



INTRATYPIC VARIATIONS AMONG HEPERESIMPLEX VIRUS TYPE 2
ISOLATES IN THAILAND

PARVAPAN BHATTARAKOSOL

อภินันท์นาการ
๑๓
พารวพาน บhattarakosol

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY
(MICROBIOLOGY)

IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1990

Copyright by Mahidol University

การศึกษาความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ของไวรัสเริมทัยป์ 2 อาศัย
 วจนโรคลนัลแอนติบอดีซึ่งผลคขึ้นในท้องปฏิบัติการ วจนการกระตุ้นด้วย
 แอนติเจนของไวรัสเริมมาตรฐานทัยป์ 2 สายพันธุ์ 186 วจนโรคลนัล
 แอนติบอดีที่ใช้ในการศึกษา บางชนิดมีคุณสมบัติทาบฏิกิริยาจาเพาะต่อแอนติ-
 เจนเยื่อหุ้มภายนอกของไวรัสเริม (ซึ่งเป็นกลัยโรโปรตีน คือ gD, gG,
 gB และ gE) ทั้งสองทัยป์หรือจาเพาะต่อไวรัสเริมทัยป์ 2 เท่านั้น
 การศึกษาความแตกต่างของแอนติเจนที่เปลือกนอกของไวรัสเริมทัยป์ 2 ที่
 แยกจากผู้ป่วย วิธีหนึ่ง คือใช้ indirect ELISA วจนทดสอบความ
 สามารถของวจนโรคลนัลแอนติบอดี 10 ชนิดในการทาบฏิกิริยากับเชื้อเริม
 ทัยป์ 2 ที่แยกจากผู้ป่วย เปรียบเทียบกับไวรัสเริมมาตรฐานทัยป์ 2 สายพันธุ์
 186 ผลการศึกษาวิธีนี้ ทาให้สามารถบ่งชี้ได้ว่า วจนเลกุล gE และ
 บางอีพีโทปบนวจนเลกุล gD สามารถเปลี่ยนแปลงไปค้มาก วจนที่ไวรัสยังคง
 คงคุณสมบัติในการก่อให้เกิดการติดเชื้ออยู่ได้ นอกจากนี้ ยังสามารถจัดกลุ่ม
 ไวรัสเริมที่แยกจากผู้ป่วยในประเทศไทยได้เป็น 30 กลุ่ม นอกจากความ
 หลากหลายของแอนติเจนที่ปรากฏบนเยื่อหุ้มภายนอกของไวรัสเริม ซึ่ง
 สามารถตรวจพบได้ วจน วิธีวจนโรคลนัลแอนติบอดีที่จาเพาะต่อไวรัสเริมทั้ง
 ทัยป์ 1 และ 2 ยังสามารถตรวจพบความแตกต่าง วจนใช้แอนติบอดีที่
 จาเพาะต่อไวรัสเริมทัยป์ 2 เท่านั้นอีกด้วย นอกจากวิธี indirect ELISA
 แล้ว ยังได้ทาการศึกษา วจนใช้วจนโรคลนัลแอนติบอดีที่จาเพาะต่อวจนเลกุล
 gD ซึ่งเป็นชนิดที่สามารถ neutralize หรือยับยั้งการเข้าไปเจริญเพิ่ม
 จานวนของไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยง ผลการศึกษาแสดงว่า บางอีพีโทปบน
 วจนเลกุล gD ซึ่งสามารถทาบฏิกิริยาได้กับวจนโรคลนัลแอนติบอดีชนิดที่ไม่จา
 เป็นต้องอาศัยคอมพลีเมนต์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่การทดลองนี้
 ยังไม่สามารถชี้ชัดลงไปได้ว่า บางอีพีโทปบนวจนเลกุล gD ที่ทาบฏิกิริยาได้กับ
 วจนโรคลนัลแอนติบอดี ชนิดที่คองอาศัยคอมพลีเมนต์ช่วย เสริมงานการทางาน
 าค้ขึ้น มีความหลากหลายเช่นเดียวกันหรือไม่ กล่าว วจนสรุปการศึกษา
 ทั้งหมดนี้ เป็นการแสดงความแตกต่างของไวรัสเริมทัยป์ 2 ที่แยกจากผู้ป่วย
 วจน เปรียบเทียบกับไวรัสเริมมาตรฐานทัยป์ 2 สายพันธุ์ 186 ซึ่งเป็น
 สายพันธุ์ที่พัฒนาให้เจริญเพิ่มจานวนในท้องปฏิบัติการมาเป็นเวลานานแล้ว ผล
 การศึกษาบ่งชี้ว่าไวรัสเริมทัยป์ 2 ซึ่งแยกจากผู้ป่วยในประเทศไทย มีความ
 หลากหลายมากในแง่ของแอนติเจนของไวรัส

Thesis Title INTRATYPIC VARIATIONS AMONG HERPES
 SIMPLEX VIRUS TYPE 2 ISOLATES IN
 THAILAND

Name Parvapan Bhattarakosol

Degree Doctor of Philosophy (Microbiology)

Thesis Supervisory Committee

 Chalobon Yoosook, Ph.D.
 Stitaya Sirisinha, D.M.D., Ph.D.
 Pantipa Sinarachatanant, Ph.D.
 Prapon Wilairat, Ph.D.
 Peter Billings, Ph.D.

Date of Graduation 22 June B.E. 2533 (1990)

ABSTRACT

Genital herpes is one of the most common sexually transmitted diseases observed worldwide. Most of the cases are affected by herpes simplex virus (HSV) type 2 (HSV-2) although type 1 (HSV-1) has been found with an increasing frequency. The signs and symptoms of genital herpes caused by both types of HSV are similar, however, HSV-2 tends to cause a much higher rate of recurrent attacks than HSV-1. Moreover, a heterogeneity within each type of HSV has been observed. Thus, an investigation of intratypic variations among HSV strains isolated from various populations may be useful in epidemiological studies and contribute some knowledge for the development of HSV vaccines. This dissertation

describes a use of monoclonal antibodies (MAbs) to investigate intratypic variations among HSV-2 strains isolated from genital herpes cases in Thailand. These MAbs were produced against HSV-2 standard strain 186 and were characterized by an indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), plaque reduction neutralization test, immunofluorescence assay (IFA), polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and immunoblotting, radiolabeling and immunoprecipitation. Antigenic variations on various HSV-2 glycoproteins were analyzed in 128 HSV-2 isolates by an indirect ELISA using MAbs to the viral gD, gG, gB and gE; all except one anti-gG were reactive against both HSV-1 and HSV-2. Isolates were considered significantly different from the standard strain 186 when their optical density (OD) values in ELISA were less than half that of the strain 186. By this criterion, HSV-2 isolates could be arranged into 30 patterns. The most common pattern differed from the standard strain 186 was the isolates that reacted with neither gE nor one of the gD epitopes. Thus, HSV-2 can readily tolerate modifications in some parts of the gD and gE molecules while remaining infectious. By the indirect ELISA, a heterogeneity was also observed among the type-specific internal components of HSV-2 as well. Another approach to determine intratypic variations between HSV-2 isolates was a neutralization assay employing four different gD-neutralizing MAbs, two of which were complement-independent (C⁻MAbs) while the others were

complement dependent in order to enhance their neutralizing activity (C⁺MAbs). A significant difference in 50% neutralizing titers was clearly demonstrated among 65 HSV isolates when assayed with the C⁻MAbs, indicating a heterogeneity between the complement-independent neutralizing epitopes on HSV-2 gD. Whether the variations also existed in the epitopes recognized by C⁺MAbs could not be exactly indicated in this study. In conclusion, the intratypic variations of HSV-2 isolates in Thailand were revealed by comparing to a long-established laboratory strain of HSV-2 (186) using different approaches. It is likely that HSV-2 virus strains responsible for genital infections in Thailand can have widely different antigenic properties.