

Thesis Title Proportion of Dengue Serotype 2 Virus Subtype IIIa and IIIb in Bangkok, Thailand in 1994

Author Miss Rungtawan Sriburi

M.Sc. Microbiology

Examining Committee:

Assoc. Prof. Dr. Niwat	Maneekarn	Chairman
Dr. Prida	Malasit	Member
Dr. Boonyos	Raengsakulrach	Member
Assoc. Prof. Dr. Noppom	Sittisombut	Member

Abstract

The first epidemic of dengue hemorrhagic fever in Thailand was recognized in 1958 in Bangkok. Since then more than one serotype of dengue viruses have been isolated in each epidemic season, but the serotype 2 viruses are detected almost every year. Nucleotide sequence analysis of the envelope gene of dengue serotype 2 viruses, which circulated in Bangkok in 1980 and 1987, indicates that dengue serotype 2 viruses can be divided into two subtypes (IIIa and IIIb). The proportion of the two subtypes was 3 : 2 in 1980 and 18 : 1 in 1987, respectively. The purpose of this study was to determine the proportion of the subtypes IIIa and IIIb which circulated in

Bangkok during 1994. Twenty-four dengue serotype 2 isolates and patient sera were obtained from the Armed Forces Research Institute of Medical Sciences, Bangkok. The envelope gene was amplified by polymerase chain reaction (PCR) and the PCR products hybridized with five pairs of oligonucleotide probe and a reference probe. For each virus the intensity of the hybridization signal derived from a specific probe was divided by that of a reference probe to obtain the adjusted volume ratio and the maximum optical density ratio. The sensitivity and specificity of each specific probe were determined using a set of serotype 2 viruses with known envelope gene sequences. When the lowest levels of adjusted volume ratio against the corresponding set of viruses were employed as the cutoff points (sensitivity of 100%), the specificity of most probes were 100%. Only one probe, 141-IIIa, exhibited the specificity of 80%. When the lowest levels of maximum optical density ratio were employed as the cutoff points, the specificity was detected at the 100% level with only seven probes. Two pairs of oligonucleotide probes (484-IIIa, 484-IIIb, 491-IIIa and 491-IIIb) appeared to give the highest levels of sensitivity and specificity for detecting the subtype IIIa and IIIb viruses by the hybridization analysis. When all five pairs of specific probe were reacted with 24 dengue serotype 2 viruses found during the 1994 epidemic season, four pairs of probe typed all viruses from 1994 as subtype IIIa. Only the probe 491-IIIa failed to identify one (out of 20) strain as the subtype IIIa strain. When the probe 346-IIIa-87, which was specific for subtype IIIa viruses of the 1987 epidemic season, was hybridized with the 1994 strains, all of the subtype IIIa strains found in Bangkok during 1994 were reacted strongly with this probe. This observation indicated that all of subtype IIIa found in Bangkok during 1994 in this study might be direct descendants of the 1987 precursors.

ชื่อวิทยานิพนธ์ สัดส่วนของเชื้อไวรัสเด็งกีซีโรทัยปี 2 ชนิดซัพทัยปี IIIa และซัพ
ทัยปี IIIb ในกรุงเทพมหานคร ในปี ค.ศ. 1994

ผู้เขียน นางสาวรุ่งตะวัน ศรีบุรี

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์:

รศ. ดร. นิวัฒน์ มณีกาญจน์	ประธานกรรมการ
อ. นพ. ปรีดา มาลาสิทธิ์	กรรมการ
ดร. บุญยศ เรืองสกุลราช	กรรมการ
รศ. นพ. นพพร สิริสมบัติ	กรรมการ

บทคัดย่อ

การระบาดของโรคไข้เลือดออกในกรุงเทพฯ เริ่มพบเป็นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1958 และยังคงดำเนินต่อเนื่องถึงปัจจุบัน ในการระบาดแต่ละปีที่ผ่านมาสามารถเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสเด็งกีจากผู้ป่วยได้มากกว่าหนึ่งซีโรทัยปีเสมอ แต่เชื้อเด็งกีซีโรทัยปี 2 เป็นเชื้อที่พบได้แทบทุกปี การวิเคราะห์ลำดับเบสของส่วนที่กำหนดโปรตีนเอ็นเวโลปของเชื้อเด็งกีซีโรทัยปี 2 ที่ระบาดในปี ค.ศ. 1980 และ 1987 บ่งชี้ว่าเชื้อเด็งกีซีโรทัยปี 2 ในกรุงเทพฯ แบ่งออกเป็น 2 ซัพทัยปี (ซัพทัยปี IIIa และ IIIb) ซึ่งมีการกระจายตัวที่ไม่เสมอกันในแต่ละปี คือ พบเป็นสัดส่วน 3 : 2 ในปี ค.ศ. 1980 และ 18 : 1 ในปี ค.ศ. 1987 ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะวัดสัดส่วนของเชื้อเด็งกีซีโรทัยปี 2 ชนิดซัพทัยปี IIIa และ

IIIb ที่ระบาดในกรุงเทพฯ ในปี ค.ศ. 1994 เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของการกระจายตัวของเชื้อเด็งกีทั้งสองซัพทัยปีตามระยะเวลาของการระบาด ได้นำเชื้อเด็งกีซีโรทัยปี 2 ที่แพร่ระบาดในกรุงเทพฯ ในปี ค.ศ. 1994 จำนวน 24 ตัวอย่างจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทหาร มาทำการเพิ่มจำนวนส่วนที่กำหนดโปรตีนเอ็นเวโลปโดยวิธีโพลีเมอเรสเชนรีแอคชัน แล้วให้ทำปฏิกิริยากับตัวตรวจหา (probe) ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสแต่ละซัพทัยปีจำนวน 5 คู่และตัวตรวจหาอ้างอิง, วัดความเข้มของสัญญาณ, กำหนดหาสัดส่วนความเข้มของสัญญาณจากตัวตรวจหาที่จำเพาะเทียบกับตัวตรวจหาอ้างอิง และแสดงค่าเป็นสัดส่วนของปริมาตร (adjusted volume ratio) และสัดส่วนความทึบแสงสูงสุด (maximum optical density ratio) โดยได้ศึกษาความไวและความจำเพาะของตัวตรวจหากับกลุ่มเชื้อที่ทราบลำดับเบสเสียก่อน เมื่อใช้ค่าสัดส่วนต่ำสุดของปริมาตรที่ได้จากปฏิกิริยาของตัวตรวจหากับเชื้อในซัพทัยปีที่ตรงกันเป็นเกณฑ์แยก (ความไว 100%) พบความจำเพาะของตัวตรวจหาส่วนใหญ่เป็น 100% ยกเว้นตัวตรวจหา 141-IIIa ซึ่งมีความจำเพาะเพียง 80% เมื่อใช้ค่าสัดส่วนต่ำสุดของความทึบแสงสูงสุดเป็นเกณฑ์ พบมีตัวตรวจหาเพียง 7 ตัวที่ให้ความจำเพาะ 100% ตัวตรวจหาที่มีค่าความไวและความจำเพาะสูงสุดจากการศึกษากับกลุ่มเชื้อที่ทราบลำดับเบส 29 สายพันธุ์ได้แก่ 141-IIIa, 141-IIIb, 491-IIIa และ 491-IIIb เมื่อนำตัวตรวจหาทั้ง 5 คู่ทำปฏิกิริยากับเชื้อเด็งกีซีโรทัยปี 2 จากปี ค.ศ. 1994 จำนวน 24 ตัวอย่างพบว่าตัวตรวจหา 4 คู่จำแนกเชื้อไวรัสเด็งกีซีโรทัยปี 2 เป็นซัพทัยปี IIIa ทั้งหมด โดยตัวตรวจหา 491-IIIa ไม่สามารถจำแนกเชื้อเด็งกีหนึ่งตัวอย่างว่าเป็นซัพทัยปี IIIa เมื่อใช้ตัวตรวจหา 346-IIIa-87 ที่จำเพาะต่อเชื้อเด็งกีซัพทัยปี IIIa ที่ระบาดในปี ค.ศ. 1987 ทำปฏิกิริยากับเชื้อไวรัสที่ระบาดในปี ค.ศ. 1994 พบว่าเชื้อเด็งกีซัพทัยปี IIIa ทุกตัวทำปฏิกิริยากับตัวตรวจหานี้ได้อย่างดี ผลการทดลองนี้แสดงว่าเชื้อเด็งกีที่ระบาดในปี ค.ศ. 1994 น่าจะสืบทอดมาจากเชื้อต้นตอที่เคยระบาดในกรุงเทพฯ ระหว่างปี ค.ศ. 1987