยป์ ในผู้ป่วยจำนวน 84 ราย โดยวิธี Nested Polymerase Chain Reaction (PCR) และตรวจยืนยันจีโนทัยป์โดยการหาลำดับนิวคลิโอไทด์ จากการศึกษาตรวจ พบเชื้อ O. tsutsugamushi 2 จีโนทัยป์ โดยตรวจพบจีโนทัยป์ Karp ร้อยละ 97.5, จีโนทัยป์ Kato ร้อยละ 2.5 และตรวจไม่พบจีโนทัยป์ Gilliam แสดงว่าประเทศไทย ยังคงมีเชื้อ O. tsutsugamushi กระจายอยู่ จากการศึกษาความหลากรูปของลำดับนิวคลิโอไทด์ 56 กิโลคาลตัน เมเจอร์โปรตีนยืน โดยวิธี nucleotide sequence technique พบว่า เชื้อ O. tsutsugamushi ในตัวอย่างมีลำดับนิวคลิโอ ใทค์ของบริเวณ 56 กิโลคาลตันเมเจอร์โปรตีนยืนเหมือนกับ prototype ที่เป็นซีโรทัยป์มาตรฐานทั้ง ซีโรทัยป์ Karp และ Kato โดยตรวจพบจิโนทัยป์ Karp ในทุกภาคของประเทศไทยและตรวจพบจิโน ทัยป์ Kato เฉพาะทางภาคใต้ แต่ตรวจไม่พบจีโนทัยป์ Gilliam เลยในทุกภาค การศึกษานี้นับได้ว่าเป็น ข้อมูลที่สำคัญในค้านงานระบาควิทยาระคับชีวโมเลกุลของเชื้อ O. tsutsugamushi และทำให้ทราบถึง ลำดับนิวคลิโอไทด์ 56 กิโลดาลตันเมเจอร์โปรตีนยืนที่สามารถนำไปสู่การพัฒนาวัคซีนและชุดทดสอบ ที่เหมาะสมต่อไป