



26 เม.ย. 2532

PREVALENCE OF ASYMPTOMATIC GENITAL HERPES IN NEAR-TERM  
PREGNANT WOMEN AND ANTI-HSV-2 IgM RESPONSE FOLLOWING  
FIRST EPISODE AND RECURRENT DISEASES

WANNA PUMEECHOCKCHAI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE  
(MICROBIOLOGY)

อภินันท์นาการ

ช ๓

บัณฑิตวิทยาลัย ม.มหิดล

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1988

Copyright by Mahidol University

12228

ชื่อวิทยานิพนธ์	ความชุกของโรคติดเชื้อเริมที่อวัยวะสืบพันธุ์ชนิดไม่ปรากฏอาการในหญิงตั้งครรภ์ใกล้คลอด และภูมิคุ้มกันตอบสนองชนิด IgM ในผู้ที่ปรากฏอาการ เป็นครั้งแรกและผู้ติดเชื้อกลับซ้ำ
ผู้วิจัย	นางสาววรรณมา ผู้มีโชคชัย
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	1. นางชโลบล อยู่สุข ปร.ด. 2. นางสาวพันทิพา สินรัชตานันท์ ปร.ด. 3. นางพวงเพ็ญ ริมดุสิต พ.บ. 4. นางปราณี สิทธิสาร วท.ม.
วันที่สำเร็จการศึกษา	21 มิถุนายน 2531

บทคัดย่อ

Herpes simplex virus type 1 และ 2 (HSV-1 และ HSV-2) มีคุณสมบัติในการทำให้เกิดการติดเชื้อแอบแฝงในโฮสต์ตามธรรมชาติได้เช่นเดียวกับสมาชิกตัวอื่นที่อยู่ใน family Herpetoviridae การกระตุ้นโดยวิธีใดก็ตามที่ทำให้เชื้อไวรัสที่แอบแฝงตัวอยู่มีการทวีจำนวนขึ้นมาอีก อาจเป็นผลทำให้ผู้ป่วยแสดงอาการของการติดเชื้อ (symptomatic infection) หรือไม่มีอาการใด ๆ เลยก็ได้ (asymptomatic infection) การติดเชื้อ HSV บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ในหญิงตั้งครรภ์อาจเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตของเด็กขณะอยู่ในครรภ์ หรือเด็กคลอดใหม่ได้ ดังนั้น จึงควรตรวจหา HSV จากสิ่งส่งตรวจที่เก็บจากบริเวณปากมดลูกและช่องคลอดในระหว่างเดือนสุดท้ายของการตั้งครรภ์ในหญิงตั้งครรภ์ที่มีประวัติว่าเคยมีการติดเชื้อ HSV บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ แม้จะไม่แสดงอาการการติดเชื้อ HSV เลยก็ตาม

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อหาความชุกของโรคติดเชื้อ HSV ที่อวัยวะสืบพันธุ์โดยไม่ปรากฏอาการในหญิงตั้งครรภ์ใกล้คลอด ซึ่งมีอายุครรภ์ตั้งแต่ 30 สัปดาห์ขึ้นไปที่มาพบแพทย์ที่คลินิกฝากครรภ์ โรงพยาบาลรามารินทร์ การตรวจหาเชื้อ HSV ทำโดยวิธี

เพาะเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานเปรียบเทียบกับวิธีอื่น ๆ ที่ใช้ในการตรวจหาแอนติเจนของ HSV ในสิ่งส่งตรวจ ซึ่งได้แก่ biotin-streptavidin enzyme-linked immunosorbent assay (B-SA ELISA), immunoperoxidase staining ของ tissue smears การทดสอบทั้งสองชนิดนี้ทำโดยใช้ปฏิกิริยา biotin-streptavidin รวมทั้งศึกษาโดยใช้ staphylococcal co-agglutination test นอกจากนี้ยังใช้วิธี B-SA ELISA ตรวจหาระดับ anti-HSV-2 IgM ใน cord sera ของทารกแรกเกิดจากหญิงตั้งครรภ์เหล่านี้และจาก sera ของคนไข้ที่พบ herpes lesions บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ด้วย

การติดเชื้อ HSV ที่บริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ในหญิงตั้งครรภ์ที่ไม่มีอาการเหล่านี้มีความชุกต่ำมากคือพบ 1 รายใน 808 (0.12%) ที่ทำการศึกษาโดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลองและ B-SA ELISA ทั้ง 2 วิธีนี้ให้ผลบวกกับสิ่งส่งตรวจจาก lesions ของหญิงตั้งครรภ์ทั้ง 2 คนที่รวมเข้ามาทดสอบด้วย

วิธี B-SA ELISA ในการศึกษาสามารถตรวจได้ทั้ง HSV-2 และ HSV-1 โดยไม่มีปฏิกิริยาข้ามพวกกับ varicella zoster และ cytomegalovirus ซึ่งอยู่ใน family เดียวกัน สำหรับประสิทธิภาพของวิธี immunoperoxidase staining ในการตรวจหา HSV antigens ใน tissue smears นั้นไม่สามารถคำนวณได้เนื่องจากสิ่งส่งตรวจที่ส่งมาทดสอบทั้งหมดนั้นให้ผลลบโดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลอง ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกันเมื่อใช้วิธี immunoperoxidase staining และในการศึกษาโดยวิธี staphylococcal co-agglutination test เพื่อใช้ตรวจหา HSV antigens ในสิ่งส่งตรวจทั้ง 3 รายที่ให้ผลบวกโดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลอง และ B-SA ELISA พบว่าให้ผลลบทั้งหมด และวิธีนี้มีความไว (sensitivity) น้อยกว่าวิธี B-SA ELISA ประมาณ 800 เท่า เมื่อใช้ตรวจหาแอนติเจนของ HSV ในสิ่งส่งตรวจของคนไข้ที่มีแผลและอาการของการติดเชื้อ HSV ที่อวัยวะสืบพันธุ์จำนวน 125 รายให้ผลบวกเพียง 6 ราย (4.8%) เท่านั้น ขณะที่วิธี HSV isolation ให้ผลบวก 87 ราย (69.6%) และวิธี B-SA ELISA 84 ราย (67.2%) ดังนั้น อาจกล่าวได้ว่าวิธี B-SA ELISA เป็นวิธีตรวจหาแอนติเจนของ HSV ที่มีความไวที่สุด สำหรับเวลาที่ใช้ในการทดสอบโดยวิธีนี้

สามารถลดลงได้โดยการเติม polyethylene glycol ในปริมาณที่เหมาะสมลงใน diluent ของ detecting antibodies และ streptavidin peroxidase หรือ โดยการใช้น้ำสารทั้งสองชนิดนี้ในความเข้มข้นที่สูงขึ้น

ในการตรวจหา anti-HSV-2 IgM นั้น diluent ที่ใช้ควรมี 0.5 M NaCl เป็นส่วนประกอบเพื่อลดการจับของสารที่ไม่จำเพาะ ผลการศึกษาไม่พบ anti-HSV-2 IgM จาก cord sera ทั้งหมด รวมทั้ง cord sera 3 รายจากแม่ที่ตรวจพบ HSV ระหว่างตั้งครรภ์ด้วย อย่างไรก็ตาม โดยวิธีดังกล่าวสามารถตรวจพบ anti-HSV-2 IgM จาก sera 11 ใน 122 ราย (9.0%) จากคนไข้ที่มีอาการที่อวัยวะสืบพันธุ์เป็นครั้งแรก (geometric mean titer = 1:5,558) และ 23 ใน 141 ราย (16.3%) จากคนไข้ที่มีอาการติดเชื้อซ้ำหรือกลับเป็นอีก (geometric mean titer = 1:680) จึงสรุปได้ว่า การตรวจ anti-HSV-2 IgM ไม่สามารถใช้เพื่อแยกความแตกต่างระหว่างการติดเชื้อที่แสดงอาการเป็นครั้งแรกกับการติดเชื้อกลับซ้ำในคนไข้ที่โตเต็มวัย แต่อาจใช้บ่งชี้การติดเชื้อ HSV ในเด็กแรกเกิดได้ และในเด็กแรกเกิดซึ่งอยู่ในกลุ่มเสี่ยงควรมีการตรวจหา anti-HSV-2 IgM ต่อไปอีกเป็นเวลาประมาณ 1 เดือน เพราะเด็กอาจได้รับเชื้อ HSV ขณะคลอดหรือภายหลังคลอด

Thesis Title                   PREVALENCE OF ASYMPTOMATIC GENITAL HERPES IN  
NEAR-TERM PREGNANT WOMEN AND ANTI-HSV-2 Igm  
RESPONSE FOLLOWING FIRST EPISODE AND  
RECURRENT DISEASES

Name                           Miss Wanna Pumeechokchai

Degree                        Master of Science (Microbiology)

Thesis Supervisory Committee

1. Chalobon Yoosook, Ph.D.
2. Pantipa Sinarachatanant, Ph.D.
3. Pongpen Rimdusit, M.D.
4. Pranee Sithisarn, M.Sc.

Date of Graduation        21 June 1988

#### ABSTRACT

Herpes simplex viruses types 1 and 2 (HSV-1 and HSV-2), similar to other members of viruses in the family Herpetoviridae, can cause latent infection in their natural hosts. This infection can be reactivated and manifested with or without signs and symptoms, referred to as symptomatic or asymptomatic infections, respectively. Genital herpes in pregnant women has been shown to affect fetuses and newborns and cause significant morbidity and mortality. Thus, cervico-vaginal swabs for detection of HSV shedding should be done during the last month of gestation in women with a history of genital herpes.

In the present study, the prevalence of asymptomatic genital herpes in near-term pregnant women (at least 30 weeks of gestation) who attended the antenatal clinic at Ramathibodi Hospital was

investigated by using in vitro cultivation procedure. Various other methods for detection of HSV antigens were also compared to this standard cell culture assay. These included biotin-streptavidin enzyme-linked immunosorbent assay (B-SA ELISA), immunoperoxidase staining of tissue smears and the staphylococcal co-agglutination test. An attempt to detect anti-HSV-2 IgM was also carried out in cord blood samples obtained from the infants born to some of these mothers. Anti-HSV-2 IgM response was also determined in adults with genital herpetic lesions.

The results indicated that the prevalence of asymptomatic genital herpes infection in these pregnant women was very low, i.e., 1 of 808 (0.12%) was positive by viral isolation and B-SA ELISA while samples obtained from 2 pregnant women with herpetic lesions were positive by both tests.

The protocol of B-SA ELISA used in the present study can detect both HSV-1 and HSV-2 but not varicella-zoster and cytomegalovirus. The value of immunoperoxidase staining of tissue smears can not be evaluated since specimens from pregnant women who excreted the virus are unavailable. Staphylococcal co-agglutination test could not detect HSV antigens in all 3 HSV-isolation and B-SA ELISA positive samples. When the sensitivity of this assay technique for detection of HSV was determined, it was found to be about 800-fold less sensitive than the B-SA ELISA. It could detect only 6 of 125 (4.8%) whereas 87 of 125 (69.6%) and 84 of 125 (67.2%) was positive by HSV isolation and by B-SA ELISA, respectively. Thus, B-SA ELISA seems to be the most sensitive immunological assay for HSV detection. The assay can be more rapid if either a suitable amount of PEG is included in the detecting antibodies and streptavidin peroxidase or high concentrations of both reagents were used.

For detection of anti-HSV-2 IgM, the diluent should contain high salt concentration (i.e., 0.5 M NaCl) to reduce non-specific binding to the solid phase. The results indicated that anti-HSV-2 IgM was not detectable in all cord sera including from all infants born to 3 mothers who shed HSV during gestation. However, this assay protocol can detect anti-HSV-2 IgM in 11 of 122 (9.0%) and 23 of 141 (16.3%) sera from the patients with 1st episode (geometric mean titer of 1:5,558) and recurrent genital herpes (geometric mean titer of 1:680), respectively. It can be then concluded that anti-HSV-2 IgM should not be used to differentiate between 1st episode and recurrent genital herpes infection in adults, although it can be used to notify HSV infection in newborn infants. In addition, infants may acquired infection intrapartum or postnatally, thus serum samples for anti-HSV IgM detection should be obtained during 1-month period after birth.