บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญของปัญหา

อหิวาต์สุกร (Classical Swine Fever) เป็นโรคระบาดที่ร้ายแรงของสุกรซึ่งนำความสูญเสียทางเศรษฐกิจมาสู่เกษตรกรเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นโรคที่ระบาดได้รวดเร็วและเกิดกับสุกรทุกอายุ มีอัตราการป่วยค่อนข้างสูง ส่วนอัตราการตายขึ้นอยู่กับความรุนแรงของเชื้อโรคและภาวะภูมิคุ้มกันโรคของสุกร ดังนั้นเกษตรกรจึงควรป้องกันมิให้เกิดโรคนี้ขึ้นในฟาร์ม

ประเทศไทยพบการระบาดครั้งแรกในปี พ.ศ. 2493 (สมใจ และคณะ 2524) และตระหนักว่ามีการระบาดอย่างรุนแรงขึ้นนับตั้งแต่ปลายปี พ.ศ. 2527 โดยพบว่าปัญหาโรคระบาดของอหิวาต์สุกรได้ก่อให้เกิดความสูญเสียอย่างใหญ่หลวงในฟาร์มสุกรโดยทั่วไปทั้งฟาร์มเลี้ยงสุกรพันธุ์ และฟาร์มสุกรขุน (สุพล 2543) สมใจและนิยมศักดิ์ (2535) รายงานว่า จากการติดตามการระบาดของโรคอหิวาต์สุกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในช่วง เมษายน 2525 – กรกฎาคม 2534 รวมเป็นเวลา 9 ปี 4 เดือน พบการระบาด 55 ครั้ง มีสุกรป่วยตายและถูกทำลายทั้งสิ้นประมาณ 1,989 ตัว คิดเป็นความสูญเสียกว่า 5,000,000 บาท สำหรับสถานการณ์ของโรคอหิวาต์สุกรในประเทศไทยในปัจจุบันนั้นยังพบว่ามีการระบาดของโรคเป็นประจำทุกปี ถึงแม้ว่าจะมีการทำวัคซีนกันเป็นประจำแล้วก็ตาม

โรคอหิวาต์สุกร เป็นโรคระบาดที่สร้างความสูญเสียแก่วงการปศุสัตว์ของประเทศอย่างมาก ในปัจจุบันประเทศไทยต้องประสบปัญหาการเลี้ยงสุกรหลายด้าน เช่น ผลิตวัคซีนไม่เพียงพอต้องนำเข้าวัคซีนจากต่างประเทศประมาณ 23 ล้านโด๊ส/ปี คิดเป็นมูลค่า 115 ล้านบาท/ปี นอกจากนี้เกษตรกรยังต้องสูญเสียเงินโดยไม่จำเป็นไปกับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์สุกรมากเกินไป สาเหตุส่วนหนึ่งเกิดจากไม่มีโปรแกรมการฉีดวัคซีนมาตรฐาน รวมทั้งกรรมวิธีการตรวจหาโรคก็ล่าช้าเมื่อเกิดโรคอหิวาต์สุกรระบาดกว่าจะรู้ก็เกิดการระบาดของโรคแล้ว ปัญหาเหล่านี้สร้างความสูญเสียให้แก่เกษตรกรผู้เลี้ยงสุกรอย่างต่อเนื่อง ในแง่ของการผลิตวัคซีนอหิวาต์สุกรในประเทศไทยนั้นมีหน่วยงานที่ทำการผลิตเพียงหน่วยเดียวคือกรมปศุสัตว์ โดยพบว่าในปี 2547 มีการผลิต 7-15 ล้านโด๊สทั้งนี้ขึ้นกับปริมาณของสุกรที่ผลิตในแต่ละปี ซึ่งจำนวนนี้ยังไม่นับรวมวัคซีนที่มีการสั่งนำเข้ามาจากต่างประเทศ (กรมปศุสัตว์ยังไม่สามารถผลิตวัคซีนได้เพียงพอต่อการใช้) ซึ่งหากนับเป็นจำนวนเงินรายได้แล้วประมาณ 21-45 ล้านบาทต่อปี สำหรับชนิดของวัคซีนที่กรมปศุสัตว์ผลิตนั้นเป็นวัคซีนเชื้อเป็นที่ได้จากเชื้อไวรัสสายพันธุ์ Lapinized C-Strain ซึ่งต้องเพิ่มจำนวนในกระต่าย แล้วสกัดไวรัสจากม้ามกระต่ายมาใช้ทำเป็นวัคซีน ซึ่งมีปัญหาในเรื่องของการที่ต้องฆ่ากระต่ายเป็นจำนวนมากในแต่ละปี นอกจากนี้การควบคุมคุณภาพทำได้ยาก เนื่องจากไม่สามารถที่จะทราบปริมาณของเชื้อที่แน่ชัดได้เหมือนกับการเพาะในเซลล์

เพาะเลี้ยง และเมื่อนำมาใช้แล้วมักจะเกิดปัญหาในเรื่องของการแพ้วัคซีนทำให้สุกรที่ได้รับวัคซีน ช็อค และตาย

ดังนั้นแนวทางการผลิต marker vaccine สำหรับโรคอหิวาต์สุกรเพื่อใช้ในการทำ ring vaccination พร้อมกับการใช้ชุดวินิจฉัยที่สามารถแยกแยะสุกรที่ติดเชื้อออกจากสุกรที่ได้รับการทำวัคซีนในกรณีที่เกิดการระบาดของโรคนั้น น่าจะเป็นวิธีการที่ได้ผลดีในการควบคุมการระบาดของโรค และที่สำคัญทำให้ไม่ต้องทำลายสุกรทุกตัวที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียง ทำให้ลดความสูญเสียทางเศรษฐกิจได้และยังมีผลดีในแง่ของ Animal Welfare อีกด้วย ขณะนี้กลุ่มวิจัยทั่วโลกกำลังวิจัยเกี่ยวกับ marker vaccine ซึ่งสามารถใช้แยกสุกรซึ่งติดเชื้ออหิวาต์สุกรออกจากสุกรซึ่งได้รับวัคซีนได้ ปัจจุบันมีการวิจัยทั้ง subunit vaccine, การใช้ไวรัสชนิดอื่นเป็น vector เพื่อให้เซลสร้างโปรตีน E2 หรือ E0, การสร้าง chimeric ไวรัส หรือ การตัดยีน E2 หรือ E0 ออกจากไวรัสอหิวาต์สุกร ซึ่งปัจจุบันจะเห็นได้ว่ามีเพียงวัคซีน subunit เท่านั้นที่ได้รับอนุญาตให้ออกสู่ตลาด ขณะที่วัคซีนชนิดอื่นๆ ยังต้องผ่านกระบวนการพิสูจน์ว่ามีความปลอดภัยและจะไม่สร้างปัญหาต่อไปเนื่องจากใช้ไวรัสที่มีชีวิต และผ่านกระบวนการตัดต่อยีนมา ในส่วนของ subunit vaccine นั้นยังต้องพัฒนาคุณภาพของวัคซีน เนื่องจากประสิทธิภาพของวัคซีนยังให้ผลไม่เป็นที่น่าพอใจ หากเทียบกับวัคซีนเชื้อเป็นที่ใช้กันอยู่ (Widjojoatmodjo et al. 2000; De Wulf et al. 2002; Meyer et al. 2004)

คณะผู้วิจัยจึงสนใจในการพัฒนา subunit vaccine E2 สำหรับโรคอหิวาต์สุกร โดยศึกษาการใช้ระบบนำส่งที่มีประสิทธิภาพที่สามารถการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และคุ้มกันโรคอหิวาต์สุกรได้ดี คาดว่าผลการวิจัยที่ได้จะมีส่วนสำคัญต่อการตัดสินใจของกรมปศุสัตว์ ในเรื่องนโยบายเลือกใช้วัคซีนโรคอหิวาต์สุกรของประเทศ และลดการนำเข้าวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์สุกรหลายร้อยล้านบาท ทำให้ประเทศไทยสามารถพึ่งพาตนเองได้ และช่วยพัฒนาการเลี้ยงสุกรของประเทศให้ดียิ่งขึ้น

ปัญหาและอุปสรรคในการวิจัย

เนื่องจากโครงการวิจัยที่ 1 เรื่อง การทดสอบ subunit vaccine E2 ของโรคอหิวาต์สุกรที่ใช้ระบบนำส่งทางจมูกในสุกร ในแผนงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาระบบนำส่งทางจมูกของ subunit vaccine E2 เพื่อป้องกันโรคอหิวาต์ในสุกร ประสบปัญหาไม่สามารถผลิต subunit E2 ของโรคอหิวาต์สุกรได้ในปริมาณที่มากเพียงพอสำหรับผลิตเป็นวัคซีนที่ใช้ระบบนำส่งทางจมูก

ดังนั้น ในโครงการวิจัยนี้ ซึ่งควรจะศึกษาฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันของ Subunit vaccine E2 ของโรคอหิวาต์สุกรที่ใช้ระบบนำส่งผ่านทางจมูก จึงต้องปรับเปลี่ยนเป็น “การศึกษาฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันของระบบนำส่งที่มีประสิทธิภาพโดยใช้โอวัลบูมินเป็นแอนติเจนต้นแบบ” เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของระบบนำส่งทางจมูก สำหรับเตรียมสำหรับการบรรจุ subunit E2 ของโรคอหิวาต์สุกรต่อไปในอนาคต

หลักการและเหตุผล

การติดเชื้อในร่างกายประมาณ 80% ของการติดเชื้อทั้งหมด อาศัยเยื่อบุผิวเป็นช่องทางรับเชื้อ (Ozsoy et al., 2009) ซึ่งปากและจมูก (oronasal) เป็นเยื่อบุผิวที่รับเชื้อเข้าสู่ร่างกายได้ง่าย ร่างกายจึงมี secretory immunoglobulin A (sIg A) เป็นกลไกสำคัญในการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่บริเวณเยื่อบุผิว (mucosal immune response) เพื่อยับยั้งและทำลายเชื้อบริเวณเยื่อบุผิวก่อนที่เชื้อจะเข้าสู่ร่างกาย การให้วัคซีนด้วยการฉีด (injected vaccination) เป็นวิธีการหลักในการให้วัคซีน ซึ่งไม่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันบริเวณเยื่อบุผิวในระดับที่ป้องกันการติดเชื้อ กระตุ้นเพียงแต่ภูมิคุ้มกันในกระแสเลือด (systemic immune response) จึงมีประสิทธิภาพการป้องกันการติดเชื้อทางเยื่อบุผิวต่ำ แต่การนำส่งวัคซีนทางเยื่อบุผิว เช่น การให้วัคซีนชนิดกินและการให้วัคซีนทางจมูก สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งบริเวณเยื่อบุผิว และภูมิคุ้มกันในกระแสเลือดได้ โดยพบว่าการให้วัคซีนทางจมูกมีประสิทธิภาพสูงกว่าการให้วัคซีนชนิดกิน เนื่องจากมีการทำลายแอนติเจนจากภาวะกรดและเอนไซม์น้อยกว่า นอกจากนี้การให้วัคซีนทางจมูกยังมีข้อดีหลายประการ เช่น วิธีการบริหารยาทำได้ง่าย ผู้ป่วยสามารถใช้ได้เอง เป็นต้น ดังเช่นที่พบใน Flu Mist® ซึ่งเป็นวัคซีนป้องกันไข้หวัดใหญ่ที่ให้ทางจมูก โดยเป้าหมายการนำส่งวัคซีนทางจมูก คือ microfold-cell (M-cell) บริเวณ nasal-associated lymphoid tissue (NALT) เนื่องจาก M-cell ทำหน้าที่นำส่งแอนติเจนสู่เซลล์ภูมิคุ้มกันใต้เยื่อบุผิว นำไปสู่การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน อุปสรรคของการนำส่งวัคซีนทางจมูก คือ การกำจัดวัคซีนออกจากเยื่อบุอย่างรวดเร็วจากกลไก mucocilliar clearance ซึ่งกำจัดสิ่งแปลกปลอมออกจากเยื่อบุจมูกในเวลาประมาณ 15-20 นาที การดูดซึมผ่านเยื่อบุผิวจึงไม่ดีเท่าที่ควร และวัคซีนเป็นโปรตีนแอนติเจนขนาดใหญ่และมีขั้ว ทำให้การนำส่งผ่านเยื่อบุผิวเกิดได้ยาก อีกทั้งการนำส่งผ่าน M cell จะเกิดขึ้นได้ดีก็ต่อเมื่อสารมีขนาดเล็กกว่า 1 ไมโครเมตร (Csaba et al., 2009)

รูปแบบการนำส่งวัคซีนทางจมูกมีหลายรูปแบบ ทั้งรูปแบบสารละลาย และระบบอนุภาคนำส่ง (particulate vaccine delivery system) โดยระบบอนุภาคนำส่งมีข้อดีเหนือกว่าการนำส่งในรูปสารละลาย คือ สามารถป้องกันการทำลายแอนติเจนจากเอนไซม์ในช่องจมูก และถูกนำส่งด้วย antigen presenting cells (APCs) ได้ดีกว่า สามารถควบคุมการปลดปล่อยแอนติเจนจากอนุภาค ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันสัมผัสกับแอนติเจนนานขึ้น จึงมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันสูงขึ้น วัคซีนที่อยู่ในรูปอนุภาคขนาดนาโนเมตร จึงนำส่งแอนติเจนให้เซลล์ทางภูมิคุ้มกันได้ดีกว่าวัคซีนในรูปอิสระประมาณ 1,000-10,000 เท่า (Mohanan et al., 2010) ปัจจุบันมีการพัฒนาระบบอนุภาคนำส่งทางจมูกหลายชนิด โดยไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิลเป็นระบบอนุภาคนำส่งที่มีประสิทธิภาพระบบหนึ่ง เนื่องจากไคโตแซนมีประจุเป็นบวก จึงสามารถยึดเกาะกับเยื่อบุผิวและสารเมือกบริเวณเยื่อบุผิว ซึ่งมีประจุเป็นลบได้ เรียกคุณสมบัติดังกล่าวว่า mucoadhesive นอกจากนี้ไคโตแซนสามารถกระตุ้นการเปิดช่องว่าง

ระหว่างเซลล์ ไม่เป็นพิษ เข้ากับร่างกาย (biocompatibility) และสลายตัวได้ภายในร่างกาย (biodegradability) จึงมีการศึกษาการนำส่งวัคซีนทางจมูกด้วยไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิลค่อนข้างมาก โดยเฉพาะซับยูนิตวัคซีน (subunit vaccine) ของโรคติดเชื้อทางเยื่อบุผิว เช่น วัคซีนป้องกันไข้หวัดใหญ่ และไวรัสตับอักเสบ บี เพื่อเสริมฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันของแอนติเจน เพราะแอนติเจนมีคุณสมบัติกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่ำและขาดคุณสมบัติ mucoadhesive (Baudner et al., 2010; Kang et al., 2009) อีกทั้งปัจจุบันมีเพียง Alum และ MF-59 ที่เป็นสารเสริมฤทธิ์ หรือ แอดจูแวนท์ (adjuvant) ที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในมนุษย์ ซึ่งสารดังกล่าวมีข้อจำกัดด้านผลข้างเคียงค่อนข้างสูง และมีฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันค่อนข้างต่ำเมื่อให้ทางเยื่อบุผิว (Peek et al., 2008) ด้วยเหตุนี้ จึงมีแนวโน้มในการพัฒนาไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิลเพื่อใช้ในการนำส่งวัคซีนทางจมูกกันอย่างแพร่หลาย

ขนาดของอนุภาคนำส่งเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการนำส่งวัคซีนทางจมูก ทั้งนี้ขนาดอนุภาคต้องสามารถนำส่งแอนติเจนผ่านเยื่อบุผิว และไปกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ NALT ได้ ปัจจุบันยังไม่ทราบขนาดของอนุภาคที่เหมาะสมในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันทางจมูก เนื่องจากมีความแตกต่างของระบบนำส่ง ชนิดของแอนติเจน และการประเมินฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยทั่วไปพบว่าขนาดของอนุภาคไคโตแซนที่น้อยกว่า 5 μm สามารถผ่านเยื่อบุผิว และกระตุ้นภูมิคุ้มกันหลังให้วัคซีน ทางจมูกแก่สัตว์ทดลองได้ทั้ง mucosal immune response และ systemic immune responses (Kanget al., 2009) แต่จากรายงานการวิจัยของ Nagamoto et al. (2004) พบว่าการนำส่งโอวัลบูมินทางจมูกด้วยอนุภาคไคโตแซนที่มีขนาดเล็กว่า 400 nm และ 1,000 nm สามารถกระตุ้น systemic immune response ทั้ง IgG และ IgA ได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไม่ได้ประเมินผลของขนาดอนุภาคนำส่งต่อการกระตุ้น mucosal immune response ผลการทดลองในหลอดทดลอง (*in vitro*) พบว่าการนำส่งแอนติเจนผ่านเยื่อบุผิวและ การนำส่งให้ APCs ของนาโนพาร์ทิเคิลเกิดขึ้นได้ดีกว่าไมโครพาร์ทิเคิล การพัฒนาระบบนำส่งวัคซีนทางจมูกในปัจจุบันจึงมุ่งพัฒนาตำรับที่มีขนาดนาโนเมตรค่อนข้างมาก เช่น การนำส่งวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบ บี ทางจมูกด้วยไคโตแซนนาโน พาร์ทิเคิลขนาด 220 ± 28 nm ประจุ ที่ผิว +17.45 ± 2.82 mV สามารถกระตุ้น systemic immune response ในกระแสเลือด และ mucosal immune response ในสารคัดหลั่งภายในจมูก ช่องคลอด และทางเดินอาหาร (Mangal et al., 2011) การนำส่งวัคซีนทางจมูกสามารถนำส่งแอนติเจนไปยังเยื่อบุผิวบริเวณอื่น โดยอาศัยกลไกของระบบน้ำเหลืองและระบบไหลเวียนโลหิตของเยื่อบุผิวที่เรียกว่า common mucosal immune system (CMIS) โดยการนำส่งแอนติเจนไปยังเยื่อบุผิวต่างๆ ด้วย APCs ซึ่งประสิทธิภาพในการทำงาน ชนิด ปริมาณและการกระจายตัวของ APCs แต่ละบริเวณมีความแตกต่างกัน อีกทั้งความสามารถในการกักเก็บ และนำส่งอนุภาคขึ้นกับปัจจัยต่างๆ หลายอย่าง เช่น ชนิด และ

ขนาดของอนุภาคนำส่งวัคซีน (Kobiasi et al., 2012; Park and Babensee, 2012) จึงมีความเป็นไปได้ที่ขนาดของไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิลที่ใช้ในการนำส่งวัคซีนทางจมูก จะกระตุ้นภูมิคุ้มกันในเยื่อบุผิวแต่ละบริเวณได้แตกต่างกัน เนื่องจากยังไม่มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของขนาดไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิลที่ใช้นำส่งวัคซีนทางจมูกต่อฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันบริเวณเยื่อบุผิว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ตำรับที่มีขนาดของไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิลที่เหมาะสมสำหรับการกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้งชนิด mucosal immune responses และ systemic immune response เมื่อนำส่งวัคซีนทางจมูก โดยงานวิจัยนี้ใช้โอวัลบูมิน (Ovalbumin; OVA) เป็นแอนติเจนต้นแบบ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาขนาดที่เหมาะสมของไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิลสำหรับการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ทั้งชนิด mucosal immune response และ systemic immune response เมื่อนำส่งวัคซีนทางจมูกของสัตว์ทดลอง

ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาหาขนาดไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิลที่เหมาะสมสำหรับการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เมื่อนำส่งวัคซีนทางจมูกในสัตว์ทดลอง โดยใช้โอวัลบูมินเป็นแอนติเจนต้นแบบ มีขอบเขตการวิจัยดังนี้

1. ตั้งตำรับให้ได้ไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิลขนาดต่างๆ ด้วยวิธี ionotropic gelation โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของไคโตแซน และสัดส่วนการเกิดอันตรกิริยาของไคโตแซนต่อ sodium tripolyphosphate (TPP)
2. ประเมินคุณสมบัติของไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิล

2.1 วัดขนาดและประจุที่ผิวอนุภาค ด้วยเทคนิค dynamic light scattering (DLS) และ laser doppler electrophoresis (LDE) ตามลำดับ

2.2 วิเคราะห์การกักเก็บ (entrapment efficiency ; EE) และการบรรจุแอนติเจน (loading capacity : LC) ของไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิล ด้วยวิธี bicinchoninic acid (BCA) protein assay

2.3 ทดสอบการปลดปล่อยแอนติเจนที่กักเก็บในไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิล ที่ pH และเวลาต่างๆ ด้วยวิธี BCA protein assay

2.4 ทดสอบความคงตัวของแอนติเจนที่กักเก็บในไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิล โดยใช้ sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

2.5 ทดสอบความคงตัวทางกายภาพของไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิล ด้วยการประเมินจากการเปลี่ยนแปลงของขนาดและประจุที่ผิวอนุภาค

3. คัดเลือกตำรับไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิล จำนวน 3 ตำรับ ที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์ดังนี้

3.1 มีขนาดอนุภาคน้อยกว่า 5 μm โดยมีขนาดอยู่ในช่วงอนุภาค 3 ขนาด คือ ขนาดใหญ่ (1,000 – 5,000 nm) ขนาดกลาง (500 – 1,000 nm) และขนาดเล็ก (< 500 nm) และมีประจุที่ผิวอนุภาคเป็นบวก

3.2 มีปริมาณการกักเก็บ และบรรจุแอนติเจนสูง

3.3 มีการปลดปล่อยแอนติเจนสูงที่ pH 4.5 ซึ่งเป็น pH ภายใน lysosome ของ antigen presenting cells (APCs)

3.4 มีความคงตัวของไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิล และแอนติเจนที่กักเก็บในตำรับ

4. ทดสอบฤทธิ์กระตุ้นภูมิคุ้มกันของไคโตแซนนาโนพาร์ทิเคิล ทั้ง 3 ตำรับ เมื่อให้ทางจมูกแก่สัตว์ทดลอง ด้วยเทคนิค enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ดังนี้

4.1 Systemic immune response โดยศึกษา humoral immune response (HIR) จากระดับ IgG และศึกษา cell-mediated immune response (CMIR) จากระดับ IFN-γ และ IL -4 ในซีรัม

4.2 Mucosal immune response โดยศึกษา humoral immune response จากระดับ sIg A ในน้ำลาย มูล สารคัดหลั่งจากช่องคลอด และสารคัดหลั่งในเยื่อบุโพรงจมูกของสัตว์ทดลอง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ตำรับไคโตแซนนาโนพาร์ที่เคิลที่มีขนาดเหมาะสมในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันสำหรับการนำส่งวัคซีนทางจมูก