

ຖຸພສນປົກຂອງວັດທີ່ເກີດຈາກເຊື້ອຫຼູໄກໂນແນສ ແລະ ຈິນຫຼຳ  
ແລະ ອິນມີວິໄໂຄລຸລິນທີ່ໄກ້ຈາກກາຮກຮັບກະຕ່າຍ



ນາງສາວວຽງ  
ທີ່ປ່ອງຈາ

ວິທຍານິພນນີ້ເປັນສ່ວນໜຶ່ງຂອງກາຮກສຶກພາການທັກສູກປະລຸງມາເກສັ້ກາສກຽມທານັ້ນທີ່  
ກາກວິຫາຊຸດຊົວວິຫຍາ  
ນັ້ນທີ່ກວິຫາສັຍ ຫຼັກສູກກໍາມໍານາວິຫຍາສັຍ

ພ.ສ.2525

ISBN 974-561-156-5

007440

IMMUNOLOGICAL PROPERTIES OF VACCINES PREPARED  
FROM PSEUDOMONAS AERUGINOSA AND IMMUNOGLOBULINS  
INDUCED FROM RABBITS



Miss Vannee Silapaarcha

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

Department of Microbiology

Graduate School

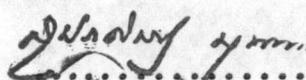
Chulalongkorn University

1982

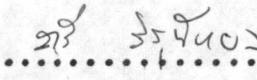
หัวขอวิทยานิพนธ์	คุณสมบัติของรากชื้นเมือง เที่ยวนจากเชื้อชูโภคไม้นแนส และ อินมิโนไกลูลิน ที่ได้จากการกระตุนกระแทย
ไทย	นางสาววรรณี ศิลปอาชา
ภาควิชา	ชุดชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ นายสกุลแพทัย กร.เกเรียงศักดิ์ สายชู ผู้ช่วยศาสตราจารย์ กร.สันติ ถุงสุวรรณ

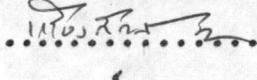
---

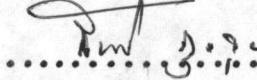
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

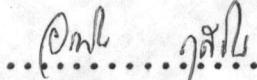
 ....., คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุประคิษฐ์ บุนนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

 ....., ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาวรี วิรุฬหผล)

 ....., กรรมการ  
(อาจารย์ นายสกุลแพทัย กร.เกเรียงศักดิ์ สายชู)

 ....., กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ กร.สันติ ถุงสุวรรณ)

 ....., กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อรพิน พกชื่น)

ฉลิลสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์ คุณสมบัติของวัสดุนี้ ชื่่อเกรียงจากเชื้อชูโภโนแนส แอร์จีโนซ่า และ อินมิวโนโกลบูลินที่ได้จากการกรองกระถุงกระถ่าย

ชื่อนิสิต นางสาววรรษี ศิลปอาชา

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ นายสกุลแพทร์ กร.เกรียงศักดิ์ สายชู  
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สันติ ฤทธิ์สุวรรณ

ภาควิชา ชุลเชื้อวิทยา

ปีการศึกษา 2524

#### บทคัดย่อ

การทดลองนี้ vaccine ทั้งแบบ monovalent และ trivalent ใช้ whole cell และ lipopolysaccharide (LPS) vaccine ของเชื้อ Pseudomonas aeruginosa ในกระถ่าย โดยฉีดสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวม 6 ครั้ง พนวณ titer จะดูดูในสัปดาห์ที่ 5 monovalent และ trivalent whole cell vaccine สามารถให้ titer ของ antibody ได้สูงถึง 1:8,192 ซึ่งสูงกว่า ใช้ monovalent และ trivalent LPS vaccine ซึ่งให้ titer สูงสุด เพียง 1:2,048 และการใช้ trivalent ทั้ง whole cell และ LPS vaccine จะให้ titer ใกล้เคียงกับจาก monovalent vaccine จากการหาค่า LD<sub>50</sub> ของ immunotype 1, 2 และ 4 พนวณมีค่าเท่ากับ  $4.0 \times 10^{24}$ ,  $9.7 \times 10^{23}$  และ  $3.8 \times 10^{24}$  ตามลำดับ ผลการทดลอง passive immunity โดยใช้ immunoglobulin ที่เกรียงจาก serum ที่ได้จากการฉีดกระถ่ายทั้ง monovalent และ trivalent ของทั้ง whole cell และ LPS vaccine โดยใช้ whole cell immunoglobulin ในปริมาณต่าง ๆ กันคือ 13, 8, 5 และ 2 mg และ LPS -

9

immunoglobulin ในปริมาณ 25, 20 และ 15 mg นักเข้าช่องห้องของหนูถีบจักร  
ความเข้มข้นละ 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว หลังจากนั้น 3 วันในง challenge เชื้อ<sup>เชื้อ</sup>  
immunotype 1, 2 และ 4 ในแต่ละกลุ่มของแต่ละความเข้มข้น โดยนักเข้าช่องห้อง<sup>เชื้อ</sup>  
ผลปรากฏว่า immunoglobulin จาก monovalent whole cell vaccine  
ปริมาณ 8 mg สามารถป้องกันสัตว์จากเชื้อ type เดี่ยวกันได้ 80-100 % และเชื้อ<sup>เชื้อ</sup>  
ท่าง type ได้ 0-20 % และ immunoglobulin จาก trivalent whole cell  
vaccine ปริมาณ 8 mg สามารถป้องกันสัตว์จากเชื้อทั้ง 3 immunotypes  
ได้ 80-100 % จากการใช้ immunoglobulin จาก monovalent LPS vaccine  
ปริมาณ 25 mg สามารถป้องกันสัตว์จากเชื้อ type เดี่ยวกันได้ 80-100 % และเชื้อ<sup>เชื้อ</sup>  
ท่าง type ได้ 20-40 % และ immunoglobulin จาก trivalent LPS vaccine  
ปริมาณ 25 mg สามารถป้องกันสัตว์จากเชื้อทั้ง 3 immunotypes ได้ 80-100 %

Thesis Title      Immunological properties of vaccines prepared from  
Pseudomonas aeruginosa and immunoglobulins induced  
from rabbits

Name                Miss Vannee Silapaarcha

Thesis Advisor     Instructor Dr.Kriengsag Saitanu, D.V.M., Ph.D.  
Assistant Professor Santi Thoongsawan, Ph.D.

Department        Microbiology

Academic year    1981

#### Abstract

Monovalent and trivalent from whole cell and lipopolysaccharide (LPS) vaccines of Pseudomonas aeruginosa were injected into rabbits once a week, on a period of 6 weeks, the highest titer was found at the 5<sup>th</sup> week. Monovalent and trivalent whole cell vaccines produced higher antibody titer (1:8,192) than monovalent and trivalent LPS vaccine (1:2,048). The antibody producing of trivalent of whole cell and LPS vaccine gave similar titer to monovalent vaccine.

$LD_{50}$  of immunotype 1, 2 and 4 of P. aeruginosa were  $4.0 \times 10^{24}$ ,  $9.7 \times 10^{23}$  and  $3.8 \times 10^{24}$  respectively.

The study of passive immunity on mice used immunoglobulin prepared from rabbit serum which were immunized by monovalent and trivalent of whole cell and LPS vaccine. The concentration 13, 8, 5 and 2 mg of whole cell immunoglobulin and 25, 20 and 15 mg of LPS

II

immunoglobulin, each were injected intraperitoneally into three groups of mice (five in each group). The animals, after 3 hours, were challenged with the immunotype 1, 2 and 4 of P. aeruginosa. It was found that 8 mg of immunoglobulin from monovalent whole cell vaccine could protect 80-100 % of mice from the same type of P. aeruginosa, and 0-20 % from the different type. The equal concentration of immunoglobulin from trivalent whole cell vaccine could protect 80-100 % of mice from all three types. The 25 mg of immunoglobulin from monovalent LPS vaccine could protect 80-100 % of mice from the same type of P. aeruginosa, and 20-40 % from the different type. The equal amount of immunoglobulin from trivalent LPS vaccine could protect 80-100 % of mice from all three types.



## กิติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ นายสกุลแพทัย ดร. เกรียงศักดิ์ สายชูนุ ซึ่งให้ความกรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการวิจัยอย่างละเอียด ช่วยแก้ปัญหาในการวิจัยอย่างถี่ถ้วน ทั้งยังกรุณาจัดทำวัสดุอุปกรณ์ สักว่าทกคลอง และสถานที่ทำการวิจัยมาโดยตลอด

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สันติ ดุงสุวรรณ ที่ได้กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม และช่วยให้คำแนะนำ แก้ปัญหา และจัดทำวัสดุ อุปกรณ์บางอย่างในงานวิจัยนี้

ผู้เขียนขอขอบพระคุณภาควิชาพยาธิชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และสถาบันราชประชานามาศัย ที่ให้ความกรุณาในการใช้เครื่องมือบางอย่างในการวิจัยครั้งนี้

ผู้เขียนขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือและความสะดวกทั่ง ๆ จนกระทั่ง วิทยานิพนธ์สำเร็จ ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์สำเร็จนี้

ผู้เขียนขอขอบคุณเจ้าหน้าที่คุณแลสก์ว่าทกคลองของหน่วยจุลชีววิทยา คณะสกุลแพทัย-ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือในการเลี้ยงคุณแลสก์ว่าทกคลอง เป็นอย่างดี ตลอดการวิจัย



สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	๑
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	๒
กิจกรรมประจำศต.....	๓
รายการตารางประกอบ.....	๔
รายการรูปภาพประกอบ.....	๕
ศัพท์ฯ.....	๖

## บทที่

1. บทนำ.....	๑
2. อุปกรณ์และวิธีการ.....	๑๙
3. ผลการวิจัย.....	๓๐
4. วิจารณ์ผลการวิจัย.....	๔๔
5. สรุปผลงานวิจัย.....	๕๐
บทแทรกที่ ๑ .....	๕๒
บทแทรกที่ ๒ .....	๕๔
เอกสารอ้างอิง.....	๕๖
ประวัติผู้เขียน.....	๗๐

## รายการการงานปะกอบ

หน้า

การงานที่ 1	ลักษณะสำคัญที่ใช้พิสูจน์เชื้อ <u>P. aeruginosa</u> .....	3
การงานที่ 2	ทดสอบส่วนปะกอบของ LPS.....	7
การงานที่ 3	ทดสอบแหล่งที่มาของเชื้อ <u>P. aeruginosa</u> ที่ใช้ในการทดลอง .....	19
การงานที่ 4	Titer ของ pooled serum หลังฉีด whole cell vaccine ครั้งที่ 6 นาน 1 สัปดาห์ .....	35
การงานที่ 5	Titer ของ pooled serum หลังฉีด LPS vaccine ครั้งที่ 6 นาน 1 สัปดาห์.....	36
การงานที่ 6	Passive immunity ของ immunoglobulin ชิ้งเกรียม จาก monovalent และ trivalent whole cell vaccine .....	40
การงานที่ 7	Passive immunity ของ immunoglobulin ชิ้งเกรียม จาก monovalent และ trivalent LPS vaccine	42
การงานที่ 8	เบร์ยนเทียบปริมาณ immunoglobulin ที่ได้จากการฉีด กระถางคายwhole cell vaccine และ LPS vaccine ในการป้องกันหนูถูกจับໄต้ 100 % .....	47



รายงานการรู้สึกภาพประกอบ

หน้า

รูปที่ 1	โครงสร้าง cell envelope ของ gram-negative bacteria .....	6
รูปที่ 2	A. LPS ของ gram-negative bacteria ..... B. ส่วน lipid A ของ LPS ..... C. ส่วน Core polysaccharide ของ LPS.....	6 6 6
รูปที่ 3	Agglutinating titer ของกระแทยที่นิ่นค้ำย monovalent และ trivalent whole cell vaccine ของ <u>P. aeruginosa</u> immunotype 1 ...	32
รูปที่ 4	Agglutinating titer ของกระแทยที่นิ่นค้ำย monovalent และ trivalent whole cell vaccine ของ <u>P. aeruginosa</u> immunotype 2 ...	32
รูปที่ 5	Agglutinating titer ของกระแทยที่นิ่นค้ำย monovalent และ trivalent whole cell vaccine ของ <u>P. aeruginosa</u> immunotype 4 ...	33
รูปที่ 6	PHA titer ของกระแทยที่นิ่นค้ำย monovalent และ trivalent LPS vaccine ของ <u>P. aeruginosa</u> immunotype 1 .....	33
รูปที่ 7	PHA titer ของกระแทยที่นิ่นค้ำย monovalent และ trivalent LPS vaccine ของ <u>P. aeruginosa</u> immunotype 2 .....	34

หน้า

รูปที่ 8	PHA titer ของกระเพย์ที่นิ่กคาย monovalent และ trivalent LPS vaccine ของ <u>P. aeruginosa</u> immunotype 4 .....	34
รูปที่ 9	LD 50 ของเชื้อ <u>P. aeruginosa</u> .....	38

## កុំព្យូទ័រ

g	gram
GLP	glycolipoprotein
Ig	immunoglobulin
LD <sub>50</sub>	fifty percent lethal dose
LPS	lipopolysaccharide
mg	milligram
ml	milliliter
mm	millimeter
μg	microgram
μm	micrometer
M.W.	molecular weight
nm	nanometer
NS	normal saline
O.D.	optical density
PBS	phosphate buffer saline
PCA	plate count agar
PHA	passive hemagglutination
rpm	round per minute
SRBC	sheep red blood cells