

การให้ภูมิคุ้มกันโรคพยาธิไส้เดือน :  
การศึกษาโดยการทดลองในโรงเรียนแพทย์ฮานอย

ฟาม วัน ทัน



ศูนย์วิทยทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาการพัฒนาสุขภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2539

ISBN 974-633-634-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**IMMUNIZATION AGAINST ASCARIASIS : AN  
EXPERIMENTAL STUDY IN HANOI MEDICAL SCHOOL**

**PHAM VAN THAN**

ศูนย์วิทยุทรัพยากร

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE  
REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF MASTER OF  
SCIENCE PROGRAMME OF HEALTH DEVELOPMENT  
GRADUATE SCHOOL  
CHULALONGKORN UNIVERSITY**

**1996**

**ISBN 974-633-634-7**

**THESIS TITLE: IMMUNIZATION AGAINST ASCARIASIS : AN  
EXPERIMENTAL STUDY IN HANOI MEDICAL  
SCHOOL**

**BY: PHAM VAN THAN**

**PROGRAM: HEALTH DEVELOPMENT**

**Thesis advisor: Prof. Chitr Sitthi-amorn, M.D., M.Sc., Ph.D.**

---

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

..... *Santi Thoongsuwan* ..... Dean of the Graduate School

(Prof. Santi Thoongsuwan, Ph.D.)

The Committee:

..... *Suchin Ungthavorn, M.D.* ..... Chairman

(Prof. Suchin Ungthavorn, M.D.)

..... *Chitr Sitthi-amorn* ..... Thesis Advisor

(Prof. Chitr Sitthi-amorn, M.D., M.Sc., Ph.D.)

..... *Somjai Wangsuphachart* ..... Member

(Assoc. Prof. Somjai Wangsuphachart, M.D., M.Sc.)

..... *Sompop Limponsanurak* ..... Member

(Assoc. Prof. Sompop Limponsanurak, M.D.)



พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

พาม วัน ทัน : การให้ภูมิคุ้มกันโรคพยาธิไส้เดือน : การศึกษาโดยการทดลองในโรงเรียน  
แพทย์ฮานอย (IMMUNIZATION AGAINST ASCARIASIS : AN EXPERIMENTAL STUDY  
IN HANOI MEDICAL SCHOOL) อ.ที่ปรึกษา : ศ.ดร.จิตร สิทธิอมร, 63 หน้า.  
ISBN 974-633-634-7

การพัฒนาวัคซีนต่อพยาธิไส้เดือนในลำไส้มนุษย์ยังได้ผลไม่เป็นที่พอใจทั้ง ๆ ที่ประชากรในประเทศกำลังพัฒนามีการติดเชื้อพยาธิดังกล่าวเป็นจำนวนมาก ผู้วิจัยศึกษา antigens ที่ได้มาจาก *Ascaris sumu* และ *Ascaris lumbricoides* สามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันต่อพยาธิดังกล่าวในหนูได้หรือไม่ และภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นมีลักษณะคล้ายคลึงกันมากน้อยแค่ไหนอย่างไร ผู้วิจัยเพาะพยาธิตัวอ่อนระยะ L2 และ L3/4 ขึ้น และใช้ antigens จากพยาธิตัวอ่อนดังกล่าว รวมทั้ง antigens ที่สร้างและหลังจากตัวพยาธิกระตุ้นภูมิคุ้มกันในหนู พบว่า antigens ที่ใช้สามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันได้ (วัดด้วยวิธี ELIZA) และยังสามารถทำให้จำนวน migrating-larvae ลดลง ผลการวิจัยนี้สามารถนำไปพัฒนาวัคซีนต้านพยาธิ nematodes ในคน



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา ..... การพัฒนาสุขภาพ .....  
สาขาวิชา ..... การพัฒนาสุขภาพ .....  
ปีการศึกษา ..... 2539 .....

ลายมือชื่อนิติต ..... *Titit* .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..... *ดร. จิตร* .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

## C447296 : MAJOR HEALTH DEVELOPMENT PROGRAMME  
KEY WORD: IMMUNITY / ASCARIS / PREVENTION

PHAM VAN THAN : IMMUNIZATION AGAINST ASCARIASIS : AN EXPERIMENTAL  
STUDY IN HANOI MEDICAL SCHOOL. THESIS ADVISOR : PROF.DR. CHITR  
SITTHI-AMORN, M.D., Ph.D. 63 pp. ISBN 974-633-643-7

Prospects for vaccine against the most widespread and serious nematode infections in man are not very encouraging. Vaccination against Ascaris with secreted larval has been reasonably successful in some experimental animal. In this study an attempt was made to find functional antigens of Ascaris Suum and Ascaris lumbricoides that induce protective immunity in mice. For this purpose in vitro cultures of both L2 and L3/4 were set up. An experimental model to test the immunogenicity of the antigens has first to be establish before protection studies could be carried out. Challenge infections with embryonated eggs of Ascaris Suum and Ascaris lumbricoides were carried out to test for functional antigens Whereas the ELISA was used to follow the humoral responses-cross protection was studied with Ascaris lumbricoides material in order to eliminate future problems with regard to availability of human material. Both somatic and E/S antigens of L2 and L3/4 of Ascaris Suum and Ascaris lumbricoides induce protection immunity measured as reduced numbers of migrating larvae.

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา..... HEALTH DEVELOPMENT.....

สาขาวิชา..... HEALTH DEVELOPMENT.....

ปีการศึกษา..... 1996.....

ลายมือชื่อนิสิต..... *Than*.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *Chitri Sitthi-amorn*.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

## ACKNOWLEDGMENT

I would like to express my acknowledgment with great appreciation to the organizations and persons who assisted with the preparation of this study:

Ministry of Health, Vietnam, World Health Organization who provided fund. Prof. Dr. Chitr Sitthi-amorn for the Kindness and guidance as advisor and provided some fund. Dr. Frans Van Kanapen National Institute of Public Health and Environmental Hygiene, Netherlands for material and equipment supply. Prof. Chaloe Vravithya and other teachers of Faculty of medicine, Chulalongkorn University (CU) for the substantial suggestions Prof. Pirom Kamol-ratanakul, Mrs. Hermina (Tati) Mekanandh, Miss Patamaporn Chaiyos and other staff of International Clinical Epidemiology Network, Faculty of Medicine (CU) for their warm assistance and hospitality. The Staff of School of public Health (CU) for their warm helps and hospitality. Prof. Nguyen Thi Minh Tam, Head of parasitology Depart. Hanoi medical school and her colleagues for warmly helps.

Finally, by opportunity I express a debt of deepest gratitude to my wife Pham Thanh Huong, my children Pham Quynh Nga, Pham Quang Huy for the affection and support.

Without the help of these persons and other, this research could not have been completed. For all the errors and omissions, I am indebted to no one but myself.

## CONTENTS

Abstract in Thai.....	iv
Abstract in English.....	v
Acknowledgment.....	vi
Contents.....	vii
List of table.....	ix
List of figures.....	xi

### Chapter

I. INTRODUCTION.....	1
1.1 Statement of the problems.....	1
1.2 Purposes of study (objective).....	3
II. REVIEW OF RELATED LITERATURES.....	4
2.1 Vaccination whole worm material.....	4
2.2 Vaccination with secreted antigens.....	5
2.3 Vaccination with ascaris enzymes.....	6
2.4 Vaccination with heterologous antigens.....	7
III. METHODOLOGY.....	8
3.1 Conceptual framework.....	8
3.2 Research question.....	8
3.3 Hypothesis:.....	8
3.4 Assumption:.....	9
3.5 Research design:.....	9
3.6 Sample specification/population sample:.....	9
3.7 Ethical consideration:.....	10
3.8 Limitation and obstacle:.....	10
3.9 Out come measurement and data collection/analysis:.....	10
3.10 Analysis:.....	11

IV. DESCRIPTION OF EXPERIMENTAL MANOEUVRE.....	12
Materials and methods.....	12
Hatching and collection of larvae.....	13
In Vitro maintenance.....	14
Production of somatic antigens.....	14
Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).....	15
SDS polyacrylamide gel-electrophoresis and immunoblotting	15
Experiment I.....	16
Experiment II.....	16
Antigen preparation and immunization.....	16
Experiment III.....	17
Experiment IV.....	18
V. RESEARCH RESULTS.....	20
VI. DISCUSSION.....	54
In vitro maintenance of antigen preparation.....	54
Serology.....	55
Protection.....	55
VII. CONCLUSION.....	58
In conclusion it can be stated here that.....	58
REFERENCES.....	59
VITAE.....	63



## LIST OF TABLES

Table	Page
1.1. Follow up the Course of migrating larvae of Ascaris Suum in Experimentally infected mice (day 3 p.i.).....	24
1.2. Follow up the Course of ..... (day 5 p.i.)	25
1.3. Follow up the Course of ..... (day 7 p.i.)	26
1.4. Follow up the Course of ..... (day 14 p.i.)	27
1.5. Summary of result of a follow up the course of Larvae.....	28
2.1. Follow up the Course of migrating larvae of Ascaris Suum in Experimentally infected mice (day 1 p.i.).....	29
2.2. Follow up the Course of ..... (day 2 p.i.)	30
2.3. Follow up the Course of ..... (day 3 p.i.)	31
2.4. Follow up the Course of ..... (day 5 p.i.)	32
2.5. Follow up the Course of ..... (day 6 p.i.)	33
2.6. Follow up the Course of ..... (day 7 p.i.)	34
2.7. Follow up the Course of ..... (day 8 p.i.)	35
2.8. Follow up the Course of ..... (day 9 p.i.)	36

2.9. Summary of result of a study of the course of migrating larvae.....	37
3. Recovery of migrating A.suum larvae from the liver ..... (experiment II)	38
4. Recovery of migrating A.suum larvae from the lungs ..... (experiment II)	39
5. Recovery of migrating A.suum larvae from the liver ..... (experiment III)	40
6. Recovery of migrating A.suum larvae from the lungs ..... (experiment II)	41
7. Results of serological Examinations .....	42
8. Recovery of migrating A.suum and A.lumbricoides ..... (day 3 p.i., Experiment IV)	43
9. Recovery of migrating A.suum and A.lumbricoides ..... (day 7 p.i., Experiment IV)	44
10. Results of Serological examinations (by ELISA) on sera ..... (Experiment IV)	45
11. Recognition of ES antigens of A.suum and A.lumbricoides .....	46
12. Summary of the number of mice.....	46

## LIST OF FIGURES

Figure	Page
1. Life-cycle of <i>A.lumbricoides</i> .....	47
2. Recovery of migrating <i>A.suum</i> larvae (follow up 14 days).....	48
3. Recovery of migrating <i>A.suum</i> larvae (follow up 9 days) .....	49
4. ELISA titres in sera of group of mice.....	50
5. SDS-PAGE of ES antigens of L2 larvae of <i>A.suum</i> .....	51
6. SDS of ES antigens of L2 and L3/4 of <i>A.suum</i> and <i>A.lumbricoides</i> .....	52
7. SDS of ES antigen of L2 <i>A.lumbricoides</i> .....	53

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย