

การศึกษามิคุ้มกันต่อเชื้อฮิวาต์ : การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อฮิวาต์ในผู้ที่ได้รับการฉีด  
วัคซีน และผู้ป่วยด้วยโรคฮิวาต์



นางสาวจินตนา พัชรประภคิต

วิทยานิพนธ์นี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร ตรีปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. ๒๕๒๓

000398

Study of Immunity against Vibrio cholerae : Assessment of immune  
response and protective immunity in vaccinated subjects and  
cholera patients.

Miss Chintana Pacharaprakiti

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

1980





สูงสุดในวันที่ ๗ ภายหลังจากฉีดวัคซีน และจะยังคงรักษาระดับตามนัยสำคัญทางสถิติอยู่จนถึง ๓ เดือน หลังจากนั้นจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) ระหว่าง ๓-๖ เดือนต่อไป ค่า Mouse protective antibody จะให้ระดับสูงสุดใน ระยะ ๑ เดือนภายหลังจากฉีดวัคซีน และจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระยะเดือนที่ ๖ ( $P < 0.01$ ) สำหรับชนิดของอิมมิวโนโกลบูลิน มีทั้งที่มี IgM หรือ IgG ทั้งหมด หรือมีทั้งสองชนิดในอัตราส่วน IgG:IgM เป็น ๓:๒ อัตราการเกิดภูมิคุ้มกันในกลุ่มผู้ ได้รับการฉีดวัคซีน คิดเป็นร้อยละ ๖๐

การศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยอหิวาต์ ปรากฏว่า Haemagglutinating antibody, Vibriocidal antibody และ Mouse protective antibody ให้ระดับสูงสุดในวันที่ ๗ ภายหลังจากเข้าโรงพยาบาล นอกจากนี้ยังพบว่าค่า Mouse protective antibody ในวันแรกที่ผู้ป่วยเข้าโรงพยาบาลมีระดับต่ำกว่าค่า control sera (ซีรัมของผู้ที่ได้รับการฉีดน้ำกลั่น) ทั้งนี้อาจเป็นได้ว่า แอนติบอดี ซึ่งมีอยู่น้อยในกระแสโลหิตของผู้ป่วยออกไปยังลำไส้ เพื่อต่อต้านเชื้ออหิวาต์ซึ่งมีอยู่ใน ลำไส้เป็นจำนวนมาก จนระดับแอนติบอดีในเส้นโลหิตลดลงกว่าคนปกติ การซึมผ่านผนังลำไส้จากกระแสโลหิตของแอนติบอดี อาจเป็นเพราะปรากฏการณ์ "pathotopic potentiation"

9

Thesis Title            Study of Immunity against Vibrio cholerae:  
Assessment of immune response and protective  
immunity in vaccinated subjects and cholera  
patients

Name                    Miss Chintana Pacharaprakiti

Thesis Advisor        Assistant Professor Wanpen Chaicumpa,  
D.V.M. (HON), Ph.D.  
Assistant Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D.

Department            Microbiology

Academic year        1979

#### ABSTRACT

This thesis is confined to the studies of antibody levels in the 20 vaccinated subjects as well as in the 15 cholera patients. The vaccine is provided by the Government Pharmaceutical Organization. The vaccinated sera were collected at the following times; before vaccination and then 7 days, 1 month, 3 months, 4 months and 6 months after vaccination. The collection of patient sera was performed from those who admitted at Bumraj-naraduol-Infectious Disease Hospital on the day of admission and they 7 days and 3 months after that. All sera were detected for antibodies by the advantage of passive haemagglutination test,

vibriocidal test, mouse protection test whereas the immunoglobulin classes were detected by anti-immunoglobulin enhancement of haemagglutination. V. Cholerae biotype El Tor, serotype Ogawa, strain streptomycin resistant O17 (O<sub>17SR</sub>) (human origin) was used throughout the experiments.

The results of the study in vaccinated subjects reveal that levels of the haemagglutinating antibody and the vibriocidal antibody were highest on the 7<sup>th</sup> day after vaccination and are statistically constant for 3 months, then decline significantly during 3-6 months ( $P < 0.01$ ). Mouse protective titres reach their heights within 1 month after the vaccination and then decline significantly on the 6<sup>th</sup> month ( $P < 0.01$ ). For the classes of immunoglobulins, they are found to be all IgM or IgG or both in which IgG to IgM ratio is 3:2. Rate of immune response among those vaccinated subjects is about 60%.

In the cholera patients, haemagglutinating antibody, vibriocidal antibody and mouse protective antibody reach the peak on the 7<sup>th</sup> day after their admission. However, levels of the mouse protective antibody on the day of admission show lower levels than those of the control group to whom distilled water was applied. This may be because of the antibodies in the blood circulation have leaked out to the gastro-intestinal tracts in order to fight against the invading microorganisms. The flow of the antibodies to the intestinal tract may be facilitated by the phenomenon of "pathotopic potentiation" by the infection.



กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วันเพ็ญ ชัยคำภา ภาควิชาจุลชีววิทยา และอิมมิวโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สันติ ฤงสูวระณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ร่วมกันให้คำแนะนำ และความช่วยเหลือ ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่อง และให้กำลังใจ จนกระทั่งงานวิทยานิพนธ์สำเร็จ

ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของ ศาสตราจารย์ นายแพทย์สวัสดิ์ฐ ธาระวาณิช หัวหน้าภาควิชาจุลชีววิทยา และอิมมิวโนโลยี คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้อนุญาตให้ใช้ห้องปฏิบัติการของภาควิชาจุลชีววิทยา และอิมมิวโนโลยี

ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของ นายแพทย์วิสัย พฤกษ์วัน สถานพยาบาลเรือนจำพิเศษกรุงเทพมหานคร ที่ให้บริการฉีดวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์ และเก็บซีรัมในกลุ่มนักโทษชายในเรือนจำพิเศษกรุงเทพ ในระยะเวลาต่าง ๆ กัน

ขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของ นายแพทย์ชัชวาลย์ หุ่นทองคำ คุณประสิทธิ์ อินทาม โรงพยาบาลบำราศนราดรุร นนทบุรี ที่ได้เจาะเลือดผู้ป่วยด้วยโรคอหิวาต์ในระยะเวลาต่าง ๆ กัน

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ทางทหาร ที่ให้ความช่วยเหลืออย่างดียิ่งในเรื่องสัตว์ทดลอง และขอขอบคุณแผนกสัตว์ทดลอง องค์การเภสัชกรรม ที่ให้ความช่วยเหลือในเรื่องเลือดแกะ



ขอขอบคุณ คุณวารุณี เทศะกรณ์ คุณอำพัน พจนายน คุณปรานี ศรีนภ  
คุณผกากรอง สำเร็จรุ่งโรจน์ คุณนพวรรณ อรรถสิทธิ์ และทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือ  
อย่างดีในระหว่างการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
และอาจารย์ทุกท่านในภาควิชานี้ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และความสะดวกต่าง ๆ  
จนกระทั่งงานวิทยานิพนธ์สำเร็จ

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุน  
การวิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
รายการตารางประกอบ.....	ฅ
รายการรูปภาพประกอบ.....	ฉ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. การสอบสวน เอกสาร.....	4
3. อุปกรณ์และวิธีการ.....	24
4. ผลการทดลอง.....	38
5. วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง.....	69
เอกสารอ้างอิง.....	74
ประวัติการศึกษา.....	86



รายการตารางประกอบ

หน้า

<u>ตารางที่ 1</u>	แสดง Reciprocal haemagglutinating titres ของซีรัมผู้ได้รับการฉีดวัคซีน.....	45
<u>ตารางที่ 2</u>	แสดง Reciprocal haemagglutinating titres ของซีรัมผู้ได้รับการฉีดน้ำกลั่น (กลุ่ม control).....	46
<u>ตารางที่ 3</u>	แสดงผลรวมของการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการเปลี่ยนแปลง ของ HA titres ในกลุ่มผู้ได้รับการฉีดวัคซีน.....	47
<u>ตารางที่ 4</u>	แสดง Reciprocal vibriocidal titres ของซีรัมผู้ได้รับการฉีดวัคซีน.....	48
<u>ตารางที่ 5</u>	แสดง Reciprocal vibriocidal titres ของซีรัมผู้ได้รับการฉีดน้ำกลั่น (กลุ่ม control).....	49
<u>ตารางที่ 6</u>	แสดงผลรวมของการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการเปลี่ยนแปลง ของ Vibriocidal titres ในกลุ่มผู้ได้รับการฉีดวัคซีน.....	50
<u>ตารางที่ 7</u>	แสดง Reciprocal mouse protective titres ของซีรัมผู้ได้รับการฉีดวัคซีน.....	51
<u>ตารางที่ 8</u>	แสดง Reciprocal mouse protective titres ของซีรัมผู้ได้รับการฉีดน้ำกลั่น (กลุ่ม control).....	52
<u>ตารางที่ 9</u>	แสดงผลรวมของการวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการเปลี่ยนแปลง ของ mouse protective titres ในกลุ่มผู้ได้รับการฉีดวัคซีน	53
<u>ตารางที่ 10</u>	แสดง folds-increase ใน HA titres ของกลุ่มที่ได้รับ การฉีดวัคซีนภายหลังที่ enhance ด้วย specific anti- immunoglobulin A, G, M ตามลำดับ.....	54

<u>ตารางที่ 11</u>	แสดง Classes ของ Immunoglobulin ในระยะเวลา ต่าง ๆ กันของผู้ที่ได้รับการฉีดวัคซีน.....	55
<u>ตารางที่ 12</u>	แสดง folds-increase ใน HA titres ของกลุ่มที่ ได้รับการฉีดน้ำกลั่น (กลุ่ม control) ภายหลังจากที่ enhance ด้วย specific anti-immunoglobulin A, G, M ตามลำดับ.....	56
<u>ตารางที่ 13</u>	แสดง Classes ของ Immunoglobulin ในระยะเวลา ต่าง ๆ กันของกลุ่มที่ฉีดน้ำกลั่น.....	57
<u>ตารางที่ 14</u>	แสดง Reciprocal haemagglutinating titres ของซีรัมผู้ป่วยด้วยโรคหิวาต์.....	58
<u>ตารางที่ 15</u>	แสดง Reciprocal vibriocidal titres ของซีรัมผู้ป่วยด้วยโรคหิวาต์.....	59
<u>ตารางที่ 16</u>	แสดง Reciprocal mouse protective titres ของซีรัมผู้ป่วยด้วยโรคหิวาต์.....	60
<u>ตารางที่ 17</u>	แสดง fold-increase ของ haemagglutinating titres ในผู้ป่วยด้วยโรคหิวาต์ ภายหลังจากที่ enhance ด้วย anti-immunoglobulin A, G, M. ตามลำดับ.....	61
<u>ตารางที่ 18</u>	แสดง Classes ของ Immunoglobulin ในระยะเวลาต่าง ๆ กันของผู้ป่วยด้วยโรคหิวาต์.....	62

## รายการรูปภาพประกอบ

	หน้า
<u>ภาพที่ 1</u>	แสดง pattern ของ growth and dead ของเชื้อ อหิวาต์ใน vibriocidal antibody assay..... 35
<u>ภาพที่ 2</u>	แสดงการ titrate ของ anti-immunoglobulin specific สำหรับ IgA, IgG และ IgM ตามลำดับ... 36
<u>ภาพที่ 3</u>	แสดง folds-increase ใน HA titres เมื่อ enhance ด้วย anti-immunoglobulin A, G, M..... 37
<u>ภาพที่ 4</u>	แสดงค่าเฉลี่ย (MEAN) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (S.E.) ของ haemagglutinating titres ในกลุ่ม ฉีดวัคซีน และกลุ่มฉีดน้ำกลั่น..... 63
<u>ภาพที่ 5</u>	แสดงค่าเฉลี่ย (MEAN) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (S.E.) ของ vibriocidal antibody titres ใน กลุ่มฉีดวัคซีน และกลุ่มฉีดน้ำกลั่น..... 64
<u>ภาพที่ 6</u>	แสดงค่าเฉลี่ย (MEAN) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (S.E.) ของ mouse protective titres ในกลุ่มฉีด วัคซีนและกลุ่มฉีดน้ำกลั่น..... 65
<u>ภาพที่ 7</u>	แสดงค่าเฉลี่ย (MEAN) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (S.E.) ของ haemagglutinating titres ในกลุ่ม ผู้ป่วยด้วยโรคอหิวาต์

<u>ภาพที่ 8</u>	แสดงค่าเฉลี่ย (MEAN) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (S.E.) ของ vibriocidal antibody titres ในกลุ่มผู้ป่วยด้วยโรคอหิวาต์.....	67
<u>ภาพที่ 9</u>	แสดงค่าเฉลี่ย (MEAN) และความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (S.E.) ของ mouse protective titres ในกลุ่ม ผู้ป่วยด้วยโรคอหิวาต์.....	68