

12 JUN 2002



**MOLECULAR ECOLOGY OF TICK-BORNE PATHOGENS
AND ENDOSYMBIONTS OF TICKS
IN THAILAND**

SUPANEE HIRUNKANOKPUN

//

With compliments
of

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2002

ISBN 974-04-1640-3

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH.
S989m
2002
e.2

Copyright by Mahidol University

**4237524 SCEB/M : MAJOR : ENVIRONMENTAL BIOLOGY ; M.Sc.
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)**

KEY WORDS : PHYLOGENY / RICKETTSIAE/ TICKS/ THAILAND

**SUPANEE HIRUNKANOKPUN : MOLECULAR ECOLOGY
OF TICK-BORNE PATHOGENS AND ENDOSYMBIONTS OF TICKS IN
THAILAND. THESIS ADVISORS : PATTAMAPORN KITTAYAPONG, Ph.D.,
JEAN-PAUL GONZALEZ, M.D. Ph.D., JOHN R. MILNE, Ph.D., JEAN-PAUL
CORNET, Ph.D. 118 P. ISBN 974-04-1604-3**

Ticks are of considerable medical and veterinary importance because they harm the host through their feeding action and vector many pathogens. Tick-borne pathogens and endosymbionts of ticks in Thailand were surveyed in this research. A total of 334 individuals representing 14 species of ticks in 5 genera collected from 12 provinces of Thailand were examined for human pathogens and common arthropod endosymbionts, i.e., *Borrelia*, *Francisella*, *Rickettsia* and *Wolbachia*, by polymerase chain reaction (PCR) assay using specific primers. Two species of ticks were infected with rickettsiae. The other tick species were not infected with rickettsiae and all 14 tick species were not infected with *Borrelia*, *Francisella* and *Wolbachia*. The rickettsiae-positive tick species were *Amblyomma testudinarium* (Koch, 1844) and *Haemaphysalis ornithophila* (Hoogstraal and Kohls, 1959). Rickettsiae infection rates in these two tick species were investigated. Results indicated that 30% (9/30) of *Am. testudinarium* collected from Khao Yai National Park and 16.84% (16/95) of *Haemaphysalis ornithophila* collected from Khao Yai National Park and Khao Ang Rue Nai Wildlife Sanctuary were infected. The strain from *Am. testudinarium* and the two strains from *Ha. ornithophila* (each strain from a different location) represent new strains of *Rickettsia*. Phylogenetic relationships among these new rickettsiae strains and other rickettsiae were inferred from comparison of sequences of the 17-kDa antigen gene, the citrate synthase (*gltA*) gene and the 190-kDa outer membrane protein (*ompA*) gene. Results of phylogenetic analysis, using maximum parsimony, neighbor-joining and maximum likelihood methods, indicated that the three new strains of rickettsiae represent new rickettsial genotypes and form a separate cluster among the spotted fever group rickettsiae.

4237524 SCEB/M : สาขาวิชา : ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม; วท.ม. (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)

สุภาณี หิรัญกนกพันธ์ : นิเวศวิทยาเชิงโมเลกุลของเชื้อโรคที่นำโดยเห็บและจุลินทรีย์ที่อาศัยร่วมกับเห็บในประเทศไทย (MOLECULAR ECOLOGY OF TICK-BORNE PATHOGENS AND ENDOSYMBIONTS OF TICK IN THAILAND). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ปัทมาภรณ์ กฤตยพงษ์, Ph.D., JEAN-PAUL GONZALEZ, M.D., Ph.D., JOHN R. MILNE, Ph.D., JEAN-PAUL CORNET, Ph.D. 118 หน้า. ISBN 974-04-1640-3

เห็บจัดเป็นสัตว์พาหะนำโรคที่สำคัญทางการแพทย์และสัตวแพทย์ เป็นสาเหตุทำให้สุขภาพของคนและสัตว์ให้อาศัยเสื่อมโทรมลง ไม่ว่าจะเป็นการทำให้เกิดความรำคาญ การเกิดอาการแพ้เป็นผื่นคัน การสูญเสียเลือด หรือแม้กระทั่งการเป็นโรคต่างๆที่มีเห็บเป็นพาหะ ในประเทศไทยยังมีการศึกษาด้านเชื้อโรคที่นำโดยเห็บค่อนข้างน้อย ดังนั้นการวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อโรคที่นำโดยเห็บและจุลินทรีย์ที่อาศัยร่วมกับเห็บ โดยทำการเก็บเห็บจำนวน 334 ตัวใน 14 สปีชีส์ จาก 12 จังหวัดในประเทศไทยมาวิเคราะห์หาเชื้อโรคและจุลินทรีย์ที่อาศัยร่วมกับเห็บ เช่น ริกเกตเซีย *Francisella Borrelia* และ *Wolbachia* ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ primer ที่จำเพาะต่อแบคทีเรียเหล่านั้น ผลการทดลองพบว่า 30 เปอร์เซ็นต์ของเห็บชนิด *Amblyomma testudinarium* จากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ และ 16.84 เปอร์เซ็นต์ของเห็บชนิด *Haemaphysalis ornithophila* จากอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่และเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าเขาอ่างฤๅไน มีการติดเชื้อริกเกตเซียชนิดใหม่ 3 สายพันธุ์ เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างริกเกตเซียทั้ง 3 สายพันธุ์กับริกเกตเซียชนิดอื่นๆโดยเปรียบเทียบลำดับเบสของยีน 3 ยีน คือ ยีน 17-kDa antigen ยีน citrate synthase และ ยีน 190-kDa outer membrane protein พบว่าริกเกตเซียที่พบทั้ง 3 สายพันธุ์นี้เป็นสายพันธุ์ใหม่และรวมกลุ่มกันในตำแหน่งที่แตกต่างจากริกเกตเซียในกลุ่ม spotted fever อื่นๆ