7

การศึกษาเปรียบเทียบตัวกลางแขวนตะกอน และวิธีการทำให้เชื้อไวรัสหมดสภาพ ที่มีผลต่อความแรงของวัคซีนโรคกลัวน้ำ

ประกอบ เรืองไรรัตนโรจน์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2527

ISBN-974-563-546-4

010232

I16082862

COMPARATIVE STUDY OF SUSPENSION MEDIA AND INACTIVATION METHODS ON THE POTENCY OF ANTIRABIES VACCINE

Mr. Prakorb Ruengrairatanarojn

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Microbiology
Graduate School
Chulalongkorn University

1984

ISBN-974-563-546-4

Thesis Title Comparative Study of Suspension Media and Inactivation Methods on the Potency of Antirabies Vaccine

By Mr. Prakorb Ruengrairatanarojn

Department Microbiology

Thesis Advisor Associate Professor Santi Thongsuwan Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfilment of the Requirments for the Master's Degree.

S. Bunnag .....Dean of Graduate School

(Associate Professor Supradit Bunnag,Ph.D.)

Thesis Committee

Saree Virunhaphol ...Chairman

(Associate Professor Saree Virunhaphol,M.Sc.in Pharm.)

Santi Thongsuwan .....Member

(Associate Professor Santi Thongsuwan, Ph.D.)

Aurapin Rudeechuen .....Member

(Associate Professor Aurapin Rudeechuen, M.Sc. in Pharm.)

Kriengsak Saitanu .....Member

(Instructor Kriengsak Saitanu Ph.D.)

Copyright of the Graduate School, Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาเปรียบเทียบตัวกลางแขวนตะกอน และวิธีการทำให้เชื้อไวรัสหมดสภาพ ที่มีผลต่อความแรงของวัคซีนโรคกลัวน้ำ

ชื่อนิสิต นาย ประกอบ เรืองไรรัตนโรจน์

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.สันติ ถุงสุวรรณ

ภาควิชา จุลชีววิทยา

ปีการศึกษา 2526

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ผลการทดลองเปรียบเทียบ ความแรงและความคงตัวของวัคซีนป้องกันโรคกลัวน้ำในตัวกลางแขวนตะกอน และใช้วิธีการทำให้เชื้อไวรัสหมดสภาพต่างวิธีกัน ปรากฏว่าความแรงและความคงตัวของวัคซีนไม่มีผลแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อใช้ normal saline หรือ phosphate buffer saline เป็นตัวกลางแขวนตะกอน ส่วนวิธีการทำให้เชื้อหมดสภาพปรากฏว่า การใช้ betapropiolactone (BPL) จะทำให้วัคซีนมีความแรงสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้ phenol และความร้อน

นอกจากนี้การเปรียบเทียบความแรงและความคงตัวของวัคซีนแห้งจากสมองหนูแรกเกิดที่ทำให้เชื้อหมดสภาพด้วย BPL ใน ตัวกลางแขวนตะกอน (suspension media) อีกสามชนิด พบว่า sucrose saline หรือ lactose saline จะให้ความแรงของวัคซีนสูงกว่า dextran saline ความคงตัวของวัคซีนใน sucrose saline จะสูงกว่าใน lactose saline หรือใน dextran saline

Thesis Title Comparative study of suspension media and Inactivation methods on the Potency of Antirabies Vaccines.

Name Mr. Prakorb Ruengrairatanarojn.

Thesis Advisor Associate Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D.

Department Microbiology

Academic Year 1983

ABSTRACT

This research reporting the comparative study on the potency and stability of antirabies vaccine after employing different suspension media and inactivation methods. There was no statistical difference on potency and stability or vaccine in using either normal saline solution (NSS) or phosphate buffer saline (PBS) as suspension media. For rabies viral inactivations, betapropiolactone (BPL) gave the greatest potency statistical significantly in comparison with phenol and heat applications.

Furthermore, the compasion of other 3 suspension media used in the lyophilized, BPL inactivated suckling mouse brain rabies vaccine was done. It was demonstrated that sucrose saline and lactose saline gave better potency than using dextran saline as suspension media while sucrose saline gave better stability than the other two suspension media.

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Acknowledgement

I wish to express my appreciation to Associate Professor Dr.Santi Thoongsuwan, Associate Dean Administrative Affairs, and Head of the Department of Microbiology, Faculty of pharmacentical Sciences, Chulalongkorn University for his interest, kind guidance and encouragement throughout the course of this research and thesis preparation.

I am greatly indebted to all my staff members of the Science Institute, Thai Red Cross Societies for their assistance and devotion of their valuable time in this research.

I would like to express my sincere thanks to Dr. Sakol Hitayothin, who mentioned his idea on this work.

Finally I also wish to extend my sincere thanks to Associate Professor Dr. Mitri Suthajitr, Department of Biochemistry Chiangmai University who lighted up my attitude in research work.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Table of content

Page

Thai abstract IV

English abstract V

Acknowledgement VI

Table of content VII

List of tables IX

List of abbreviation X

Chapter

1. Introduction 1

- Rabies virus history 1

- Morphology and physiochemical properties 3

- Pathogenesis 5

- Rabies occurance & epidemiology 8

- Rabies prevention and therapy 9

2. Materials and methods 14

- Materials 14

- Methods 16

1. Preparation of stock working virus . . . 16

2. Preparation of laboratory reference standard , ... 16

3. Vaccine preparation 16

A. Semple vaccine 16

B. Suckling mouse brain vaccine 17

C. Lyophilized suckling mouse brain vaccine 19

Page

Chapter

4. Vaccine testing 19

5. Calculation 20

3. Result 22

4. Discussion and conclusion. 38

Reference 41

Vita 48

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Page

Table I Animal susceptibility to rabies infection 7

Table II Calibration of the potency of laboratory reference standard 24

Table III Comparison of the potency of semple vaccine 10 % suspension using NSS and PBS as suspension media and inactivated by various methods.....25-29

Table IV Comparison of the potency of 2 % suckling mouse brain vaccine using NSS and PBS as suspension media and inactivated by various methods..... 30-31

Table V Comparison of the stability of 2 % suckling mouse brain rabies vaccine in NSS and PBS by incubated at 37 at 37°C, 12 days (accelerate degradation test)..... 32-33

Table VI Statistical test in potency of semple vaccine..... 34

Table VII Statistical test in potency of 2 % SMB vaccine..... 35

Table VIII Statistical test in the stability of 2 % SMB vaccine in NSS and PBS (by accelerate degradation test).... 36

Table IX Comparison of the potency of 3 % lyophilized suckling mouse brain vaccine in various stabilizers. 37

List of Abbreviation

amu.	Atomic mass unit
B-NS	BPL inactivate in NSS
BPL	Beta propialactone
B-PS	BPL inactivate in PBS
CNS	Central nervous system
CVS	Challenge virus standard
DEV	Duck embryo vaccine
gm.	Gram
HDCV	Human diploid cells vaccine
H-NS	Heat inactivate in NSS
H-PS	Heat inactivate in PBS
IU.	International unit
ml.	mililitre
mm.	milimeter
MW.	molecular weight
NIH	National institute of health, USA.
nm.	Nanometer
NS	Nervous system
NSS	Normal saline solution
NTV	Nervous tissue vaccine
PBS	Phosphate buffer saline solution
P-NS	Phenol inactivate in NSS
P-PS	Phenol inactivate in PBS
PV	Pasteur strain virus
SMBV	suckling mouse brain vaccine
WHO	World Health Organisation

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย