การพัฒนาการผลิตวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันเพื่ออุตสาหกรรม

1. ผลของความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียต่อคุณสมบัติและประสิทธิภาพของวัคซีน

รัชนี อัตถิ วุฒิพร รุ่งเวชวุฒิวิทยา นิเทศ เลิศลิมชลาลัย

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียในบรอทแบคเทอริน สำหรับการเตรียมวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน ต่อคุณสมบัติทั่วไปและประสิทธิภาพของวัคซีน เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอนติเจนในการผลิตวัคซีนในขนาดอุตสาหกรรม

จากผลการทดลองเตรียมวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน โดยใช้บรอทแบคเทอรินที่มีค่า OD_{540} ต่างๆ ดังนี้ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 ซึ่งเท่ากับค่า dry weight 0.49, 0.98, 1.46, 1.95 และ 2.44 mg/ml ตามลำดับ พบว่าวัคซีนทั้งหมดมีคุณสมบัติเป็นอีมัลชั่นที่ดี มีความหนืดระหว่าง 41-46 centipoises และโคที่ได้รับการฉีดวัคซีนซึ่งมีปริมาณแอนติเจนต่างๆ กันคือ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mg dry weight ต่อโด๊ส พบว่ามีความคุ้มโรคภายหลังการฉีดวัคซีน 4 และ 18 สัปดาห์ จากการตรวจโดยวิธี passive mouse protection test การศึกษานี้จะเป็นแนวทางในการพัฒนาการผลิตวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันในขนาดอุตสาหกรรมต่อไป

คำสำคัญ : วัคซีน เฮโมรายิกเซพติซีเมีย ประสิทธิภาพ

ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ กองผลิตชีวภัณฑ์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา 30130

บทนำ

วัคซีนป้องกันโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมียของโค กระบือ ที่ใช้กันอยู่ในประเทศไทย เดิมเป็นวัคซีนชนิดเชื้อตายผสมอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เจล ซึ่งให้ความคุ้มโรคเป็นเวลานานไม่เกิน 6 เดือน การใช้วัคซีนจึงต้องฉีดเป็นประจำทุกปี ปีละ 2 ครั้ง รัชนี และ แก้วมณี (2531) ได้ทดลองเตรียมวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันโดยการผสมบรอทแบคเทอรินกับ Mineral oil และสารทำอีมัลชั่นสองชนิด คือ Tween 80 และ Arlacel A ด้วยสัดส่วนต่างๆ กัน จนได้สูตรและวิธีการเตรียมวัคซีนที่มีความคงตัวดีและความหนืดต่ำ ซึ่งต่อมา วุฒิพร และคณะ (2536) ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวัคซีนชนิดน้ำมันที่เตรียมโดยสูตรนี้กับวัคซีนชนิดผสมอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เจล ในโค 95 ตัว และกระบือ 95 ตัว ด้วยการฉีดเชื้อพิษภายหลังการฉีดวัคซีนเป็นเวลา 1, 2, 4, 6, 9 และ 12 เดือน พบว่าวัคซีนชนิดน้ำมันให้ความคุ้มโรคสูงกว่าและอยู่ได้นานกว่าวัคซีนชนิดผสมอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เจล โดยโค กระบือที่ได้รับการฉีดวัคซีนชนิดน้ำมัน จะมีความคุ้มโรค 100 เปอร์เซ็นต์ จากการฉีดเชื้อพิษหลังจากฉีดวัคซีนนานไม่น้อยกว่าหนึ่งปี จึงได้มีโครงการที่จะพัฒนาการผลิตในระดับอุตสาหกรรมเพื่อเปลี่ยนมาใช้วัคซีนชนิดน้ำมันแทน สิ่งสำคัญอย่างหนึ่งที่ต้องคำนึงถึงคือ วัคซีนนั้นจะต้องสะดวกต่อการนำไปใช้ในท้องที่ ซึ่งนอกจากมีความหนืดต่ำแล้วปริมาณของวัคซีนที่ใช้ฉีดก็ไม่ควรมีปริมาณสูงมาก วุฒิพร และคณะ (2536) ผลิตวัคซีนชนิดน้ำมันและนำไปทดลองโดยฉีดสัตว์ด้วยปริมาณแอนติเจนเท่ากับในวัคซีนชนิดผสมอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์เจล (ประมาณ 2.5 มิลลิกรัมต่อโดส) ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานวัคซีนซึ่งใช้อยู่ในหลายประเทศ (Bain et al., 1982; De Alwis and Sumanadasa, 1982) และจากกรรมวิธีการผลิตทำให้ปริมาตรที่ฉีดสูงถึง 7.7 มิลลิลิตรต่อตัว ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาเพื่อที่จะหาปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอนติเจน ที่ใช้ในการผลิตวัคซีนเพื่อประโยชน์ในการลดขนาดฉีดของวัคซีนชนิดน้ำมัน

อุปกรณ์และวิธีการ

บรอทแบคเทอริน

เตรียมจากการเพาะเลี้ยง *P.multocida* type 6:B สเตรนท้องถิ่น ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptose phosphate broth (TPB) ด้วยเครื่องเฟอร์เมนเตอร์* เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วฆ่าเชื้อด้วยการเติมฟอร์มาลินให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.3% หลังจากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำเกลือเพื่อให้มีความเข้มข้นของบรอทแบคเทอรินขนาดต่างๆ กัน โดยการวัดความขุ่นด้วยเครื่อง Spectrophotometer** เป็นค่า OD_{540} ดังนี้ คือ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 และหาค่าน้ำหนักแห้งเปรียบเทียบ โดยการปั่นล้างเซลล์แบคทีเรียด้วยน้ำกลั่นที่ 11,000 g เป็นเวลา 20 นาที ก่อนนำไปอบที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง (Costilow, 1981)

การเตรียมวัคซีนชนิดน้ำมัน

นำบรอทแบคเทอรินแต่ละความเข้มข้นมาเตรียมเป็นวัคซีนชนิดน้ำมัน ตามวิธีของรัชนี และแก้วมณี

---

[1] Biostat 500 DS, B.Braun[R], ฝรั่งเศส

[2] Spectronic 601, Milton Roy[R], สหรัฐอเมริกา

(2531) โดยผสมบรอทแบคเทอรินกับ Tween 80 เข้าด้วยกันเป็นส่วนที่ 1 และ ผสม Marcol 52* กับ Arlacel A เป็นส่วนที่ 2 ด้วยอัตราส่วน บรอทแบคเทอริน : Tween 80 : Marcol 52 : Arlacel A เท่ากับ 40:1:4:40 โดยน้ำหนัก หลังจากนั้นเทส่วนที่ 1 ลงในส่วนที่ 2 อย่างช้าๆ และปั่นผสมด้วยเครื่อง Homogenizer** เป็นเวลา 10 นาที

การทดสอบคุณสมบัติของวัคซีนชนิดน้ำมัน

1. คุณสมบัติที่ปรากฏ

ตรวจดูวัคซีนด้วยตาเปล่าจะต้องมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันสีขาวคล้ายน้ำนม ไม่มีแยกชั้น

2. ความหนืด

วัดความหนืดของวัคซีนด้วยเครื่องวัดความหนืด*** โดยใช้ Spindle no. 1 และ Speed 12 หน่วยวัดเป็น centipoise วัคซีนที่มีความหนืดน้อยกว่า 150 centipoises เป็นวัคซีนที่มีความหนืดต่ำ ฉีดโค กระบือง่าย โดยการทดลองฉีดในโค กระบือพื้นบ้านด้วยเข็มเบอร์ 18

3. centrifugal stability

วัดความคงตัวของวัคซีนโดยนำมาปั่นด้วยความเร็ว 3,000 รอยต่อนาที (1300 g) ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 30 นาที ตรวจสอบการแยกชั้นของวัคซีนโดยวัดความสูงของน้ำวัคซีน หรือน้ำมันที่แยกชั้นออกจากส่วนที่เป็นอีมัลชั่น คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การแยกชั้นเมื่อเทียบกับความสูงของวัคซีนในหลอดปั่นทั้งหมด วัคซีนที่มีความคงตัวดีจะต้องมีการแยกชั้นไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการเตรียม 1 สัปดาห์ (Mckercher, 1986)

4. การทดสอบการปนเปื้อนในวัคซีน

โดยการเพาะเชื้อลงบน Dextrose starch agar นำไปอบที่ 37 °C เวลา 48 ชั่วโมงและเพาะลงใน Thioglycollate broth นำไปอบที่ 37 °C และ 22 °C ดูผลเป็นเวลา 2 สัปดาห์จะต้องไม่มีเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อราขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิด

การเลือกความเข้มข้นของบรอทแบคเทอรินที่เหมาะสม

ภายหลังการทดสอบคุณสมบัติทั่วไปของวัคซีนแต่ละตัวอย่าง เลือกบรอทแบคเทอรินตัวอย่างเดียวที่มีค่า OD_{540} อยู่ในช่วงที่นำมาเตรียมเป็นวัคซีนชนิดน้ำมันแล้วมีคุณสมบัติทั่วไปดี ในการทดลองนี้เลือกแบคเทอรินที่มีค่า OD_{540} เท่ากับ 1.5 ซึ่งสะดวกในการปฏิบัติงานนำมาเตรียมเป็นวัคซีนเพื่อใช้ในการทดสอบความปลอดภัยและประสิทธิภาพต่อไป

---

* บ.เอสโซ่สแตนดาร์ด, ฝรั่งเศส

** Ystral[R] 3000, เยอรมัน

*** LV8, Viscometers (UK) Ltd, อังกฤษ

การทดสอบความปลอดภัย

ฉีดวัคซีนเข้าช่องท้องหนูขาว 0.5 ml จำนวนตัวอย่างละ 10 ตัว ดูอาการหลังฉีดเป็นเวลา 10 วัน หนูขาวจะต้องเป็นปกติทุกตัว (Chandrasekaran and Yeap, 1978)

การทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีน

ใช้โครุ่น คละเพศ พันธุ์ Red Sindhi จำนวน 44 ตัว แบ่งเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 8-10 ตัว นำมาฉีดวัคซีนเข้ากล้ามเนื้อ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไม่ฉีดวัคซีนเป็นกลุ่มควบคุม จำนวน 9 ตัว

กลุ่มที่ 2 ฉีดวัคซีนที่มีปริมาณแอนติเจน 0.5 mg dry weight ต่อโด๊ส จำนวน 9 ตัว

กลุ่มที่ 3 ฉีดวัคซีนที่มีปริมาณแอนติเจน 1.0 mg dry weight ต่อโด๊ส จำนวน 8 ตัว

กลุ่มที่ 4 ฉีดวัคซีนที่มีปริมาณแอนติเจน 1.5 mg dry weight ต่อโด๊ส จำนวน 10 ตัว

กลุ่มที่ 5 ฉีดวัคซีนที่มีปริมาณแอนติเจน 2.0 mg dry weight ต่อโด๊ส จำนวน 8 ตัว

เจาะเลือดโคทดลองเพื่อเก็บซีรั่มก่อนการฉีดวัคซีนและหลังฉีดวัคซีน 4 และ 18 สัปดาห์ นำมาตรวจความคุ้มโรคโดยวิธี passive mouse protection test

การทำ Passive mouse protection test (PMPT)

การทำ PMPT (Bain et al., 1982) โดยฉีดตัวอย่างซีรั่มโคที่จะตรวจความคุ้มโรคในหนูขาว 5 ตัว โดยฉีดเข้าใต้ผิวหนังตัวละ 0.5 ml หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ฉีดเชื้อพิษให้หนูทั้ง 5 ตัว รวมทั้งหนูอีก 5 ตัว ซึ่งไม่ได้ฉีดซีรั่มเป็นกลุ่มควบคุมด้วยเชื้อพิษซึ่งเตรียมจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *P. multocida* type 6:B ใน TPB เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และฉีดในขนาด 100 LD_{50} หรือประมาณ 100 colony forming unit (CFU) สังเกตอาการหนูเป็นเวลา 7 วัน หนูกลุ่มควบคุมจะต้องตายหมด ส่วนหนูกลุ่มที่ฉีดซีรั่ม หากมีหนูรอดอย่างน้อย 1 ตัวถือว่า ผล PMPT เป็น Positive นั่นคือ ซีรั่มนั้นมีภูมิคุ้มกันต่อโรคเฮโมรายิกเซพติซีเมีย

ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันที่เตรียมจากบรอทแบคเทอรินซึ่งมีความเข้มข้นดังนี้คือ OD_{540} เท่ากับ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 (เท่ากับค่า dry weight 0.49, 0.98, 1.46, 1.95 และ 2.44 mg/ml ตามลำดับ) มีคุณสมบัติการเป็นอีมัลชั่นที่ดีมีความหนืดต่ำคือระหว่าง 41 และ 46 centipoises มีความคงตัวสูง และไม่แตกต่างกันเมื่อเตรียมโดยใช้อัตราส่วนของ mineral oil และ emulsifying agent เหมือนกันโดยวิธีการเดียวกัน (Table 1) แสดงว่าสามารถเลือกแบคเทอรินที่มีค่า OD_{540} ระหว่าง 0.5-2.5 ค่าใดค่าหนึ่งก็ได้ นำมาเตรียมเป็นวัคซีนชนิดน้ำมันที่มีคุณสมบัติดี

ผลการทดลองนำวัคซีนชนิดน้ำมันที่เตรียมจากแบคเทอรินที่มีค่า OD_{540} 1.5 (dry wt = 1.46 mg/ml) ฉีดในโคทดลองด้วยขนาดฉีดที่มีปริมาณแอนติเจนต่างๆ คือ 0.5, 1, 1.5 และ 2 mg dry wt ต่อตัว พบว่าสามารถให้ความคุ้มโรคในโคจากการตรวจโดยวิธี PMPT ภายหลังการฉีดวัคซีน 4 และ 18 สัปดาห์ (Table 2) และไม่พบอาการข้างเคียงใดๆ ในโคทดลองทุกตัว

Table 1 Characteristics of haemorrhagic septicaemia oil adguvant vaccine prepared from the bacterin at various concentration

Bacterin concentration		Appearance	Viscosity, centipoise (Spindle 1, Speed 12)	Centrifugal stability (1,300 g, 15°C, 30 min
OD_{540}	dry wt (mg/ml)			
0.5	0.49	good emulsion	41	1.2% separation
1.0	0.98	"	45	"
1.5	1.46	"	46	"
2.0	1.95	"	45	"
2.5	2.44	"	45	"

Table 2 Dose effects on the protection of haemorrhagic septicaemia oil adjuvant vaccine in cattle tested by PMPT

Dose		Number of animal	% Protection		
mg dry wt	ml		Prevaccination	4 wk post vaccination	18 wk post-vaccination
none	0	9	0	0	0
0.5	1	9	0	100	89
1.0	2	8	0	100	100
1.5	3	10	0	100	100
2.0	4	8	0	100	100

วิจารณ์

การเตรียมบรอทแบคเทอรินให้มีความเข้มข้นสูง แล้วนำมาใช้ในการเตรียมวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน เป็นวิธีที่จะช่วยลดขนาดฉีดในสัตว์ได้ แต่หลักการเตรียมอีมัลชั่นหากส่วนของน้ำ และส่วนของน้ำมันมีความหนาแน่นที่แตกต่างกันมาก จะทำให้อีมัลชั่นที่เตรียมนั้นแยกชั้น (Lachman et al., 1976) นั่นคือ ถ้าความเข้มข้นของเชื้อในบรอทแบคเทอรินสูงเกินไป อีมัลชั่นหรือวัคซีนน้ำมันก็จะแยกชั้น การทดลองนี้ทำให้ทราบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแบคเทอรินจากค่า OD_{540} ตั้งแต่ 0.5 - 2.5 ก็ยังคงได้วัคซีนที่ไม่แยกชั้น และมีความคงตัวดี ซึ่งแบคเทอรินที่เตรียมจากการเพาะเชื้อ *P. multocida* ด้วยเครื่องเฟอร์เมนเตอร์ส่วนใหญ่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง

OD_{540} ดังกล่าว (กองผลิตชีวภัณฑ์, ข้อมูลที่ไม่ได้ตีพิมพ์) เมื่อนำไปใช้ในการผลิตวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน ก็จะช่วยลดต้นทุนการผลิตที่เกิดจากขั้นตอนการทำให้แบคเทอรินเข้มข้นขึ้นได้และสามารถนำข้อมูลที่ได้นี้ร่วมกับข้อมูลที่ได้จากปริมาณแอนติเจนที่เหมาะสมในการสร้างภูมิคุ้มโรคมาวิเคราะห์เพื่อลดขนาดฉีดโดยวัคซีนยังคงประสิทธิภาพคุ้มโรค

จากการทดลองหาปริมาณแอนติเจนต่อโด๊สที่เหมาะสมในวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันพบว่าปริมาณแอนติเจน 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mg dry wt สามารถให้ความคุ้มโรคในโคได้ จากการทดสอบโดยวิธี PMPT หลังจากฉีดวัคซีน 4 สัปดาห์ ความคุ้มโรคในโคทุกกลุ่มทดลองเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และภายหลังฉีดวัคซีน 18 สัปดาห์ ความคุ้มโรคในโคกลุ่มที่ฉีดวัคซีนที่มีแอนติเจนปริมาณ 0.5 mg dry wt ต่อโด๊ส ลดลงเหลือ 89 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงควรใช้วัคซีนที่มีปริมาณแอนติเจนไม่น้อยกว่า 1 mg dry wt โดยฉีดในปริมาณไม่น้อยกว่า 2 ml อย่างไรก็ตาม การทดลองครั้งนี้ โคทดลองแต่ละกลุ่มได้รับวัคซีนในปริมาตรฉีดที่แตกต่างกัน โคกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนที่มีปริมาณแอนติเจน 0.5 mg dry wt ปริมาตรฉีด 1 ml หากเพิ่มปริมาตรฉีดเป็น 2 ml ความคุ้มโรคหลังฉีดวัคซีน 18 สัปดาห์อาจสูงกว่า 89% ก็เป็นได้ และการตรวจหาระยะความคุ้มโรคในโค กระบือ จำเป็นต้องใช้วิธีทดสอบโดยการฉีดวัคซีนแล้วฉีดเชื้อพิษในโค กระบือ แทนการทดสอบโดยวิธี PMPT เนื่องจากผล PMPT จะสัมพันธ์กับความคุ้มโรคที่ทดสอบโดยวิธีฉีดเชื้อพิษในโค ภายหลังฉีดวัคซีนไม่เกิน 4 เดือน (กองผลิตชีวภัณฑ์, ข้อมูลที่ไม่ได้ตีพิมพ์) ซึ่งอาจเนื่องจากระดับแอนติบอดีในซีรั่มลดลงอยู่ในระดับที่ไม่สามารถตรวจได้โดยวิธี PMPT เพราะโด๊สของซีรั่มที่ฉีดในหนูขาว มีผลต่อการป้องกันโรคในหนูขาวเช่นกัน (Chandrasekaran et al., 1994)

การทดลองนี้เป็นแนวทางในการที่จะลดปริมาณแอนติเจนในวัคซีนชนิดน้ำมันได้ ซึ่งตรงกับการทดลองเกี่ยวกับการลดแอนติเจนในวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยชนิดน้ำมัน (วัชรี และ พิจิตร, 2534) ซึ่งสามารถลดแอนติเจนได้น้อยกว่าปริมาณแอนติเจนในวัคซีนชนิดอลูมิเนียมเจลได้ถึง 1 ใน 10 เท่า ทั้งนี้เพราะวัคซีน oil adjuvant มีคุณสมบัติในการช่วยกระตุ้นการสร้างแอนติบอดี้ให้สูงขึ้น (Mckercher, 1986)

สรุป

การเตรียมวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน สามารถเตรียมได้จากบรอทแบคเทอรินที่มีปริมาณความเข้มข้นของแอนติเจนเป็นค่า OD_{540} ตั้งแต่ 0.5-2.5 โดยวัคซีนที่เตรียมได้จะมีคุณสมบัติเป็นอีมัลชั่นที่ดี มีความคงตัว ฉีดง่ายและวัคซีนที่มีปริมาณแอนติเจน 1 mg dry wt ปริมาตรฉีด 2 ml เป็นปริมาณที่เหมาะสม และในการทดลองครั้งนี้โคที่ได้รับการฉีดวัคซีนมีความคุ้มโรคและไม่แสดงอาการข้างเคียง ข้อมูลที่ได้นี้สามารถนำไปใช้ในการผลิตวัคซีนในขนาดอุตสาหกรรมเป็นประโยชน์ในการกำหนดขนาดฉีดในสัตว์ตามต้องการ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นายสัตวแพทย์ ฉาย จอมเกาะ ผู้อำนวยการศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ ที่สนับสนุนการทำงานวิจัย นายสัตวแพทย์ ประชุม อินทรโชติ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ทับกวาง จ.สระบุรี ที่อนุเคราะห์โคทดลอง เจ้าหน้าที่และพนักงานฝ่ายแบคทีเรียวัคซีน ศูนย์ผลิตชีวภัณฑ์ ที่ช่วยการผลิตวัคซีน ฉีดวัคซีนและเจาะเลือดโคทำให้การทดลองครั้งนี้ประสบผลสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

รัชนี อัตถิ และแก้วมณี กองสมัคร 2531 การเตรียมวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมัน, ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์ ครั้งที่ 7, หน้า 427-440

วุฒิพร รุ่งเวชวุฒิวิทยา, รัชนี อัตถิ, นิเทศ เลิศลิมชลาลัย และชลลดา กำเนิดมงคล 2536 การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพวัคซีนเฮโมรายิกเซพติซีเมียชนิดน้ำมันกับชนิดอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 4(1) : 1-8

วัชรี สินสุวงศ์วัฒน์ และพิจิตร มกรเสน 2534 การทดลองผลิตวัคซีนโรคปากและเท้าเปื่อยไทป์โอสุกรชนิดน้ำมัน วารสารชีวผลิตภัณฑ์ 2(1) : 41-45

Bain, R.V.S.; De Alwis, M.C.L.; Carter, G.R. and Gupra, B.K. 1982. Haemorrhagic Septicaemia, FAO Animal Production and Health, Paper No. 33 FAO, Rome.

Chandrasekaran, S. and Yeap, P.C. 1978. Safety and potency testing of haemorrhagic septicaemia oil adjuvant vaccine by the mouse protection test. Kajian Vet. 10 : 28-34.

Chandrasekaran, S., Kennett, L., Yeap, P.C., Muniandy, N., Rani, B. and Mukkur, T.K.S. 1994. Relationship between active protection in vaccinated buffaloes against haemorrhagic septicaemia and passive mouse protection test or serum antibody titres. Vet. Microbiol. 41 : 303-309.

Costilow, R.N. 1981. Water content. In: Manual of methods for general bacteriology. American Soceity for Microbiology, Washington. p. 505.

De Alwis, M.C.L. and Sumanadasa, M.A. 1982. Naturally acquired immunity to haemorrhagic septicaemia among cattle and buffaloes in Sri Lanka. Trop. Anim. Health Prod. 14 : 27-28

Lachman L., Lieberman, H.A., and Kaning, J.L. 1976. Emulsion. The Theory and Practical of Industrial Pharmacy. 2th ed. Lea & Febiger, Philadelphia. p. 184-214.

McKercher, P. D. 1986. Oil Adjuvants. Their use in veterinary biologics. Advances in Carriers and Adjuvants for Vetrinary Biologics, Iowa Univ. Press. p. 115-119.

Development of the Large Scale Production of Haemorrhagic Septicaemia Oil Adjuvant Vaccine

1. Effects of bacterial concentration on the property and potency of the vaccine

Ratchanee Atthi Vuthiporn Rungvetvuthivitaya
Niteth Lertlimchalalai

Abstract

The effect of bacterial concentration on the property and potency of haemorrhagic septicaemia oil adjuvant vaccine was studied to determine the optimum concentration of the antigen used for a large scale production.

The result demonstrated that haemorrhagic septicaemia oil adjuvant vaccines prepared from various concentration of broth bacterin at the OD_{540} values of 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 which were equal to the dry weight values of 0.49, 0.98, 1.46, 1.95 and 2.44 mg/ml were well emulsified and the viscosity were between 41 and 46 centipoises. The cattle vaccinated with haemorrhagic septicaemia oil adjuvant vaccine at the dose of 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg dry weight were protected as determined by passive mouse protection test at 4 and 18 weeks after vaccination. This study is useful for the development of a large scale production of haemorrhagic septicaemia oil adjuvant vaccine.

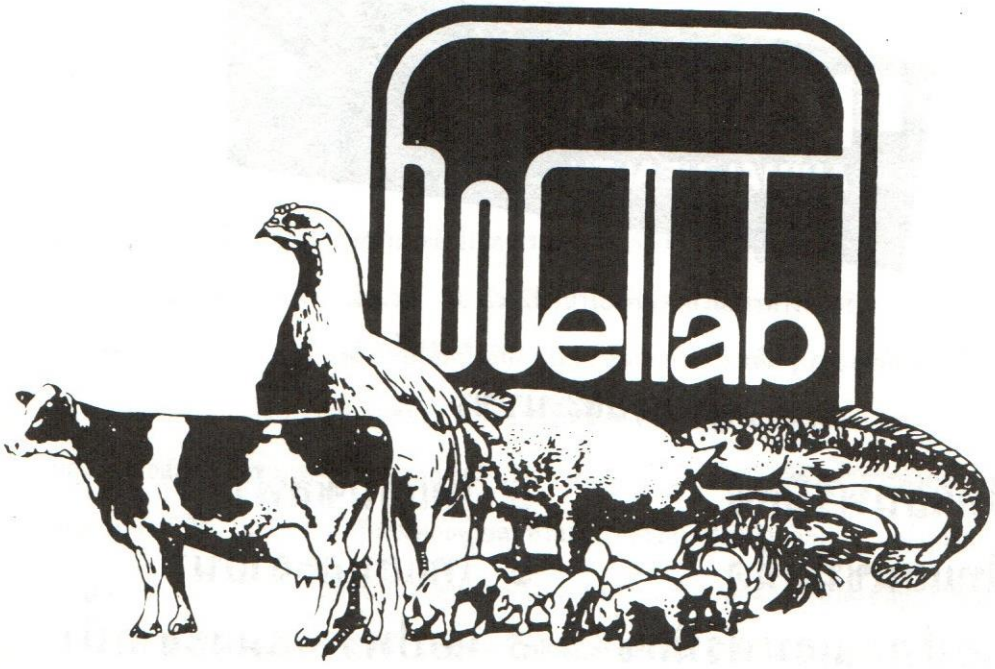
Key words : oil adjuvant vaccine, haemorrhagic septicaemia, potency

Veterinary Biologics Center, Veterinary Biologics Division, Pakchong, Nakornratchasima 30130

บริษัท เวลแล็บ
อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด
วิจัยและพัฒนา นำหน้าด้วยคุณภาพ

ผู้ผลิตและจำหน่าย

- **ยา อาหารเสริม พรีมิกซ์**
  สำหรับ ไก่ ลุกร วัวนม วัวเนื้อ สุนัข ม้า ปลา และ กุ้ง



ผู้แทนจำหน่าย

- **วัคซีนป้องกันโรค**
  สำหรับ ไก่ สุกร สุนัข และ แมว
- **เครื่องมือสัตวแพทย์ทุกชนิด**

Wellab®
บริษัท เวลแล็บ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด
101/31 หมู่ที่ 20 ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี

โทรศัพท์ 3197165-7, 5291301-6
เทเล็กซ์ 20871 WELLAB TH
โทรสาร (662) 529-1309

อภินันทนาการ

จาก

ELANCO
ANIMAL HEALTH
TM.

ผู้ผลิต และ นำเข้า

- ไทแลนพรีมิกซ์
- ไทแลนชนิดฉีด
- แอปพราแลนพรีมิกซ์
- เซอร์แม็ก
- อีแลนโคบาน
- แมคซิบาน
- ไทแลนซัลฟา
- ไทแลนละลายน้ำ
- แอปพราแลนละลายน้ำ
- ไฮโกรมิกซ์
- มอนทีบาน

บริษัท อีไล ลิลลี่ เอเซีย อิงค์ - สาขาประเทศไทย

แกรนด์อัมรินทร์ ทาวเออร์ ชั้น 14, เลขที่ 1550 ถนนเพชรบุรีตัดใหม่ มักกะสัน ราชเทวี กรุงเทพฯ 10310

โทรศัพท์ 207-0920 แฟ็กซ์ 207-0925