

STUDY OF GENOTYPIC VARIATION OF *PNEUMOCYSTIS JIROVECI* IN THAI PATIENTS BY USING REAL-TIME PCR WITH HIGH RESOLUTION MELT ANALYSIS AND DNA SEQUENCING METHOD

WATCHARAPORN JONGRATANAVANICH 5037170 SIIM/M

M.Sc. (IMMUNOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: SUVIT LIMAWONGPRANEE, Ph.D., AMORNRUT LEELAPORN, Ph.D., DARAWAN WANACHIWANAWIN, M.D.,

ABSTRACT

Pneumocystis jirovecii (*P. jirovecii*) is the second most opportunistic fungal infection in immunocompromised patients in Thailand. However, little information regarding epidemiological data and genotypic variation in mitochondrial large-subunit rRNA (mt LSU rRNA) of this pathogen had been available. The objective of this research was to study genotypes of this organism in immunocompromised Thai patients by DNA sequence analysis and high resolution melt analysis of mt LSU rRNA gene. The sixty-four clinical specimens consisted of bronchoalveolar lavage fluid (BALF), sputum (SP), and gastric wash (GW) from immunocompromised Thai patients suspected of having *Pneumocystis jirovecii* pneumonia (PcP) were used to analyze the genotypes. The criteria of type classification were based on a typing score described firstly by Wakefield *et al.* From all clinical specimens studied, two new types were detected. Two unique and different dominant types of *P. jirovecii* were observed in immunocompromised Thai patients which originated from coinfection. These differences can be used as genetic markers for studying the epidemiology, transmission patterns, and probable antimicrobial resistance research.

KEY WORDS: *PNEUMOCYSTIS JIROVECI*/ GENOTYPIC VARIATION/
mitochondrial large-subunit rRNA

111 pages

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อนิวโมซิสทีส จิโรเวคซีไอ ในผู้ป่วยคนไทยโดยใช้เทคนิคการตรวจวัดปริมาณกรดนิวคลีอิกในสภาพจริงร่วมกับการวิเคราะห์ High Resolution Melt และวิธีการเรียงลำดับเบสบนดีเอ็นเอ

STUDY OF GENOTYPIC VARIATION OF *PNEUMOCYSTIS JIROVECI* IN THAI PATIENTS BY USING REAL-TIME PCR WITH HIGH RESOLUTION MELT ANALYSIS AND DNA SEQUENCING METHOD

วัชรภรณ์ จงรัตนวิษ 5037170 SIIM / M

วท.ม. (วิทยานิพนธ์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: สุวิทย์ ลิมาวงษ์ปราณี, Ph.D., อมรรัตน์ ลีลาภรณ์, Ph.D.,
คาราวรรณ วนะชีวนาวิน M.D.

บทคัดย่อ

เชื้อนิวโมซิสทีส จิโรเวคซีไอจัดเป็นเชื้อราฉวยโอกาสที่พบบ่อยเป็นอันดับสองที่ทำให้ผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องเกิดโรคปอดอักเสบ *Pneumocystis jirovecii* pneumonia (PcP) อย่างไรก็ตามความรู้ทางด้านความหลากหลายทางพันธุกรรมและระบาดวิทยาของเชื้อราชนิดนี้ที่แยกจากผู้ป่วยชาวไทยยังมีน้อย จุดประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อทำการศึกษารูปแบบความแตกต่างของลำดับเบสบนดีเอ็นเอบริเวณตำแหน่งยีน mitochondrial large subunit ribosomal RNA (mt LSU rRNA) จากตัวอย่างน้ำล้างปอด (BALF) เสมหะ (SP) และน้ำล้างกระเพาะอาหาร (GW) ซึ่งเก็บจากผู้ป่วยชาวไทย โดยใช้วิธีการเปรียบเทียบระหว่างวิธีการเรียงลำดับเบสบนดีเอ็นเอและเทคนิคการตรวจวัดปริมาณกรดนิวคลีอิกในสภาพจริงร่วมกับการวิเคราะห์ high resolution melt โดยการศึกษาครั้งนี้ใช้เกณฑ์การคัดแยกสายพันธุ์ของ Wakefield และคณะ ซึ่งทำการเปรียบเทียบกับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เทียบเพื่อคัดแยกสายพันธุ์ (consensus sequence) ของ mt LSU rRNA ของเชื้อนิวโมซิสทีส จิโรเวคซีไอ จากสิ่งส่งตรวจจำนวน 64 ตัวอย่าง ทั้งนี้เป็นการศึกษา mt LSU rRNA ของเชื้อนิวโมซิสทีส จิโรเวคซีไอ ครั้งแรกในผู้ป่วยคนไทย ผลการศึกษานี้พบว่าลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อนิวโมซิสทีส จิโรเวคซีไอ มีการผันแปรเมื่อเทียบกับลักษณะพันธุกรรมที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ จากประเทศต่างๆ ข้อมูลดังกล่าวอาจนำมาใช้ในการศึกษาทางด้านระบาดวิทยา กระบวนการติดต่อของเชื้อชนิดนี้ รวมทั้งการศึกษาคัดยาลเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยคนไทยในอนาคตได้