# การศึกษาการป้องกันโรคโดยใช้อิมมูนกลอบูลินที่เตรียมจากเซลล์และจากแคปซูลของเชื้อพาสเตอเรลลา มัลโตซิดา

นางสาววิมลมาศ ลิปิพันธ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ.๒๕๒๕

ISBN 974 - 560 - 697 - 9

# Protective Study of Immunoglobulins Prepared from Whole Cell and Capsular Antigen of *Pasteurella multocida*

Miss.Vimolmas Lipipun

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

Department of Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1982

| | |
|---|---|
| Thesis Title | Protective Study of Immunoglobulins Prepared from Whole Cell and Capsular Antigen of *Pasteurella multocida* |
| By | Miss Vimolmas Lipipun |
| Department | Microbiology |
| Thesis Advisor | Assistant Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D. |
| | Instructor Kriengsag Saitanu, Ph.D. |

---

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in partial fulfillment of the requirements for the Master's degree.

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

(Associate Professor Supradit Bunnag, Ph.D.)

Thesis Committee

.....Saree Virunhaphol.....Chairman

(Assistant Professor Saree Virunhaphol)

.....Santi Thoongsuwan.....Member

(Assistant Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D.)

.....Kriengsag Saitanu.....Member

(Instructor Kriengsag Saitanu, Ph.D.)

.....Aurapin Rudeechuen.....Member

(Assistant Professor Aurapin Rudeechuen)

Copyright of the Graduate School, Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาการป้องกันโรคโดยใช้อิมมูนกลอบูลินที่เตรียมจากเซลล์และจากแคปซูลของเชื้อพาสเตอเรลลา มัลโตซิดา
ชื่อ น.ส.วิมลมาศ ลิปิพันธ์
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สันติ ถุงสุวรรณ
อาจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร.เกรียงศักดิ์ สายธนู
ภาควิชา จุลชีววิทยา
ปีการศึกษา ๒๕๒๔

## บทคัดย่อ

วัคซีน ๒ ชนิด ถูกเตรียมขึ้นจากเชื้อพาสเตอเรลลา มัลโตซิดา ที่เป็นสาเหตุของโรคอหิวาต์ในสัตว์ปีก ได้แก่ วัคซีนเชื้อตายโดยทำลายเชื้อด้วยฟอร์มาลิน และวัคซีนของแคปซูลโปลี่แซคคาไลด์ของเชื้อ การแยกแคปซูลแอนติเจนจากน้ำสกัดของเชื้อที่เพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อทำได้โดยใช้การตกตะกอนด้วยสารละลายอินทรีย์ ฉีดวัคซีนแต่ละชนิดเข้าในกระต่ายกลุ่มละ ๓ ตัว ปรากฏว่า วัคซีนทั้ง ๒ ชนิด สามารถกระตุ้นให้กระต่ายสร้างแอนติบอดีย์ได้ดี เมื่อนำอิมมูนกลอบูลินต่อเซลล์เชื้อ และแคปซูลแอนติเจนจากซีรั่มกระต่ายฉีดให้กับหนูขาวกลุ่มละ ๒๕ ตัว และฉีดเชื้อตามภายหลัง ๒๔ ชั่วโมง ในปริมาณ ๓๐ เท่าของปริมาณเชื้อที่ทำให้หนูขาวตาย ๕๐% ปรากฏว่าอิมมูนกลอบูลินต่อเซลล์ของเชื้อสามารถให้การป้องกันโรคจากเชื้อนี้ในหนูขาวได้ดีกว่าอิมมูนกลอบูลินต่อแคปซูลของเชื้อนี้

Thesis Title Protective Study of Immunoglobulins Prepared from Whole Cell and Capsular Antigen of Pasteurella multocida

Name Miss. Vimolmas Lipipun

Thesis Advisor Assistant Professor Santi Thoongsuwan Ph.D

Instructor Kriengsag Saitanu Ph.D

Department Microbiology

Academic Year 1981

## ABSTRACT

The two types of vaccines prepared from Pasteurella multocida that caused fowl cholera were formalin killed whole - cell vaccine and capsular polysaccharide vaccine. Separation of the capsular antigen from saline extracts of P. multocida cultured on tryptose agar was achieved by fractional precipitation from aqueous solution by addition of polar organic solvents. Two groups of three rabbits each were immunized with each type of vaccines. In mouse passive protection test, anti - whole cell globulin and anti - capsular polysaccharide globulin were given subcutaneously to each group of 25 mice, and were challenged intraperitoneally 24 hr later, with living culture at 30 $LD_{50}$.

This investigation was found that whole cell and capsular antigens produced a high immune response in rabbits. The anti - whole cell globulin gave higher passive protection in mice than anti - capsular polysaccharide globulin.

ACKNOWLEDGEMENT

I am deeply indebted and grateful to Assistant Professor Dr. Santi Thoongsuwan, Associate Dean of Administrative Affairs, and Head of the Department of Microbiology, the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, for his helpful guidance, suggestions, criticisms and encouragement throughout the course of this study.

I wish to express my appreciation to Assistant Professor Pisawat Dutiyabodhi who had been the head of the Department of Microbiology, the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, for her valuable suggestions.

I am mostly thankful to Dr. Kriengsag Saitanu, the instructor, the Division of Microbiology, the Department of Pathology, the Faculty of Veterinary Sciences, Chulalongkorn University, for granting me to the opportunity to carry out some parts of this work.

To Assistant Professor Bamrung Tantisewie, Head of the Department of Pharmacognosy, the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, I wish to express my deep sincere gratitude, for his kind cooperation in granting me to use some of the equipments in his department, his advice, and helping me to carry out some parts of this work.

I also wish to express my deep gratitude to the head of Central Lab Scientific Equipment Laboratory, Kasetsart University Research and Development Institute, Kasetsart University, for his kind cooperation in allowing me to use some of the equipments in his laboratory.

I also wish to express my sincere thanks to all the staffs of the Department of Microbiology, the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, for their cooperation and assistance.

Finally this study was partly supported by a grant of the Graduate School, Chulalongkorn University, which was gratefully acknowledged.

CONTENTS

Page

ABSTRACT (Thai) . . . . . IV

ABSTRACT (English) . . . . . V

ACKNOWLEDGEMENTS . . . . . VI

TABLES . . . . . IX

FIGURES . . . . . X

ABBREVIATIONS . . . . . XI

CHAPTER

1 INTRODUCTION . . . . . 1

2 MATERIALS AND METHODS . . . . . 21

3 RESULTS . . . . . 33

4 DISCUSSION . . . . . 46

5 CONCLUSION . . . . . 49

REFERENCES . . . . . 50

VITA . . . . . 57

# TABLES


| TABLE | | PAGE |
|---|---|---|
| 1 | Classification of colonial variants of Pasteurella multocida .. | 4 |
| 2 | Types of Pasteurella ..... | 4 |
| 3 | Estimation of $LD_{50}$ per mouse of Pasteurella multocida culture.. | 41 |
| 4 | Determination of immune globulin dosages for passive protection of mice against Pasteurella multocida ..... | 44 |
| 5 | Passive protection of mice with rabbit immune globulin against whole cells and capsular polysaccharide of Pasteurella multocida ..... | 45 |

# FIGURES

FIGURES PAGE

1 Pasteurella multocida grown in tryptose agar for 24 hr. Negatively Stain. (x 15,000) ..... 34

2 Pasteurella multocida grown in yeast extract - proteose peptone - cystine agar (YPC agar) for 24 hr. Negatively Stain. (x 15,000) ..... 35

3 Pasteurella multocida grown in nutrient agar for 24 hr. Negatively Stain. (x 15,000) ..... 36

4 Effect of repeated injections of whole cells of Pasteurella multocida in rabbits ..... 38

5 Effect of repeated injections of capsular polysaccharide antigen of Pasteurella multocida in rabbits ..... 39

6 Estimation of $LD_{50}$ per mouse of Pasteurella multocida culture ..... 42

# ABBREVIATIONS

| | |
|---|---|
| cm | Centimeter |
| Fig | Figure |
| g | Gram |
| hr | Hour |
| kg | Kilogram |
| $LD_{50}$ | 50% Lethal Dose |
| µ | Micron |
| µg | Microgram |
| mg | Milligram |
| ml | Milliliter |
| mµ | Millimicron |
| min. | Minute |
| PBS | Phosphate buffered saline |
| v/v | Volume by volume |
| w/v | Weight by volume |