Thesis Title Prevalence of G and P Genotypes of Group A Rotavirus in Bovine and Porcine in Chiang Mai

Author Mr. Prayuth Saekhow

Degree Master of Science (Microbiology)

Thesis Advisory Committee Assoc. Prof. Dr. Niwat Maneekarn Chairperson

Assoc. Prof. Supatra Peerakome Member

ABSTRACT

Rotaviruses are the major causative agent of severe diarrhea in children and in young animals including calves and piglets. The aims of the present study were to investigate the prevalence of group A rotavirus and to ascertain G-genotype, P-genotype and NSP4 genetic group distributions in diarrheic piglets and diarrheic calves. The presence of group A rotavirus in the stool samples was screened by enzyme-linked immunosorbent assay. The positive samples were further characterized in order to identify G-genotype, P-genotype, and NSP4 genetic group by using multiplex reverse-transcription polymerase chain reaction (multiplex RT-PCR) with genotype specific primers for G-genotype, P-genotype and NSP4 genetic group, respectively.

The investigation of 253 fecal specimens collected from diarrheal piglets during November 2001 to July 2003 in Chiang Mai area showed that 47 out of 253

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

(18.6%) were positive for group A rotavirus. Of these, G3 was found to be the most prevalent genotype (70.2%; 33 of 47) followed by G8 (6.4%; 3 of 47) and G9 (2.1%; 1 of 47), respectively. In addition, two samples (4.3%) were found to be double infected with G8 and G9. However, 8 samples (17.0%) remained nontypeable with any of the G-genotype specific primers used in this study. When examined for their P-genotype specificities, P[6] was found to be the most prevalent genotype (36.2%; 17 of 47) followed by P[7] (21.3%; 10 of 47) and P[19] (10.6%; 5 of 47), respectively. There was one fecal sample that showed dual infection with P[1] and P [6]. In addition, 14 isolates (29.8%; 14 of 47) were P-nontypeable strains. The relative frequency of various combinations of G- and P- genotypes revealed that the G3P[6] was the most prevalent genotype (25.5%; 12 of 47) followed by G3P[7] (10.6%; 5 of 47) and G3P[19] (10.6%; 5 of 47). However, one G3 isolate was found to combine with dual P-types, P[1] and P[6], and 10 isolates were P-nontypeable. In contrast, there were 3 strains of G8 found to be exclusively associated with P[7]. One G9 isolate detected in this study could not be identified for its P-genotype. Two fecal samples that double infected with G8 and G9, one was associated with P[6] and the other associated with P[7]. There were 3 isolates that both G- and P- genotype remained nontypeable.

The investigation of fecal samples collected from diarrheal calves revealed that 26 out of 250 (10.4%) were positive for group A rotavirus. For the distribution of G-genotype, G6 was found to be the most prevalent genotype (65.4%; 17 of 26) and followed by G8 (15.4%; 4 of 26), whereas 5 isolates (19.2%) were G-nontypeable strains. For the P-genotype, P[5] was the most prevalent genotype (69.2%; 18 of 26) and followed by much less prevalent P[1] (15.4%; 4 of 26). However, 15.4 % (4 of

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

26) of rotavirus isolates were found to be P-nontypeable strains. The relative frequency of various combinations of G- and P-genotypes showed that G6P[5] were the most prevalent strains (50.0%; 13 of 26), followed by G6P[1] (15.4%; 4 of 26). Moreover, 4 isolates of G8 and 5 isolates of P[5] were found to be P-nontypeable and G-nontypeable, respectively.

In addition to the G- and P- genotype determination, the NSP4 genetic group specificities of porcine and bovine rotaviruses were also determined. It was found that 35 of 47 (74.5%) porcine rotavirus isolates belonged to the NSP4 genetic group B (Wa) and 12 of 47 (25.5%) were nontypeable NSP4 genetic group. In contrast, 12 of 26 (46.2%) bovine rotavirus isolates detected in this study belonged to the NSP4 genetic group A (KUN), and 14 of 26 (53.8%) isolates remained nontypeable.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ความชุกของ จี และ พี จีโนไทป์ของเชื้อโรตาไวรัสกลุ่ม เอ ในโคและสุกรในเขตจังหวัดเชียงใหม่

ผู้เขียน นายประยุทธ แซ่โค้ว

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.นิวัตน์ มณีกาญจน์ ประธานกรรมการ
รศ. สุพัตรา พีราคม กรรมการ

บทคัดย่อ

โรตาไวรัสเป็นสาเหตุสำคัญของโรคอุจจาระร่วงที่เกิดในเด็กเล็กและลูกสัตว์ต่างๆเช่น ลูกโคและลูกสุกรเป็นต้น วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เป็นการสำรวจหาความชุกของเชื้อโรตาไวรัสกลุ่มเอ และการกระจายตัวของ G-genotype P-genotype และ NSP4 genetic group ในลูกสุกร และลูกโค ที่มีอาการอุจจาระร่วง โดยการเก็บอุจจาระแล้วนำมาตรวจหาเชื้อโรตาไวรัสกลุ่มเอด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) และทำการจำแนกชนิดของ G-genotype P-genotype และ NSP4 genetic group โดยวิธี multiplex reverse transcription- polymerase chain reaction (multiplex RT-PCR) โดยใช้ primers ที่จำเพาะต่อ G-genotype P-genotype และ NSP4 genetic group ตามลำดับ

การศึกษาอุจจาระที่เก็บจากลูกสุกรที่มีอาการอุจจาระร่วงจำนวน 253 ตัวอย่าง ในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2544 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2546 พบเชื้อโรตาไวรัสกลุ่มเอ จำนวน 47 ตัวอย่าง คิดเป็น 18.6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการตรวจหาชนิดของ G-genotype พบ G3 มากที่สุด (70.2%; 33 ตัวอย่างจาก 47 ตัวอย่าง) รองลงมาเป็น G8 (6.4%; 3 ตัวอย่างจาก 47 ตัวอย่าง) และ ชนิด G9 (2.1%; 1 ตัวอย่างใน 47 ตัวอย่าง) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบ 2 ตัวอย่าง (4.3%) ที่มีการติดเชื้อซ้ำทั้งชนิด G8 และ G9 อย่างไรก็ตามพบว่ามีจำนวน 8 ตัวอย่าง (17.0%) ที่ไม่สามารถจะจำแนกชนิดของ G-genotype ได้ เมื่อทำการตรวจแยกหาชนิดของ P-genotype นั้นพบ ชนิด P[6] สูงที่สุด (36.2%; 17 ตัวอย่างใน 47 ตัวอย่าง) รองลงมาคือ P[7] (21.3%; 10 ตัวอย่างใน 47) และ P[19]

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

(10.6%; 5 ตัวอย่างจาก 47 ตัวอย่าง) ตามลำดับ นอกจากนี้ใน 1 ตัวอย่างพบการติดเชื้อซ้ำชนิด P[1] และ P[6] และมี 14 ตัวอย่าง (29.8%; 14 ตัวอย่างจาก 47 ตัวอย่าง) ที่ไม่สามารถจำแนกชนิด P-genotype ได้ การศึกษาหาความถี่ร่วมของ G-genotype และ P-genotype พบชนิด G3P[6] พบมากที่สุด (25.5%; 12 ตัวอย่างจาก 47 ตัวอย่าง) รองลงมาเป็น G3P[7](10.6%; 5 ตัวอย่างจาก 47 ตัวอย่าง) และ G3P[19] (10.6%; 5 ตัวอย่างจาก 47 ตัวอย่าง) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามมี G3 1 ตัวอย่างพบการติดเชื้อซ้ำชนิด P[1] และ P[6] และ G3 จำนวน 10 ตัวอย่างที่ไม่สามารถจำแนกชนิดของ P-genotypeได้ เมื่อเปรียบเทียบกับ G8 ซึ่งมีอยู่ 3 ตัวอย่างพบร่วมกับ P[7] เท่านั้น และ G9 1 ตัวอย่างไม่สามารถจำแนกชนิดของ P-genotype ได้ นอกจากนี้มี 2 ตัวอย่างที่มีการติดเชื้อซ้ำชนิด G8 และ G9 พบว่า 1 ตัวอย่างพบร่วมกับ P[6] และ อีก 1 ตัวอย่างร่วมกับ P[7] และพบว่ามี 3 ตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้ที่ไม่สามารถแยกชนิด G-genotype และ P-genotypeได้

ส่วนการศึกษาหาความชุกของเชื้อโรตาไวรัสในลูกโคที่มีอาการอุจจาระร่วง โดยเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2544 จนถึง เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2547 พบเชื้อโรตาไวรัสกลุ่มเอ จำนวน 26 ตัวอย่างจาก 250 ตัวอย่าง คิดเป็น 10.4 % สำหรับการกระจายตัวของชนิด G-genotype พบ G6 มากที่สุด (65.4%; 17 ตัวอย่างจาก 26 ตัวอย่าง) รองลงมาเป็น G8 (15.4%; 4 ตัวอย่างจาก 26 ตัวอย่าง) นอกจากนี้แล้ว 5 ตัวอย่าง (19.2%) ไม่สามารถที่จะจำแนกชนิด G-genotype ได้ สำหรับการตรวจหาชนิดของ P-genotype พบ P[5] มากที่สุด (69.2%; 18 ตัวอย่างจาก 26 ตัวอย่าง) รองลงมาเป็น P[1] (15.4%; 4 ตัวอย่างจาก 26 ตัวอย่าง) อย่างไรก็ตามมี 4 ตัวอย่าง (15.4%) ที่ไม่สามารถจำแนกชนิด P-genotype ได้ การศึกษาความถี่ร่วมของ G-genotype และ P-genotype พบชนิด G6P[5] มากที่สุด (50.0%; 13 ตัวอย่างจาก 26 ตัวอย่าง) รองลงมาเป็น G6P[1] (15.4%; 4 ตัวอย่างจาก 26 ตัวอย่าง) นอกจากนั้นมี G8 จำนวน 4 ตัวอย่าง และ P[5] จำนวน 5 ตัวอย่างที่ไม่สามารถจำแนกชนิดของ P-genotype และ G-genotype ได้ตามลำดับ

นอกจากการศึกษาการกระจายตัวของ G-genotype และ P-genotype แล้ว ได้มีการศึกษา NSP4 genetic group โดยการตรวจสอบยีน NSP4 พบว่าเชื้อโรตาไวรัสจากลูกสุกรจำนวน 47 ตัวอย่างมี 35 ตัวอย่าง (74.5%) จัดอยู่ใน NSP4 genetic group B(Wa) ส่วนอีก 12 ตัวอย่าง (25.5%) ไม่สามารถที่จะจำแนกชนิดของ NSP4 genetic group ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาเชื้อโรตาไวรัสที่แยกได้จากลูกโคพบว่าใน 26 ตัวอย่างมีจำนวน 12 ตัวอย่าง (46.2%) จัดอยู่ใน NSP4 genetic group A(KUN) ส่วนอีก 14 ตัวอย่าง (53.8%) ไม่สามารถจำแนกชนิดของ NSP4 genetic groupได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved