

IDENTIFICATION OF *ORIENTIA TSUTSUGAMUSHI* USING POLYMERASE CHAIN REACTION TECHNIQUE

WICHITTRA ANUKOOL 5137078 SIIM/M

M.Sc. (IMMUNOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: PATTAMA EKPO, Ph.D.,
YUPIN SUPUTTAMONGKOL, M.D., DUANGJIT KANISTANON, Ph.D., M.D.,
PATIMAPORN WONGPROMPITAK, Ph.D.**ABSTRACT**

Orientia tsutsugamushi is the causative agent of scrub typhus, a major cause of undifferentiated fever in the Asia-Pacific region, especially Thailand. The genotypic characterization of *O. tsutsugamushi* was identified based on a partial nucleotide sequence of the 56-kDa protein-encoding gene which contained the variable domains (VD) I-IV. There were 106 scrub typhus suspected patients whose DNA were amplified by PCR technique using specific primers for the 56-kDa protein encoding gene. These samples were analyzed by nucleotide sequencing and construction of a dendrogram. Samples were identified into 4 clusters: Karp (44.7%), Kato (3.9%), Gilliam (40.8%), and TA763 (10.5%). Only 2 samples could not be grouped in any cluster. The geographical distribution of the *O. tsutsugamushi* strain in Thailand was studied. However, there were no samples from northern and eastern regions. Karp was the predominant strain in the northeastern region while Gilliam was the dominant strain in the central region as well as in the southern. From this information, the TA763 strain should be included in the panel of antigens used for antibody detection. In addition, strain-specific primers were developed based on the 56-kDa protein encoding gene of the sequences in each cluster to identify *O. tsutsugamushi* strains. Karp- and Gilliam-specific primers generated satisfactory sensitivity and specificity values with approximately 95%. The information obtained from *Orientia* strain identification can be used for monitoring the prevalence of the disease and can also be useful for further vaccine development to prevent *O. tsutsugamushi* infection.

KEY WORDS: *Orientia tsutsugamushi*/ POLYMERASE CHAIN REACTION/
56-kDa PROTEIN ENCODING GENE

115 pages

การจำแนกเชื้อ *ORIENTIA TSUTSUGAMUSHI* ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส
IDENTIFICATION OF *ORIENTIA TSUTSUGAMUSHI* USING POLYMERASE CHAIN
REACTION TECHNIQUE

วิจิตรา อนุกุล 5137078 SIIM/M

วท.ม. (วิทยาภูมิคุ้มกัน)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ปัทมา เอกโพธิ์, Ph.D., ยุกิน ศุพุททมงคล, M.D.,
ดวงจิต กนิษฐานนท์, Ph.D., M.D., ปฏิมาพร วงษ์พรหมพิทักษ์, Ph.D.

บทคัดย่อ

Orientia tsutsugamushi เป็นเชื้อก่อโรคสครับ ไทฟัส ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของกลุ่มอาการไข้ไม่ทราบสาเหตุในภาคพื้นเอเชียแปซิฟิก โดยเฉพาะในประเทศไทย เชื้อนี้ถูกจำแนกลักษณะพันธุกรรมด้วย variable domain I-IV ของ 56-kDa protein encoding gene ในการศึกษานี้ได้ทำการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของ 56-kDa protein encoding gene ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคสครับ ไทฟัส จำนวน 106 ตัวอย่าง และนำมาศึกษาลำดับเบสเพื่อหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยสร้างเป็น dendrogram พบว่าตัวอย่างเหล่านี้สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มตามสายพันธุ์คือ Karp Kato Gilliam และ TA763 คิดเป็น 44.7 3.9 40.8 และ 10.5% มีเพียง 2 ตัวอย่างที่ไม่สามารถจัดกลุ่มได้ จากการศึกษาการกระจายตัวของสายพันธุ์ตามภูมิภาคต่างๆของประเทศไทย ยกเว้นภาคเหนือและตะวันออก พบว่า สายพันธุ์ Karp พบมากที่สุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในขณะที่สายพันธุ์ Gilliam พบมากในภาคกลางและภาคใต้ จากผลการศึกษาเห็นว่าในการทดสอบปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันเพื่อตรวจหาเชื้อ *O. tsutsugamushi* ควรมีการเพิ่ม antigen ของสายพันธุ์ TA763 ด้วยเนื่องจากพบการระบาดของสายพันธุ์นี้ในประเทศไทย นอกจากนี้ ได้มีการพัฒนาการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อก่อโรคสครับ ไทฟัสด้วยวิธี PCR โดยใช้ primer ที่ออกแบบมาจากลำดับเบสของ 56-kDa protein encoding gene แล้วทำการประเมินการทดสอบโดยหาค่าความไวและความจำเพาะของ primer ดังกล่าว พบว่า primer ที่จำเพาะต่อสายพันธุ์ Karp และ Gilliam มีค่าความไวและความจำเพาะมากกว่า 95% ผลจากการศึกษาและการพัฒนาการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อก่อโรคสครับ ไทฟัส สามารถนำไปพัฒนาและนำไปใช้เพื่อเป็นประโยชน์ในการเฝ้าระวังโรคและศึกษาด้านระบาดวิทยาของเชื้อ รวมทั้งสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันการติดเชื้อดังกล่าวด้วย