

ผลการวิจัย

1. ผลการตรวจ titer ของ antiserum ที่เตรียมจาก whole cell vaccine

1.1 Titer ของ serum จากการฉีด monovalent whole cell vaccine

จากการตรวจ titer ด้วยวิธี agglutination โดยใช้ homologous agglutinin ปรากฏว่า กระจายกลุ่มที่ฉีดด้วย whole cell vaccine immunotype 1 ก่อนฉีด จะมี titer 1:8 หลังฉีด ครั้งที่ 1 ถึงครั้งที่ 6 จะมี titer 1:256, 1:1024, 1:1024, 1:2048, 1:4096 และ 1:4096 ตามลำดับ (รูปที่ 3) กระจายกลุ่มที่ฉีดด้วย whole cell vaccine immunotype 2 ก่อนฉีดจะมี titer 1:16 หลังฉีด ครั้งที่ 1 ถึงครั้งที่ 6 จะมี titer 1:512, 1:1024, 1:1024, 1:4096, 1:4096 และ 1:4096 ตามลำดับ (รูปที่ 4) กระจายกลุ่มที่ฉีดด้วย whole cell vaccine immunotype 4 ก่อนฉีดจะมี titer 1:8 หลังฉีดครั้งที่ 1 ถึงครั้งที่ 6 จะมี titer 1:256, 1:1024, 1:1024, 1:2048, 1:8192 และ 1:8192 ตามลำดับ (รูปที่ 5)

1.2 Titer ของ serum จากการฉีด trivalent whole cell vaccine

จากการตรวจ titer ด้วยวิธี agglutination โดยใช้ agglutinin ของ immunotype 1, 2 และ 4 ปรากฏว่า ก่อนฉีดกระจายจะมี titer ต่อ immunotype 1, 2 และ 4 ดังนี้คือ 1:8, 1:16 และ 1:8 ตามลำดับ หลังฉีดครั้งที่ 1 ถึงครั้งที่ 6 กระจายจะมี

titer ต่อ immunotype 1 ทั้งนี้คือ 1:128, 1:512, 1:1024, 1:2048, 1:4096 และ 1:4096 ตามลำดับ (รูปที่ 3) titer ต่อ immunotype 2 ทั้งนี้คือ 1:256, 1:512, 1:1024, 1:1024, 1:4096 และ 1:4096 ตามลำดับ (รูปที่ 4) titer ต่อ immunotype 4 ทั้งนี้คือ 1:128, 1:512, 1:1024, 1:2048, 1:4096 และ 1:8192 ตามลำดับ (รูปที่ 5)

สำหรับ antiserum หลังฉีดครั้งที่ 6 นาน 1 สัปดาห์ นำมาตรวจด้วยวิธี agglutination และ PHA โดยใช้ทั้ง homologous และ heterologous antigen ได้แสดงผลไว้อย่างละเอียดในตารางที่ 4

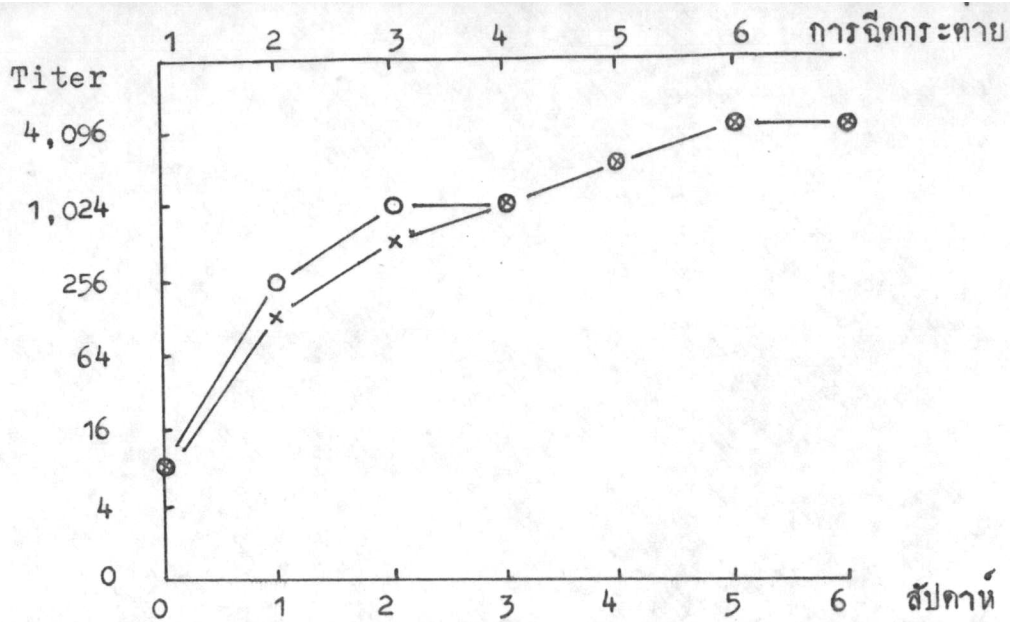
2. ผลการตรวจ titer ของ antiserum ซึ่งเตรียมจาก

LPS vaccine

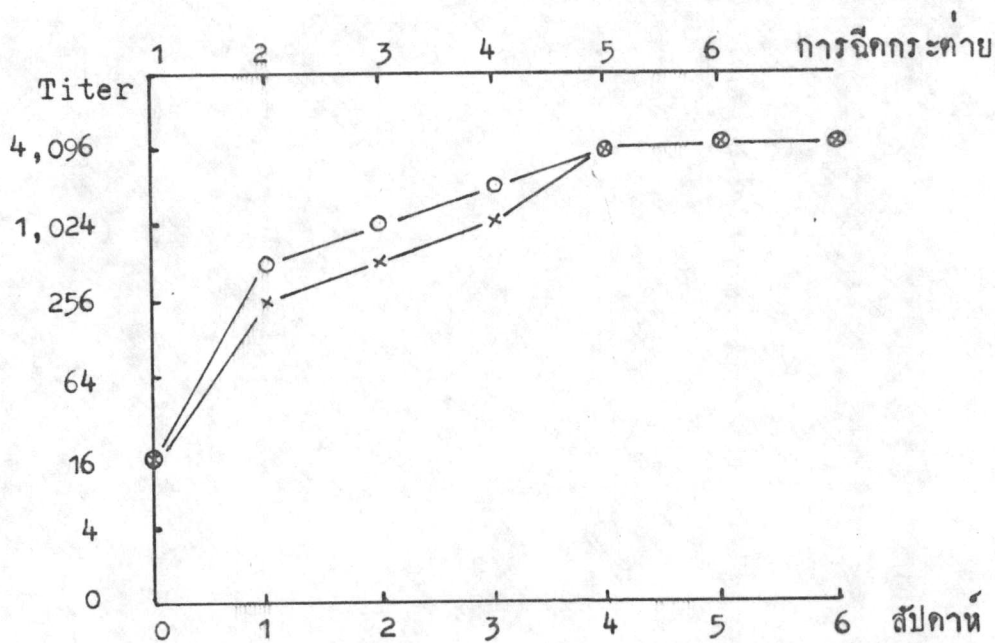
2.1 Titer ของ serum จากการฉีด monovalent

LPS vaccine

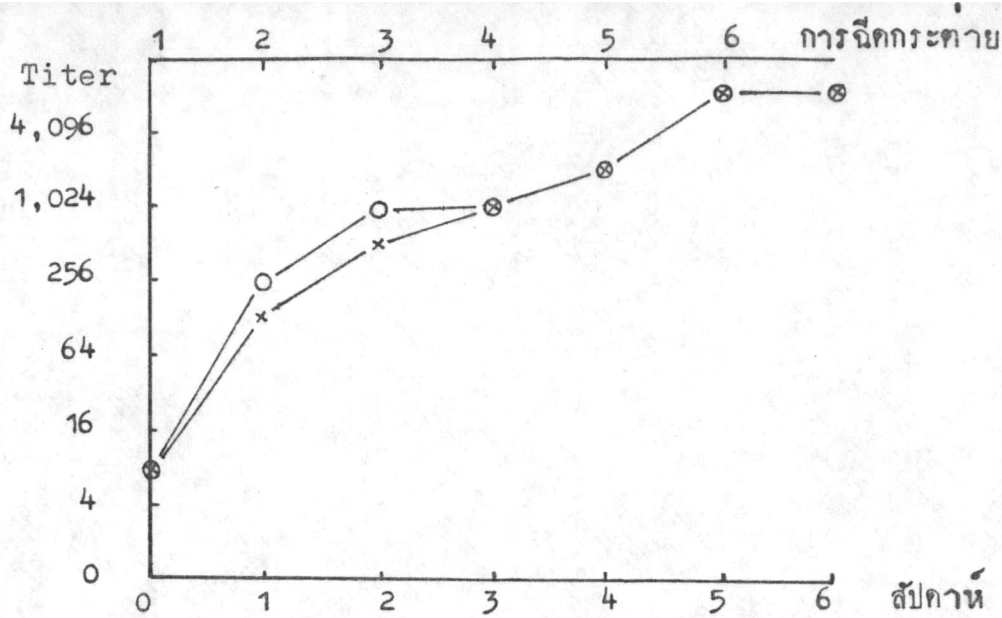
จากการตรวจ titer ด้วยวิธี PHA โดยใช้ homologous antigen ปรากฏว่ากระต่ายกลุ่มที่ฉีดด้วย LPS vaccine immunotype 1 ก่อนฉีดจะมี titer 1:8 หลังฉีดครั้งที่ 1 ถึงครั้งที่ 6 จะมี titer 1:64, 1:256, 1:512, 1:1024, 1:2048 และ 1:2048 ตามลำดับ (รูปที่ 6) กระต่ายกลุ่มที่ฉีดด้วย LPS vaccine immunotype 2 ก่อนฉีดจะมี titer 1:4 หลังฉีดครั้งที่ 1 ถึงครั้งที่ 6 จะมี titer 1:128, 1:256, 1:512, 1:512, 1:1024 และ 1:1024 ตามลำดับ (รูปที่ 7) กระต่ายกลุ่มที่ฉีดด้วย LPS vaccine immunotype 4 ก่อนฉีดจะมี titer 1:16 หลังฉีดครั้งที่ 1 ถึงครั้งที่ 6 จะมี titer 1:64, 1:256, 1:512, 1:1024, 1:2048 และ 1:2048 ตามลำดับ (รูปที่ 8)



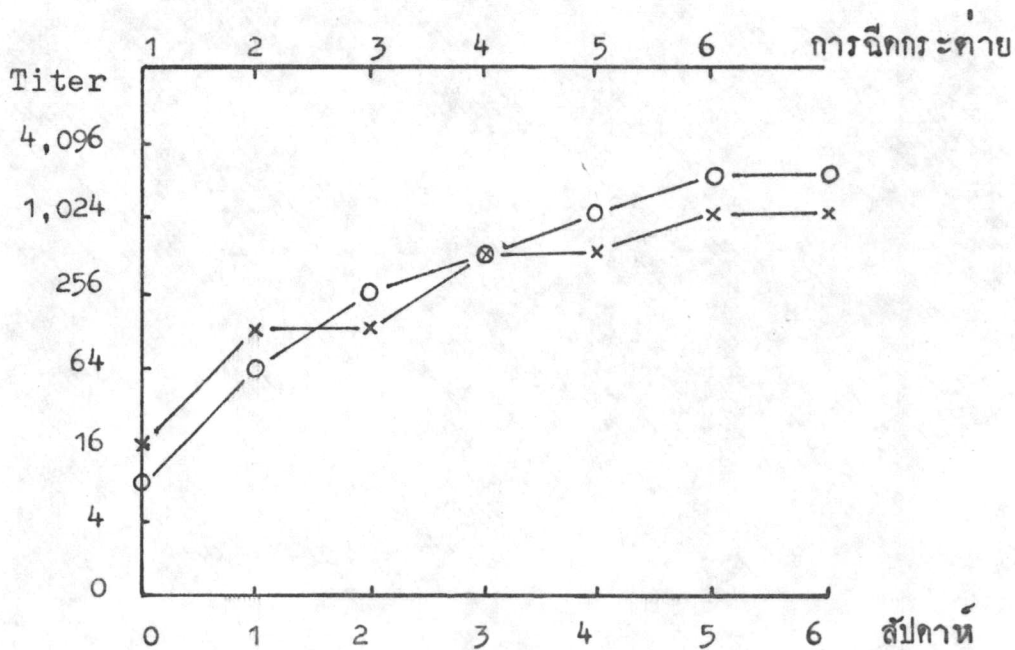
รูปที่ 3. Agglutinating titer ของกระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent และ trivalent whole cell vaccine ของ *P.aeruginosa* immunotype 1
 o—o กระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent vaccine
 x—x กระต่ายที่ฉีดด้วย trivalent vaccine



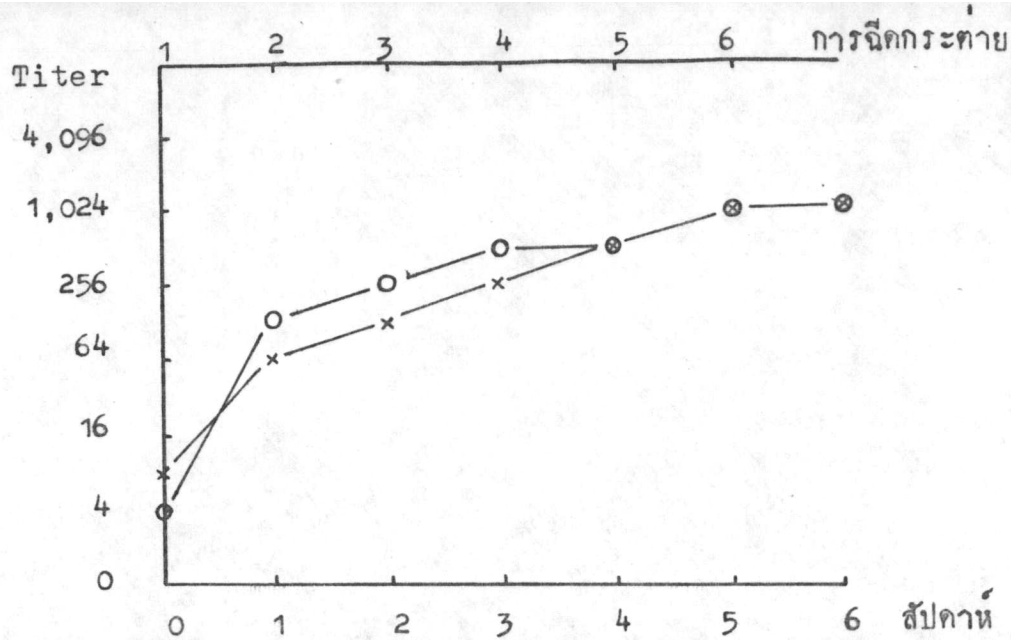
รูปที่ 4. Agglutinating titer ของกระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent และ trivalent whole cell vaccine ของ *P.aeruginosa* immunotype 2
 o—o กระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent vaccine
 x—x กระต่ายที่ฉีดด้วย trivalent vaccine



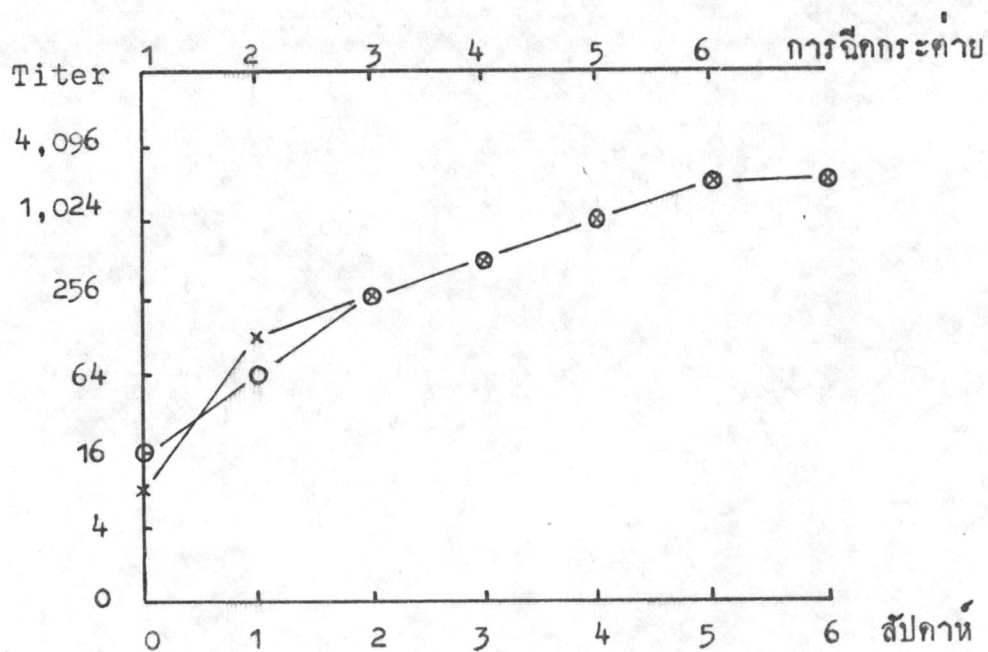
รูปที่ 5. Agglutinating titer ของกระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent และ trivalent whole cell vaccine ของ *P. aeruginosa* immunotype 4
 o—o กระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent vaccine
 x—x กระต่ายที่ฉีดด้วย trivalent vaccine



รูปที่ 6. PHA titer ของกระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent และ trivalent LPS vaccine ของ *P. aeruginosa* immunotype 1
 o—o กระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent vaccine
 x—x กระต่ายที่ฉีดด้วย trivalent vaccine



รูปที่ 7. PHA titer ของกระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent และ trivalent LPS vaccine ของ *P.aeruginosa* immunotype 2
 O—O กระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent vaccine
 x—x กระต่ายที่ฉีดด้วย trivalent vaccine



รูปที่ 8. PHA titer ของกระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent และ trivalent LPS vaccine ของ *P.aeruginosa* immunotype 4
 O—O กระต่ายที่ฉีดด้วย monovalent vaccine
 x—x กระต่ายที่ฉีดด้วย trivalent vaccine

ตารางที่ 4 Titer ของ pooled serum หลังฉีด whole cell vaccine ครั้งที่ 6 นาน 1 สัปดาห์ ตรวจโดยวิธี agglutination และ PHA โดยใช้ทั้ง homologous และ heterologous antigens

Serum จากการฉีด whole cell vaccine (Immunotype)	Antigen * ที่ใช้ตรวจ (Immunotype)	Agglutinating titer	PHA titer
1	1	4,096	512
	2	512	128
	4	128	128
2	1	256	128
	2	4,096	1,024
	4	512	128
4	1	128	128
	2	512	512
	4	8,192	1,024
1 + 2 + 4	1	4,096	512
	2	4,096	1,024
	4	8,192	1,024

* antigen ที่ใช้ตรวจในวิธี agglutination คือ agglutininogen และในวิธี PHA คือ 2.5 % sensitized SRBC

ตารางที่ 5 Titer ของ pooled serum หลังฉีด LPS vaccine ครั้งที่ 6 นาน 1 สัปดาห์ ตรวจโดยวิธี agglutination และ PHA โดยใช้ทั้ง homologous และ heterologous antigens

Serum จากการฉีด LPS vaccine (Immunotype)	Antigen * ที่ใช้ตรวจ (Immunotype)	Agglutinating titer	PHA titer
1	1	128	2,048
	2	64	512
	4	64	512
2	1	8	128
	2	8	1,024
	4	8	256
4	1	4	256
	2	4	256
	4	16	2,048
1 + 2 + 4	1	64	1,024
	2	8	1,024
	4	32	2,048

* antigen ที่ใช้ตรวจในวิธี agglutination คือ agglutininogen และในวิธี PHA คือ 2.5 % sensitized SRBC

2.2 Titer ของ serum จากการฉีด trivalent LPS vaccine

จากการตรวจ titer ด้วยวิธี PHA โดยใช้ antigen immunotype 1, 2 และ 4 ปรากฏว่า ก่อนฉีดกระต่ายมี titer ต่อ immunotype 1, 2 และ 4 ทั้งนี้คือ 1:16, 1:8 และ 1:8 ตามลำดับ หลังฉีดครั้งที่ 1 ถึงครั้งที่ 6 กระต่ายจะมี titer ต่อ immunotype 1 ทั้งนี้คือ 1:128, 1:128, 1:512, 1:512, 1:1024 และ 1:1024 ตามลำดับ (รูปที่ 6) titer ต่อ immunotype 2 ทั้งนี้คือ 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024 และ 1:1024 ตามลำดับ (รูปที่ 7) titer ต่อ immunotype 4 ทั้งนี้คือ 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024, 1:2048 และ 1:2048 ตามลำดับ (รูปที่ 8)

สำหรับ antiserum หลังฉีดครั้งที่ 6 นาน 1 สัปดาห์ นำมาตรวจด้วยวิธี agglutination และ PHA โดยใช้ทั้ง homologous และ heterologous antigen ได้แสดงผลไว้อย่างละเอียดในตารางที่ 5

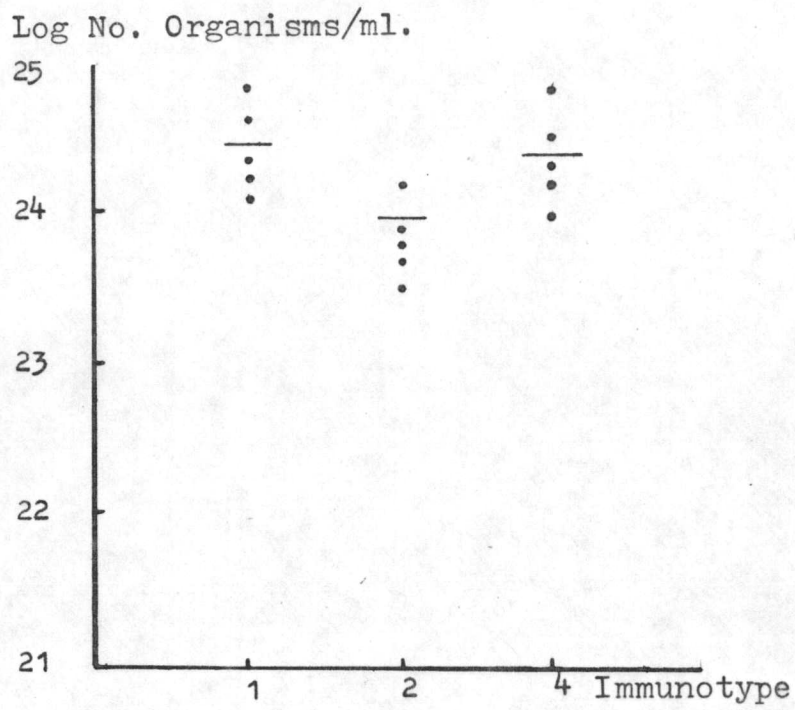
3. ผลการหา LD₅₀

จากการหาค่า LD₅₀ ของเชื้อ *P. aeruginosa* ทั้ง 3 immunotypes ที่นำมาศึกษา โดยทำซ้ำๆ ละ 5 ครั้ง ได้แสดงไว้ในรูปที่ 9 โดยปรากฏว่า immunotype 1 มีค่า LD₅₀ เท่ากับ 1.4×10^{24} , 3.2×10^{24} , 6×10^{24} , 1.5×10^{24} และ 8×10^{24} และค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.0×10^{24} immunotype 2 มีค่า LD₅₀ เท่ากับ 9.2×10^{23} , 6.6×10^{23} , 8×10^{23} , 2×10^{24} และ 4.7×10^{23} และค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.7×10^{23} immunotype 4 มีค่า LD₅₀ เท่ากับ 2×10^{24} , 4.5×10^{24} , 9.8×10^{23} , 3.5×10^{24} และ 8.2×10^{24} และค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.8×10^{24}

4. ผลการทดลอง passive immunity

4.1 Immunoglobulin จากกระต่ายที่ฉีดด้วย whole cell vaccine

ผลการทดลอง passive immunity ของ immunoglobulin ของทั้ง 3 immunotypes ได้แสดงไว้ในตารางที่ 6 โดยปรากฏว่า



รูปที่ 9. LD₅₀ ของเชื้อ P.aeruginosa

ผลจากการทดสอบ 5 ครั้ง

. แสดงค่า LD₅₀

— แสดงค่าเฉลี่ยของค่า LD₅₀ ทั้ง 5 ค่า

Immunoglobulin ซึ่งเตรียมจาก immunotype 1

ให้ผลดังนี้คือ ความเข้มข้น 13 mg สามารถป้องกันหนูถีบจักรต่อเชื้อ immunotype 1, 2 และ 4 ดังนี้คือ 100 %, 40 % และ 40 % ตามลำดับ ความเข้มข้น 8 mg สามารถป้องกันได้ 100 %, 20 % และ 20 % ตามลำดับ ความเข้มข้น 5 mg สามารถป้องกันได้ 80 %, 0 % และ 0 % ตามลำดับ และความเข้มข้น 2 mg สามารถป้องกันได้ 20 %, 0 % และ 0 % ตามลำดับ

Immunoglobulin ซึ่งเตรียมจาก immunotype 2

ให้ผลดังนี้คือ ความเข้มข้น 13 mg สามารถป้องกันหนูถีบจักรต่อเชื้อ immunotype 1, 2 และ 4 ดังนี้คือ 20 %, 100 % และ 40 % ตามลำดับ ความเข้มข้น 8 mg สามารถป้องกันได้ 0 %, 80 % และ 0 % ตามลำดับ ความเข้มข้น 5 mg สามารถป้องกันได้ 0 %, 40 % และ 0 % ตามลำดับ และความเข้มข้น 2 mg สามารถป้องกันได้ 0 %, 20 % และ 0 % ตามลำดับ

Immunoglobulin ซึ่งเตรียมจาก immunotype 4

ให้ผลดังนี้คือ ความเข้มข้น 13 mg สามารถป้องกันหนูถีบจักรต่อเชื้อ immunotype 1, 2 และ 4 ดังนี้คือ 40 %, 40 % และ 100 % ตามลำดับ ความเข้มข้น 8 mg สามารถป้องกันได้ 20 %, 0 % และ 100 % ตามลำดับ ความเข้มข้น 5 mg สามารถป้องกันได้ 0 %, 0 % และ 100 % ตามลำดับ และความเข้มข้น 2 mg สามารถป้องกันได้ 0 %, 0 % และ 20 % ตามลำดับ

Immunoglobulin ซึ่งเตรียมจาก trivalent -

ให้ผลดังนี้คือ ความเข้มข้น 13 mg สามารถป้องกันหนูถีบจักรต่อเชื้อ immunotype 1, 2 และ 4 ดังนี้คือ 100 %, 100 % และ 100 % ตามลำดับ ความเข้มข้น 8 mg สามารถป้องกันได้ 100 %, 80 % และ 100 % ตามลำดับ

ตารางที่ 6 Passive immunity ของ immunoglobulin ที่เตรียมจาก
 monovalent และ trivalent whole cell vaccine โดย
 แสดงเป็น percent protective

Ig เตรียมจาก whole cell vaccine (Immunotype)	เชื้อที่ใช้ challenge * (Immunotype)	% Protective with each concentration of Ig (mg)			
		13	8	5	2
1	1	100	100	80	20
	2	40	20	0	0
	4	40	20	0	0
2	1	20	0	0	0
	2	100	80	40	20
	4	40	0	0	0
4	1	40	20	0	0
	2	40	0	0	0
	4	100	100	100	20
1 + 2 + 4	1	100	100	60	20
	2	100	80	60	20
	4	100	100	60	40

* immunotype 1 ใช้ 7 LD₅₀, immunotype 2 ใช้ 5 LD₅₀
 และ immunotype 4 ใช้ 6 LD₅₀

ความเข้มข้น 5 mg สามารถป้องกันได้ 60 %, 60 % และ 60 % ตามลำดับ
และความเข้มข้น 2 mg สามารถป้องกันได้ 20 %, 20 % และ 40 % ตามลำดับ

กลุ่ม control ซึ่งใช้ NS แทนแล้ว challenge
ด้วยเชื้อ immunotype 1, 2 และ 4 เช่นเดียวกัน ปรากฏว่า percent
protective ของ NS เป็น 0 %, 0 % และ 0 % ตามลำดับ

4.2 Immunoglobulin จากกระต่ายที่ฉีดด้วย LPS

vaccine

ผลการทดลอง passive immunity ของ immunoglobulin
ของทั้ง 3 immunotypes ได้แสดงไว้ในตารางที่ 7 โดยปรากฏ
ว่า

Immunoglobulin ซึ่งเตรียมจาก immunotype 1
ให้ผลดังนี้คือ ความเข้มข้น 25 mg สามารถป้องกันหนูถีบจักรต่อเชื้อ immuno-
type 1, 2 และ 4 ดังนี้คือ 100 %, 20 % และ 20 % ตามลำดับ ความเข้ม
ซ้น 20 mg สามารถป้องกันได้ 60 %, 0 % และ 0 % ตามลำดับ และความ
เข้มข้น 15 mg สามารถป้องกันได้ 20 %, 0 % และ 0 % ตามลำดับ

Immunoglobulin ซึ่งเตรียมจาก immunotype 2
ให้ผลดังนี้คือ ความเข้มข้น 25 mg สามารถป้องกันหนูถีบจักรต่อเชื้อ immuno-
type 1, 2 และ 4 ดังนี้คือ 20 %, 80 % และ 0 % ตามลำดับ ความเข้มข้น
20 mg สามารถป้องกันได้ 0 %, 40 % และ 0 % ตามลำดับ และความเข้มข้น
15 mg สามารถป้องกันได้ 0 %, 0 % และ 0 % ตามลำดับ

Immunoglobulin ซึ่งเตรียมจาก immunotype 4
ให้ผลดังนี้คือ ความเข้มข้น 25 mg สามารถป้องกันหนูถีบจักรต่อเชื้อ immuno-

ตารางที่ 7 Passive immunity ของ immunoglobulin ที่เตรียมจาก
 monovalent และ trivalent LPS vaccine โดยแสดง
 เป็น percent protective

Ig เตรียมจาก LPS vaccine (Immunotype)	เชื้อที่ใช้ challenge * (Immunotype)	% Protective with each concentration of Ig (mg)		
		25	20	15
1	1	100	60	20
	2	20	0	0
	4	20	0	0
2	1	20	0	0
	2	80	40	0
	4	20	0	0
4	1	40	0	0
	2	20	0	0
	4	100	60	20
1 + 2 + 4	1	80	40	0
	2	80	40	0
	4	100	60	0

* immunotype 1 ใช้ 5 LD₅₀, immunotype 2 ใช้ 6 LD₅₀
 และ immunotype 4 ใช้ 5 LD₅₀

type 1, 2 และ 4 ทั้งนี้คือ 40 %, 20 % และ 100 % ตามลำดับ ความเข้มข้น 20 mg สามารถป้องกันได้ 0 %, 0 % และ 60 % ตามลำดับ และความเข้มข้น 15 mg สามารถป้องกันได้ 0 %, 0 % และ 20 % ตามลำดับ

Immunoglobulin ซึ่งเตรียมจาก trivalent ไตดอ ทั้งนี้คือ ความเข้มข้น 25 mg สามารถป้องกันหนูฉิมจิกรต่อเชื้อ immunotype 1, 2 และ 4 ทั้งนี้คือ 80 %, 80 % และ 100 % ตามลำดับ ความเข้มข้น 20 mg สามารถป้องกันได้ 40 %, 40 % และ 60 % ตามลำดับ และความเข้มข้น 15 mg สามารถป้องกันได้ 0 %, 0 % และ 0 % ตามลำดับ

กลุ่ม control ซึ่งใช้ NS แทน แล้ว challenge ด้วยเชื้อ immunotype 1, 2 และ 4 เช่นเดียวกัน ปรากฏว่า percent protective ของ NS เป็น 0 %, 0 % และ 0 % ตามลำดับ