

4 AUG 1991



STUDY ON THE REACTIVITY OF
DENGUE VIRUS SPECIFIC PROTEINS WITH PATIENTS' SERA

TASANEE MONGKOLSUK

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(PATHOBIOLOGY)

**With compliments
of**

ศาสตราจารย์ ดร. อ. น. น. น.

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1991

Copyright by Mahidol University

310716

ที่มีน้ำหนักโมเลกุล 130, 92-98 และ 54-60 กิโลดาลตัน ส่วนแบบที่ 2 พบแอนติบอดีที่ทำปฏิกิริยากับโปรตีนของแดงกีไวรัสเพิ่มขึ้นอีก 1 ชนิดที่น้ำหนักโมเลกุล 42-46 กิโลดาลตัน สำหรับ immunoblotting pattern ในแบบแรก ตรวจพบในซีรัมของผู้ป่วยในระยะที่มีไข้ ส่วน immunoblotting pattern ในแบบหลังนั้นพบได้ในซีรัมของผู้ป่วยที่อยู่ในระยะที่มีไข้หรือวันที่ไข้ลด และหลังจากไข้หรือไข้ลด ความจำเพาะของแอนติบอดีที่ทำปฏิกิริยากับแอนติเจนของแดงกีไวรัส เมื่อศึกษาหาแอนติบอดีที่ทำปฏิกิริยากับโปรตีนของแดงกีไวรัสด้วยวิธี immunoprecipitation technique อีกวิธีหนึ่ง ยังตรวจพบว่า แอนติเจนของแดงกีไวรัสที่จับกับแอนติบอดีในซีรัมของผู้ป่วยเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงเดียวกับที่ตรวจพบด้วยวิธี immunoblotting technique โดยเฉพาะอย่างยิ่งพบว่าผู้ป่วยด้วยไข้เลือดออกทั้งหมดที่ทำการศึกษาทุกรายจะสามารถตรวจพบว่า มีแอนติบอดีต่อโปรตีนของแดงกีไวรัสที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 92-98 และ 54-60 กิโลดาลตัน และแอนติบอดีต่อโปรตีนของแดงกีไวรัสที่น้ำหนักโมเลกุลในช่วง 92-98 กิโลดาลตันตรวจพบเฉพาะผู้ป่วยด้วยโรคนี้เท่านั้น การตรวจพบนี้เป็นแนวทางที่จะนำเอาวิธี immunoblotting technique มาศึกษาเพิ่มเติมในผู้ป่วยที่สงสัย โดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น (immunoblotting pattern) กับลักษณะอาการทางคลินิกของผู้ป่วยว่าสามารถเป็นประโยชน์ต่อการพยากรณ์หรือวินิจฉัยโรคไข้เลือดออกได้หรือไม่

Thesis Title Study on the Reactivity of Dengue
 Virus-Specific Proteins with
 Patients'sera
Name Tasanee Mongkolsuk
Degree Master of Science (Pathobiology)
Thesis Supervisory Committee
 Somnate Boonpucknavig, M.D.
 Galayanee DOUNGCHAWEE, B.Sc., M.S.
Date of Graduation 12 July B.E. 2534 (1991)

ABSTRACT

One hundred and fifty four sera from patients with clinical diagnosed dengue hemorrhagic fever were utilized for antibody detection by indirect immunofluorescent antibody (IFA) technique with dengue antigen prepared from LLC-MK2 cell culture. The results revealed there were at least 2 groups of patients'sera reacted with dengue viral antigens of serotype 1,2,3 and 4 as homologous or heterologous antibody. All these sera were grouped according to their stages of infection as during fever (1-5 days before shock or subsidence of fever), at the day of shock or subsidence of fever and after shock or subsidence of fever (1-210 days after). There was no correlation between IFA level and stages of infection. Thus, the finding of antibody level by IFA technique couldnot indicate the duration of infection. By using

immunoblotting technique, all 62 sera obtained from patients who had IFA antibody, showed specific antibodies reacting with various components of dengue viral proteins. However, the antibody detection by immunoblotting technique was found into 2 patterns, one consisted of antibodies reacted with 3 major viral proteins with molecular weight (Mr) of 130, 92-98 and 54-60 KD, while the other consisted of additional reactive band at Mr 42-46 KD. The former immunoblotting pattern was usually found in patients during febrile period and the latter showed in those patients with shock or subsidence of fever and thereafter. The specificity of antibody reacting with dengue viral antigen by immunoblotting technique was also defined by immunoprecipitation. The result of the above study revealed the viral antigens captured by patients' sera comprised a variety of proteins in the MW range from 42 to 130 KD as identified by immunoblotting technique. The consistent detection of antibodies reacting with viral proteins of Mr 92-98 and 54-60 KD; particularly the 92-98 KD reactive band was specific in only patients' sera not in any control sera. This preliminary finding may suggest the possibility of characterization of immunoblotting pattern in correlation with clinical features of patients which may be useful for specific diagnosis of dengue infection.