

การศึกษาพยาธิสภาพของการติดเชื้อ ซูโดโมแนส แอรจิโนซ่า ในสัตว์ทดลอง



น.ส. นิภาพร กังสกุลนิติ

001272

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2522

J15933468

STUDIES ON PATHOGENESIS OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA

IN EXPERIMENTAL ANIMALS

Miss Nipaporn Kungskulniti

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Microbiology

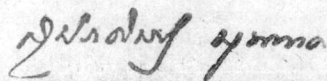
Graduate School

Chulalongkorn University

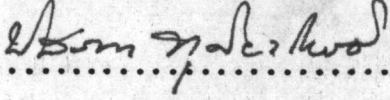
1979

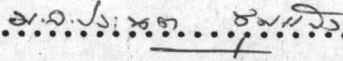
หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษาพยาธิสภาพของการติดเชื้อโตโมแนส แอรูจิโนซ่าในสัตว์ทดลอง
โดย น.ส. นิภาพร กังสกุลนิติ
ภาควิชา จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ลันตี อุงสุวรรณ

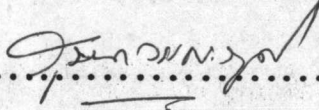
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของ
การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

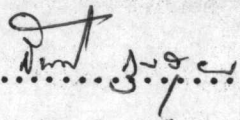

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุประดิษฐ์ บุญนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พิสวาท ทุติยะโพธิ์)


.....กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ม.ล. ประนต ชุมแสง)


.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุนนา วรรณะภูติ)


.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ลันตี อุงสุวรรณ)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาพยาธิสภาพของการติดเชื้อซูโดโมแนส แอรูจิโนซ่าในสัตว์ทดลอง
ชื่อ	น.ส. นิภาพร กังสกุลนิติ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สันติ ฤงสุวรรณ
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
ปีการศึกษา	2522



บทคัดย่อ

Exotoxin ของเชื้อ Pseudomonas aeruginosa สามารถที่จะทำให้เข้มข้นโดยการตกตะกอนด้วย ammonium sulfate และทำให้บริสุทธิ์เพียงบางส่วนได้โดยใช้ Sephadex G-200 Column Chromatography หลังจากการทำให้เข้มข้นแล้วผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้มีโปรตีน 19.62 micrograms ต่อหนึ่งขนาดที่ทำให้หนูถีบจักรตาย 50% สิ่งเตรียมนี้ประกอบด้วยโปรตีนที่สามารถที่กระตุ้นให้เกิด antibodies สองชนิด ซึ่งเห็นได้จาก optical density profile และสนับสนุนด้วยผลจากการทำ gel diffusion test

พยาธิสภาพของเนื้อเยื่อของหนูถีบจักรที่ถูกฉีดเข้าช่องท้องด้วย exotoxin แสดงให้เห็นชัดถึงการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ของตับ ม้าม และไต ลักษณะผิดปกติที่พบในอวัยวะเหล่านี้ คือ necrosis, cellular swelling และการเพิ่มของ fatty acid granules ภายในเซลล์ การตรวจโดย direct immunofluorescent antibody technique แสดงให้เห็นการกระจายของจุดเรืองแสงภายใน cytoplasm ของเซลล์ของอวัยวะเหล่านี้

7.13 micrograms ของ immune globulin สามารถที่จะใช้ยับยั้งพิษของ exotoxin ของเชื้อ Pseudomonas aeruginosa ในขนาดที่ทำให้หนูถีบจักรตาย 50% อย่างได้ผล



ACKNOWLEDGEMENT

I wish to express my appreciation to Assistant Professor Pisawat Dutiyabodhi, Head of the Department of Microbiology, the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, for her kindness and fruitful guidance throughout the course of this work.

I am deeply indebted and grateful to Assistant Professor Dr. Santi Thoongsuwan, Secretary of the Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University, for his helpful guidance, suggestions, criticisms and encouragement throughout the course of this study.

I should also like to extend my deep gratitude to Professor M.L. Pranod Xumsaeng, Head of the Department of Food Chemistry, the Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, and Col. Dr. Saisudchai Tuchinda, Head of the Department of Nuclear Medicine, Phramongkutklao Hospital, for their kind cooperation in allowing me to use some of the equipments in their Departments.

I am mostly thankful to Miss Kleophant Thakerngpol, the Instructor, the Department of Pathology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University, for granting me the opportunity to carry out some parts of this work.

I also wish to extend my sincere thanks to all the staff-members of the Department of Microbiology for their kindness and assistances.

Least of all, I am deeply obliged to the Chulalongkorn University Graduate School, for granting me part of the financial support (eight thousand Baht) to conduct this project.

CONTENTS

	Page
ABSTRACT (Thai)	IV
ABSTRACT (English)	V
ACKNOWLEDGEMENTS	VI
TABLES	IX
FIGURES	X
ABBREVIATIONS	XII
CHAPTER	
I INTRODUCTION	1
II MATERIALS AND METHODS	13
III RESULTS	28
IV DISCUSSION	44
V CONCLUSION	48
REFERENCES	50
VITA	57

TABLES

TABLE		PAGE
1	Toxicities of various products of <u>Pseudomonas aeruginosa</u> compared with other bacterial toxin	7
2	Comparison between growth and production of toxin of <u>Pseudomonas aeruginosa</u> (strain PA-103)	11
3	Estimation of LD ₅₀ per mouse of <u>Pseudomonas aeruginosa</u> exotoxin	31
4	The <u>in vitro</u> and <u>in vivo</u> testing of exotoxin neutralization	45

FIGURES

FIGURE		Page
1	Effect of yeast RNA on growth and toxin production by <u>Pseudomonas aeruginosa</u> (strain PA-103).....	12
2	The optical density at 280 nm. of the gel fractionation of <u>Pseudomonas aeruginosa</u> exotoxin.....	29
3	Estimation of the protein content of exotoxin and immune globulin.....	30
4	Liver sections	
	A. Normal mouse liver.....	33
	B. <u>Pseudomonas aeruginosa</u> Exotoxin treated mouse liver.....	34
	C. Progressive necrosis of hepatocytes in liver of treated mouse.....	35
5	Kidney sections	
	A. Normal mouse kidney.....	36
	B. Focal proliferation of mesengial cell in kidney of treated mouse.....	37
6	Spleen sections	
	A. Normal mouse Spleen.....	38
	B. Multinucleated giant cells formation in the spleen of treated mouse.....	39

FIGURE

Page

7	Double immunodiffusion test in gel of <u>Pseudomonas</u> <u>aeruginosa</u> crude exotoxin against homologous rabbit immune globulin.....	41
8	Immunofluorescence of exotoxin treated mouse kidney.	42

ABBREVIATIONS

ADP	Adenosine diphosphate
cm	Centimeter
cm ²	Square centimeter
EF ₂	Elongation factor 2
g	Gram
H & E	Hematoxylin and Eosin
kg	Kilogram
LD ₅₀	50% lethal dose
M	Molarity
μ	Micron
mcg	Microgram
mg	Milligram
ml	Millilitre
mm ³	Cubic millimeter
N	Normality
NAD	Nicotinamide adenosine dinucleotide

nm	Nanometer
NSS	Normal Saline Solution
OD	Optical Density
PBS	Phosphate buffered saline
rpm	Revolutions per minute
sec	Second
V/V	Volume by volume