

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดอีวมอร์ลและชนิดอาศัยเซลล์ต่อวัคซีนป้องกันโรค  
พิษสุนัขบ้าชนิดไวรัสเซลล์แบบเร่งรัด

นางสาว วันทนีย์ ไพโรจน์

ศูนย์วิทยทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สหสาขาวิชาจุลชีววิทยาทางการแพทย์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2531

ISBN 974-569-393-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

014478

HUMORAL AND CELL-MEDIATED IMMUNE RESPONSE  
TO A NEW ABBREVIATED REGIMEN OF  
PURIFIED VERO CELL RABIES VACCINE

Miss Vantanit Pairoj



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science  
Inter-Department of Medical Microbiology  
Graduate School  
Chulalongkorn University

1988

ISBN 974-569-393-6


Thesis Title      Humoral and Cell-mediated Immune Response  
to a New Abbreviated Purified Vero Cell  
Rabies Vaccine.

By                      Miss Vantanit Pairoj

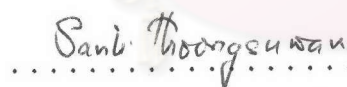
Thesis Advisor    Associate Professor Praphan Phanuphak  
M.D., Ph.D.

---

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn  
University in partial fulfillment of the Requirements for  
Master's Degree.

.....Dean of the Graduate School  
(Professor Thavorn Vajrabhaya, Ph.D.)

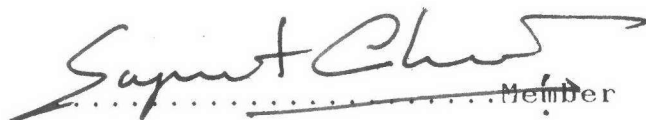
Thesis Committee

.....Chairman

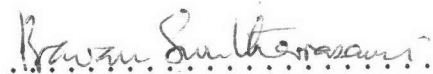
(Associate Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D.)

.....Thesis Advisor

(Associate Professor Praphan Phanuphak, M.D., Ph.D.)

.....Member

(Associate Professor Supawat Chutivongse, M.D., Ph.D.)

.....Member

(Associate Professor Pravan Suntharasamai, M.D., Ph.D.)



พิมพ์ต้นฉบับบทความวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

วันทนิช ไพโรจน์ : การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดฮิวมอรัลและชนิดอาศัย เซลล์ต่อวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าชนิดไวรัสเซลล์แบบเร่งรัด (Humoral and Cell-Mediated Immune Response to a New Abbreviated Regimen of Purified Vero Cell Rabies Vaccine) อ.ที่ปรึกษา : รศ.นพ.ประพันธ์ ภาณุภาค, 93 หน้า

วิธีการฉีดแบบเร่งรัดหรือ "2-1-1" นี้เป็นการฉีดแบบเข้ากล้ามเนื้อ (I.M.) 2 เข็มในวันที่ 0 ฉีดที่แขน 2 ข้าง ๆ ละ 1 เข็ม ตามด้วยวันที่ 7 และ 21 อีกวันละ 1 เข็ม แทนที่จะฉีดแบบเข้ากล้ามเนื้อแบบเดิม (6 เข็ม) โดยฉีดวันละเข็มในวันที่ 0, 3, 7, 14, 28 และ 90 การฉีดแบบใหม่นี้จะช่วยประหยัดวัคซีนได้ 2 เข็ม และผู้ป่วยมาพบแพทย์น้อยลงไป 3 ครั้ง

ดังนั้นจึงได้ศึกษา immunogenicity ของการฉีดแบบ "2-1-1" โดยใช้วัคซีน PVRV เปรียบเทียบกับวิธีการฉีดแบบเดิมหรือการฉีดแบบ I.M. 6 เข็ม โดยเปรียบเทียบระดับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดฮิวมอรัลและชนิดอาศัย เซลล์และศึกษาผลของ human rabies immune globulin (HRIG) และ equine rabies immune globulin (ERIG) ต่อการสร้าง neutralizing antibody เมื่อให้ร่วมกับการฉีด PVRV แบบ 2-1-1 โดยศึกษาในผู้ที่ถูกสัตว์กัด แต่มีอัตราเสี่ยงต่อการเป็นโรคต่ำทั้งหมด 78 คน แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

- (a) ฉีด PVRV 6 เข็ม (0.5 ml) I.M. (N = 24)
- (b) ฉีด 2-1-1 (N = 22)
- (c) ฉีด 2-1-1 PVRV + HRIG 20 IU/kg (N = 14)
- (d) ฉีด 2-1-1 PVRV + ERIG 40 IU/kg (N = 17)

ฉีด PVRV ที่แขน (deltoid) ส่วน HRIG และ ERIG ฉีดที่สะโพก (buttocks) เพียงครั้งเดียว ศึกษาาระดับของ Neutralizing antibody และ specific cell-mediated immune response (CMIR) ในผู้ที่ได้รับวัคซีนถึงวันที่ 180 และวันที่ 90 ตามลำดับ

พบว่าในวันที่ 14 ผู้ที่ได้รับวัคซีนทุกคนมี Neutralizing antibody แต่ผู้ได้รับวัคซีนในกลุ่ม d มีเพียง 1 คนที่มีระดับ antibody ต่ำกว่า 0.5 iu/ml. ผู้รับวัคซีน 2-1-1 มีระดับของ Neutralizing antibody ในวันที่ 14 สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับแบบ 6 เข็ม แต่ในวันที่ 180 กลับมีระดับต่ำกว่ากลุ่มที่รับวัคซีนแบบ 6 เข็ม อย่างไรก็ตามจำนวนผู้ที่ตรวจพบ antibody ในวันที่ 7 ในผู้รับวัคซีนทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้พบว่าทั้ง 2 กลุ่มนี้มีระดับ Antigen-specific CMIR ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อให้ HRIG หรือ ERIG ร่วมกับการฉีด PVRV โดยวิธี 2-1-1 พบว่ามีการก่อกำเนิด antibody ดังนั้นการฉีดแบบ 2-1-1 ด้วยวัคซีน PVRV เป็นวิธีการฉีดที่น่าจะนำมาใช้แทนวิธีการฉีดแบบเดิม สำหรับ post-exposure prophylaxis ในรายที่ไม่ต้องให้ immune globulin ร่วมด้วย นอกจากนี้ก็จะศึกษาผลของ HRIG และ ERIG ต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ให้ร่วมกับการฉีด 2-1-1 ด้วย PVRV โดยเพิ่มจำนวนผู้ที่ศึกษาให้มากขึ้น

ภาควิชา ศัลยศาสตร์สัตววิทยาทาง การแพทย์  
 สาขาวิชา ศัลยศาสตร์สัตววิทยาทางการแพทย์  
 ปีการศึกษา 25๖๐

ลายมือชื่อนิสิต วันทนิช ไพโรจน์  
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ประพันธ์ ภาณุภาค

พิมพ์ต้นฉบับบทความวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

Vantanit Pairoj : Humoral and Cell-Mediated Immune Response to a New Abbreviated Regimen of Purified Vero Cell Rabies Vaccine. Thesis Advisor : Asso.Prof. Praphan Phanuphak , M.D., Ph.D. 93 pp.

The 2-1-1 regimen, a new abbreviated regimen of reduced cost antirabies vaccination, consists of 2 I.M. injections of 1 dose each on day 0, followed by additional dose on day 7 and 21. This regimen saves 2 doses of vaccine and 3 clinic visits, as compared to The conventional six dose.

The immunogenicity of the 2-1-1 regimen of PVRV was evaluated in this study in patients after a low-risk exposure to rabies, in comparison to the full-dose I.M. PVRV (0.5 ml I.M. on day 0, 3, 7, 14, 28 and 90). In addition, the suppressive or interfering effect of human rabies immune globulin (HRIG) and equine rabies immune globulin (ERIG) when given with the 2-1-1 regimen was also studied. 78 patients were randomized into four groups to receive :

- (a) full-dose (0.5 ml) I.M. PVRV (N = 24)
- (b) 2-1-1 regimen (N = 22)
- (c) 2-1-1 PVRV + HRIG 20 IU/kg (N = 14)
- (d) 2-1-1 PVRV + ERIG 40 IU/kg (N = 17)

Both HRIG and ERIG were given I.M. only once at buttock areas without local wound infiltration at the initiation of vaccination whereas PVRV was given at deltoid areas. Neutralizing antibody and specific cell-mediated immune response were sequentially followed up to day 180 and 90 respectively.

All regimens resulted in 100% seroconversion by day 14, but 1 of the 17 patients in the 2-1-1 plus ERIG group had antibody lower than the arbitrary protective level of 0.5 iu/ml. The 2-1-1 regimen had significantly higher antibody response than the full-dose I.M. on day 14, but was significantly lower than the full-dose I.M. on day 180. No significant difference in seroconversion in both groups was observed on day 7. There was also no significant difference in the onset or the peak response of the antigen-specific CMIR in the 2-1-1 and the full-dose regimens. However, when HRIG or ERIG was simultaneously given with the 2-1-1 PVRV, significant suppression of the antibody response was observed. We therefore recommend that, for economical and immunogenicity reasons, the 2-1-1 regimen of PVRV should replace the full-dose intramuscular regimen in post-exposure prophylaxis where rabies immune globulin is not indicated. The suppressive effect of HRIG and ERIG on the 2-1-1 regimen of PVRV should be further studied in larger population.

ภาควิชา สัตวศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
สาขาวิชา สัตวศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา ๒๕๓๐

ลายมือชื่อนิสิต วณกรณ์ ไทโรจน์  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา พรพจน์ วัฒนกุล

## CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	II
ENGLISH ABSTRACT.....	III
ACKNOWLEDGEMENTS.....	IV
CONTENTS.....	V
LIST OF TABLES.....	VI
LIST OF FIGURES.....	VII
CHAPTER I INTRODUCTION.....	1
CHAPTER II MATERIALS AND METHODS.....	33
CHAPTER III RESULTS.....	45
CHAPTER IV DISCUSSION.....	60
REFERENCES.....	65
APPENDIX I.....	83
APPENDIX II.....	87
VITA.....	93

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## LIST OF TABLES

Table		Page
1	Immunization Regimens.....	35
2	Neutralizing rabies antibodies in different PVRV regimens.....	47
3	Comparison of lymphocyte proliferative responses to the full course intramuscular PVRV regimen and the 2-1-1 PVRV regimen.....	50
4	Side-effects from various PVRV vaccination regimens.....	53
5	The adsorption time of rabies antigen to solid phase in ELISA.....	55
6	Estimation of antirabies antibody titer by ELISA.....	59

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	Electron micrography of rabies virus.....	3
2	Structural model of rabies virus.....	8
3	The immunofluorescent staining of rabies non-infected BHK-21 cells.....	41
4	The immunofluorescent staining of rabies infected BHK-21 cells.....	42
5	Neutralizing rabies antibodies in different PVRV regimens.....	46
6	Kinetics of specific lymphocyte transformation in patients of intramuscular PVRV and 2-1-1 PVRV. ( CPM±SEM).....	51
7	Kinetics of specific lymphocyte transformation in patients of intramuscular PVRV and 2-1-1 PVRV. (SI±SEM).....	52
8	The checkerboard titration of PVRV, conjugates with positive and negative serum by ELISA.....	56
9	Standard curves of antirabies estimation by ELISA.....	58



## ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my deep gratitude to my advisor, Associate Professor Dr. Praphan Phanuphak, for his valuable advice, guidance and constructive criticisms throughout the course of my study. Without his generous counseling and encouragement, it would have been impossible for me to complete this thesis.

Special thanks are given to <sup>(1)</sup> Associate Professor Dr. Supawat Chutivongse and Dr. Henry Wilde for referring the patients from the rabies clinic.

<sup>(2)</sup> Dr. Micha Roumiantzeff and Institute Merieux Lyon, France for supplying vaccines and rabies immune globulins used in this study.

<sup>(3)</sup> Miss Sukathida Ubol, Miss Busarawan Sriwanthana and Mrs. Phakamat Khawplod for their kindly technical advice.

<sup>(4)</sup> Mrs. Maneerat Benjavongkulchai for her excellent help in the rabies clinic.

Finally I would like to thank the Science Division, Thai Red Cross Society (Queen Saovabha Memorial Institute) for the partial support of this study.