บทที่ 5

สรุปผลงานวิจัย

ผลการใช้ vaccine ในการฉีดกระต่าย ปรากฏว่า การใช้ monovalent ของทั้ง whole cell และ LPS vaccine สามารถกระตุ้นให้กระต่ายสร้าง antibody ต่อ homologous antigen ได้ดีกว่า heterologous antigen และผลจากการฉีดกระต่ายด้วย trivalent ของทั้ง whole cell vaccine และ LPS vaccine พบว่ากระต่ายสามารถสร้าง antibody ต่อ antigen ทั้ง 3 types ได้ในระดับใกล้เคียงกับที่ฉีดด้วย monovalent

LD_{50} ของเชื้อ P. aeruginosa immunotype 1,2 และ 4 มีค่าประมาณ 10^{24} cells ซึ่งเป็นจำนวนเชื้อที่สูงกว่าจากการศึกษาของต่างประเทศ

ผลการศึกษา passive immunity พบว่า เมื่อใช้ immunoglobulin ที่เตรียมจากการฉีดกระต่ายด้วย monovalent ของทั้ง whole cell vaccine และ LPS vaccine สามารถป้องกันสัตว์ทดลองจากเชื้อ type เดียวกันได้ดีกว่าเชื้อต่าง type แต่ปริมาณของ immunoglobulin ที่ใช้ป้องกันสัตว์ทดลองได้เปอร์เซนต์เท่ากันปรากฏว่า immunoglobulin จาก monovalent whole cell vaccine จะใช้ปริมาณน้อยกว่า immunoglobulin จาก monovalent LPS vaccine ส่วน immunoglobulin ที่เตรียมจาก trivalent ของทั้ง whole cell vaccine และ LPS vaccine สามารถป้องกันสัตว์ทดลองจากเชื้อทั้ง 3 immunotypes ได้ในเปอร์เซนต์ใกล้เคียงกับที่ monovalent immunoglobulin

ดังกล่าวข้างต้นในการป้องกันเชื้อที่เป็น type เดียวกัน แต่ปริมาณของ immunoglobulin ที่ใช้ป้องกันสัตว์ทดลองให้ได้ในเปอร์เซนต์เท่ากัน ต้องใช้ immunoglobulin จาก trivalent LPS vaccine มากกว่าจาก whole cell vaccine ถึง 3 เท่า

บทแทรกที่ 1

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Blood agar (BA.)

เติม citrated sheep blood ลงไปใน Nutrient agar ให้เป็น 5 % แล้วเทใส่ในจานเลี้ยงเชื้อประมาณ 15 มล. (NA. ต้องละลายและร้อน 45° C ก่อนเติมเลือด)

ส่วนประกอบของ Nutrient agar (NA.) มีดังนี้คือ

Beef extract	5 กรัม
Peptone	10 กรัม
Sodium chloride	5 กรัม
Agar	20 กรัม
Distilled water	1000 มล.

ปรับ pH ให้ได้ 7.2-7.4 แล้วแบ่งใส่ขวด ๆ ละ 200 มล. นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121° C นาน 20 นาที

2. MacConkey agar + 3 % (V/V) glycerol (83)

MacConkey agar (Difco)	50 กรัม
Distilled water	1000 มล.

ละลาย MacConkey agar ในน้ำกลั่นจนหมด แล้วเติม 30 มล. ของ glycerol คนให้เข้ากัน ต้มจนเดือด แบ่งใส่ขวด ๆ ละ 200 มล. นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121° C นาน 15 นาที

3. Plate count agar (PCA) (85)

Peptone	5 กรัม
Yeast extract	3 กรัม
Glucose	1 กรัม
Agar	15 กรัม
Distilled water	1000 มล.

ละลายให้เข้ากัน ต้มจนเดือด ปรับ pH 6.8-7.0 แบ่งใส่ขวด ๆ ละ 200 มล. นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121° C 15 นาที

บทแทรกที่ 2

การเตรียมน้ำยาที่ใช้ในการทดลอง

1. Alsever's solution (86)

Dextrose	20.5	กรัม
Sodium citrate (dihydrate)	8	กรัม
Citric acid (monohydrate)	0.55	กรัม
Sodium chloride	4.2	กรัม
Distilled water to	1000	มล.

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น แล้วนึ่ง 121° c 15 นาที จะมี pH 6.1 ใช้ whole blood 1 ส่วนต่อน้ำยา 1 ส่วน

2. Phosphate buffer saline 0.1 m pH 7.4 (PBS)

Na_2HPO_4 (anhydrous)	12.8	กรัม
$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$	2.96	กรัม
NaCl	9	กรัม
Distilled water to	1000	มล.

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 7.4 โดยใช้ 10 % NaOH

3. Normal saline solution (NS)

NaCl	8.5	กรัม
Distilled water to	1000	มล.

4. Saturated $(NH_4)_2SO_4$ pH 7.8 (86)

ละลาย $(NH_4)_2SO_4$ ในน้ำเดือด ในปริมาณมากกว่า 1 กรัมต่อน้ำกลั่น 1.3 มล. แล้วตั้งทิ้งไว้จนเย็นที่อุณหภูมิห้อง จะตกผลึกกรองเอา Saturated $(NH_4)_2SO_4$ เวลาจะใช้วัดปริมาตรตามต้องการแล้วปรับ pH เป็น 7.8 ด้วย 2N NaOH ควรปรับ pH ก่อนที่จะใช้ทันที เพราะถ้าตั้งทิ้งไว้ NH_3 จะระเหยขึ้นมา

5. 10 % $BaCl_2$

Barium chloride	10 กรัม
Distilled water to	100 มล.