Thesis Title

Epidemiology and Molecular Characterizations of Rotaviruses, Noroviruses, Sapoviruses, Astroviruses and Adenoviruses Isolated from Pediatric Patients Hospitalized with Acute Gastroenteritis

**Author** Miss Natthawan Chaimongkol

**Degree** Master of Science (Microbiology)

**Thesis Advisor** Prof. Dr. Niwat Maneekarn

## **ABSTRACT**

The aim of the present study was to investigate the epidemiology and molecular characterizations of the viruses that caused gastroenteritis in infants and young children under 5 years of age. A total of 160 fecal specimens collected during January to December 2007 from pediatric patients were tested for the presence of rotaviruses (RVs), noroviruses (NoVs), sapoviruses (SaVs), astroviruses (AstVs) and adenoviruses (AdVs) by reverse transcription (RT) reaction and multiplex PCR. The genogroups and genotypes of these viruses were determined by using type specific primers in the multiplex RT-PCR and by nucleotide sequencing and nucleotide sequence analysis. The prevalence of gastroenteritis viruses detected in the present study was 48.8%. Of these, group A rotavirus was the most predominant virus with the prevalent rate of 27.5%, followed by norovirus genogroup II (NoV GII) (13.8%), sapoviruses (3.1%), adenoviruses (1.3%), astroviruses (0.6%), and NoV GI (0.6%). Mixed infection of two viruses in the same fecal sample was found at 1.9%.

Molecular characterizations of G- and P-genotypes, VP6 genogroup, and NSP4 genetic group of rotaviruses revealed that the majority of G-P genotype combinations were G1P[8] (70.2%), followed by G2P[4] (19.2%), G3P[8] (8.5%) and G1P[4] (2.1%). In addition, analysis of VP6 genogroup revealed that 80.9% of rotaviruses belonged to VP6 genogroup II (GII) and 19.1% belonged to VP6 GI. Most of rotaviruses belonged to NSP4 genetic group Wa (B) at 80.9% and the rest 19.1% belonged to NSP4 genetic group KUN (A). For noroviruses, based on nucleotide sequence and phylogenetic analyses, a wide variety of norovirus subtypes were detected, including GI/14, GII/2, GII/3, GII/4, GII/6, GII/7, GII/13, GII/16 and GII/new. In contrast, only one subtype of sapoviruses, SaV GI/1, was detected in this study. Furthermore, astroviruses, AstV1d and AstV2, and adenoviruses, Ad1, Ad3, and Ad41 were also detected in this surveillance. In conclusion, a number of gastroenteritis viruses, including rotaviruses, noroviruses, sapoviruses, astroviruses and adenoviruses, with diverse subtypes were found to circulating in pediatric patients in 2007 in Chiang Mai, Thailand.

## ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม Copyright<sup>©</sup> by Chiang Mai University All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

วิทยาการระบาดและการหาลักษณะเฉพาะระดับโมเลกุล
ของไวรัสโรตา ไวรัสโนโร ไวรัสซาโป ไวรัสแอสโทร
และไวรัสอะดิโนที่แยกได้จากผู้ป่วยเด็กที่เข้ารับการรักษา
ในโรงพยาบาลด้วยอาการกระเพาะอาหารและลำไส้
อักเสบเฉียบพลัน

ผู้เขียน

นางสาวณัฐวรรณ ใชยมงคล

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ศ. คร. นิวัตน์ มณีกาญจน์

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เป็นการศึกษาทางระบาดวิทยาและการตรวจหากุณลักษณะ เฉพาะในระดับโมเลกุลของเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบในเด็ก ทารกและเด็กเล็กที่มีอายุต่ำกว่า 5 ปี โดยได้นำตัวอย่างอุจจาระจากผู้ป่วยเด็กที่เก็บในช่วงเดือน มกราคม ถึงเดือนธันวาคม ค.ศ.2007 จำนวนทั้งหมด 160 ราย มาตรวจหาเชื้อไวรัสโรตา ไวรัสโนโร ไวรัสซาโป ไวรัสแอสโทร และไวรัสอะดิโน โดยวิธีการ Reverse transcription (RT) reaction และ multiplex PCR ส่วนการจำแนก genogroups และ genotypes ของเชื้อไวรัสเหล่านี้ ทำโดยวิธี multiplex RT-PCR ที่ใส่ primers หลายๆตัวที่จำเพาะต่อแต่ละ genogroup และ genotype ใน ปฏิกิริยา PCR เดียวกัน และการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ เพื่อบอก genogroup และ genotype ของเชื้อไวรัสเหล่านี้ การศึกษาครั้งนี้พบความชุกของเชื้อไวรัส ก่อโรกอุจจาระร่วงในตัวอย่างตรวจร้อยละ 48.8 โดยมีความชุกของเชื้อไวรัสโรตา group A สูงสุด ร้อยละ 27.5 รองลงมาคือ ไวรัสโนโร genogroup II ร้อยละ 13.8 ไวรัสซาโป ร้อยละ 3.1 ไวรัส อะดิโน ร้อยละ1.3 ไวรัสแอสโทร ร้อยละ 0.6 และไวรัสโนโร genogroup I ร้อยละ 0.6 และพบการ

ติดเชื้อร่วมของเชื้อไวรัสสองชนิดภายในตัวอย่างตรวจเดียวกัน ร้อยละ 1.9 เมื่อทำการจำแนก คุณลักษณะของเชื้อไวรัสโรตา ออกเป็น G- และ P-genotypes, VP6 genogroup และ NSP4 genetic group พบว่าเชื้อมี G-P genotype combinations ส่วนใหญ่เป็นแบบ G1P[8] ร้อยละ 70.2 รองลงมา คือ G2P[4] ร้อยละ 19.2 G3P[4] ร้อยละ 8.5 และ G1P[4] ร้อยละ 2.1 นอกจากนี้จากการวิเคราะห์ VP6 genogroup พบเชื้อที่มี VP6 genogroup II ร้อยละ 80.9 และเชื้อที่มี VP6 genogroup I ร้อยละ 19.1 และจากการศึกษา NSP4 genetic group พบว่าเชื้อส่วนใหญ่เป็น NSP4 genetic group Wa (B) ร้อยละ 80.9 และที่เหลืออีกร้อยละ 19.1 เป็นเชื้อที่มี NSP4 genetic group KUN (A) สำหรับเชื้อ ไวรัสโนโร จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และการวิเคราะห์ทาง phylogeny ของตัวเชื้อ พบ เชื้อไวรัสโนโรหลากหลายสายพันธุ์ซึ่งประกอบไปด้วย GI/14, GII/2, GII/3, GII/4, GII/6, GII/7, GII/13, GII/16 และ GII/new ในทางกลับกัน ในการศึกษานี้พบเชื้อไวรัสซาโปเพียงสายพันธุ์เดียว เท่านั้น คือ SaV GI/1 นอกจากนี้ การศึกษาในครั้งนี้ยังได้ตรวจพบไวรัสแอสโทรสายพันธุ์ AstV1d และ AstV2 เชื้อไวรัสอะคิโนสายพันธุ์ Ad1, Ad3, และ Ad41 ด้วย โดยสรุป การศึกษานี้ได้ตรวจพบ เชื้อไวรัสที่ก่อโรคอุจจาระร่วงหลายชนิด ได้แก่ ไวรัสโรตา ไวรัสโนโร ไวรัสซาโป ไวรัสแอสโทร และ ใวรัสอะดิโนหลากหลายสายพันธุ์ที่กำลังมีการระบาดอยู่ในผู้ป่วยเด็กในปี ค.ศ. 2007 ในจังหวัด เชียงใหม่ของประเทศไทย

## ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม Copyright<sup>©</sup> by Chiang Mai University All rights reserved