

تأثیر ادجوانت هیدروکسید آلومینیوم، فروند و واکسن ثلاث در تولید آنتی‌بادی ضد استافیلوکوکوس اورئوس کپسول‌دار Type 5 در خرگوش

دکتر سید اصغر هوایی^{*}، دکتر اکبر میر صالحیان^{**}، فرزانه بازرجانی^{***}،
دکتر احمد قوامی نژاد^{****}، کبری بامداد^{*****}، فرخنده پورسینا^{*****}، دکتر حسن تمیزی‌فر^{*}.

* دانشیار گروه میکروشناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
** دانشیار گروه میکروشناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
*** کارشناس ارشد میکروشناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
**** استادیار گروه ایمونولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
***** مربی گروه ایمونولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
***** کارشناس ارشد گروه میکروشناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

تاریخ دریافت: ۸۶/۶/۴

تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۱/۱۸

چکیده

پژوهش‌های پیشین نشان داده که آنتی‌بادی‌های ضد استافیلوکوکوس اورئوس کپسول‌دار تایپ ۵، موجب افزایش قابل توجهی در ایمنی خرگوش‌ها نشده است؛ یافتن ادجوانتی مناسب برای افزایش چشم‌گیر تیتراژ آنتی‌بادی برای تهیه‌ی واکسن ضد این باکتری ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه، اثر ادجوانت هیدروکسید آلومینیوم، فروند و واکسن ثلاث (DTP) در افزایش تیتراژ آنتی‌بادی علیه این باکتری در خرگوش مورد بررسی قرار گرفته است.

۳۰ راس خرگوش سفید نر بالغ از نژاد نیوزلندی تهیه و به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند. به گروه‌های مختلف سوسپانسیون کشته شده استافیلوکوکوس اورئوس کپسول‌دار تایپ ۵ بدون ادجوانت، با هیدروکسید آلومینیوم، با ادجوانت فروند (در تزریق اول ادجوانت کامل و در تزریق دوم و سوم ادجوانت ناقص)، واکسن ثلاث، DTP به تنهایی و سرم فیزیولوژی استریل (به عنوان گروه شاهد) در ۳ نوبت و به فواصل ۲۱ روز تزریق شد. پیش از هر نوبت تزریق و ۲۱ روز پس از سومین تزریق در همان روز از خرگوش خون‌گیری به عمل آمد و سرم آنها برای اندازه‌گیری تیتراژ آنتی‌بادی در فریزر نگهداری گردید. آزمایش آگلوتیناسون سرم‌ها با سوسپانسیون کشته شده باکتری بررسی شد و نتایج لوله‌های شاهد با بقیه‌ی لوله‌ها مقایسه و عکس رقت‌ها به عنوان تیتراژ آنتی‌بادی در نظر گرفته شد.

در این پژوهش، ایمونیزاسیون خرگوش‌ها ضد باکتری و همراه با ادجوانت هیدروکسید آلومینیوم، ادجوانت فروند و DTP افزایش تیتراژ آنتی‌بادی ضد این باکتری مشاهده شد. میانگین تیتراژ آنتی‌بادی خرگوش‌های ایمونیزه شده با DTP بعد از تزریق نوبت سوم واکسن به طور معنی‌داری بیشتر از خرگوش‌های ایمونیزه شده با ادجوانت هیدروکسید آلومینیوم و فروند بود ($p=0/049$). همچنین میانگین تیتراژ آنتی‌بادی خرگوش‌های ایمونیزه شده با ادجوانت فروند بیشتر از خرگوش‌های ایمونیزه شده با ادجوانت هیدروکسید آلومینیوم ($p=0/27$) بود ولی این تفاوت معنی‌دار نبود.

در این بررسی، از بین ادجوانت هیدروکسید آلومینیوم، ادجوانت فروند و واکسن ثلاث، DTP در خرگوش‌های ایمونیزه شده با DTP افزایش چشم‌گیر تیتراژ آنتی‌بادی ضد استافیلوکوکوس اورئوس کپسول‌دار تایپ ۵ مشاهده شد. بنابراین پیشنهاد می‌شود برای ایجاد پاسخ ایمنی بهتر، از واکسن ثلاث (DTP) به عنوان ادجوانت در ترکیب با سوسپانسیون کشته شده علیه این باکتری در انسان استفاده شود.

استافیلوکوک اورئوس کپسول‌دار، ادجوانت، هیدروکسید آلومینیوم، فروند، واکسن ثلاث (DTP)، خرگوش.

مقدمه:

روش‌ها:

یافته‌ها:

نتیجه‌گیری:

واژگان کلیدی:

تعداد صفحات: ۸
تعداد جدول‌ها: ۱
تعداد نمودارها: ۱
تعداد منابع: ۲۱

آدرس نویسندهٔ مسئول:

دکتر سید اصغر هوایی، گروه میکروشناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

E-mail: havaei@med.mui.ac.ir

مقدمه

استافیلوکوک اورئوس از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی و یکی از علل شناخته شده‌ی عفونت‌های سیستمیک است و بسیاری از بیماران از عوارض باکتری می‌آن مانند اندوکاریت، آرتریت و استئومیلیت رنج می‌برند (۱)؛ حدود ۹۰ درصد استافیلوکوک اورئوس جدا شده از بیماران، دارای کپسول پلی‌ساکاریدی می‌باشد (۲). تاکنون ۱۱ سروتایپ استافیلوکوک اورئوس کپسول‌دار شناسایی و ساختمان شیمیایی کپسول تعدادی از آنها مشخص شده است (۲). آنالیزهای شیمیایی بیانگر آن است که جنس این کپسول‌ها پلی‌ساکاریدی و حاوی اسید آمینو پورونیک می‌باشد (۳). پژوهش‌های آزمایشگاهی نشان دهنده‌ی آن است که کپسول از فاکتورهای ویروانس باکتری و دارای آنتی‌ژن‌های محافظت کننده است (۴). استافیلوکوک‌های کپسول‌دار نسبت به فاگوسیتوز مقاوم‌تر از استافیلوکوک‌های بدون کپسول است؛ حضور آنتی‌بادی‌های اختصاصی کپسولی، به افزایش فاگوسیتوز استافیلوکوک‌های کپسول‌دار منجر می‌شود (۴)؛ پژوهش‌های اپیدمیولوژیک در آمریکا و اروپا شیوع سروتایپ‌های ۵ و ۸ را در بین نمونه‌های بالینی جدا شده از انسان، گاو و ماکیان نشان داده است (۵). همچنین ۸۵-۸۰ درصد استافیلوکوک اورئوس کپسول‌دار جدا شده از باکتری می‌و سپتی‌سمی بیماران، مربوط به سروتایپ‌های میکروکپسول‌دار تایپ ۵ و ۸ می‌باشند (۶). تحقیقات پیشین نشان داده است که آنتی‌بادی‌های ضد استافیلوکوکس اورئوس کپسول‌دار تایپ ۵ موجب افزایش قابل توجه ایمنی در آندوکاردیت‌های استافیلوکوکی موش نشده است (۶). بنابراین یافتن ادجوانتی مناسب برای افزایش چشم‌گیر

تیترا آنتی‌بادی برای تهیه‌ی واکسن ضد این باکتری لازم به نظر می‌رسد.

در این پژوهش اثر ادجوانت هیدروکسید آلومینیوم، فروند و واکسن ثلاث (DPT) در افزایش تیترا آنتی‌بادی ضد استافیلوکوک اورئوس کپسول‌دار تایپ ۵ در خرگوش مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

روش‌ها

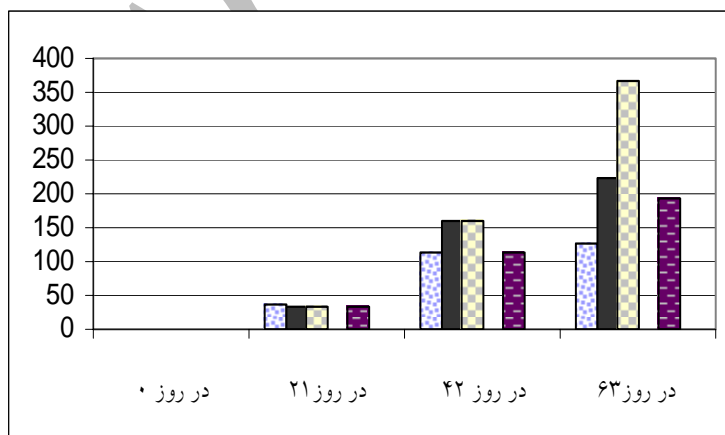
در این پژوهش پژوهش (تجربی) ۳۰ رأس خرگوش سفید نر بالغ از نژاد نیوزلندی با سن ۶-۴ ماه و وزنی حدود ۲/۵ کیلوگرم از انستیتو رازی تهیه و به طور تصادفی به ۶ گروه تقسیم شدند. به گروه اول سوسپانسیون کشته شده استافیلوکوک اورئوس کپسول‌دار تایپ ۵ (سویه Reynolds، تهیه شده از انستیتو پاستور فرانسه) بدون ادجوانت، به گروه دوم سوسپانسیون کشته شده استافیلوکوک اورئوس کپسول‌دار تایپ ۵ همراه با هیدروکسید آلومینیوم، به گروه سوم سوسپانسیون باکتری کشته شده همراه با ادجوانت فروند (در تزریق اول ادجوانت کامل و در تزریق دوم و سوم ادجوانت ناقص)، گروه چهارم سوسپانسیون باکتری کشته شده با واکسن ثلاث تهیه شده از مؤسسه‌ی رازی، به گروه پنجم واکسن ثلاث (DTP) به تنهایی و به گروه ششم سرم فیزیولوژی استریل به عنوان گروه شاهد منفی به مقدار ۰/۸ سی‌سی از راه عضلانی تزریق شد (۷). این تزریقات در سه نوبت و به فواصل هر ۲۱ روز تکرار شد و ۲۱ روز پس از سومین تزریق و در همان روز از ورید مارژینال گوش خرگوش خونگیری به عمل آمد (۸)؛ سرم نمونه‌ها جدا شد و تا قبل از انجام آزمایش آگلوتیناسیون برای اندازه‌گیری تیترا آنتی‌بادی در دمای ۲۰°C- نگهداری گردید.

برای انجام آزمایش آگلوتیناسیون، یازده لوله‌ی آزمایش در جا لوله‌ای قرار داده شد که در لوله‌ی اول ۰/۹ میلی‌لیتر و در لوله‌های بعدی ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ریخته، سپس به لوله‌ی اول ۰/۱ میلی‌لیتر سرم خرگوش اضافه گردید؛ پس از مخلوط کردن با سرم فیزیولوژی مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از آن به لوله‌ی دوم منتقل شد و این کار تا لوله‌ی دهم ادامه یافت و از لوله‌ی دهم مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر پس از مخلوط کردن دور ریخته شد. لازم به یادآوری است که لوله‌ی شماره‌ی ۱۱ به عنوان کنترل آنتی‌ژن و فاقد سرم خرگوش بود. آنگاه به تمام لوله‌های آزمایش مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر سوسپانسیون کشته شده استافیلوکوک اورئوس کپسول‌دار تایپ ۵ (معادل لوله‌ی شماره‌ی یک مک فارلند 3×10^8 باکتری در هر میلی‌لیتر) اضافه شد و پس از مخلوط کردن، لوله‌ها در دمای 37°C به مدت ۲۴ ساعت آنکوبه شدند. سپس لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه در 3000 دور سانتریفوژ شدند. بعد از پایان سانتریفوژ، ابتدا نتیجه‌ی لوله شاهد و سپس بقیه‌ی لوله‌ها خوانده شد. عکس رقت آخرین لوله‌ای مشاهده شده در آگلوتیناسیون، به عنوان تیتراژ آنتی‌بادی در نظر گرفته می‌شد. تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری

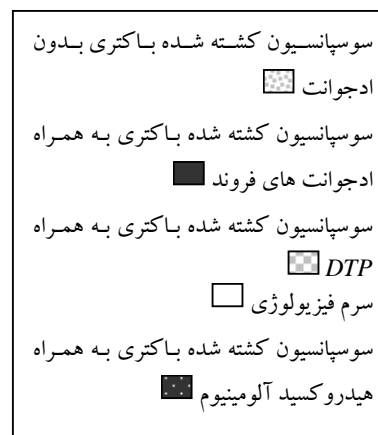
یافته‌ها

در این پژوهش، گروه دریافت‌کننده‌ی DTP تنها به عنوان شاهد برای گروه دریافت‌کننده‌ی سوسپانسیون کشته شده باکتری همراه با DTP به کار رفته است. میانگین نتایج تیتراژ آنتی‌بادی در چهار مقطع زمانی مختلف خونگیری گروه DTP، فقط از میانگین نتایج تیتراژ آنتی‌بادی در چهار مقطع زمانی مختلف خونگیری گروه سوسپانسیون کشته شده باکتری همراه با DTP کسر گردید. بنابراین منظور از به کار بردن گروه سوسپانسیون کشته شده باکتری همراه با DTP در نتایج و بحث، تفاضل گروه DTP به تنهایی از گروه سوسپانسیون کشته شده باکتری مخلوط با DTP می‌باشد که در نتایج ذکر گردیده است.

اثر متقابل بین نوع واکسن تزریقی و زمان خونگیری در افزایش تیتراژ آنتی‌بادی، بین دو گروه مورد آزمون سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت و سوسپانسیون کشته شده باکتری همراه با هیدروکسید آلومینیوم ($p=0/27$) و همچنین بین دو گروه مورد



نمودار ۱. مقایسه میانگین تیتراژ آنتی‌بادی در گروه‌های مختلف در مقاطع خونگیری به فواصل ۲۱ روز



جدول ۱. مقایسه میانگینی تیتراژ آنتی‌بادیهای گروههای مختلف در مقطع خونگیری به فواصل ۲۱ روز

P value	میانگین تیتراژ آنتی‌بادی (انحراف معیار)	مواد تزریق شده	مقطع خونگیری
۰/۰۰۱	(۸/۹)۳۶	سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت	روز ۲۱
	.	سرم فیزیولوژی	
۰/۸۳	(۸/۹)۳۶	سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت	
	(۱۰/۷)۳۲	سوسپانسیون کشته شده باکتری به همراه ادجوانت فروند	
۰/۰۷۳	(۸/۹)۳۶	سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت	
	(۲۲/۸)۳۲	سوسپانسیون کشته شده باکتری به همراه DTP	
۰/۲۷	(۸/۹)۳۶	سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت	
	(۱۰/۹)۳۲	سوسپانسیون کشته شده باکتری به همراه هیدروکسید آلومینیوم	
۰/۰۰۱	(۳۳/۸)۱۱۲	سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت	روز ۴۲
	.	سرم فیزیولوژی	
۰/۰۸۳	(۳۳/۸)۱۱۲	سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت	
	(۳۶/۵)۱۶۰	سوسپانسیون کشته شده باکتری به همراه ادجوانت فروند	
۰/۲۷	(۳۳/۸)۱۱۲	سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت	
	(۳۷)۱۷۶	سوسپانسیون کشته شده باکتری به همراه DTP	
۰/۲۵	(۳۳/۸)۱۱۲	سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت	
	(۲۷/۹)۱۶۸	سوسپانسیون کشته شده باکتری به همراه هیدروکسید آلومینیوم	
۰/۰۰۱	(۲۳/۸)۱۲۸	سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت	روز ۶۳
	.	سرم فیزیولوژی	
۰/۰۸۳	(۲۳/۸)۱۲۸	سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت	
	(۲۷/۶)۲۲۴	سوسپانسیون کشته شده باکتری به همراه ادجوانت فروند	
۰/۰۴۹	(۲۳/۸)۱۲۸	سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت	
	(۲۴/۸)۳۶۸	سوسپانسیون کشته شده باکتری به همراه ادجوانت DTP	
۰/۲۷	(۲۳/۸)۱۲۸	سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت	
	(۱۲/۳)۱۹۲	سوسپانسیون کشته شده باکتری به همراه هیدروکسید آلومینیوم	

سرم فیزیولوژی به تنهایی افزایش چشم‌گیر تیتراژ آنتی‌بادی را نشان داد ($p=0/001$) (جدول ۱).

بحث

در این پژوهش که با هدف تعیین اثر ادجوانت هیدروکسید آلومینیوم، ادجوانت فروند و واکسن ثلاث (DTP) در تولید آنتی‌بادی علیه استافیلوکوکوس اورئوس کپسول دار تایپ ۵ در خرگوش انجام شد، میانگین تیتراژ آنتی‌بادی در خرگوش‌های ایمونیزه شده

آزمون سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت و سوسپانسیون کشته شده باکتری همراه با ادجوانت فروند از اختلاف معنی‌داری برخوردار نبودند ($p=0/083$). در حالی که بین دو گروه سوسپانسیون کشته شده باکتری بدون ادجوانت و سوسپانسیون باکتری همراه با DTP در خونگیری چهارم بعد از تزریق نوبت سوم واکسن، تغییر معنی‌داری مشاهده شد ($p=0/049$) (جدول ۱، نمودار ۱). تزریق سوسپانسیون باکتری کشته شده بدون ادجوانت در مقایسه با تزریق

حیوانی گوسفند و همچنین در ترکیب با آنتی‌ژن‌های مشتق شده از ویروس هپاتیت B در خوکچه‌ی هندی، ادجوانت فروند به طور معنی‌داری موجب افزایش تیتراژ آنتی‌بادی نسبت به هیدروکسید آلومینیوم شده است (۱۴-۱۳). Tollersrud و همکاران نیز نشان دادند که ادجوانت روغنی، یکی از ادجوانت‌هایی است که در ترکیب با سوسپانسیون کشته شده استافیلوکوکوس آرئوس کپسول‌دار تایپ ۵ منجر به افزایش چشم‌گیر تیتراژ آنتی‌بادی در گاو می‌شود (۱۵). نتایج حاصل از این پژوهش قابل مقایسه با سایر بررسی‌هایی است که در آنها واکسن ثلاث (DTP) را در ترکیب با واکسن هموفیلوس آنفلوآنزا تایپ b و واکسن آنفلوآنزای a در موش بررسی کردند و نشان دادند که در موش‌های ایمونیزه شده تیتراژ آنتی‌بادی ضد این باکتری و ویروس، به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است (۱۶-۱۷). در پژوهش Barra و همکاران نشان داده شد که می‌توان واکسن هموفیلوس آنفلوآنزای تایپ b را با موفقیت در یک سرنگ همراه با واکسن DTP برای ایمونیزاسیون شیرخواران به کار برد که این ترکیب باعث افزایش چشم‌گیر تیتراژ آنتی‌بادی ضد این باکتری در شیرخواران می‌شود (۱۸). همچنین در پژوهشی دیگر، واکسن هموفیلوس آنفلوآنزای تایپ b را با DTP مخلوط و در یک تزریق واحد برای شیرخواران به کار بردند، بدون اینکه از ایمنی‌زایی هر یک کم شود یا باعث بروز عوارض ناخواسته‌ی بیشتر گردد (۱۹). در پژوهش Puumalainen نشان داده شد که استفاده از واکسن پنوموکوک کنژوکه با توکسوئید دیفتری منجر به افزایش چشم‌گیر آنتی‌بادی ضد باکتری پنوموکوک در نوزادان فیلیپینی می‌شود (۲۰). در پژوهشی دیگر، DTP را در ترکیب با واکسن پولیومیلیت تزریقی در

با ادجوانت فروند، بیشتر از خرگوش‌های ایمونیزه شده با ادجوانت هیدروکسید آلومینیوم بود ولی این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین میانگین تیتراژ آنتی‌بادی خرگوش‌های ایمونیزه شده با DTP، به طور معنی‌داری بیشتر از خرگوش‌های ایمونیزه شده با ادجوانت هیدروکسید آلومینیوم و ادجوانت فروند بود. این یافته‌ی ما با پژوهش Shu و همکاران مطابقت دارد، آنها ادجوانت فروند و هیدروکسید آلومینیوم را به همراه استرپتوکوکوس بوویس در گاو به کار برده‌اند که ادجوانت فروند در این ترکیب موجب افزایش تیتراژ آنتی‌بادی بیشتری نسبت به هیدروکسید آلومینیوم شده ولی این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبوده است (۹). دلایل این یافته به خوبی معلوم نیست؛ در پژوهش دیگری Giraud و همکاران کاهش شدید ماستیت را در گاوهای واکسینه شده با استافیلوکوکوس آرئوس کنژوکه شده با هیدروکسید آلومینیوم نشان دادند (۱۰). ادجوانت فروند یکی از قوی‌ترین ادجوانت‌هایی است که تاکنون توصیف شده است و به میزان زیادی برای افزایش پاسخ ایمنی حیوانات آزمایشگاهی برای اهداف تحقیقاتی به کار می‌رود. عوارض جانبی آن مانند گرانولونوماتور آبه و التهاب در محل تزریق، درد شدید، تب، احتمال آسیب دائمی بافت، القای بیماری‌های خود ایمنی و افزایش حساسیت می‌باشد. کاربرد ادجوانت فروند برای انسان مجاز نبوده، سبب ایجاد آبه می‌گردد (۱۱). کاربردی‌ترین ادجوانت‌ها در انسان هیدروکسید آلومینیوم یا فسفات آلومینیوم می‌باشد؛ هیدروکسید آلومینیوم ادجوانتی است که برای استفاده‌ی انسانی توسط سازمان غذا و دارو مجاز شناخته شده است (۱۱-۱۲). یافته‌های دیگر نشان می‌دهد که در ترکیب با پاستور لاهمولیتیکا در مدل

برای ایجاد پاسخ ایمنی بهتر و قوی‌تر، پیشنهاد می‌شود که از واکسن ثلاث (DTP) به عنوان ادجوانت در ترکیب با سوسپانسیون کشته شده استافیلوکوکوس اورئوس کپسول دار تایپ ۵، در پژوهش‌های انسانی نیز استفاده گردد تا چنانچه نتایج مشابهی به دست آید از آن بتوان در ایمونیزاسیون انسانی ضد این سوش باکتری استفاده شود.

کودکان به کار برده‌اند که این ترکیب موجب محافظت در برابر فلج اطفال شده است (۲۱). استفاده از واکسن DTP در ترکیب با واکسن‌های دیگر، چنانچه از ایمنی‌زایی هرکدام از واکسن‌ها کم نشود، نیاز به تزریق اضافی ندارد، همچنین تداخل در وعده‌های توصیه شده واکسن‌ها کم‌تر ایجاد می‌شود، در نتیجه یک استراتژی ساده برای ایمونیزاسیون فراهم می‌کند (۱۷). از بین سه ادجوانت مورد بررسی در این پژوهش،

منابع

1. Willett HP. Staphylococcus. In: Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM, editors. Zinsser microbiology. Norwalk, CT: Appleton & Lange, 1992: 401-16.
2. Nilsson IM, Lee JC, Bremell T, Ryden C, Tarkowski A. The role of staphylococcal polysaccharide microcapsule expression in septicemia and septic arthritis. *Infect Immun* 1997; 65(10):4216-21.
3. Lee JC, Park JS, Shepherd SE, Carey V, Fattom A. Protective efficacy of antibodies to the Staphylococcus aureus type 5 capsular polysaccharide in a modified model of endocarditis in rats. *Infect Immun* 1997; 65(10):4146-51.
4. Karakawa WW. The role of capsular antigens in Staphylococcus aureus immunity. *Zentralbl Bakteriologie* 1992; 277(4):415-8.
5. Fattom A, Schneerson R, Watson DC, Karakawa WW, Fitzgerald D, Pastan I, et al. Laboratory and clinical evaluation of conjugate vaccines composed of Staphylococcus aureus type 5 and type 8 capsular polysaccharides bound to Pseudomonas aeruginosa recombinant exoprotein A. *Infect Immun* 1993; 61(3):1023-32.
6. Duckworth G, Cookson B, Pearson A, Crowcroft N. Surveillance for S aureus bacteraemias is compulsory. *BMJ* 2002; 324(7331):240-1.
7. Leenaars PP, Koedam MA, Wester PW, Baumans V, Claassen E, Hendriksen CF. Assessment of side effects induced by injection of different adjuvant/antigen combinations in rabbits and mice. *Lab Anim* 1998; 32(4):387-406.
8. Delves PJ. Antibody production. Essential techniques. Chichester: Wiley and sons Ltd; 1997. p.29-32.
9. Shu Q, Hillard MA, Bindon BM, Duan E, Xu Y, Bird SH, et al. Effects of various adjuvants on efficacy of a vaccine against Streptococcus bovis and Lactobacillus spp in cattle. *Am J Vet Res* 2000; 61(7):839-43.
10. Giraudo JA, Calzolari A, Rampone H, Rampone A, Giraudo AT, Boggi C, et al. Field trials of a vaccine against bovine mastitis. I. Evaluation in heifers. *J Dairy Sci* 1997; 80(5):845-53.
11. Gupta RK, Relyveld EH, Lindblad EB, Bizzini B, Ben-Efraim S, Gupta CK. Adjuvants-a balance between toxicity and adjuvanticity. *Vaccine* 1993; 11(3):293-306.
12. Ellis RW. Vaccine: New approaches to immunological problem. Boston: Butterworth-Heinemann; 1992.p.431-49.
13. Wells PW, Gilmour NJ, Burrells C, Thompson DA. A serological comparison of Pasteurella haemolytica vaccines containing different adjuvants. *Res Vet Sci* 1979; 27(2):248-50.
14. Sanchez Y, Ionescu-Matiu I, Dreesman GR, Kramp W, Six HR, Hollinger FB, et al. Humoral and cellular immunity to hepatitis B virus-derived antigens: comparative activity of Freund complete adjuvant alum, and liposomes. *Infect Immun* 1980; 30(3):728-33.
15. Tollersrud T, Zernichow L, Andersen SR, Kenny K, Lund A. Staphylococcus aureus capsular polysaccharide type 5 conjugate and whole cell vaccines stimulate antibody responses in cattle. *Vaccine* 2001; 19(28-29):3896-903.
16. Tamizifar H, Robinson A, Jennings R, Potter CW. Immune response and protection against influenza. An infection in mice immunised with subunit influenza a vaccine in combination with whole cell or acellular DTP vaccine. *Vaccine* 1995; 13(16):1539-46.
17. Potter CW, Tamizifar H, Jennings R. Immune response of mice to immunization with subunit influenza A vaccine in DTP vaccine. *Vaccine* 1995; 13(3):253-60.

18. Barra A, Dagan R, Preud'homme JL, Bajart A, Danve B, Fritzell B. Characterization of the serum antibody response induced by Haemophilus influenzae type b tetanus protein-conjugate vaccine in infants receiving a DTP-combined vaccine from 2 months of age. *Vaccine* 1993; 11(10):1003-6.
19. Begg NT, Miller E, Fairley CK, Chapel HM, Griffiths H, Waight PA, et al. Antibody responses and symptoms after DTP and either tetanus or diphtheria Haemophilus influenzae type B conjugate vaccines given for primary immunisation by separate or mixed injection. *Vaccine* 1995; 13(16):1547-50.
20. Puumalainen T, Zeta-Capeding MR, Kayhty H, Lucero MG, Auranen K, Leroy O, et al. Antibody response to an eleven valent diphtheria- and tetanus-conjugated pneumococcal conjugate vaccine in Filipino infants. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21(4):309-14.
21. Qureshi AW, Zulfiqar I, Raza A, Siddiqi N. Comparison of immunogenicity of combined DPT-inactivated injectable polio vaccine (. *J Pak Med Assoc* 1989; 39(2):31-5.

Archive of SID

Original Article

Journal of Isfahan Medical School
Vol 26, No 88, Spring 2008Received: 26.8.2007
Accepted: 7.2.2008**The effect of Aluminium hydroxide, Freund's adjuvant and DTP vaccine on immunization of rabbit against encapsulated Staphylococcus aureus type 5**

Seyed Asghar Havaei PhD*, Akbar Mirsalehian PhD**, Farzaneh Bazarjani MSc***, Ahmad Ghavaminejad PhD****, Kobra Bamdad MS***, Farkhondeh Poursina MSc*****, Hasan Tamizifar PhD*.

* Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences
** Associate Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences
*** Expert, Department of Microbiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences
**** Expert, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences**Background:****Abstract**Immunization of rabbit against Staphylococcus aureus type 5 did not increase antibody titer significantly in previous study. We proposed that lack of protection is due to low immunogenicity of this bacterium and a suitable adjuvant is needed to augment antibody production against it. In this study the effect of aluminium hydroxide [Al(OH)₃], Freund's adjuvant and DTP vaccine on immunization of rabbit against encapsulated S. aureus type 5 by agglutination method was considered.**Methods:**

30 male New Zealand white rabbits (4-6 months) were grouped in 6. They were injected intramuscularly using suspension of killed encapsulated S. aureus type 5 (strain Reynolds) with and without adjuvant. The last two groups were injected DTP vaccine and saline alone. Injections were done three times within 21 days intervals; blood sample was obtained from marginal ear vein before every injection and 21 days after the last injection and sera were collected in -20°C. Agglutination method was employed for detection of antibody titer.

Findings:Immunization of rabbits to encapsulated s. aureus type 5 with Al(OH)₃, Freund's adjuvant and DTP vaccine showed rise in antibody titer against it. Mean antibody titer of immunized rabbits with DTP vaccine after the third injection was more than those immunized with Al(OH)₃ and Freund's adjuvant (p=0.049). Also mean antibody titer in rabbits immunized with Freund's adjuvant was more than those immunized with Al(OH)₃ but this difference was not significant (p=0.27).**Conclusion:**In this study, DTP vaccine induced higher antibody titer against encapsulated S. aureus type 5 than Al(OH)₃ and Freund's adjuvant. Therefore, it is suggested that DTP vaccine may be used as an adjuvant with suspension of killed encapsulated S. aureus type 5 in rabbit.**Key words:****Encapsulated staphylococcus aureus, adjuvant, aluminium hydroxide, Freund, DTP vaccine****Page count:**

8

Tables:

1

Figures:

1

References:

21

Address of Correspondence:Dr. Seyyed Asghar Havaei, Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
E-mail: havaei@med.mui.ac.ir