

คุณสมบัติของวัคซีนซึ่งเตรียมจากเชื้อซูโคโมแนส แอรูจิโนซ่า
และอิมมิวโนโกลบูลินที่ได้จากการกระตุ้นกระต่าย



นางสาววรรณี ศิลปอาชา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาคามหลักสูตรปริญญาโทสาขาสัตวศาสตร์มหาบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2525

ISBN 974-561-156-5

007440

i 17211918

IMMUNOLOGICAL PROPERTIES OF VACCINES PREPARED
FROM PSEUDOMONAS AERUGINOSA AND IMMUNOGLOBULINS
INDUCED FROM RABBITS



Miss Vanee Silapaarcha

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement
for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1982

หัวข้อวิทยานิพนธ์

คุณสมบัติของวัคซีนซึ่งเตรียมจากเชื้อชุกโคโมแนส แอรูจีโนซ่า และ
อิมมิวโนโกลบูลิน ที่ได้จากการกระตุ้นกระต่าย

โดย

นางสาววรรณ ศิลปอาชา

ภาควิชา

จุลชีววิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ นายสัตวแพทย์ คร. เกรียงศักดิ์ สายขลุ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คร. สันติ อุดสุวรรณ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุประคิษฐ์ มุขนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สารี วิรุฬผล)

.....กรรมการ
(อาจารย์ นายสัตวแพทย์ คร. เกรียงศักดิ์ สายขลุ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คร. สันติ อุดสุวรรณ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อรพิน อุดชื่น)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ คุณสมบัติของวัคซีน ซึ่งเตรียมจากเชื้อชุกโคโมแนส แอรูจิโนซ่า และ
 อิมมิวโนโกลบูลินที่ได้จากการกระตุ้นกระท้าย

ชื่อนิสิต นางสาววรรณิ ศิลปอาชา

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ นายสัตวแพทย์ คร.เกรียงศักดิ์ สายธนู
 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คร.สันติ อุดสุวรรณ

ภาควิชา จุลชีววิทยา

ปีการศึกษา 2524

บทคัดย่อ

การทดลองฉีด vaccine ทั้งแบบ monovalent และ trivalent จาก whole cell และ lipopolysaccharide (LPS) vaccine ของเชื้อ Pseudomonas aeruginosa ในกระท้าย โดยฉีดสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวม 6 ครั้ง พบว่า titer จะขึ้นสูงสุดในสัปดาห์ที่ 5 monovalent และ trivalent whole cell vaccine สามารถให้ titer ของ antibody ได้สูงถึง 1:8,192 ซึ่งสูงกว่า จาก monovalent และ trivalent LPS vaccine ซึ่งให้ titer สูงสุด เพียง 1:2,048 และการใช้ trivalent ทั้ง whole cell และ LPS vaccine จะให้ titer ได้ใกล้เคียงกับจาก monovalent vaccine จากการหาค่า LD₅₀ ของ immunotype 1, 2 และ 4 พบว่ามีค่าเท่ากับ 4.0×10^{24} , 9.7×10^{23} และ 3.8×10^{24} ตามลำดับ ผลการทดลอง passive immunity โดยใช้ immunoglobulin ที่เตรียมจาก serum ที่ได้จากการฉีดกระท้ายด้วย monovalent และ trivalent ของทั้ง whole cell และ LPS vaccine โดยใช้ whole cell immunoglobulin ในปริมาณต่าง ๆ กันคือ 13, 8, 5 และ 2 mg และ LPS -

immunoglobulin ในปริมาณ 25, 20 และ 15 mg ฉีดเข้าช่องท้องของหนูถีบจักร ความเข้มข้นละ 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว หลังจากนั้น 3 ชั่วโมง challenge เชื้อ immunotype 1, 2 และ 4 ในแต่ละกลุ่มของแต่ละความเข้มข้น โดยฉีดเข้าช่องท้อง ผลปรากฏว่า immunoglobulin จาก monovalent whole cell vaccine ปริมาณ 8 mg สามารถป้องกันสัตว์จากเชื้อ type เกียวกันได้ 80-100 % และเชื้อ ต่าง type ได้ 0-20 % และ immunoglobulin จาก trivalent whole cell vaccine ปริมาณ 8 mg สามารถป้องกันสัตว์จากเชื้อทั้ง 3 immunotypes ได้ 80-100 % จากการใช้ immunoglobulin จาก monovalent LPS vaccine ปริมาณ 25 mg สามารถป้องกันสัตว์จากเชื้อ type เกียวกันได้ 80-100 % และเชื้อ ต่าง type ได้ 20-40 % และ immunoglobulin จาก trivalent LPS vaccine ปริมาณ 25 mg สามารถป้องกันสัตว์จากเชื้อทั้ง 3 immunotypes ได้ 80-100 %

Thesis Title Immunological properties of vaccines prepared from
Pseudomonas aeruginosa and immunoglobulins induced
from rabbits

Name Miss Vannee Silapaarcha

Thesis Advisor Instructor Dr. Kriengsag Saitanu, D.V.M., Ph.D.
Assistant Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D.

Department Microbiology

Academic year 1981

Abstract

Monovalent and trivalent from whole cell and lipopolysaccharide (LPS) vaccines of Pseudomonas aeruginosa were injected into rabbits once a week, on a period of 6 weeks, the highest titer was found at the 5th week. Monovalent and trivalent whole cell vaccines produced higher antibody titer (1:8,192) than monovalent and trivalent LPS vaccine (1:2,048). The antibody producing of trivalent of whole cell and LPS vaccine gave similar titer to monovalent vaccine.

LD₅₀ of immunotype 1, 2 and 4 of P. aeruginosa were 4.0×10^{24} , 9.7×10^{23} and 3.8×10^{24} respectively.

The study of passive immunity on mice used immunoglobulin prepared from rabbit serum which were immunized by monovalent and trivalent of whole cell and LPS vaccine. The concentration 13, 8, 5 and 2 mg of whole cell immunoglobulin and 25, 20 and 15 mg of LPS

immunoglobulin, each were injected intraperitoneally into three groups of mice (five in each group). The animals, after 3 hours, were challenged with the immunotype 1, 2 and 4 of P. aeruginosa. It was found that 8 mg of immunoglobulin from monovalent whole cell vaccine could protect 80-100 % of mice from the same type of P. aeruginosa, and 0-20 % from the different type. The equal concentration of immunoglobulin from trivalent whole cell vaccine could protect 80-100 % of mice from all three types. The 25 mg of immunoglobulin from monovalent LPS vaccine could protect 80-100 % of mice from the same type of P. aeruginosa, and 20-40 % from the different type. The equal amount of immunoglobulin from trivalent LPS vaccine could protect 80-100 % of mice from all three types.



กิติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.เกรียงศักดิ์ สายธนู ซึ่งให้ความกรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการวิจัยอย่างละเอียด ช่วยแก้ปัญหาในการวิจัยอย่างค้ำยั้ง ทั้งยังกรุณาจัดหาวัสดุอุปกรณ์ สัตว์ทดลอง และสถานที่ทำการวิจัยมาโดยตลอด

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สันติ อุดงสุวรรณ ที่ได้กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม และช่วยให้คำแนะนำ แก้ปัญหา และจัดหาวัสดุ อุปกรณ์บางอย่างในงานวิจัยนี้

ผู้เขียนขอขอบพระคุณภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และสถาบันราชประชาสมาศัย ที่ให้ความกรุณาในการใช้เครื่องมือบางอย่างในการวิจัยครั้งนี้

ผู้เขียนขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือและความสะดวกต่าง ๆ จนกระทั่งวิทยานิพนธ์สำเร็จ ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์เรื่องนี้

ผู้เขียนขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ดูแลสัตว์ทดลองของหน่วยจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทย-ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือในการเลี้ยงดูสัตว์ทดลองเป็นอย่างดี ตลอดจนการวิจัย



สารบัญ

| | หน้า |
|-----------------------------|--------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | ฉ |
| กิตติกรรมประกาศ..... | ช |
| รายการตารางประกอบ..... | ญ |
| รายการรูปภาพประกอบ..... | ฉ |
| ศัพท์ย่อ..... | ร |
| บทที่ | |
| 1. บทนำ..... | 1 |
| 2. อุปกรณ์และวิธีการ..... | 19 |
| 3. ผลการวิจัย..... | 30 |
| 4. วิเคราะห์ผลการวิจัย..... | 44 |
| 5. สรุปผลงานวิจัย..... | 50 |
| บทแทรกที่ 1 | 52 |
| บทแทรกที่ 2 | 54 |
| เอกสารอ้างอิง..... | 56 |
| ประวัติผู้เขียน..... | 70 |

รายการตารางประกอบ

| | หน้า |
|---|------|
| ตารางที่ 1 ลักษณะสำคัญที่ใช้พิสูจน์เชื้อ <u>P. aeruginosa</u> | 3 |
| ตารางที่ 2 แสดงส่วนประกอบของ LPS..... | 7 |
| ตารางที่ 3 แสดงแหล่งที่มาของเชื้อ <u>P. aeruginosa</u> ที่ใช้ในการ ทดลอง | 19 |
| ตารางที่ 4 Titer ของ pooled serum หลังฉีด whole cell vaccine ครั้งที่ 6 นาน 1 สัปดาห์ | 35 |
| ตารางที่ 5 Titer ของ pooled serum หลังฉีด LPS vaccine ครั้งที่ 6 นาน 1 สัปดาห์..... | 36 |
| ตารางที่ 6 Passive immunity ของ immunoglobulin ซึ่งเตรียม จาก monovalent และ trivalent whole cell vaccine | 40 |
| ตารางที่ 7 Passive immunity ของ immunoglobulin ซึ่งเตรียม จาก monovalent และ trivalent LPS vaccine | 42 |
| ตารางที่ 8 เปรียบเทียบปริมาณ immunoglobulin ที่ได้จากการฉีด กระต่ายกาย whole cell vaccine และ LPS vaccine ในการป้องกันหนูถีบจักรได้ 100 % | 47 |



รายการรูปภาพประกอบ

| | | หน้า |
|----------|--|------|
| รูปที่ 1 | โครงสร้าง cell envelope ของ gram-negative bacteria | 6 |
| รูปที่ 2 | A. LPS ของ gram-negative bacteria | 6 |
| | B. ส่วน lipid A ของ LPS | 6 |
| | C. ส่วน Core polysaccharide ของ LPS..... | 6 |
| รูปที่ 3 | Agglutinating titer ของกระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent และ trivalent whole cell vaccine ของ <u>P. aeruginosa</u> immunotype 1 ... | 32 |
| รูปที่ 4 | Agglutinating titer ของกระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent และ trivalent whole cell vaccine ของ <u>P. aeruginosa</u> immunotype 2 ... | 32 |
| รูปที่ 5 | Agglutinating titer ของกระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent และ trivalent whole cell vaccine ของ <u>P. aeruginosa</u> immunotype 4 ... | 33 |
| รูปที่ 6 | PHA titer ของกระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent และ trivalent LPS vaccine ของ <u>P. aeruginosa</u> immunotype 1 | 33 |
| รูปที่ 7 | PHA titer ของกระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent และ trivalent LPS vaccine ของ <u>P. aeruginosa</u> immunotype 2 | 34 |

| | | หน้า |
|----------|---|------|
| รูปที่ 8 | PHA titer ของกระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent และ trivalent LPS vaccine ของ <u>P. aeruginosa</u> immunotype 4 | 34 |
| รูปที่ 9 | LD 50 ของเชื้อ <u>P. aeruginosa</u> | 38 |

ศัพท์ย่อ

| | |
|------------------|---------------------------|
| g | gram |
| GLP | glycolipoprotein |
| Ig | immunoglobulin |
| LD ₅₀ | fifty percent lethal dose |
| LPS | lipopolysaccharide |
| mg | milligram |
| ml | milliliter |
| mm | millimeter |
| μg | microgram |
| μm | micrometer |
| M.W. | molecular weight |
| nm | nanometer |
| NS | normal saline |
| O.D. | optical density |
| PBS | phosphate buffer saline |
| PCA | plate count agar |
| PHA | passive hemagglutination |
| rpm | round per minute |
| SRBC | sheep red blood cells |