การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า
เข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด 1 ครั้งในผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวี
ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน

นางสุดา สีบุญเรือง

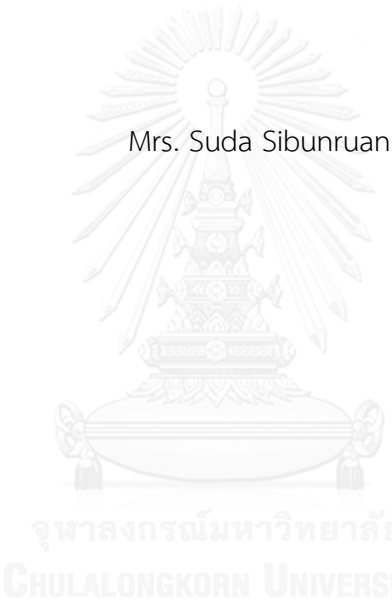
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2558
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

HUMORAL IMMUNE RESPONSE AFTER A FOUR-SITE INTRADERMAL RABIES BOOSTER VACCINATION IN PREVIOUSLY RABIES IMMUNIZED HIV-INFECTED ADULTS

Mrs. Suda Sibunruang



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Medicine
Department of Medicine
Faculty of Medicine
Chulalongkorn University
Academic Year 2015

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด 1 ครั้งในผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวีซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน
โดย	นางสุดา สีบุญเรือง
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ เจตทะนง แกล้วสงคราม
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธีระพงษ์ ตัณฑวิเชียร

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สุทธิพงศ์ วัชรสินธุ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์ธนินทร์ อัศววิเชียรจินดา)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ เจตทะนง แกล้วสงคราม)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ธีระพงษ์ ตัณฑวิเชียร)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ณัฐวุฒิ โตวนำชัย)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(เภสัชกรหญิง วชิราภรณ์ แสงสีสม)

สุดา สีบุญเรือง : การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด 1 ครั้งในผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวีซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน (HUMORAL IMMUNE RESPONSE AFTER A FOUR-SITE INTRADERMALRABIES BOOSTER VACCINATION IN PREVIOUSLYRABIES IMMUNIZED HIV-INFECTED ADULTS) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. นพ. เจตทะนง แกล้วสงคราม, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ศ. นพ. ธีระพงษ์ ตัณฑวิเชียร, 130 หน้า.

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด 1 ครั้ง ในผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวี

วิธีการวิจัย: การวิจัยเชิงทดลองแบบสุ่มและมีกลุ่มควบคุมในผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 38 คนที่สุขภาพดี มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells (CD4+) ตั้งแต่ 200 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน ได้รับการสุ่มแบ่งเป็น 2 กลุ่มเพื่อรับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 หรือ แบบเข้ากล้าม (กลุ่มควบคุม)บริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3 อาสาสมัครได้รับการตรวจเลือดสำหรับระดับ CD4+ ปริมาณเชื้อไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือด และระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies Neutralizing Antibody Titers; RNab) พื้นฐานก่อนได้รับการฉีดวัคซีน จากนั้นตรวจติดตาม RNab ในวันที่ 7 และ 14 ภายหลังได้รับวัคซีนเข็มแรก การตรวจ RNab ใช้วิธี Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT)

ผลการวิจัย: ค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95) ในวันที่ 7 และ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด 1 ครั้ง เท่ากับ 14.9 (10.2-37.9) และ 31.3 (23.9-65.7) IU/มล ซึ่งสูงกว่าการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบเข้ากล้าม 12.9 (8.5-33.9) และ 19.8 (15.6-49.5) IU/มล แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.67 และ 0.18 ตามลำดับ)

สรุปผลการวิจัย: ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด 1 ครั้ง ในผู้ติดเชื้อเอชไอวี สูงกว่าการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบเข้ากล้ามแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ภาควิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

ปีการศึกษา 2558 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

5774102630 : MAJOR MEDICINE
KEYWORDS: RABIES / BOOSTER VACCINATION / HUMORAL IMMUNE RESPONSE / HIV

SUDA SIBUNRUANG: HUMORAL IMMUNE RESPONSE AFTER A FOUR-SITE INTRADERMALRABIES BOOSTER VACCINATION IN PREVIOUSLYRABIES IMMUNIZED HIV-INFECTED ADULTS. ADVISOR: ASSOC. PROF. JETTANONG KLAEWSONGKRAM, M.D., CO-ADVISOR: PROF. TERAPONG TANTAWICHIEN, M.D., 130 pp.

Objective: To determine the humoral immune response after a four-site intradermal (4-site ID) rabies booster vaccination in HIV-infected adults.

Methods: We conducted a randomized, controlled trial to compare the Rabies Neutralizing Antibody (RNab) after a single visit 4-site ID boosters with 0.1 mL of purified Vero cell rabies vaccine (PVRV) per injection site distributed at both deltoids and anterior thighs vs. conventional intramuscular injections using a full ampule (0.5 mL) of PVRV at the deltoid on day 0 and 3 in thirty-eight previously rabies immunized HIV-infected participants whose CD4+ count ≥ 200 cell/mm^3. Serum samples were taken prior to immunization, on day 7 and 14 for serological analysis of RNab by the Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT).

Results: The 4-site ID regimen could elicit higher RNab titers than IM, but without statistically significant. The geometric mean (95% confidence interval) of RNab in 4-site ID vs. IM group were 14.9 (10.2-37.9) vs. 12.9 (8.5-33.9) IU/mL on day 7 (p = 0.67) and 31.3 (23.9-65.7) vs. 19.8 (15.6-49.5) IU/mL on day 14 (p = 0.18) respectively.

Conclusion: There were no significant differences in the immunogenicity of 4-site ID vs. IM rabies booster vaccination in individuals infected with human immunodeficiency virus.

Department:	Medicine	Student's Signature	.....
Field of Study:	Medicine	Advisor's Signature	.....
Academic Year:	2015	Co-Advisor's Signature	.....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.นพ.เจตทะนง แกล้วสงคราม และ ศ.นพ.ธีระพงษ์ ตัณฑวิเชียร ขอขอบพระคุณ ศ.นพ.เกียรติ รักษ์รุ่งธรรม และ ศ.ดร.พญ.ณัฏฐิยา หิรัญกาญจน์ ที่ให้คำแนะนำ สนับสนุน และช่วยเหลือจนงานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.นพ.ธนินทร์ อัศววิเชียรจินดา

ผศ.นพ.ณัฐวุฒิ โตวนำชัย ดร.ผกามาศ ขาวปลอด และ อาจารย์วชิราภรณ์ แสงสีสม ที่ให้ข้อชี้แนะและปรับปรุงแก้ไขระเบียบวิธีวิจัย

ขอขอบคุณ คุณศศิวิมล อุบลแย้ม และ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการของศูนย์ประสานความร่วมมือระหว่างไทย-ออสเตรเลีย-เนเธอร์แลนด์ เพื่อการวิจัยทางคลินิกด้านโรคเอดส์ สำหรับการตรวจวัดระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ และ การวัดปริมาณเชื้อไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือด

ขอขอบคุณ อาจารย์วชิราภรณ์ แสงสีสม และ คุณรัตนา สุทธิศรี ฝ่ายวิจัยและพัฒนาสถานเสาวภา สภากาชาดไทย สำหรับการตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า

ขอขอบคุณ พญ.ปิยดา อังศุวัชรากร คุณณัฐชยา รัฐอนันต์พินิจ พยาบาลและเจ้าหน้าที่ของฝ่ายบริการและวิจัยคลินิก สถานเสาวภา สภากาชาดไทย ที่ช่วยดำเนินโครงการวิจัย และติดตามดูแลอาสาสมัคร

ขอขอบคุณพยาบาลและเจ้าหน้าที่ของศูนย์ประสานความร่วมมือระหว่างไทย-ออสเตรเลีย-เนเธอร์แลนด์ เพื่อการวิจัยทางคลินิกด้านโรคเอดส์ พยาบาลและเจ้าหน้าที่ของคลินิกโรคติดเชื้อ ตึก ภปร. ชั้น 2 และ คลินิกภูมิคุ้มกัน ตึก ภปร. ชั้น 3 ที่ให้โอกาสเข้าไปให้ข้อมูลกับอาสาสมัครเพื่อคัดเลือกเข้าโครงการวิจัย

ขอขอบคุณ อาจารย์ ดร.ธนะภูมิ รัตนานุพงศ์ สำหรับการให้คำปรึกษาด้านสถิติ

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณอาสาสมัครทุกท่านที่เข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ด้วยความสมัครใจ และ เสียสละ ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฏ

บทที่ 1 1

บทนำ 1

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rationale) 1

1.2 คำถามของการวิจัย (Research question) 19

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives) 19

1.4 สมมติฐาน (Hypothesis) 20

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย 21

1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumption) 22

1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (Operational definition) 24

1.8 ข้อพิจารณาทางจริยธรรม (Ethical considerations) 24

1.9 ข้อจำกัดทางการวิจัย (Limitation) 25

1.10 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Expected benefit and application) .. 26

1.11 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการแก้ไข (Obstacles and strategies to solve 27

the problems) 27

บทที่ 2 28

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 28

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

2.1 โครงสร้างของเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies virus structure) 28
2.2 พยาธิกำเนิดของโรคพิษสุนัขบ้า (Pathogenesis of rabies) 29
2.3 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า (Immune responses to rabies virus infection) 30
2.4 บทบาทของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันที่จำเพาะภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบหลังสัมผัสโรค (Roles of immune cells in adaptive immunity after post-exposure rabies prophylaxis) 32
2.5 การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Laboratory test for rabies vaccination) 33
2.6 การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นด้วยการฉีดเข้าในผิวหนังแบบ 4 จุด (4-site intradermal rabies booster vaccination) 42
2.7 การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในผู้ติดเชื้อเอชไอวี (Rabies vaccination in HIV-infected patients) 48
บทที่ 3 51
วิธีดำเนินการวิจัย 51
3.1 รูปแบบการวิจัย (Research design) 51
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research methodology) 51
3.2.1 ประชากร (Population) และ ตัวอย่าง (Sample) 51
3.2.2 เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง (Sample techniques) 52
3.2.3 การสังเกตและการวัด (Observation and measurement) 54
3.2.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย 57
3.2.5 การรวบรวมข้อมูล (Data collection) 60
3.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis) 62
บทที่ 4 64

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

ผลการวิจัย 64
บทที่ 5 103
อภิปรายผลการวิจัย 103
5.1 อภิปรายผลการวิจัย 103
5.2 สรุปผล 111
5.3 เปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้าที่เคยมีการศึกษา 111
5.4 จุดเด่นของการศึกษา 112
5.5 จุดด้อยของการศึกษา 113
5.6 ข้อเสนอแนะ 113
รายการอ้างอิง 115
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 130

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 การแบ่งประเภทของเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า (classification of Lyssaviruses).....1

ตารางที่ 2 แนวทางการให้วัคซีนและอิมมูโนโกลบุลินภายหลังสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้า.....4

ตารางที่ 3 การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนสัมผัสโรค และการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น.....9

ตารางที่ 4 สรุปการศึกษาการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในผู้ติดเชื้อเอชไอวี.....10

ตารางที่ 5 สรุปรายงานผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องซึ่งได้รับการฉีดวัคซีนป้องกัน.....12

ตารางที่ 6 สรุปผลการศึกษาของการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์หรือปริมาณไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือดในผู้ติดเชื้อเอชไอวี...17

ตารางที่ 7 สรุปอุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการแก้ไข.....27

ตารางที่ 8 สรุปข้อดีและข้อจำกัดของการตรวจระดับนิวทราไลซิ่งแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies neutralizing antibody) ด้วยวิธีต่างๆ 36

ตารางที่ 9 สรุปข้อมูลการศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากเซลล์ทางด้านไซโตไคน์ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า 39

ตารางที่ 10 ไซโตไคน์และผลทางชีวภาพ.....41

ตารางที่ 11 การศึกษาของ ประพันธ์ ภานุภาค และคณะ ซึ่งศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำและจากเซลล์ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0, 3 และ 7 เทียบกับ การฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 5 ครั้งในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 28 ในอาสาสมัครผู้ใหญ่ซึ่งไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน 44

ตารางที่ 12 ระดับภูมิคุ้มกัน (rabies neutralizing antibody) ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นจากการศึกษาของธีระพงษ์ ตัณฑวิเชียร และคณะ 45

ตารางที่ 13 สรุปผลการศึกษาเปรียบเทียบระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าระหว่างการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด purified Vero cell rabies vaccine (PVRV) เข็มกระตุ้นแบบภายหลังสัมผัสโรคด้วยสูตรการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 กับ สูตรการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3 ในอาสาสมัครผู้ใหญ่ชาวไทยที่สุขภาพดี ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน 46

ตารางที่ 14 ขนาดตัวอย่างต่อกลุ่มแปรตาม effect size.....53

ตารางที่ 15 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล (Methods of data collection) 61

ตารางที่ 16 การวิเคราะห์และสรุปข้อมูล (Data analysis and data summary).....63

ตารางที่ 17 ข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัคร 67

ตารางที่ 18 ค่าเฉลี่ย (Geometric mean titers) ของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น.....71

ตารางที่ 19 จำนวนอาสาสมัครทั้ง 2 กลุ่ม ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบ 4-site ID และแบบ IM แบ่งตามระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 และ 14 75

ตารางที่ 20 ค่าเฉลี่ย (Geometric mean titers) ของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นของอาสาสมัครที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ตั้งแต่ 500 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป (n=29) 76

ตารางที่ 21 ค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้นและจำนวนอาสาสมัครที่มี anamnestic immune response ในวันที่ 7 และ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบ่งตามระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนการได้รับวัคซีน (RNab day 0) น้อยกว่า 0.4 IU/mL, 0.4 – 10.0 IU/mL และ มากกว่า 10 IU/mL.....80

ตารางที่ 22 ค่ากลางหรือค่าเฉลี่ยของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้นและจำนวนอาสาสมัครที่มี anamnestic immune response ในวันที่ 7 และ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบ่งตามจำนวนครั้งของการเคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน 84

ตารางที่ 23 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 14 กับปัจจัยต่างๆ 91

ตารางที่ 24 การวิเคราะห์พหุตัวแปรระหว่างระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 14 กับปัจจัยต่างๆ 91

ตารางที่ 25 จำนวนอาสาสมัครที่มีระดับภูมิคุ้มกันเพียงพอในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า.....99

ตารางที่ 26 ข้อมูลของอาสาสมัครซึ่งได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาไม่เกิน 1 ปี และมีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าต่ำกว่า 0.5 IU/mL.....100

ตารางที่ 27 อาการไม่พึงประสงค์ภายหลังได้รับวัคซีน.....102

ตารางที่ 28 สรุปการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังกับการฉีดวัคซีนเข้ากล้ามในผู้ติดเชื้อเอชไอวี 106

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 1 โครงสร้างของเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า (รูปประกอบจากเอกสารอ้างอิงที่ 3)....28

รูปที่ 2 พยาธิกำเนิดของโรคพิษสุนัขบ้า (รูปประกอบจากเอกสารอ้างอิงที่ 48) 29

รูปที่ 3 กลไกที่เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าใช้ในการหลบหลีกจากระบบภูมิคุ้มกัน (rabies virus immune-evasion mechanisms) (รูปประกอบจากเอกสารอ้างอิงที่ 55) 31

รูปที่ 4 การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข้าในผิวหนัง 55

รูปที่ 5 การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด....56

รูปที่ 6 ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 0, 7 และ 14....72

รูปที่ 7 กราฟ Box plot แสดงค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้น ในวันที่ 7 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น 73

รูปที่ 8 กราฟ Box plot แสดงค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้น ในวันที่ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น 74

รูปที่ 9 ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 0, 7 และ 14 ของอาสาสมัครที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ตั้งแต่ 500 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป 77

รูปที่ 10 กราฟ Box plot แสดงค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้น ในวันที่ 7 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นของอาสาสมัครที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ตั้งแต่ 500 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป (n=29)....78

รูปที่ 11 กราฟ Box plot แสดงค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้น ในวันที่ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นของอาสาสมัครที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ตั้งแต่ 500 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป (n=29)....79

รูปที่ 12 กราฟแสดงสหสัมพันธ์ระหว่าง ระดับ CD4/CD8 และ ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 7 81

รูปที่ 13 ค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบ่งตามจำนวนครั้งของการเคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน 83

รูปที่ 14 ค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าของอาสาสมัครจำนวน 11 คน ติดตามตั้งแต่ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1.....86

รูปที่ 15 ค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าของอาสาสมัครจำนวน 26 คน ติดตามตั้งแต่ การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2.....87

รูปที่ 16 ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนแต่ละครั้งของอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนมาก่อนจำนวน 3 ครั้ง (อาสาสมัครหมายเลข 17 และ 23).....88

รูปที่ 17 ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนแต่ละครั้งของอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนมาก่อนจำนวน 3 ครั้ง (อาสาสมัครหมายเลข 17, 23 และ 25).....89

รูปที่ 18 ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนแต่ละครั้งของอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนมาก่อนจำนวน 4 ครั้ง (อาสาสมัครหมายเลข 22 และ 29).....90

รูปที่ 19 ค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าติดตามตั้งแต่ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 ของอาสาสมัครจำนวน 11 คน แบ่งตามระดับ CD4+ T cells ขณะฉีดวัคซีนครั้งแรก 93

รูปที่ 20 ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าติดตามตั้งแต่ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 ของอาสาสมัครจำนวน 2 คน ซึ่งมีระดับ CD4+ T cells ขณะฉีดวัคซีนครั้งแรกน้อยกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร 94

รูปที่ 21 ค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าติดตามตั้งแต่ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก และ การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 ของอาสาสมัครจำนวน 9 คน แบ่งตามประวัติการเคยมีระดับ CD4+ T cells ต่ำกว่า หรือ ไม่เคยต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร.....95

รูปที่ 22 ค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าติดตามตั้งแต่ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 ของอาสาสมัครจำนวน 21 คน แบ่งตามประวัติการเคยมีระดับ CD4+ T cells ต่ำกว่า หรือ ไม่เคยต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร 97

รูปที่ 23 ค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นของอาสาสมัครจำนวน 32 คน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ตามประวัติการเคยมีระดับ CD4+ T cells ต่ำกว่า หรือ ไม่เคยต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร 98

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rationale)

โรคพิษสุนัขบ้า (rabies) เป็นโรคติดเชื้อของระบบประสาทจากสัตว์สู่คน(zoonosis) ที่สำคัญ เกิดจากเชื้อ rabies virus และ rabies-related virus ซึ่งเป็น RNA virus ใน family Rhabdoviridae, genus Lyssavirus ปัจจุบันพบมีอย่างน้อย 7 ชนิด [1] ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การแบ่งประเภทของเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า (classification of Lyssaviruses)

จีโนทัยป์ (genotype)	ชื่อไวรัส (species)	ถิ่นกำเนิด (origin)	สัตว์นำโรค (potential vectors)
1	Classical rabies virus (RABV)	ทั่วโลก	สัตว์กินเนื้อ (Carnivores) ค้างคาว
2	Lagos bat virus (LBV)	แอฟริกา	ค้างคาวกินผลไม้
3	Mokola virus (MOKV)	แอฟริกา	ไม่ทราบ
4	Duvenhage virus (DUVV)	แอฟริกาใต้	ค้างคาวกินแมลง
5	European bat lyssavirus type1 (EBLV-1)	ยุโรป	ค้างคาวกินแมลง
6	European bat lyssavirus type2 (EBLV-2)	ยุโรปตะวันตก	ค้างคาวกินแมลง
7	Australian bat lyssavirus (ABLV)	ออสเตรเลีย	ค้างคาวกินแมลง และ ค้างคาวกินผลไม้
จีโนทัยป์ที่ถูกค้นพบใหม่	Aravan	เอเชียกลาง	ค้างคาวกินแมลง
	Khujand	เอเชียกลาง	ค้างคาวกินแมลง
	Irkut	ไซบีเรีย ตะวันออก	ค้างคาวกินแมลง
	West Caucasian bat virus (WCBV)	บริเวณคอเคเซียน	ค้างคาวกินแมลง

และในปี พ.ศ.2553 เพิ่งมีการรายงานไวรัสชนิดใหม่เพิ่มขึ้น ชื่อว่า Shimoni bat virus (SHIBV) เชื่อว่า ไวรัสในจีนัส Lyssavirus ทุกชนิดสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อสมองอักเสบ (encephalitis) ในมนุษย์ได้ [2]

เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าจีโนทัยป์ 1 (classical rabies virus) ซึ่งเป็นจีโนทัยป์ที่พบก่อโรคบ่อยที่สุดพบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้เกือบทุกพื้นที่ทั่วโลก ทั้งสัตว์บกและสัตว์ปีก ทั้งสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า ได้แก่ Canidae (เช่น สุนัข สุนัขจิ้งจอก หมาป่า และ coyotes), Procyonidae (เช่น แรคคูน), Viverridae (เช่น พังพอน), Mustelidae (เช่น สกั๊ง วีเซิล และ martens) และ Chiroptera (เช่น ค้างคาว) โรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์แพร่โรคระหว่างกันได้โดยการกัด (bites) การปนเปื้อนของเยื่อบุปกติ และผิวหนังที่มีบาดแผล ด้วยน้ำลายที่มีเชื้อไวรัส (virus-laden saliva) การกินเหยื่อที่มีการติดเชื้อ การหายใจ (aerosol) และการแพร่เชื้อผ่านรก (transplacental route) [3] ทั้งนี้ในบรรดาสัตว์ทั้งหมด สุนัขและแมวนำโรคมาสู่คนบ่อยที่สุด จากการที่เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าสามารถนำโรคได้โดยสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด และพบกระจายอยู่เกือบทุกภูมิภาคของโลก จึงเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศกำลังพัฒนาซึ่งไม่สามารถควบคุมสุนัข หรือ แมวจรจัด หรือการให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์และคนไม่ประสบผลสำเร็จ เช่น ประเทศในแถบทวีปเอเชีย และ แอฟริกา ดังเห็นได้จากจำนวนตัวเลขผู้เสียชีวิตด้วยโรคพิษสุนัขบ้าซึ่งรายงานโดยองค์การอนามัยโลก มีถึง 55,000 รายต่อปี ทั้งนี้จากรายงานของประเทศอินเดียเพียงประเทศเดียว พบผู้ป่วยโรคพิษสุนัขบ้ากว่า 25,000 ราย [4] จึงเชื่อว่าจำนวนผู้ป่วยทั่วโลกที่แท้จริงน่าจะสูงกว่านี้ แต่เนื่องจากความไม่สมบูรณ์ของการรายงานโรคในประเทศกำลังพัฒนา และผู้ป่วยบางคนอาจมีอาการผิดแผกจากอาการจำเพาะที่พบในผู้ป่วยโรคพิษสุนัขบ้าจึงทำให้ไม่ได้รับการวินิจฉัย ส่วนในประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกาและประเทศในทวีปยุโรป แม้จะมีการควบคุม ให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์เลี้ยงโดยเฉพาะ สุนัขและแมว เป็นอย่างดี แต่ก็พบยังมีปัญหาของการควบคุมโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์ป่า เช่น แรคคูน สกั๊ง ค้างคาว สุนัขจิ้งจอก ฯลฯ [5] นอกจากนี้ ประชากรในประเทศที่พัฒนาแล้วยังมีโอกาสเสี่ยงในการสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าจากการถูกสัตว์กัดโดยเฉพาะ สุนัข ระหว่างการเดินทางมาท่องเที่ยวในพื้นที่ที่ยังมีโรคนี้ชุกชุม เช่น ประเทศในทวีปเอเชีย แอฟริกา ดังมีรายงานการเสียชีวิตของนักท่องเที่ยวจากหลายประเทศด้วยโรคพิษสุนัขบ้าเช่นประเทศญี่ปุ่น สหราชอาณาจักร และประเทศสหรัฐอเมริกา [6]

สำหรับประเทศไทย ในอดีตการให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าหลังสัมผัสโรคยังไม่แพร่หลาย และ ใช้วัคซีนที่ทำจากสมองสัตว์ (nerve tissue - derived vaccines) เช่น Semple vaccine และ suckling mouse brain vaccine ซึ่งเป็นวัคซีนคุณภาพต่ำ มีภาวะแทรกซ้อนทางระบบประสาทรุนแรง จึงมีรายงานผู้ป่วยโรคพิษสุนัขบ้ากว่า 300 รายต่อปี ครั้นเมื่อมีการรณรงค์การ

ควบคุมโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์ โดยเฉพาะสุนัข การให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าหลังสัมผัสโรคแก่คนไทยเพิ่มมากขึ้น รวมถึงการเปลี่ยนมาใช้วัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยง (cell-culture rabies vaccines) และวัคซีนไข่เป็ดฟักบริสุทธิ์ (purified duck embryo vaccine) ซึ่งมีผลในการป้องกันโรคดีกว่าผลข้างเคียงน้อยกว่าวัคซีนที่ทำจากสมองสัตว์แบบเดิม ทำให้ในปัจจุบัน อัตราการเกิดโรคพิษสุนัขบ้าของคนไทยลดลงอย่างชัดเจนจนเหลือน้อยกว่า 10-30 รายต่อปีโดยผู้ป่วยโรคพิษสุนัขบ้าส่วนใหญ่ มากกว่าร้อยละ 90 เป็นผู้ที่ไม่ได้ไปรับการรักษาจากบุคลากรทางการแพทย์ภายหลังสัมผัสโรค ส่วนน้อยของผู้ป่วยเกิดจากได้รับการรักษาที่ไม่ถูกต้อง แม้จำนวนผู้ป่วยโรคพิษสุนัขบ้าจะลดลง แต่การรายงานสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สุนัข และแมว เป็นโรคพิษสุนัขบ้าในประเทศไทย ยังมีอยู่เสมอๆ [7,8] ดังนั้นการให้ความรู้แก่ประชาชนและบุคลากรทางการแพทย์ การควบคุมโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์ โดยเฉพาะสุนัข และแมว การลดการสัมผัสโรค (bite prevention) และ การดูแลรักษาผู้ป่วยภายหลังสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้า จึงเป็นมาตรการสำคัญในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า

ทั้งนี้การดูแลรักษาผู้ป่วยภายหลังสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้า ควรเริ่มการรักษาโดยเร็วเพื่อป้องกันมิให้เชื้อไวรัสเข้าสู่ระบบประสาท ซึ่งมีแนวทางปฏิบัติตามขั้นตอนดังต่อไปนี้ [9,10]

1. การดูแลบาดแผล

หลักการดูแลบาดแผลเบื้องต้น ประกอบด้วย ล้างแผลด้วยน้ำสะอาดปริมาณมาก โดยเปิดน้ำให้ไหลผ่านนานๆและล้างด้วยน้ำสบู่หลายๆครั้ง ล้างบาดแผลให้ครบทุกแผล และล้างให้ลึกถึงก้นแผล โดยใช้เวลาอย่างน้อย 15 นาที หากมีสิ่งแปลกปลอมให้เอาออก และใส่ยาฆ่าเชื้อ เช่น โพวิโดนไอโอดีน (povidone - iodine) ฮิบิเทนในน้ำ (hibitane in water) 70% แอลกอฮอล์ หรือทิงเจอร์ไอโอดีน

2. การรักษาด้วยวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า และ อิมมูโนโกลบุลิน

หลักการพิจารณาเริ่มการรักษาภายหลังสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าโดยการให้วัคซีน และอิมมูโนโกลบุลิน มี 2 ประการดังนี้

2.1 พิจารณาตามลักษณะการสัมผัสโรค

องค์การอนามัยโลกได้แบ่งลักษณะการสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าตามความรุนแรงของบาดแผล ออกเป็น 3 category ดังนี้

WHO category I คือ ให้อาหาร จับต้องตัวสัตว์ หรือ ถูกเลียที่ผิวหนังปกติ กรณีนี้ไม่จำเป็นต้องให้การรักษา หรืออาจให้การรักษาโดยการให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบก่อนสัมผัสโรค (pre-exposure prophylaxis) เนื่องจากผู้สัมผัสโรคส่วนใหญ่จะมีความวิตกกังวล และการให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบก่อนสัมผัสโรคอาจมีประโยชน์ในผู้ที่มีปัจจัยเสี่ยงในการ

สัมผัสโรค และมีโอกาสสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าซ้ำอีกในอนาคต เช่น เลี้ยงสุนัข ฯลฯ และ ผู้ที่อาศัยอยู่ในแหล่งชุกชุมของโรค (rabies endemic areas) เช่น ประเทศไทย ซึ่งยังมีโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์ชุกชุม

WHO category II คือ บาดแผลถูกงับเป็นรอยช้ำบนผิวหนังไม่มีเลือดออก บาดแผลถูกข่วนหรือเป็นรอยถลอกไม่มีเลือดออก หรือเลือดออกเพียงซิบๆ ถูกสัตว์เลียบนผิวหนังที่มีบาดแผลเก่าซึ่งยังไม่หายจะให้การรักษาด้วยวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า

WHO category III คือ บาดแผลถูกกัด ข่วนซึ่งมีเลือดออกชัดเจน เยื่อบุ เช่น ตา ปาก ถูกปนเปื้อนด้วยน้ำลายของสัตว์ ถูกสัตว์เลียบนผิวหนังที่มีบาดแผลสด รับประทานเนื้อของสัตว์ที่เป็นโรคซึ่งปรุงไม่สุก การดื่มนมที่ไม่ผ่านการพลาสเจอไรซ์จากวัวที่เป็นโรค สัมผัสโรคจากค้างคาว เหล่านี้จะให้การรักษาด้วยวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า ร่วมกับอิมมูโนโกลบุลิน

2.2 พิจาณาตามสัตว์ที่กัด

โดยพิจารณาจากชนิดของสัตว์ที่สัมผัส อาการผิดปกติในสัตว์ ประวัติการรับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในสัตว์ สาเหตุที่สัตว์กัด และ การสังเกตกักขังดูอาการของสัตว์
สรุปแนวทางการให้วัคซีนและอิมมูโนโกลบุลิน ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แนวทางการให้วัคซีนและอิมมูโนโกลบุลินภายหลังสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้า
แบ่งตามเกณฑ์ขององค์การอนามัยโลก (WHO category)

ระดับ	ประเภทการสัมผัสจากสัตว์	ข้อแนะนำการให้วัคซีน/ RIG
I	สัตว์ ให้อาหารสัตว์ หรือ ถูกเลียที่ผิวหนังปกติ	ไม่ต้องรักษาถ้าประวัติสัมผัสโรคเชื่อถือได้[a]
II	ถูกงับเป็นรอยช้ำบนผิวหนังไม่มีเลือดออก ถูกข่วนหรือเป็นรอยถลอกไม่มีเลือดออก หรือเลือดออกเพียงซิบๆ ถูกสัตว์เลียบนผิวหนังที่มีบาดแผลเก่าซึ่งยังไม่หาย	ฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า[b]
III	ถูกกัด/ข่วนมีเลือดออกชัดเจน เยื่อบุถูกปนเปื้อนด้วยน้ำลาย ของสัตว์ที่เป็นโรค (เช่น สัตว์เลียปาก) ถูกเลียบนผิวหนังที่มีบาดแผลสด รับประทานผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่เป็นโรคซึ่งปรุงไม่สุก สัมผัสโรคจากค้างคาว	ฉีดวัคซีน และ อิมมูโนโกลบุลิน ป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า[b]

[a]อาจฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบก่อนสัมผัสโรค (pre-exposure rabies prophylaxis) ให้แก่ผู้ป่วยที่เลี้ยงสัตว์และอาศัยอยู่ในพื้นที่ที่มีโรคนี้ในสัตว์ชุกชุม

[b]ถ้าสัตว์ที่กัดมีสุขภาพดีชัดเจนและมีคุณสมบัติครบทั้ง 3 ข้อ ดังต่อไปนี้ ได้แก่ สัตว์ได้รับการเลี้ยงดูอย่างดีมีโอกาสติดโรคพิษสุนัขบ้าน้อย สัตว์ได้รับวัคซีนอย่างสม่ำเสมอในช่วง 2 ปีที่ผ่านมา และ มีเหตุจูงใจในการกัด แพทย์อาจยังไม่ให้การรักษาผู้ป่วยและเฝ้าติดตามสัตว์จนครบ 10 วัน หากสัตว์มีอาการผิดปกติหรือหนีหายไปทำให้ไม่สามารถสังเกตอาการสัตว์ได้ ให้เริ่มการรักษาทันที กรณีที่ให้การรักษาผู้ป่วยไปตั้งแต่ต้นสามารถหยุดการรักษาได้ ถ้าสัตว์มีชีวิตตั้งแต่ 10 วันขึ้นไป หรือตรวจไม่พบเชื้อโรคพิษสุนัขบ้าโดยวิธีการที่เหมาะสมในสัตว์ที่ถูกฆ่าเพื่อชันสูตร ทั้งนี้การเฝ้าติดตามดูอาการสัตว์ที่กัดนี้ ใช้ได้เฉพาะกับสุนัขและแมว ส่วนสัตว์เลี้ยงอื่นๆและสัตว์ป่าทั่วไปที่สงสัยติดเชื้อโรคพิษสุนัขบ้า ควรถูกฆ่าเพื่อนำเนื้อเยื่อมาตรวจหาเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า หากไม่สามารถทำได้ ต้องเริ่มการรักษาทันที

สำหรับ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่

1. การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังสัมผัสโรค (post-exposure prophylaxis)
2. การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนสัมผัสโรค (pre-exposure prophylaxis)

การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังสัมผัสโรค

องค์การอนามัยโลก กำหนด การให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าให้ใช้วัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยง หรือ วัคซีนไข่เป็ดฟักบริสุทธิ์ ซึ่งที่ใช้ในประเทศไทยมี 4 ชนิด ได้แก่ PCECV (purified chick embryo cell vaccine), PVRV (purified Vero cell rabies vaccine), CPRV (chromatographically purified cell rabies vaccine) และ PDEV (purified duck embryo vaccine) ส่วนสูตรที่แนะนำให้ใช้ในการฉีดวัคซีนแก่ผู้ป่วย มี 4 สูตร ดังนี้

1. การฉีดเข้ากล้ามแบบวิธีมาตรฐาน (standard intramuscular regimen: ESSEN)
2. การฉีดเข้าในผิวหนัง (intradermal : ID) แบบ Thai Red Cross
   (traditional TRC-ID regimen 2-2-2-0-1-1 หรือ modified TRC-ID regimen 2-2-2-0-2-0)
3. การฉีดเข้ากล้ามแบบ 2-1-1 (multisite intramuscular regimen, Zagreb)
4. การฉีดเข้ากล้ามแบบ 4 เข็ม (Four-dose intramuscular regimen)

ด้วยสูตรการฉีดวัคซีนดังกล่าว ร่างกายจะมีภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้า (rabies neutralizing antibody; RNab) โดยเริ่มตรวจพบระดับภูมิคุ้มกันได้ตั้งแต่วันที่ 10-14 และ พบระดับภูมิคุ้มกันเพียงพอในการป้องกันโรค (RNab มากกว่า 0.5 IU/มล.ของซีรั่ม) ในวันที่ 14 หลังได้รับวัคซีนเข็มแรก ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะมีระดับภูมิคุ้มกัน (RNab) เพิ่มสูงขึ้นและ มากกว่า 0.5 IU/มล. จนครบ 1 ปี [(11)]

การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนสัมผัสโรค

การให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนสัมผัสโรคใช้หลักการของ primary immunization หรือการให้วัคซีน 3-4 ครั้ง ภายใน 1-2 เดือน เพื่อให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันโรคต่อการติดเชื้อโรคพิษสุนัขบ้า (active immunization) ในคนปกติภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนสัมผัสโรค จะมีระดับภูมิคุ้มกันสูงถึงระดับป้องกันโรคได้ภายใน 7-10 วันหลังการฉีดวัคซีนเข็มสุดท้าย โดยการได้รับวัคซีนป้องกันแบบก่อนสัมผัสโรค ไม่ได้ทำให้ผู้ที่สัมผัสโรคใหม่ไม่ต้องรับการรักษาภายหลังสัมผัสโรค แต่ทำให้การรักษาในผู้ป่วยกลุ่มนี้ใช้เพียงการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นเท่านั้น โดยการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นจะมีจำนวนครั้งของการฉีดวัคซีนน้อยกว่าและผู้ป่วยไม่จำเป็นต้องได้รับอิมมูโนโกลบุลิน แม้จะมีการสัมผัสโรคที่รุนแรงแบบ WHO category III อย่างไรก็ตามเมื่อระยะเวลาผ่านไป ภูมิคุ้มกันในร่างกายจะค่อย ๆ ลดลง โดยปกติภายหลังได้รับวัคซีนป้องกันโรคเข็มสุดท้าย 1-2 ปี ผู้ป่วยจะมีระดับของ rabies neutralizing antibody (RNab) ต่ำกว่า 0.5 IU/มล. ซึ่งไม่สามารถป้องกันโรคได้ ดังนั้นภายหลังการสัมผัสโรคใหม่จึงจำเป็นต้องได้รับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นทุกครั้ง แต่หลังจากที่ร่างกายได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น ภูมิคุ้มกันจะสูงขึ้นถึงระดับป้องกันโรคได้อย่างรวดเร็วจึงไม่มีความจำเป็นต้องได้รับอิมมูโนโกลบุลินร่วมด้วย การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนสัมผัสโรคมี 2 วิธี ดังนี้

1.การฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (intramuscular regimen)

2. การฉีดเข้าในผิวหนัง (intradermal regimen)

โดยประโยชน์ของการให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนสัมผัสโรคมีหลายประการ ดังนี้

1. ในผู้ที่จำเป็นต้องสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าอยู่เป็นประจำ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนสัมผัสโรคจะทำให้มีระดับภูมิคุ้มกันโรคสูงพอที่จะป้องกันการติดเชื้อในกรณีที่มีการสัมผัสโรคที่ไม่ชัดเจน ไม่รุนแรง หรือ สัมผัสโรคโดยไม่รู้ตัว หรือในเด็กที่อาจไปสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าแต่ไม่ได้บอกให้ผู้ปกครองทราบ และในกรณีที่สัมผัสโรคในพื้นที่ที่ห่างไกลจากสถานพยาบาล ผู้ที่เคยฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนสัมผัสโรคมาก่อนในอดีต จะทำให้มีภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้าอยู่บ้าง
2. ทำให้การรักษาภายหลังสัมผัสโรคง่ายขึ้นและเสียค่าใช้จ่ายลดลง เนื่องจากผู้ป่วยจะได้รับวัคซีนกระตุ้นเพียง 1-2 ครั้งเท่านั้น ไม่จำเป็นต้องได้รับอิมมูโนโกลบุลิน แม้ว่าจะมีการสัมผัสโรคแบบรุนแรง (WHO category III) ซึ่งเป็นประโยชน์กรณีที่สัมผัสโรคในพื้นที่ที่ห่างไกล และไม่มีอิมมูโนโกลบุลิน

3. เนื่องจากไม่จำเป็นต้องได้รับอิมมูโนโกลบุลินในผู้ที่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนสัมผัสโรค แม้ว่าจะมีการสัมผัสโรคครั้งใหม่ที่เป็นบาดแผลแบบรุนแรง จึงลดความเสี่ยงจากผลข้างเคียง และลดอาการเจ็บปวดจากการฉีดอิมมูโนโกลบุลินเข้าที่บาดแผลทุกแผล
4. ไม่เคยมีรายงานความล้มเหลวภายหลังการรักษาในผู้ป่วยที่มีประวัติได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนสัมผัสโรค และได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้นภายหลังที่มีการสัมผัสโรค

Advisory Committee on Immunization Practices ของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้แบ่งระดับความเสี่ยงในการสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าของบุคคล ดังนี้ [5]

1. กลุ่มบุคคลที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการสัมผัสเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าสูงมาก (continuous exposure) เช่น นักวิทยาศาสตร์ หรือ ผู้ทำงานในห้องปฏิบัติการที่ต้องสัมผัสไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าโดยตรง หรือเจ้าหน้าที่ที่ทำงานเกี่ยวการผลิตวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า
2. กลุ่มบุคคลที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการสัมผัสเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าปานกลาง (frequent exposure) เช่น สัตวแพทย์ที่ทำงานในพื้นที่ที่พบโรคพิษสุนัขบ้าได้บ่อย นักสัตววิทยาที่ทำงานในป่าที่สัมผัสกับสัตว์ป่าหรือค้างคาวเป็นประจำ ผู้ที่มีอาชีพเลี้ยงสัตว์ โดยเฉพาะสุนัขและแมว
3. กลุ่มบุคคลที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อการสัมผัสเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าน้อย (infrequent exposure) เช่น นักท่องเที่ยวที่เดินทางมายังแหล่งที่มีโรคพิษสุนัขบ้าชุกชุมในสัตว์ หรือ ประชากรที่อาศัยอยู่ในแหล่งดังกล่าว หรือประเทศที่มีสุนัขจรจัดเป็นจำนวนมาก ได้แก่ ประเทศในแถบแอฟริกา เอเชียและอเมริกาใต้ รวมถึงเด็กหรือผู้ที่เลี้ยงสุนัข แมว กลุ่มนักท่องเที่ยวที่ชอบการผจญภัยและมีความเสี่ยงที่จะสัมผัสกับสัตว์ที่เป็นพาหะนำโรคพิษสุนัขบ้า เช่น สุนัข ค้างคาว ลิง หรือชอบการเดินทางไปยังเขตชนบท และเข้าถึงสถานพยาบาลลำบากเมื่อจำเป็นต้องรับการรักษา

ทั้งนี้ ตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก ในปี พ.ศ.2556 [10] นักท่องเที่ยว และผู้อยู่อาศัยในประเทศที่เป็นแหล่งระบาดของโรคพิษสุนัขบ้า โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศที่ยังคงมีการแพร่ของเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าระหว่างสุนัขกับสุนัข และ/หรือ มีการรายงานพบค้างคาวที่เป็นโรคพิษสุนัขบ้าเป็นผู้มีความเสี่ยงและ ควรพิจารณาได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบก่อนสัมผัสโรค

ในกรณีของผู้ที่เคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน (previously vaccinated persons) ซึ่งได้แก่ ผู้ป่วยในกลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง ต่อไปนี้ คือ

1. ผู้ที่เคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงหรือไข่เป็ดฟักบริสุทธิ์แบบก่อนสัมผัสโรค (pre-exposure rabies prophylaxis) ครบชุด

2. ผู้ที่เคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงหรือไข่เป็ดฟักบริสุทธิ์แบบภายหลังสัมผัสโรคครบ (post-exposure rabies treatment) หรือ ได้รับวัคซีนอย่างน้อย 3 เข็ม ในวันที่ 0, 3 และ 7
3. ผู้ที่เคยตรวจพบว่ามีระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพิษสุนัขบ้า (rabies neutralizing antibody; RNab) มากกว่า หรือ เท่ากับ 0.5 IU/มล.

เมื่อมีการสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าแบบ WHO category II หรือ III การรักษาภายหลังสัมผัสโรคในผู้ป่วยกลุ่มนี้จะใช้เพียงการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น (booster vaccination) และไม่จำเป็นต้องให้อิมมูโนโกลบุลินแม้จะเป็นการสัมผัสโรคแบบรุนแรง (WHO category III) ซึ่งอธิบายจากหลักการว่า ผู้ที่เคยได้รับ primary immunization ร่างกายจะเกิดภูมิคุ้มกันจดจำ (immune memory) และการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นภายหลังสัมผัสโรคครั้งใหม่ จะทำให้เกิด anamnestic response ร่างกายตอบสนองมีระดับภูมิคุ้มกันสูงขึ้นเพียงพอในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าอย่างรวดเร็ว ภายใน 5 – 10 วัน [12-14] นอกจากนี้สำหรับผู้ซึ่งเคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าอย่างน้อย 3 – 4 ครั้ง ในช่วงเวลา 2 สัปดาห์ ถือได้ว่า เป็นการรับวัคซีนแบบ primary immunization แล้ว ดังนั้นหากมีการสัมผัสโรคใหม่ ก็สามารถให้การรักษาภายหลังสัมผัสโรคตามหลักการนี้ได้เช่นเดียวกัน ข้อมูลจากคลินิกป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า สถานเสาวภา พบว่าร้อยละ 9 – 17 ของผู้มารับบริการเนื่องจากสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้า เคยมีประวัติสัมผัสโรคมาแล้วอย่างน้อย 1 ครั้ง และ ได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบหลังสัมผัสโรคมาก่อน ทำให้ ณ ปัจจุบัน สถานเสาวภาพบสัดส่วนผู้มารับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบฉีดกระตุ้นเพิ่มขึ้นในกลุ่มผู้มารับการรักษาภายหลังสัมผัสโรค

สรุปสูตรการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนสัมผัสโรค และการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น ดังตารางที่ 3

Chulalongkorn University

ตารางที่ 3 การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนสัมผัสโรค และการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น

ลักษณะการฉีด	วิธี	โปรแกรมการฉีด
ฉีดเพื่อสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรค (primary immunization)	ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ	- 0.5 มล.* หรือ 1.0 มล.** ฉีดเข้ากล้ามเนื้อต้นแขน วันที่ 0, 7 และ 21 หรือ 28
	ฉีดเข้าในผิวหนัง	- 0.1 มล.ฉีดเข้าผิวหนังตรงต้นแขน 1 จุด วันที่ 0, 7 และ 21 หรือ 28
ฉีดเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันภายหลังมีการสัมผัสโรค (booster vaccination)	ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ	- 0.5 มล.*หรือ 1.0 มล.** ฉีดเข้ากล้ามเนื้อต้นแขน วันที่ 0 และ 3
	ฉีดเข้าในผิวหนัง	- 0.1 มล.ฉีดเข้าผิวหนังตรงต้นแขน 1 จุด วันที่ 0 และ 3
	ฉีดเข้าในผิวหนัง	- 0.1 มล.ฉีดเข้าผิวหนังตรงต้นแขน 4 จุด วันที่ 0

วัคซีนที่ใช้ : PVRV, PCEC, HDCV

* 0.5 มล/หลอด ของการใช้วัคซีน PVRV

**1 มล/หลอด ของการใช้วัคซีน PCECV, HDCV

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

อย่างไรก็ตาม ผลของการดูแลรักษาผู้ป่วยภายหลังสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้า มิได้ขึ้นอยู่กับ สูตรการฉีดวัคซีน ประสิทธิภาพของวัคซีน หรือ อิมมูโนโกลบุลิน เท่านั้น ยังมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในผู้สัมผัสโรค เช่น อายุ สภาวะสุขภาพ โรคประจำตัว รวมถึง ยาและการรักษา มีรายงานถึงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่อยู่ในระดับต่ำ ในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องอย่างรุนแรง ได้แก่ ผู้ติดเชื้อเอชไอวี ผู้ป่วยโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง (lymphoma) [15, 16] และเนื่องจากมีการศึกษาในผู้ป่วยกลุ่มนี้เพียงจำนวนน้อย จึงทำให้ ณ ปัจจุบัน ยังไม่มีแนวทางการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังสัมผัสโรคที่เป็นมาตรฐานสำหรับผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง ผู้ป่วยกลุ่มนี้แม้เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน เมื่อมีการสัมผัสโรคซ้ำก็มักได้รับการฉีดวัคซีนใหม่ทั้งหมด สรุปการศึกษาการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในผู้ติดเชื้อเอชไอวี และ ผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง ดังตารางที่ 4 และ 5

ตารางที่ 4 สรุปการศึกษาการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในผู้ติดเชื้อเอชไอวี [17-22]

คณะผู้วิจัย (ปี พ.ศ.)	ลักษณะการศึกษา	สูตรการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า	จำนวนอาสาสมัครผู้ติดเชื้อเอชไอวี (คน)	ผลการศึกษา
Deshpande และ คณะ (2544)	Prospective controlled study	ESSEN IM (1-1-1-1-1)	อาสาสมัครทั้งหมด57คน แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ -ผู้ที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี -ผู้ติดเชื้อเอชไอวีแต่ยังไม่มีอาการ -ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีอาการ	-ร้อยละ 43 ของผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีอาการ และมี CD4+ < 400 เซลล์/มล มี ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (RNab) < 0.5 IU/mL ในขณะที่ ร้อยละ 24 ของผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ไม่มีอาการ มี RNab < 0.5 IU/mL
วิภาพร ใจเจริญทรัพย์ และ คณะ (2542)	Prospective study	TRC-ID (2-2-2-0-1-1) ร่วมกับ ERIG	9	-ผู้ป่วยเอชไอวีที่มี CD4+ > 300 เซลล์/มล มี RNab ≥ 0.5 IU/mL -ผู้ป่วยเอชไอวีที่มี CD4+ ≤ 300 เซลล์/มล มี RNab อยู่ในระดับต่ำ จนถึงตรวจวัดไม่ได้
ธีระพงษ์ ตัณฑวิเชียร และคณะ (2544)	Prospective study	Double doses of TRC-ID (4-4-4-0-2-2) ร่วมกับ HRIG	10	-3/7 ของผู้ป่วยเอชไอวีที่มี CD4+ ≤ 200 เซลล์/มล มี RNab < 0.5 IU/mL ในวันที่ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มแรก
สิริวรรณ สิริกวิน และคณะ (2552)	Prospective study	Modified eight site ID (8-8-8-8-8-)	27	-อาสาสมัครทุกคนได้รับยาต้านไวรัสและมี RNab > 0.5 IU/mL ที่วันที่ 14 ภายหลังได้รับวัคซีนเข็มแรก โดยอาสาสมัคร 9 คน (ร้อยละ 33) มี CD4+ ≤ 200 เซลล์/มล และมีอาสาสมัครเพียงรายเดียวที่มี CD4+ ≤ 100 เซลล์/มล
ธีระพงษ์ ตัณฑวิเชียร และ คณะ (2553)	Prospective study	Double doses of ESSEN IM (2-2-2-2-2) ให้ร่วมกับ Aluminium-adjuvanted Tetanus toxoid และร่วมกับ HRIG	15	-ผู้ป่วยเอดส์ที่มี CD4+ < 100 เซลล์/มล มี RNab อยู่ในระดับต่ำ จนถึงตรวจวัดไม่ได้

คณะผู้วิจัย (ปี พ.ศ.)	ลักษณะการศึกษา	สูตรการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า	จำนวนอาสาสมัครผู้ติดเชื้อเอชไอวี (คน)	ผลการศึกษา
อุษา ทิสยากร และ คณะ (2543)	Prospective controlled study	PrEP IM (1-0-1-0-1)	ผู้ป่วยเด็กที่ติดเชื้อเอชไอวี 13 คน อาสาสมัครเด็กสุขภาพดี 9 คน เป็นกลุ่มควบคุม	-ค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (GMTs) ในกลุ่มผู้ป่วยต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ -กลุ่มผู้ป่วยซึ่งมี CD4+ > 15% มีค่า GMTs of RNab สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยซึ่งมี CD4+ < 15% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ -ร้อยละ 30.8 ของผู้ป่วยที่มี CD4+ < 15% ไม่มี seroconversion
Luc B.S. Gelinck และ คณะ (2552)	Prospective controlled study	ฉีดวัคซีนแบบ IM 2 ครั้ง ในวันที่ 0 และ 84	ผู้ติดเชื้อเอชไอวี 30 คน อาสาสมัครสุขภาพดี 18 คน เป็นกลุ่มควบคุม	-ผู้ติดเชื้อเอชไอวีมี CD4+ เฉลี่ย 537 เซลล์/มล -ระดับของ antirabies IgG และ IgM ในผู้ติดเชื้อเอชไอวี ต่ำกว่าอาสาสมัครสุขภาพดี -พบการตอบสนองภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น ได้แก่ class switch จาก IgM เป็น IgGและ avidity maturation รวมถึงการมีRNab ที่เพียงพอในการป้องกันโรคในประชากรทั้ง 2 กลุ่ม
Azzoni L และ คณะ (2555)	Prospective controlled study	ฉีดวัคซีนแบบ IM 4 ครั้ง ในวันที่ 0, 7, 42 และ 378	ผู้ติดเชื้อเอชไอวีทั้งหมด53คน -27 คน รับยาต้านไวรัสสม่ำเสมอ -26 คน รับยาต้านไวรัสไม่สม่ำเสมอ โดยมีการหยุดยาในสัปดาห์ที่ 2 , 4 และ 8	-อาสาสมัครทุกคนมี CD4+ > 450 เซลล์/มล และ HIV viral load < 50 copies/ml -ภายหลังได้รับวัคซีน 3 เข็มแรก ร้อยละ 92 ของอาสาสมัครที่ได้รับยาต้านไวรัสสม่ำเสมอมี RNab > 0.5 IU/mL และ ร้อยละ 91 ของอาสาสมัครที่ได้รับยาต้านไวรัสไม่สม่ำเสมอมี RNab > 0.5 IU/mL เมื่อติดตามไป กลุ่มที่ได้รับยาต้านไวรัสสม่ำเสมอมีสัดส่วนของจำนวนอาสาสมัครที่มี RNab > 0.5 IU/mL มากกว่า และตั้งแต่วันที่ 182 กลุ่มอาสาสมัครที่ได้รับยาต้านไวรัสไม่สม่ำเสมอมี GMTs of RNab ต่ำกว่า และมีสัดส่วนของจำนวนอาสาสมัครที่มี RNab < 0.5 IU/mL มากกว่า ภายหลังได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น ร้อยละ 100 และ 95 ของอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับยาต้านไวรัสสม่ำเสมอ และ รับยาต้านไวรัสไม่สม่ำเสมอ กลับมามี RNab ≥ 0.5 IU/mL ตามลำดับ

†ESSEN IM ฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข้ากล้าม ครั้งละ 1 เข็ม ในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 28

‡TRC-ID ฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข้าในผิวหนัง ใช้วัคซีนจุดละ 0.1 มล ฉีดครั้งละ 2 จุด บริเวณต้นแขน 2 ข้าง ในวันที่ 0, 3, 7 และ ฉีดครั้งละ 1 จุด ในวันที่ 28 และ 90

§Modified eight site ID ฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข้าในผิวหนัง ใช้วัคซีนจุดละ 0.1 มล ฉีดครั้งละ 8 จุด บริเวณต้นแขน ต้นขา สะบัก หน้าท้องด้านล่าง ทั้ง 2 ข้าง ในวันที่ 0, 3, 7, 14, 28

*PrEP IM ฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบป้องกันล่วงหน้า เข้ากล้าม ครั้งละ 1 เข็ม ในวันที่ 0, 7 และ 28

ตารางที่ 5 สรุปรายงานผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องซึ่งได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า [16, 23-28]

ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง	คณะผู้รายงาน (ปี พ.ศ.)	จำนวนผู้ป่วย (คน)	สูตรการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าและผลการตรวจระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า
มะเร็งต่อมน้ำเหลือง (รวมทั้งสิ้น 4 คน)	Hay E. และ คณะ (2544)	1	-ครั้งที่ 1: ESSEN IM (1-1-1-1-1) ร่วมกับ HRIG RNab ในวันที่ 30 เท่ากับ 0.2 IU/mL -ครั้งที่ 2: Double doses of ESSEN IM (2-2-2-2-2) ร่วมกับ HRIG RNab ในวันที่ 10 หลังได้รับวัคซีนครั้งที่ 2 เท่ากับ 2.73 IU/mL ผู้ป่วยจึงได้เริ่มรับยาเคมีบำบัดหลังจากได้รับวัคซีนครบ -7 เดือนต่อมา RNab ลดลงเหลือ 0.15 IU/mL ผู้ป่วยจึงได้รับวัคซีน ครั้งที่ 3: ฉีดวัคซีนครั้งละ 1 เข็มเข้ากล้ามในวันที่ 0,3,7 แต่ RNab < 0.5 IU/mL ผู้ป่วยจึงได้รับวัคซีน ครั้งที่ 4: ฉีดวัคซีนครั้งละ 2 เข็มเข้ากล้ามในวันที่ 0,3,7 RNab เท่ากับ 3.84 IU/mL
	Kopel E. และ คณะ (2555)	1	ESSEN IM (1-1-1-1-1) ร่วมกับ HRIG ในวันที่ 15 หลังการฉีดวัคซีนเข็มแรก ผลตรวจจากซีรั่ม และ น้ำไขสันหลังพบ RNab < 0.5 IU/mL ผู้ป่วยเสียชีวิตจากการติดเชื้อในกระแสโลหิตก่อนได้รับวัคซีนเข็มสุดท้าย
	Rahimi P. และ คณะ (2558)	2	- ESSEN IM (1-1-1-1-1) - RNab > 0.5 IU/mL ในวันที่ 14 และ 35 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มแรก
มะเร็งเม็ดโลหิตขาว (acute myeloid leukemia) ขณะรับยาเคมีบำบัด	วิโรจน์ ไววานิชกิจ (2557)	1	ฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามจำนวน 2 เข็มในวันที่ 0 จากนั้นฉีดวัคซีนครั้งละ 1 เข็ม ในวันที่ 3, 7, 14, 30 (2-1-1-1-1) ร่วมกับ HRIG ไม่มีการตรวจระดับ RNab
มะเร็งไม่ระบุชนิด (ผู้ป่วยบางคนกำลังรับยาเคมีบำบัด)	Rahimi P. และ คณะ (2558)	5	- ESSEN IM (1-1-1-1-1) - RNab > 0.5 IU/mL ในวันที่ 14 และ 35 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มแรก

ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง	คณะผู้รายงาน (ปี พ.ศ.)	จำนวนผู้ป่วย (คน)	สูตรการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าและผลการตรวจระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า
ผู้ป่วยปลูกถ่ายอวัยวะและกำลังได้รับยากดภูมิคุ้มกัน (รวมทั้งสิ้น 12 คน)	Cramer CH. และ คณะ (2551)	ผู้ป่วยเด็กปลูกถ่ายไต จำนวน 3 คน	ESSEN IM (1-1-1-1-1) ร่วมกับ HRIG -หลังฉีดวัคซีน 1 เดือน ผู้ป่วยปลูกถ่ายไตจำนวน 2 จาก 3 คน มี RNab เพียงพอในการป้องกันโรค -หลังฉีดวัคซีน 6 เดือน ผู้ป่วยปลูกถ่ายไตทุกคนจึงมี RNab เพียงพอในการป้องกันโรค
		ผู้ป่วยเด็กปลูกถ่ายตับ จำนวน 5 คน (ค่ากลางของระยะเวลาภายหลังได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ 4.4 ปี)	-ผู้ป่วยปลูกถ่ายตับทุกคน มี RNab เพียงพอในการป้องกันโรคตั้งแต่เดือนที่ 1-12 ภายหลังการฉีดวัคซีน
	Rodriguez-Romo R. และ คณะ (2554)	ผู้ป่วยปลูกถ่ายไต จำนวน 1 คน	ESSEN IM (1-1-1-1-1) ร่วมกับ HRIG -ในวันที่ 10 และ 16 ภายหลังได้รับวัคซีน ผู้ป่วยมี RNab > 0.5 IU/mL ต่อมาในวันที่ 28 ตรวจพบ RNab < 0.5 IU/mL จึงมีการหยุดยา พร้อมทั้งปรับลดขนาดยากดภูมิคุ้มกัน และให้วัคซีนสูตร ESSEN IM ซ้ำอีกครั้ง
	Vora NM. และ คณะ (2558)	ผู้ป่วยปลูกถ่ายไต 1 คน ผู้ป่วยปลูกถ่ายตับ 1 คน ผู้ป่วยปลูกถ่ายหัวใจ 1 คน	ESSEN IM (1-1-1-1-1) ร่วมกับ RIG ภายหลังได้รับวัคซีนครบ 5 เข็ม ทุกคนมีระดับของ rabies virus neutralizing antibodies > 0.1 IU/mL ซึ่งเพียงพอในการป้องกันโรคตามเกณฑ์ของ Advisory Committee on Immunization Practices
ผู้ป่วยที่ได้รับยาสเตียรอยด์	อรพิน เลิศวรรณวิทย์ (2555) (ข้อมูลยังไม่ได้ตีพิมพ์)	ผู้ป่วยจำนวน 16 คน ได้รับยากลุ่มสเตียรอยด์ขนาด ≥ prednisolone 20 มิลลิกรัม/วัน เป็นเวลาอย่างน้อย 21 วัน หรือ ได้รับยากลุ่มสเตียรอยด์ในขนาดสะสม ≥ prednisolone 700 มิลลิกรัม และ กำลังรับประทานอยู่อย่างน้อย 10 มิลลิกรัม/วัน	Modified TRC-ID (2-2-2-0-2) -ในวันที่ 14 อาสาสมัครร้อยละ 81.3 มี RNab > 0.5 IU/mL โดยพบความสัมพันธ์ระหว่างโรคประจำตัวในกลุ่มโรคผิวหนังและระยะเวลาในการรับประทานยาสเตียรอยด์ที่มากกว่า 1 ปีในกลุ่มที่มีระดับ Nab น้อยกว่า 0.5 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ **หมายเหตุ:** โรคประจำตัวของผู้ป่วย ได้แก่ autoimmune hemolytic anemia, nephrotic syndrome, hypereosinophilia, Pemphigus vulgaris, Pemphigus foliaceus, Alopecia areata, idiopathic thrombocytopenia, COPD, Lupus profundus, Evan syndrome and bullous LE, SLE, rheumatoid arthritis

ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง	คณะผู้รายงาน (ปี พ.ศ.)	จำนวนผู้ป่วย (คน)	สูตรการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าและผลการตรวจระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า
ผู้ป่วยเด็กที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องปฐมภูมิ	สุวาณี เจริญลาภ และ คณะ (2559) (ข้อมูลยังไม่ได้ตีพิมพ์)	ผู้ป่วยจำนวน 11 คน ได้แก่ -X-linked agammaglobulinemia 3 คน -Leukocyte adhesion defect type III 1 คน -Hypogammaglobulinemia unspecified 1 คน -Hyper IgM syndrome 2 คน -Combined Immunodeficiency disorders 4 คน เปรียบเทียบกับอาสาสมัครเด็กสุขภาพดีจำนวน 9 คน	ฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข้ากล้าม ครั้งละ 1 เข็ม ในวันที่ 0, 3, 7 และ 14 (1-1-1-1) -ในวันที่ 14 และ 28 หลังการฉีดวัคซีน กลุ่มอาสาสมัครสุขภาพดีมี GMTs of RNab สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ -ผู้ป่วยส่วนใหญ่ ยกเว้น ผู้ป่วยกลุ่มที่เป็น -X-linked agammaglobulinemia มี RNab > 0.5 IU/mL ในวันที่ 14 และ 28

†ESSEN IM ฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข้ากล้าม ครั้งละ 1 เข็ม ในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 28

‡Modified TRC-ID ฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข้าในผิวหนัง ใช้วัคซีนจุดละ 0.1 มล ฉีดครั้งละ 2 จุด บริเวณต้นแขน 2 ข้าง ในวันที่ 0, 3, 7 และ 28

อย่างไรก็ตาม การศึกษาโดย สุดา สีบุญเรือง และ คณะ (ข้อมูลยังไม่ได้ตีพิมพ์) พบว่า ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่สุขภาพดีไม่มีอาการแสดงทางคลินิก (asymptomatic HIV-1 infection) รับยาต้านไวรัส และมีระดับ CD4+ สูงกว่า 200 เซลล์/มิลลิลิตร มี anamnestic immune response ต่อการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้น ด้วยสูตรการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3 อีกทั้งมีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies Neutralizing Antibody Titers) มากกว่า 0.5 IU/มล ตั้งแต่วันที่ 7 ภายหลังการฉีดวัคซีน เนื่องจาก การศึกษาในอาสาสมัครสุขภาพดีในอดีต พบว่า การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 ให้ผลการตอบสนองทางระดับภูมิคุ้มกันที่เหนือกว่า การฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ[29, 30] นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาที่แสดงถึง การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0, 3 และ 7 ให้ผลการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทั้งแบบ humoral and cell-mediated immune responses ดีกว่าการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 5 ครั้งในวันที่ 0, 3, 7, 14

และ 28 [31] ดังนั้น การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณ วัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 ซึ่งเป็นอีกสูตรทางเลือกของการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นเพื่อป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก [10] น่าจะสามารถกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทั้งแบบ humoral and cell-mediated immune responses ได้ดีกว่าการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3 ในผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวี

ในด้านความปลอดภัยของการรับวัคซีนในผู้ติดเชื้อเอชไอวี มีรายงานผลการศึกษาที่มีความขัดแย้งกันเกี่ยวกับผลจากการฉีดวัคซีนทำให้มีการกระตุ้นเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells และ macrophage ส่งผลให้มีการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือด[32, 33] ดังนี้

Stanley SK และคณะ [34] รายงานในปี พ.ศ.2539 ถึงผลของการฉีดวัคซีน tetanus toxoid เข็มกระตุ้น 1 ครั้ง ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 13 คน เทียบกับอาสาสมัครสุขภาพดี 10 คน พบว่าผู้ติดเชื้อเอชไอวีทุกคนมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือดชั่วคราว โดยมีปริมาณเชื้อไวรัสสูงสุดในวันที่ 3 – 28 ภายหลังได้รับวัคซีน การตรวจ peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) ของผู้ติดเชื้อเอชไอวี 10 จาก 13 คน พบมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ที่ติดเชื้อ และ การตรวจชิ้นเนื้อจากต่อมน้ำเหลืองที่เวลาก่อนและหลังการฉีดวัคซีนด้วยวิธี in situ hybridization และ polymerase chain reaction (PCR) พบมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนเชื้อไวรัสเอชไอวี โดยการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดมิได้มีความสัมพันธ์กับค่าเม็ดเลือดขาว ลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells พื้นฐานของผู้ป่วย

สำหรับการศึกษาการฉีดวัคซีนป้องกันไข้หวัดใหญ่ในผู้ติดเชื้อเอชไอวี Durando และ คณะ ไม่พบทั้งการเพิ่มขึ้นของเชื้อไวรัสเอชไอวี และ เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันไข้หวัดใหญ่ด้วยวัคซีนชนิด subunit ในขณะที่ Calmy A. และ คณะ ในปี พ.ศ. 2555 รายงานการศึกษาในผู้ติดเชื้อเอชไอวี 121 คน ซึ่งได้รับวัคซีนชนิด ASO3-adjuvanted split influenza A109/H1N1 จำนวน 2 ครั้ง ห่างกัน 3-4 สัปดาห์ พบว่า ร้อยละ 58 ของอาสาสมัครที่เดิมมีระดับ HIV RNA ในพลาสมา น้อยกว่า 20 copies/ml มีการตรวจพบระดับของ HIV RNA สูงขึ้นชั่วคราว (ค่ากลาง 152 copies/ml)

เมื่อผู้ติดเชื้อเอชไอวี 66 คน ได้รับวัคซีนป้องกันไข้หวัดใหญ่ชนิดไม่มี ASO3 ซ้ำในปีถัดมา พบร้อยละ 4.5 ของอาสาสมัครที่เดิมมีระดับ HIV RNA ในพลาสมา น้อยกว่า 20 copies/ml มีการตรวจพบระดับของ HIV RNA สูงขึ้นเล็กน้อย (ค่ากลาง 28 copies/ml) โดยมีเพียงร้อยละ 8 (2 จาก 25 คน) ของอาสาสมัครที่เคยมีค่า HIV-RNA สูงขึ้นจากการฉีดวัคซีนครั้งก่อนเท่านั้นที่พบมีการเพิ่มสูงขึ้นของ ระดับ HIV RNA ในการฉีดวัคซีนในปีถัดมา แสดงให้เห็นว่า การเพิ่มขึ้นของระดับ HIV RNA

นี้ อาจเป็นจาก non-antigen specific adjuvant effect [35] นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาของ ณัฐวัฒน์ อ่อนลมูล และ คณะ ในปี พ.ศ.2556 ซึ่งตรวจพบระดับ HIV RNA ในผู้ติดเชื้อเอชไอวี จำนวน 8 จาก 37 คน (ร้อยละ 22) ที่ได้รับวัคซีนป้องกันไข้หวัดใหญ่ชนิด monovalent non-adjuvanted influenza A H1N1 2009 แต่ไม่พบการเพิ่มขึ้นของการกระตุ้นเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells [36]

การศึกษาในวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบ เอ และ บี ไม่พบการฉีดวัคซีนทั้งสองชนิดนี้มีผลกับระดับของ HIV-RNA และ เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells [37-39]

การศึกษาของ Levin และ คณะ ซึ่งฉีดวัคซีนป้องกันโรคสุกใสในเด็กที่ติดเชื้อเอชไอวี ก็ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells อย่างมีนัยสำคัญ [40]

ยังไม่มีรายงานความล้มเหลวของการรักษาด้วยยาต้านไวรัสในผู้ติดเชื้อเอชไอวี อันเป็นผลมาจากการกระตุ้น เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells หรือ การเพิ่มปริมาณเชื้อไวรัสชั่วคราวภายหลังได้รับวัคซีน

ในแง่ของอาการไม่พึงประสงค์ภายหลังได้รับวัคซีน ผู้ติดเชื้อเอชไอวีซึ่งได้รับวัคซีนชนิดเชื้อตายสามารถมีอาการต่างๆ เช่น อาการปวด บวม แดง เฉพาะที่ ไข้ต่ำๆ ไม่สบายตัว ปวดศีรษะ ได้เช่นเดียวกับผู้รับวัคซีนสุขภาพดี มีเพียงรายงานของ Wallace MR และ คณะ ในปี พ.ศ.2547 ที่พบอัตราการเกิดอาการไม่พึงประสงค์ตามระบบ (systemic reactions) ในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ได้รับวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบ เอ สูงกว่า กลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ได้รับวัคซีนหลอก และอาสาสมัครสุขภาพดี (ร้อยละ 37, 23 และ 21 ตามลำดับ) [41] สำหรับข้อมูลของวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าซึ่งเป็นวัคซีนชนิดเชื้อตาย และ เป็นวัคซีนที่ใช้ในการศึกษานี้ จากการศึกษาต่างๆ ไม่พบมีผลข้างเคียงรุนแรงในผู้ติดเชื้อเอชไอวี อีกทั้งไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ CD4+ และ CD8+ และ ปริมาณเชื้อไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือด (HIV viral load) ภายหลังได้รับวัคซีน รวมถึงไม่มีผลต่อการดำเนินโรคของเอชไอวี เช่นเดียวกับวัคซีนชนิดอื่น [19, 21, 42]

ตารางที่ 6 สรุปผลการศึกษาของการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์หรือปริมาณไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือดในผู้ติดเชื้อเอชไอวี[19,21,42]

คณะผู้วิจัย (ปี พ.ศ.)	ลักษณะการศึกษา	สูตรการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า	จำนวนอาสาสมัครผู้ติดเชื้อเอชไอวี (คน)	จำนวนปีที่ติดตาม	ผลการศึกษา
อุษา ทิสยากร และ คณะ (2544)	Prospective study	PrEP	13	1	-ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ และ CD8+ ภายในระยะเวลา 1 เดือน ที่วันที่ 0, 7 และ 28 ภายหลังการฉีดวัคซีน - ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของปริมาณไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือดภายในระยะเวลา 1 ปี ที่วันที่ 0, 7,14,60,90,180 และ 360 ภายหลังการฉีดวัคซีน -ผู้ติดเชื้อเอชไอวีไม่มีอาการแสดงทางคลินิกที่แย่ลง หรือ มีผลข้างเคียงภายในระยะเวลา 1 ปี ภายหลังการฉีดวัคซีน
ศิริวรรณ สิริกวิน และ คณะ (2552)	Prospective study	PEP	27	1	-อาสาสมัครจำนวน 22 คน ได้รับยาต้านไวรัส -ค่าเฉลี่ยของระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ของอาสาสมัครเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ภายหลังการฉีดวัคซีน -มีการลดลงของปริมาณไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือดที่ 1 ปี เมื่อเทียบกับค่าตั้งต้น
Luc B.S. Gelinck และ คณะ (2552)	Prospective controlled study	Primary immunization and booster	30	5	การฉีดวัคซีนทั้งแบบ primary immunization และ แบบกระตุ้น (booster) ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือดที่ 1 สัปดาห์ ก่อน และ หลังการฉีดวัคซีน

[a] PrEP; pre-exposure rabies prophylaxis โดยการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงเข้ากล้าม ปริมาณครั้งละ 1 หลอด ที่บริเวณต้นแขน ในวันที่ 0, 7 และ 28

[b] PEP; post-exposure rabies prophylaxis, โดยการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงเข้าในผิวหนังปริมาณ จุดละ 0.1 มิลลิลิตร ครั้งละ 8 จุด ที่บริเวณต้นแขน ต้นขา สะบัก หน้าท้อง ทั้ง 2 ข้างในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 30 (8-8-8-8-8)

[c] Primary immunization โดยการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงเข้ากล้าม ปริมาณครั้งละ 1 หลอด ที่บริเวณต้นแขน ในวันที่ 0 และ booster โดยการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงเข้ากล้าม ปริมาณครั้งละ 1 หลอด ที่บริเวณต้นแขน ในวันที่ 90

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

โดยสรุป ในขณะที่ยังไม่มีหลักฐานชัดเจนว่า การฉีดวัคซีนจะส่งผลระยะยาวต่อการดำเนินโรคของการติดเชื้อเอชไอวี การรับวัคซีนน่าจะทำให้เกิดประโยชน์มากกว่าโทษ และ กรณีที่มีการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสเอชไอวีเกิดขึ้น ยาต้านไวรัสที่มีประสิทธิภาพน่าจะสามารถควบคุมปริมาณเชื้อไวรัสได้[33, 43]

ดังนั้น ปัจจุบัน การให้วัคซีน โดยเฉพาะอย่างยิ่งวัคซีนชนิดเชื้อตายแก่ผู้ติดเชื้อเอชไอวีถือว่ามีความปลอดภัย ส่วนวัคซีนชนิดเชื้อเป็น เช่น วัคซีนป้องกันโรคหัด-หัดเยอรมัน-คางทูม วัคซีนป้องกันโรคสุกใส วัคซีนป้องกันโรคไข้เหลือง ซึ่งเป็นอันตราย และเป็นข้อห้ามในผู้ป่วยเอชไอวีที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องอย่างรุนแรง นั้น ก็ยังอาจพิจารณาให้ได้ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells สูง [44]

เมื่อได้ทบทวนการศึกษาวิจัยต่างๆ รวมถึงความปลอดภัยของการฉีดวัคซีนจึงเกิดแนวคิดของงานวิจัยนี้ในการศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำ [45] ในผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวีที่สุขภาพดีไม่มีอาการแสดงทางคลินิกซึ่งรับการฉีดวัคซีนป้องกัน โรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 เทียบกับ การฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้ง ในวันที่ 0 และ 3 เพื่อผลการวิจัยสามารถนำไปสนับสนุนการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นในผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวีที่สุขภาพดีไม่มีอาการแสดงทางคลินิก ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน ทำให้ผู้ป่วยได้รับการป้องกันที่เหมาะสม มีประสิทธิภาพ ปลอดภัย ประหยัดเวลา และค่าใช้จ่าย และข้อมูลสามารถนำไปประกอบการจัดทำแนวทางการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังสัมผัสโรคที่เป็นมาตรฐานสำหรับ ผู้ติดเชื้อเอชไอวี หรือ ผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องในระดับชาติและสากล อีกทั้งผลการศึกษายังเป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปใช้ในการศึกษาทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยาและการตอบสนองต่อวัคซีนเข็มกระตุ้นในผู้ติดเชื้อเอชไอวี ต่อไป

1.2 คำถามของการวิจัย (Research question)

คำถามหลัก (Primary research question)

การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด purified Vero cell rabies vaccine (PVRV) เข็มกระตุ้นแบบภายหลังสัมผัสโรคด้วยสูตรการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนัง จำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 สามารถกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำ (humoral immune response; HIR) โดยการวัดระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies Neutralizing Antibody Titers) ในเลือดจากการตรวจด้วยวิธี Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT) ที่ 14 วัน ภายหลังการฉีดวัคซีนกระตุ้นเข็มแรก แตกต่างจาก สูตรการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3 โดยมีความแตกต่างเมื่อใช้ค่ามาตรฐานความแตกต่างของค่าเฉลี่ย 2 กลุ่ม (standardized mean difference) ที่ 0.6 ในผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวีที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ในกระแสเลือดตั้งแต่ 200 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป มีสุขภาพดี ไม่มีอาการและอาการแสดงของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสและความเจ็บป่วยของระยะเอดส์ ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อนโดยมิได้กำหนดระยะเวลาที่ห่างจากการรับวัคซีนครั้งสุดท้ายก่อนมาเข้าร่วมการศึกษา และ มารับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า ที่สถานเสาวภา สภากาชาดไทย หรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

1.เพื่อทราบลักษณะการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำ (humoral immune response) โดยการวัดระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies Neutralizing Antibody Titers) ในเลือดจากการตรวจด้วยวิธี Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT) ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบภายหลังสัมผัสโรค ด้วยสูตรการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 ในผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวีที่มีระดับเม็ดเลือดขาว ลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ในกระแสเลือดตั้งแต่ 200 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป มีสุขภาพดี ไม่มีอาการและอาการแสดงของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสและความเจ็บป่วยของระยะเอดส์ ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อนโดยมิได้กำหนดระยะเวลาที่ห่างจากการรับวัคซีนครั้งสุดท้ายก่อนมาเข้าร่วมการศึกษา

2.เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปใช้ในการศึกษาทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยา และการตอบสนองต่อการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในผู้ติดเชื้อเอชไอวีต่อไป

1.4 สมมติฐาน (Hypothesis)

สมมติฐานว่าง (Null hypothesis):

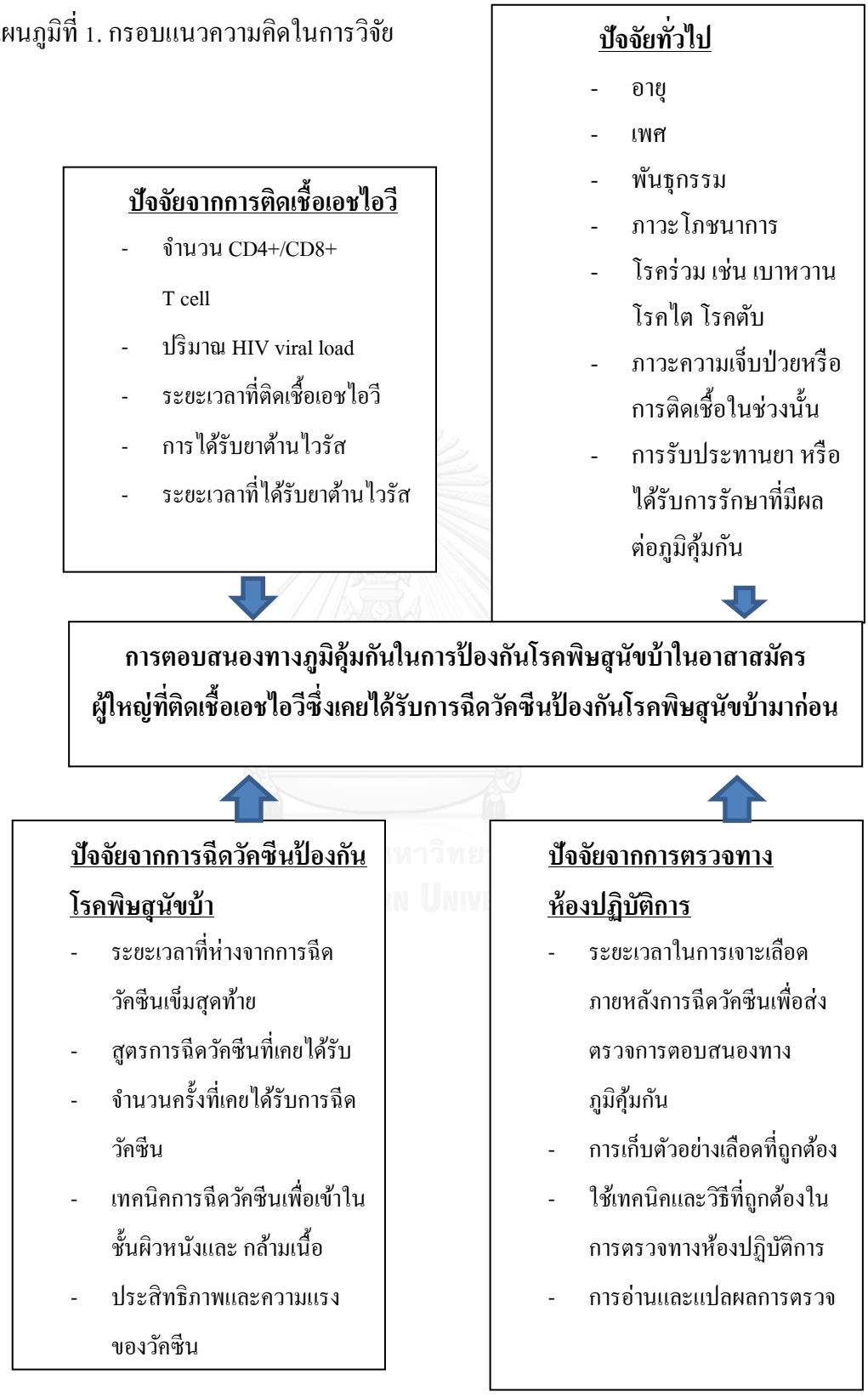
การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด purified Vero cell rabies vaccine (PVRV) เข็มกระตุ้นแบบภายหลังสัมผัสโรคด้วยสูตรการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 สามารถกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำ (humoral immune response)โดยการวัดระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies Neutralizing Antibody Titers) ในเลือดจากการตรวจด้วยวิธี Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT) ที่ 14 วัน ภายหลังการฉีดวัคซีนกระตุ้นเข็มแรก ไม่แตกต่างจาก สูตรการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3 เมื่อใช้ค่ามาตรฐานความแตกต่างของค่าเฉลี่ย 2 กลุ่ม (standardized mean difference) ที่ 0.6 ในผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวีที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ในกระแสเลือดตั้งแต่ 200 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป มีสุขภาพดี ไม่มีอาการและอาการแสดงของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสและความเจ็บป่วยของระยะเอดส์ ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อนโดยมิได้กำหนดระยะเวลาที่ห่างจากการรับวัคซีนครั้งสุดท้ายก่อนมาเข้าร่วมการศึกษา และ มารับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า ที่สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

สมมติฐานแย้ง (Alternative hypothesis):

การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด purified Vero cell rabies vaccine (PVRV) เข็มกระตุ้นแบบภายหลังสัมผัสโรคด้วยสูตรการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 สามารถกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำ (humoral immune response)โดยการวัดระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies Neutralizing Antibody Titers) ในเลือดจากการตรวจด้วยวิธี Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT) ที่ 14 วัน ภายหลังการฉีดวัคซีนกระตุ้นเข็มแรก แตกต่างจาก สูตรการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3 เมื่อใช้ค่ามาตรฐานความแตกต่างของค่าเฉลี่ย 2 กลุ่ม (standardized mean difference) ที่ 0.6 ในผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวีที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ในกระแสเลือดตั้งแต่ 200 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป มีสุขภาพดี ไม่มีอาการและอาการแสดงของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสและความเจ็บป่วยของระยะเอดส์ ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อนโดยมิได้กำหนดระยะเวลาที่ห่างจากการรับวัคซีนครั้งสุดท้ายก่อนมาเข้าร่วมการศึกษา และ มารับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า ที่สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

1.5 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)

แผนภูมิที่ 1. กรอบแนวความคิดในการวิจัย



1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumption)

1. การรับอาสาสมัครผู้ติดเชื้อเอชไอวีเข้าร่วมวิจัย สามารถใช้หลักฐานแสดงการติดเชื้อเอชไอวีในอดีตเพื่อยืนยันสถานะการติดเชื้อของอาสาสมัครได้

2. อาสาสมัครผู้ติดเชื้อเอชไอวี เป็นผู้ป่วยที่สุขภาพดี ไม่มีอาการแสดงทางคลินิก (asymptomatic HIV infection) มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ในกระแสเลือดตั้งแต่ 200 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป ไม่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องอื่นๆ นอกเหนือจากการติดเชื้อเอชไอวี ไม่มีโรคประจำตัวที่ต้องรับประทานยาซึ่งอาจมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน จากการซักประวัติและตรวจร่างกายไม่มีอาการและอาการแสดงของการติดเชื้อฉวยโอกาสมาภายในระยะเวลา 1 ปีก่อนเข้าร่วมโครงการวิจัย ซึ่งได้แก่

- เชื้อราในปาก
- ตุ่มคันทั่วตัวโดยไม่ทราบสาเหตุ (Pruritic Papular Eruptions : PPE)
- ไข้เรื้อรังไม่ทราบสาเหตุ
- มีอาการไอติดต่อกันเกิน 2 สัปดาห์
- อุจจาระร่วงเรื้อรังที่ไม่สามารถหาสาเหตุได้นานเกินกว่า 2 สัปดาห์
- น้ำหนักลด มากกว่าร้อยละ 10 ในระยะเวลา 3 เดือน
- ต่อมน้ำเหลืองโตหลายตำแหน่ง

ไม่มีความเจ็บป่วยของระยะเอดส์ (AIDS-defining illnesses) ตาม Center of Disease Control (CDC) classificationของประเทศสหรัฐอเมริกา[46] มาภายในระยะเวลา 1 ปีก่อนเข้าร่วมโครงการวิจัย ได้แก่

- Candidiasis of bronchi, trachea, or lungs
- Candidiasis, esophageal
- Cervical cancer, invasive
- Coccidioidomycosis, disseminated or extrapulmonary
- Cryptococcosis, extrapulmonary
- Cryptosporidiosis, chronic intestinal
- Cytomegalovirus disease (other than liver, spleen, or nodes)
- Cytomegalovirus retinitis (with loss of vision)
- Encephalopathy, HIV-related
- Herpes simplex: chronic ulcer(s) (มากกว่า 1 เดือน); or bronchitis, pneumonitis, or esophagitis
- Histoplasmosis, disseminated or extrapulmonary

- Isosporiasis, chronic intestinal (มากกว่า 1 เดือน)
- Kaposi's sarcoma
- Lymphoma, Burkitt's (or equivalent term)
- Lymphoma, immunoblastic (or equivalent)
- Lymphoma, primary, of brain
- *Mycobacterium avium* complex or *M. kansasii*, disseminated or extrapulmonary
- Mycobacterium tuberculosis, any site (pulmonary or extrapulmonary)
- Mycobacterium, other species or unidentified species, disseminated or extrapulmonary
- *Pneumocystis* pneumonia
- Pneumonia, recurrent
- Progressive multifocal leukoencephalopathy
- *Salmonella* septicemia, recurrent
- Toxoplasmosis of brain
- Wasting syndrome due to HIV

ร่วมกับการประเมินทางคลินิกอยู่ในเกณฑ์ปกติ

3. อาสาสมัครที่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน หมายถึง อาสาสมัครที่มีหลักฐานยืนยันเคยรับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบก่อน หรือ หลังสัมผัสโรคด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยง โดยได้รับวัคซีนอย่างน้อย 3 ครั้ง ในระยะเวลา 1-4 สัปดาห์ ก่อนเข้าร่วมโครงการวิจัย และในขณะนั้นได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อเอชไอวีแล้ว ทั้งนี้ ไม่จำกัดสูตรการฉีดวัคซีนที่ผู้ป่วยเคยได้รับ และมิได้กำหนดระยะเวลาที่ห่างจากการรับวัคซีนครั้งสุดท้ายก่อนมาเข้าร่วมการศึกษา

4. วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่ใช้ในการวิจัยเป็นวัคซีนชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง (purified Vero cell rabies vaccine: PVRV; Verorab ®, Importer / Manufacturer: Sanofi Pasteur Ltd., Thailand/Sanofi Pasteur S.A., France / Lot no. L 1101) ซึ่งมีความแรง (potency) 4.0 IU/0.5 mL

1.7 การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่ใช้ในการวิจัย (Operational definition)

1. การเจาะเลือดจากอาสาสมัคร เจาะจากเส้นเลือดดำบริเวณข้อพับแขน (cubital vein) ปริมาณครั้งละ ไม่เกิน 30 มิลลิลิตร

2. การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข้ากล้าม ใช้ตำแหน่งฉีดบริเวณกล้ามเนื้อหัวไหล่ (deltoid muscle) แทงเข็มตั้งฉากกับผิวหนังที่ตำแหน่ง 2 – 3 นิ้ว ต่ำกว่า acromion process ตรงจุดกลางด้านข้างของแขน

3.การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข้าในผิวหนัง ใช้ตำแหน่งฉีดบริเวณหัวไหล่ และ ต้นขา แทงเข็มทำมุมประมาณ 10-15 องศากับผิวหนัง โดยหงายปลายตัดเข็มขึ้น และแทงเข็มเข้าไปเพียงปลายตัดเข็มเลยเข้าไปในผิวหนังเล็กน้อย ฉีดวัคซีนปริมาณที่ต้องการจนเห็นผิวหนังมีลักษณะนูนคล้ายผิวส้ม

4.ระดับ Rabies neutralizing antibody titers ที่เพียงพอในการป้องกันโรค ตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก หมายถึง ระดับ Rabies neutralizing antibody ซึ่งตรวจโดยวิธี Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT) มีค่ามากกว่า หรือ เท่ากับ 0.5 IU/มิลลิลิตร

1.8 ข้อพิจารณาทางจริยธรรม (Ethical considerations)

1. งานวิจัยนี้มีหลักฐานสนับสนุน คาดว่าจะเกิดผลดีมากกว่าผลเสียต่ออาสาสมัคร

2. วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่ใช้ในการวิจัย เป็นวัคซีนชนิดเชื้อตาย ซึ่งมีความปลอดภัย ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ CD4+/CD8+ และ ปริมาณเชื้อไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือด (HIV viral load) ภายหลังได้รับวัคซีน รวมถึงไม่มีผลต่อการดำเนินโรคของเอชไอวี เช่นเดียวกับวัคซีนชนิดอื่น

3. การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าทำในอาสาสมัครที่ยังมิได้สัมผัสโรคจริง แต่มีความเสี่ยงสูงต่อการสัมผัสโรคจากปัจจัยของการอยู่อาศัยในประเทศที่เป็นแหล่งระบาดของโรค การฉีดวัคซีนจึงอาจเป็นผลดีต่ออาสาสมัคร

4. ผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นจากการฉีดวัคซีน ส่วนใหญ่เป็นเพียงอาการเฉพาะที่ซึ่งมักหายได้เองภายใน 2-3 วัน ในกรณีที่มีอาการไม่พึงประสงค์อันเป็นผลจากการศึกษาวิจัยเกิดขึ้น อาสาสมัครจะได้รับการติดตามและดูแลรักษาอาการนั้นๆตลอดระยะเวลาของการศึกษาวิจัย หากอาสาสมัครมีอาการข้างเคียงใดๆ ที่เกี่ยวข้องกับการฉีดวัคซีนหรือการเจาะเลือดจากโครงการวิจัย ผู้วิจัยจะเป็นผู้รับผิดชอบหากเกิดเหตุการณ์ไม่พึงประสงค์นั้นๆขึ้น โดย อาสาสมัครจะได้รับการดูแลรักษาที่สถานเสาวภา และ/หรือ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ตามดุลยพินิจของแพทย์

ผู้ดำเนินการวิจัย โดยทางสถานเสาวภา สภากาชาดไทย จะเป็นผู้รับผิดชอบค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาล

4. อาสาสมัครทุกคนได้รับทราบข้อมูลรายละเอียดของการวิจัย ตลอดจนประโยชน์ที่ได้รับและความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้น รวมถึงสามารถซักถามข้อสงสัยก่อนให้ความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรเพื่อเข้าร่วมโครงการวิจัย อาสาสมัครมีสิทธิที่จะถอนตัวออกจากการวิจัยเมื่อใดก็ได้โดยการถอนตัวนั้นไม่ก่อให้เกิดอคติในการได้รับการดูแลรักษาพยาบาลต่อไป นอกจากนี้ ข้อมูลทั้งหมดของอาสาสมัครจะถูกเก็บเป็นความลับ ไม่มีการระบุชื่อและข้อมูลใดๆที่อาจใช้ระบุถึงตัวอาสาสมัครได้ลงในแบบบันทึกข้อมูล หรือ ตัวอย่างเลือดที่ส่งตรวจ โดยจะใช้เป็นรหัสในการระบุตัวของอาสาสมัครแทน การนำเสนอผลงานวิจัย จะนำเสนอในภาพรวมของการศึกษา โดยไม่มีการระบุชื่อและข้อมูลใดๆที่อาจใช้ระบุถึงตัวอาสาสมัครได้

1.9 ข้อจำกัดทางการวิจัย (Limitation)

การหาอาสาสมัครผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวี ที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ในกระแสเลือดตั้งแต่ 200 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป มีสุขภาพดี ไม่มีอาการและอาการแสดงของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสและความเจ็บป่วยของระยะเอดส์ ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อนและมารับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่สถานเสาวภา สภากาชาไทย เป็นข้อจำกัดหลักของการศึกษานี้ อย่างไรก็ตามผู้วิจัยได้เลือกทำการศึกษาที่สถานเสาวภา สภากาชาดไทย ซึ่งเป็นสถานพยาบาลที่มีผู้มารับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเป็นจำนวนมาก อีกทั้งเป็นที่รับปรึกษาให้แก่บุคลากรทางการแพทย์ในกรณีผู้ป่วยที่มีความซับซ้อนในการดูแลรักษาและฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า และทำการคัดกรองอาสาสมัครเพิ่มอีกจากโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จึงเพิ่มโอกาสในการคัดเลือกอาสาสมัครเข้าสู่การศึกษานี้

1.10 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Expected benefit and application)

1. ทำให้ทราบลักษณะการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบภายหลังสัมผัสโรค ด้วยสูตรการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 ในผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวีที่ มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ในกระแสเลือดตั้งแต่ 200 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป สุขภาพดีไม่มีอาการแสดงทางคลินิก ไม่มีอาการและอาการแสดงของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสและความเจ็บป่วยของระยะเอดส์ ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อนโดยมิได้กำหนดระยะเวลาที่ห่างจากการรับวัคซีนครั้งสุดท้ายก่อนมาเข้าร่วมการศึกษา และ มารับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า ที่ สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

2. เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการพิจารณาในการจัดทำแนวทางการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังสัมผัสโรค ที่เป็นมาตรฐานสำหรับผู้ติดเชื้อเอชไอวีในระดับชาติและสากล ทั้งนี้ หากผลการศึกษาสามารถสนับสนุนการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นให้แก่ผู้ติดเชื้อเอชไอวีบางกลุ่ม จะทำให้ผู้ติดเชื้อได้รับการป้องกันที่เหมาะสม มีประสิทธิภาพ ปลอดภัย ประหยัดเวลา และค่าใช้จ่าย

3. เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานนำไปใช้ในการศึกษาทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยา และการตอบสนองต่อวัคซีนเข็มกระตุ้นในผู้ติดเชื้อเอชไอวี

4.เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานนำมาใช้ในการพัฒนาวัคซีนหรือวิธีการให้วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.11 อุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการแก้ไข (Obstacles and strategies to solve the problems)

ตารางที่ 7 สรุปอุปสรรคที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการแก้ไข

ปัญหา	การแก้ไข
1. การหาอาสาสมัครที่มีคุณสมบัติตรงตามหลักเกณฑ์ของการวิจัยได้ครบตามที่กำหนด	- เลือกทำการศึกษาหลักที่คลินิกป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า สถานเสาวภา สภากาชาดไทย ซึ่งเป็นสถานพยาบาลที่มีผู้มารับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเป็นจำนวนมาก และเป็นศูนย์ให้คำแนะนำแก่บุคลากรทางการแพทย์ ในกรณีของผู้ป่วยที่สัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าที่มีปัญหาในการรักษา - เพิ่มจำนวนสถานที่คัดกรองอาสาสมัคร - กรณีที่มีอาสาสมัครออกจากการวิจัยภายหลังจากที่รับอาสาสมัครเข้าในการวิจัยครบแล้ว ผู้ดำเนินการวิจัยจะเชิญอาสาสมัครรายใหม่เข้าร่วมการวิจัยให้ได้ครบตามจำนวนตัวอย่างที่กำหนดไว้
2. อาสาสมัครมาฉีดวัคซีน หรือเจาะเลือดไม่ตรงตามกำหนดนัด	- อาสาสมัครทุกคนได้รับบัตรนัด ซึ่งมีกำหนดการมารับวัคซีนและเจาะเลือดทั้งหมด ตั้งแต่วันแรกที่เข้าร่วมการวิจัย - ผู้ดำเนินการวิจัยโทรศัพท์นัดหมายอาสาสมัครก่อนถึงวันนัด 1-2 วัน - ผู้ดำเนินการวิจัยโทรศัพท์ติดตาม กรณีที่อาสาสมัครไม่มาตามกำหนดนัด - สำหรับการเจาะเลือดในวันที่ 7 และ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น อนุญาตให้มีการเจาะเลือดก่อน หรือหลังวันนัด ได้ 1 และ 3 วัน ตามลำดับ
3. อาสาสมัครเกิดอาการไม่พึงประสงค์ หรือ ผลข้างเคียงจากการเจาะเลือด หรือ ฉีดวัคซีน	- ผู้ร่วมดำเนินการวิจัย ซึ่งได้รับมอบหมายให้ทำการเจาะเลือด หรือ ฉีดวัคซีน เป็นผู้มีประสบการณ์ในการทำหัตถการดังกล่าว และปฏิบัติตามหลัก universal precaution - ผู้ดำเนินการวิจัยติดตามและดูแลรักษาหากอาสาสมัครมีอาการไม่พึงประสงค์ หรือผลข้างเคียงเกิดขึ้น
4. การวิจัยมีค่าใช้จ่ายและงบประมาณสูง	- ขอทุนสนับสนุนจากองค์กรที่เป็นกลาง

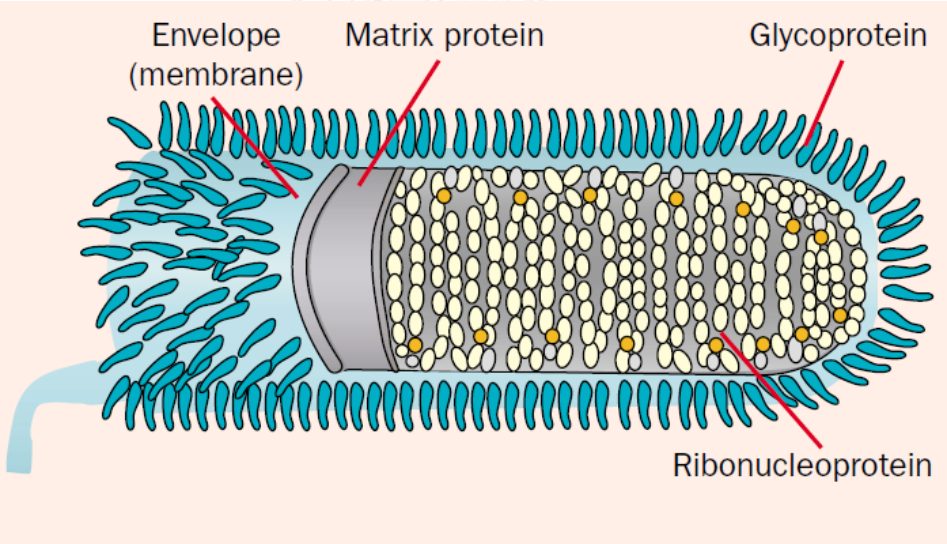
บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 โครงสร้างของเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies virus structure)

เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าเป็น negative-stranded RNA virus มีรูปร่างคล้ายลูกกระสุน (bullet-shaped morphology) ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนโครงสร้าง 5 ชนิด ได้แก่ nucleocapsid protein (N), phosphoprotein (P), matrix protein (M), glycoprotein (G) และ RNA – dependent RNA polymerase หรือ large protein (L) [3] ดังรูป

รูปที่ 1 โครงสร้างของเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า (รูปประกอบจากเอกสารอ้างอิงที่ 3)

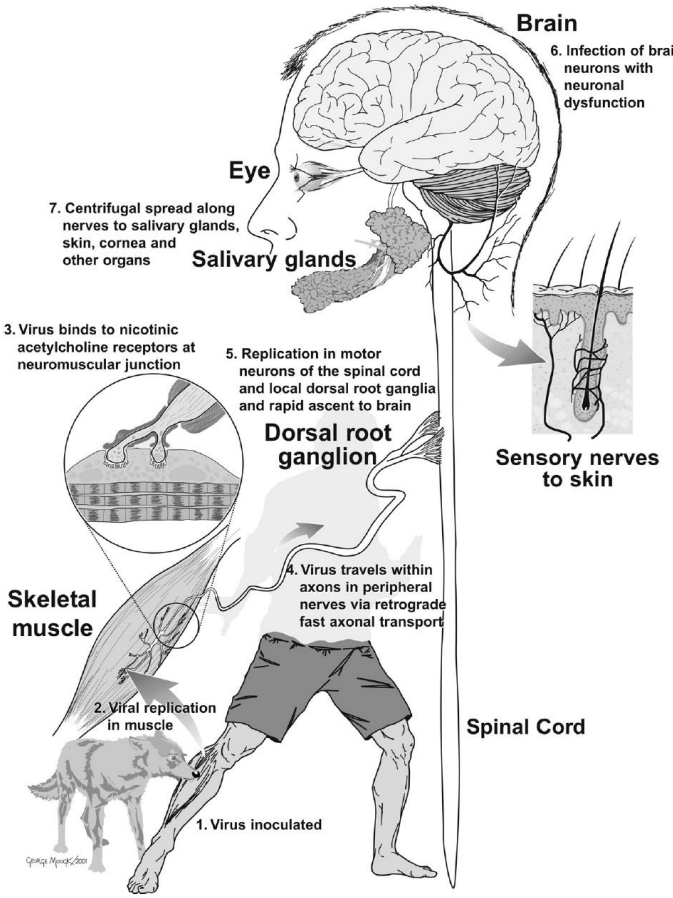


ทั้งนี้ glycoprotein (G) เป็นส่วนที่มีความสำคัญในกระบวนการที่เชื้อไวรัสจับกับตัวรับของเซลล์ (cell surface receptor) และ รวมเข้ากับ cellular membrane (endocytosis) จึงเป็นส่วนที่ทำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทั้งทางด้านสารน้ำโดยการสร้างนิวทราไลซิ่งแอนติบอดี (neutralizing antibody) และ ทางด้านเซลล์ของทั้งเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cell และ CD8+ T cell [47]

2.2 พยาธิกำเนิดของโรคพิษสุนัขบ้า (Pathogenesis of rabies)

เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า เป็น neurotropic virus ซึ่งมีการแพร่กระจายของเชื้อไปทางระบบประสาทส่วนปลาย และรุกล้ำระบบประสาทส่วนกลางในที่สุด พยาธิกำเนิดของโรคภายหลังได้รับเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า เริ่มจากเชื้อไวรัสมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในกล้ามเนื้อใกล้กับบริเวณที่สัมผัสโรค จากนั้นเชื้อไวรัสจะจับกับ nicotinic receptors ที่ neuromuscular junction และไปตาม axon ในเส้นประสาทส่วนปลายด้วยกระบวนการ retrograde fast axonal transport แล้วจึงแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอีกครั้งใน motor neurons ของ dorsal root ganglia และ ไขสันหลัง ก่อนที่จะเข้าสู่สมอง ทำให้เกิดอาการแสดงของสมองอักเสบ และ มีการแพร่กระจายของเชื้อออกจากสมองไปตามเส้นประสาทเพื่อไปยังอวัยวะอื่นๆ เช่น ต่อมน้ำลาย กระจกตา และ ผิวหนัง ต่อไป [48]

รูปที่ 2 พยาธิกำเนิดของโรคพิษสุนัขบ้า (รูปประกอบจากเอกสารอ้างอิงที่ 48)



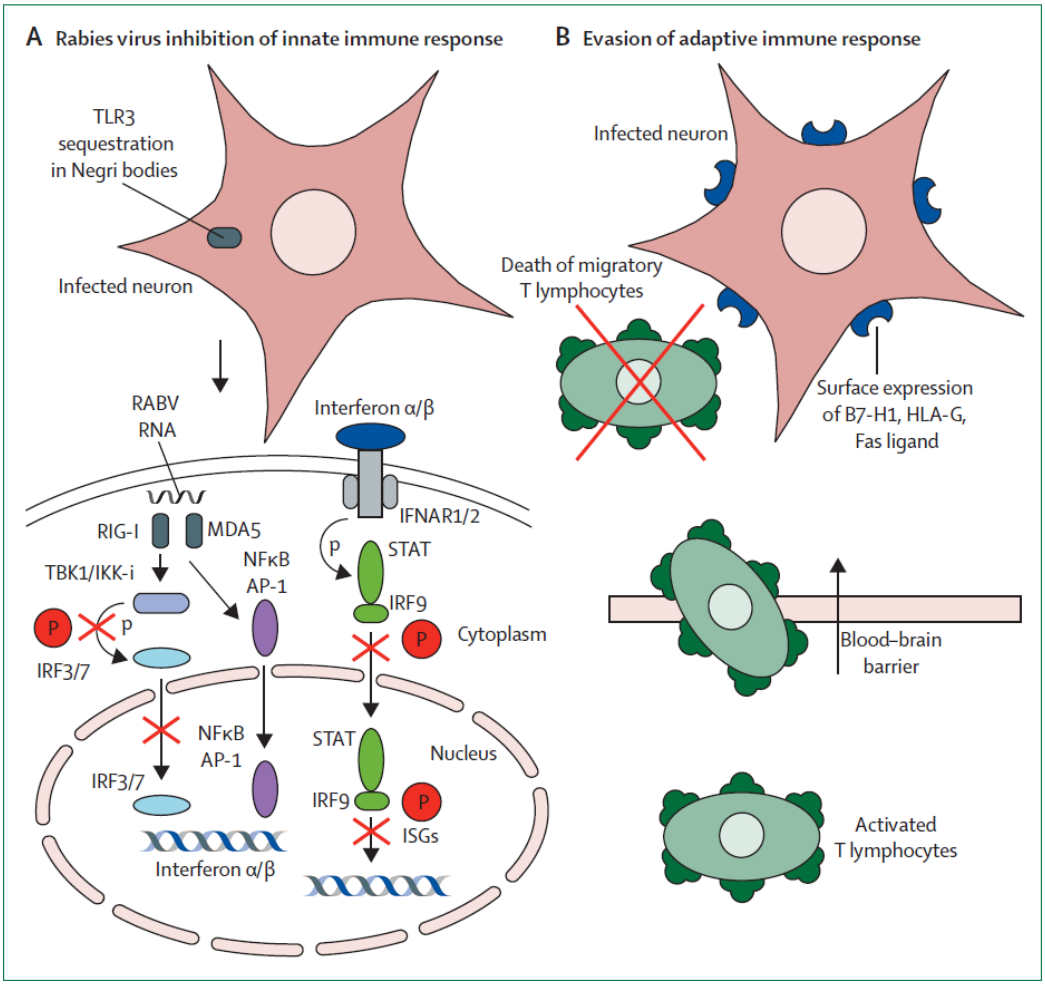
2.3 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า (Immune responses to rabies virus infection)

ข้อมูลส่วนใหญ่ของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้านั้น ได้มาจากการศึกษาในสัตว์ทดลอง โดยแต่ละการศึกษาอาจมีการเลือกใช้สายพันธุ์ของเชื้อไวรัสที่แตกต่างกัน เชื้อไวรัสสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดอาการสมองอักเสบและตาย เรียกว่า acute rabies virus (acute RABV) ส่วนเชื้อไวรัสสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงน้อยกว่าทำให้เกิดเพียงอาการอัมพาตแต่ไม่ตาย เรียกว่า abortive rabies virus (abortive RABV) การศึกษาโดยการฉีดเชื้อไวรัสทั้งสองชนิดนี้เข้าไปยังขาหลังของหนูทดลอง พบว่า ทำให้เกิดการตอบสนองในระยะแรกที่ภายนอกระบบประสาทโดยการวัดปริมาณของเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด T cells ที่สร้างไซโตไคน์ และแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อในซีรั่ม ได้คล้ายคลึงกัน [49, 50]

ต่อมาเมื่อการติดเชื้อแพร่กระจายไปยังระบบประสาท พบว่าเซลล์ประสาท เช่น glial cells และ neurons จะมีการแสดงออกของ toll-like receptor (TLR) เช่น TLR-3 [51] และมีการสร้างไซโตไคน์และคีโมไคน์หลายชนิด เช่น อินเตอร์ฟีรอนเบตา (interferon-β), ทูเมอร์เนโครซิสแฟคเตอร์อัลฟา (tumor necrosis factor – α), อินเตอร์ลิวคิน-6 (IL-6), CCL-5 และ CXCL-10 แสดงให้เห็นว่า ระบบประสาทสามารถตรวจจับการรุกล้ำของเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า และตอบสนองด้วยภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (innate immunity) [52] ผลของไซโตไคน์และคีโมไคน์ทำให้มีการกระตุ้นเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด T cells และ B cells ให้มีการสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส และดึงดูดเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD8+ T cells ผ่าน blood brain barrier เพื่อกำจัดเชื้อไวรัสเป็นการตอบสนองด้วยภูมิคุ้มกันที่จำเพาะ (adaptive immunity) [53] ทั้งนี้ในการติดเชื้อ abortive RABV พบว่า เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD8+ T cells สามารถฆ่าเซลล์ประสาทที่ติดเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า ไม่ให้เชื้อเข้าสู่สมอง ตรงกันข้ามกับการติดเชื้อ acute RABV ซึ่งเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าสามารถทำให้เซลล์ประสาทที่ติดเชื้อมีการแสดงออกของ FasL ซึ่งสามารถจับกับโมเลกุล Fas บนผิวของเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD8+ T cells ทำให้เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD8+ T cells เกิด apoptosis [54] กลไกนี้เป็นเพียงหนึ่งในกลไกที่เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าใช้ในการหลบหลีกจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย นอกจากนี้ยังมีปัจจัยและกลไกอื่นๆ ทั้งที่เป็นสาเหตุและสนับสนุน ได้แก่ ระบบประสาทเป็นตำแหน่ง immunoprivileged เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าสามารถกดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกาย (immunosuppression) ปริมาณเชื้อไวรัสที่แพร่จากการสัมผัสโรคจากสัตว์ เช่น ค้างคาว มีปริมาณน้อยมากจนไม่กระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าทำให้มีการแสดงออกของ HLA-G ซึ่งเป็น major histocompatibility complex (MHC) class I และ B7-H1 เชื้อไวรัสสามารถป้องกันการกระตุ้น

TLR-3 ในส่วนไซโตพลาสซึมของเซลล์ประสาท RABV phosphoprotein (P) ยับยั้ง phosphorylation ของ IRF 3/7 ทำให้มีการเปลี่ยนแปลง transcription ของยีนของ interferon α/β และยับยั้ง STAT signaling pathway [55-57] ดังรูป

รูปที่ 3 กลไกที่เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าใช้ในการหลบหลีกจากระบบภูมิคุ้มกัน (rabies virus immune-evasion mechanisms) (รูปประกอบจากเอกสารอ้างอิงที่ 55)



2.4 บทบาทของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันที่จำเพาะภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบหลังสัมผัสโรค (Roles of immune cells in adaptive immunity after post-exposure rabies prophylaxis)

เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด T cells

เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด T cells มีบทบาทในกลไกการป้องกันการติดเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า หนูที่ไม่มีเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด T cells ไม่สามารถสร้างแอนติบอดีภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าได้ และแม้จะได้รับการฉีดวัคซีนแล้ว แต่หากหนูทดลองถูกทำให้จำนวนเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ลดลง หนูนั้นก็จะไม่สามารถทนทานต่อการฉีดเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า [58]

เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด B cells

เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด B cells สามารถสร้างนิวทราไลซิ่งแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสด้วยความช่วยเหลือจากเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells นิวทราไลซิ่งแอนติบอดีนี้มีส่วนสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อ โดยพบว่า ระดับของนิวทราไลซิ่งแอนติบอดีมีความสัมพันธ์กับความทนต่อการติดเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าของหนูทดลอง หนูที่มีระดับแอนติบอดีสูงจะสามารถทนต่อการได้รับเชื้อมากกว่า การศึกษาของ Dietzschold และคณะ ในปี พ.ศ.2536 แสดงให้เห็นว่า นิวทราไลซิ่งแอนติบอดี สามารถกำจัดเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าออกจากระบบประสาทโดยไม่ต้องอาศัยกระบวนการ antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) หรือ complement-dependent lysis อย่างไรก็ตาม เชื่อว่า บทบาทหลักในการป้องกันโรคของนิวทราไลซิ่งแอนติบอดีน่าจะเกิดขึ้นก่อนที่เชื้อจะเข้าสู่ระบบประสาท [59]

ปัจจุบัน วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าทุกชนิดที่ใช้ในมนุษย์และสัตว์เลี้ยงเป็นวัคซีนชนิดเชื้อตายที่มีส่วนประกอบของโครงสร้างโปรตีน N, P, M, G และ L ของเชื้อไวรัสซึ่งจะกระตุ้นการตอบสนองของเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cell และ B cell การใช้วัคซีนชนิดเชื้อเป็นซึ่งเป็นเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าที่ทำให้อ่อนฤทธิ์ หรือ recombinant virus เช่น vaccinia virus ที่มีการแสดงออกของโครงสร้างโปรตีน G เพื่อกระตุ้นการตอบสนองของเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD8+ T cell นั้น ถูกจำกัดอยู่เพียงการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรคพิษสุนัขบ้าต่อสัตว์ป่าเท่านั้น

2.5 การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Laboratory test for rabies vaccination)

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อประเมินการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า สามารถตรวจได้ทั้งการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำ (humoral immune response) และ การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากเซลล์ (cell-mediated immune response) เนื่องจากการวัดระดับของนิวทราไลซิ่งแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้ามีความสำคัญในการประเมินระดับภูมิคุ้มกันที่จะปกป้องผู้รับการฉีดวัคซีนจากการติดเชื้อ ดังที่องค์การอนามัยโลกกำหนดให้มีระดับของ Rabies neutralizing antibody อย่างน้อย 0.5 IU/ml จึงจะถือว่ามีระดับภูมิคุ้มกันที่เพียงพอในการป้องกันโรค [10] การศึกษาเพื่อดูการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าส่วนใหญ่จึงนิยมใช้การตรวจ Rabies neutralizing antibody ดังกล่าว

ในที่นี้จะขอกล่าวถึงเทคนิคการตรวจหาระดับนิวทราไลซิ่งแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies neutralizing antibody) ที่ใช้บ่อย ดังนี้ [60]

1. Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT)
2. Fluorescent Antibody Virus Neutralization Test (FAVN)
3. Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

1.Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT)

เป็นการตรวจมาตรฐาน (gold standard) และ เป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะต่อเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า ที่สามารถใช้ตรวจได้ทั้งตัวอย่างจากคนหรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม โดยการนำตัวอย่างที่ต้องการตรวจ ได้แก่ ซีรั่ม พลาสม่า และ น้ำไขสันหลัง มาเจือจางที่ความเข้มข้นต่างๆกันใน 96-well plate จากนั้นเติมไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าเชื้อเป็น โดยปกติใช้สายพันธุ์ CVS-11 ที่ทราบความแรงแน่นอนแล้ว ซึ่งมักใช้ที่ 30-100 $TCID_{50}$ ($TCID_{50}$: 50% Tissue Culture Infection Dose) ใส่ในปริมาณเท่าๆกันทุกหลุม ทิ้งไว้ 90 นาที หลังจากนั้นเติมเซลล์เพาะเลี้ยง เช่น BHK-21 (Baby Hamster Kidney Cells) หรือ NA (Neuroblastoma cells) ในปริมาณเซลล์ที่เท่ากันทุกหลุม เลี้ยงเซลล์เป็นเวลาประมาณ 21 ชั่วโมง หากตัวอย่างที่ต้องการตรวจ มีแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อไวรัสและ neutralizeไวรัสได้ จะทำให้ไม่เหลือไวรัสที่จะติดเชื้อเซลล์ได้ เมื่อนำเซลล์มา fixed และย้อมด้วย conjugate ซึ่งเป็นแอนติบอดีอีกตัวที่มีความจำเพาะต่อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าเช่นกัน และติดสลากด้วยสารเรืองแสงสีเขียว (FITC) จะไม่พบเซลล์ที่มีการเรืองแสง แต่ถ้าตัวอย่างซีรั่ม

ไม่มีแอนติบอดี ไวรัสก็ไม่ถูก neutralizeและเจริญในเซลล์เพาะเลี้ยงได้ เมื่อย้อมด้วย conjugate เซลล์ที่มีไวรัสจะเห็นสีเขียวของ FITC การคำนวณระดับแอนติบอดีจะเทียบกับซีรั่มมาตรฐาน (standard reference serum) ที่ได้รับจากองค์การอนามัยโลกและมีหน่วยเป็น IU/ml (International unit per milliliter) RFFIT เป็นเทคนิคที่ยอมรับให้ใช้ในการตรวจหาแอนติบอดีต่อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าจากทั้งองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกาและในระดับนานาชาติ

2. Fluorescent Antibody Virus Neutralization Test (FAVN)

เป็นเทคนิคการตรวจหาระดับนิวทราไลซิ่งแอนติบอดีต่อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าอีกเทคนิคหนึ่ง โดยมีหลักการเช่นเดียวกับวิธี RFFIT ทั้งนี้วิธี FAVN ถูกนำมาใช้ในการตรวจนิวทราไลซิ่งแอนติบอดีในตัวอย่างซีรั่มสัตว์เท่านั้นเพื่อตรวจดูว่ามีระดับแอนติบอดีที่เพียงพอหรือไม่ ภายหลังจากได้รับวัคซีน นอกจากนี้ เนื่องจากในตัวอย่างจากซีรั่มสัตว์ โดยเฉพาะสุนัขจะมี toxicity ต่อเซลล์เพาะเลี้ยงทั้ง BHK-21 และ NA cells ทำให้บางตัวอย่างไม่สามารถอ่านผลหรือรายงานผลจากวิธี RFFIT ได้ จึงได้มีการดัดแปลงวิธีทำและขั้นตอนการอ่านผลต่างไปจากวิธี RFFIT ซึ่งเมื่อพิจารณาจากวิธีการทำอาจกล่าวได้ว่าค่าที่ได้จากวิธี FAVN จะหยาบกว่าวิธี RFFIT แต่โดยภาพรวมจะได้ผลใกล้เคียงกันโดยเฉพาะในตัวอย่าง negative หรือตัวอย่างที่มีแอนติบอดีในระดับที่ 0.5 IU/ml และต่ำกว่า ซึ่งจะทำให้มีความแตกต่างกัน(variation) น้อยกว่าวิธี RFFIT โดยเฉพาะเมื่อทำการเปรียบเทียบค่าระหว่างห้องปฏิบัติการด้วยกัน

3.Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

เทคนิคการตรวจด้วยวิธี ELISA จะสามารถตรวจแอนติบอดีทุกชนิดที่สามารถจับกับไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าทั้งแอนติบอดีชนิด neutralizing และ non-neutralizing ดังนั้นตัวอย่างที่ positive ด้วยวิธี ELISA อาจจะไม่ positive ด้วยวิธี RFFIT ซึ่งหากไม่นับขั้นตอนการเตรียม plate ซึ่งใช้เวลาประมาณ 48 ชั่วโมง กระบวนการตรวจด้วย ELISA จะใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมง 30 นาที และ plate ที่เตรียมไว้สามารถเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียสได้นานถึง 1 ปี ในขั้นตอนการทำไม่จำเป็นต้องใช้ไวรัสที่มีชีวิตที่ อาจถูกจำกัดในหลายห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ในปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการ purified rabies antigen หรือ เฉพาะส่วน glycoprotein ของไวรัส และ การพัฒนา monoclonal antibody ทำให้สามารถพัฒนาวิธีการตรวจ ELISA ให้มีความจำเพาะและแม่นยำมากขึ้นได้ ในที่นี้จะขอกล่าวถึง Commercial ELISA Kit ผลิตโดย Bio-Rad ที่มีการตรวจสอบอย่างต่อเนื่องในระยะ 7-8 ปีที่ผ่านมาโดยความร่วมมือในหลายห้องปฏิบัติการและได้รับการ Validation and Certification of Diagnostic Assay ตามมาตรฐาน OIE (Office International des Epizooties หรือ The World Organization for Animal Health) ประเทศฝรั่งเศส เดือนพฤษภาคม 2007

ELISA test หรือ Platelia Rabies II เป็นเทคนิคที่ใช้ตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันหรือแอนติบอดี (anti-G) หลังฉีดวัคซีนในซีรั่มสุนัขหรือแมว เพื่อการเคลื่อนย้ายระหว่างประเทศหรือเพื่อการค้า และการตรวจในสุนัขจิ้งจอกเพื่อใช้ในการติดตามโปรแกรมการฉีดวัคซีนในสัตว์ป่า (wildlife vaccination programmes) แสดงค่าแอนติบอดีเป็น ELISA Units per ml (EU/ml) ซึ่งเทียบเท่า IU/ml โดยวิธี FAVN ค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจได้ด้วย ELISA คือ 0.125 EU/ml Sensitivity สำหรับซีรั่มสุนัขและแมวเท่ากับร้อยละ 89 และ สำหรับสุนัขจิ้งจอกเท่ากับร้อยละ 88 Specificity สำหรับสุนัขและแมวเท่ากับร้อยละ 98.5 และ สำหรับสุนัขจิ้งจอกเท่ากับร้อยละ 97 AgreementในOIE reference Laboratory ร้อยละ 99.5 อย่างไรก็ตามเทคนิค ELISA เป็นเทคนิคที่ต้องใช้ความชำนาญในการทำและการแปลผลของผู้ทำค่อนข้างสูงและโรคพิษสุนัขบ้าค่อนข้างจะเข้มงวดเนื่องจากเป็นโรคอันตรายถึงแก่ชีวิตและยังไม่มีทางรักษา sensitivity เพียงร้อยละ 88-89 อาจไม่เป็นที่พอใจหรือยอมรับในหลายห้องปฏิบัติการโดยเฉพาะค่าที่ต่ำกว่า 0.6 EU/ml เนื่องจากมีจำนวนตัวอย่างที่อาจต้องตรวจซ้ำด้วย RFFIT/FAVN อาจมีจำนวนมากถึง 200-1000 ตัวอย่างต่อปี ELISA จึงอาจเหมาะนำมาใช้ตรวจตัวอย่างที่มีระดับแอนติบอดีสูงๆ ห้องปฏิบัติการที่อาจถูกจำกัดการใช้ไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าที่ยังมีชีวิตหรือต้องการตรวจจำนวนตัวอย่างคราวละมากๆในระยะเวลาอันสั้น เพื่อศึกษาระดับภูมิคุ้มกันหลังการฉีดวัคซีนในสุนัขหรือแมว การศึกษา sero-prevalence ในประชากรสัตว์ที่เป็นพาหะของโรคพิษสุนัขบ้า หรือเพื่อใช้ในการติดตาม เพื่อประเมินประสิทธิภาพของโปรแกรมการฉีดวัคซีน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 8 สรุปข้อดีและข้อจำกัดของการตรวจระดับนิวทราไลซิ่งแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies neutralizing antibody) ด้วยวิธีต่างๆ [60]

วิธีการตรวจ	ข้อดี	ข้อจำกัด
Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT)	-เป็นการตรวจมาตรฐาน ผลที่ได้มีค่า sensitivity และ specificity สูง -ตรวจได้ทั้งซีรั่มของมนุษย์และสัตว์	- ใช้เวลานาน - มีเทคนิคยุ่งยากต้องอาศัยผู้มีความชำนาญในการทำ - ต้องใช้เชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าชนิดเชื้อเป็น (live virus) - ราคาแพง
Fluorescent Antibody Virus Neutralization Test (FAVN)	-บางขั้นตอนสามารถใช้เครื่อง automated ได้	- มี ค่า sensitivity ด้อยกว่า วิธี RFFIT - ปัจจัยที่มีผลต่อเซลล์ หรือการเจริญเติบโตของไวรัสทำให้ผล false positive ได้
Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)	- ทำง่าย - ราคาไม่แพง - สะดวกรวดเร็ว - ไม่ต้องใช้เครื่องมืออุปกรณ์ทางห้องปฏิบัติการที่มีความซับซ้อน	- ค่าที่ได้ต้องใช้ความระมัดระวังในการแปลผลเนื่องจากข้อจำกัดในการตรวจหา antibody - ค่า sensitivity และ specificity ไม่แน่นอน - ค่าที่วัดได้ หน่วยเป็น IU/ml แต่มิได้แสดงถึง หน่วย IU/ml ของ neutralizing activity ต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลก จึงอาจทำให้เกิดความสับสนได้

สำหรับการตรวจการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากเซลล์ (cell-mediated immune response) ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้านั้น สามารถใช้การทดสอบการทำงานของเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด T cell เช่น in vitro T-lymphocyte stimulation หรือ lymphocyte proliferation assay การดู activation markers บนผิวเซลล์ เช่น OX-40 assay และ การศึกษาไซโตไคน์ ทั้งนี้ข้อมูลของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากเซลล์เกี่ยวกับระดับไซโตไคน์ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ารวมถึง วัคซีนในการป้องกันการติดเชื้อไวรัสอื่นๆ เช่น โรคหัด ไวรัสตับอักเสบบีและไวรัสไข้หวัดใหญ่นั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดเนื่องจากมีการศึกษาอยู่เพียงไม่มาก [61-63] อย่างไรก็ตามเชื่อว่าการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากเซลล์น่าจะมีบทบาทสำคัญในการกำจัดเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าออกจากระบบประสาทส่วนกลาง [57] โดยหลักการทั่วไป ภายหลังการติดเชื้อไวรัส จะมีการกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ทำให้ naïve CD4 T cell เปลี่ยนไปเป็นเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด T cell ที่สร้าง type 1 cytokines, type 2 cytokines เม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด T-helper 17 หรือ follicular helper T cell ทั้งนี้ type 1 cytokines เช่น อินเตอร์ฟีรอนแกมมา (interferon-gamma) ทูเมอร์เนโครซิสแฟคเตอร์-แอลฟา (tumor necrosis factor-alpha) และ อินเตอร์ลิวคิน-2 (IL-2) ทำหน้าที่ส่งเสริมปฏิกิริยา (interaction) ระหว่าง CD8 – T cells กับ dendritic cells และช่วย B-cells ในการสร้าง neutralizing antibodies ที่มีความจำเพาะ อินเตอร์ฟีรอนแกมมายังมีส่วนสำคัญในการกระตุ้น macrophage การ up-regulation ของโปรตีนแอนติเจน กระตุ้นการเพิ่มจำนวน (proliferation) ของ T cells และการเปลี่ยนแปลงไปเป็น T cells ที่มีความจำเพาะ (differentiation) นอกจากนี้ อินเตอร์ฟีรอนแกมมา ยังช่วยต้านไวรัสโดยส่งเสริมการทำลายและกำจัดเซลล์ที่ติดเชื้อไวรัส และ ยับยั้งการแสดงออกของยีนและการแบ่งตัวของไวรัส ส่วน type 2 cytokines เช่น อินเตอร์ลิวคิน-4 (IL-4) อินเตอร์ลิวคิน-5 (IL-5) และ อินเตอร์ลิวคิน-13 (IL-13) ทำหน้าที่ช่วย B-cells ทางด้านการตอบสนองทางสารน้ำ (humoral immune response) อย่างไรก็ตามพบว่า type 2 cytokines สามารถยับยั้งการตอบสนองในการป้องกัน(protective response) และส่งเสริมพยาธิสภาพทางภูมิคุ้มกันในระหว่างการติดเชื้อไวรัสได้เช่นเดียวกัน [64, 65]

ในที่นี้ ได้รวบรวมการศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากเซลล์เกี่ยวกับระดับไซโตไคน์ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า ได้ดังนี้

อภิญเพ็ญ สาระยา และ คณะ [66] ได้ทำการตรวจระดับ เคโม –และ ไซโตไคน์ (chemo – and cytokines) ในเลือดของอาสาสมัครอายุระหว่าง 18 – 25 ปี จำนวน 20 คน โดยอาสาสมัคร 10 คน ได้รับการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนัง อาสาสมัครอีก 10 คน ได้รับการฉีดวัคซีนเข้ากล้าม การตรวจเคโม –และ ไซโตไคน์ ใช้การตรวจด้วยRayBio® Cytokine Antibody Arrays (RayBiotech, Inc., Norcross, GA, USA) ผลการศึกษา พบการเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับ

อีโอแทคซิน (eotaxin) และ อินเตอร์ลิวคิน-ไฟว์ (interleukin -5) ในกลุ่มอาสาสมัครที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนัง และ อินเตอร์ลิวคิน-วัน เบตา (IL-1 beta) ในกลุ่มอาสาสมัครที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข้ากล้าม ที่ 7 วันภายหลังจากได้รับวัคซีน ในขณะที่การศึกษา โดย Ayres J.A. และ คณะ [67] ซึ่งทำการตรวจระดับไซโตไคน์ของผู้ป่วยที่ถูกสัตว์กัดและรับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบเข้ากล้าม ร่วมกับอิมมูโนโกลบุลิน อายุระหว่าง 13 – 65 ปี จำนวน 33 คน พบการเพิ่มสูงขึ้นของระดับ อินเตอร์ฟีรอน-แกมมา (interferon-gamma) อินเตอร์ลิวคิน-ทู (interleukin -2) และ อินเตอร์ลิวคิน-เท็น (interleukin -10) ที่ 48 ชั่วโมงภายหลังการได้รับวัคซีนและอิมมูโนโกลบุลิน เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับวัคซีนหรืออิมมูโนโกลบุลิน

Muniswamappa M. และ คณะ [68] ได้รายงานในปี พ.ศ. 2558 ถึงการศึกษาระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (RNab) และ ระดับของไซโตไคน์ อินเตอร์ฟีรอนแกมมา และ อินเตอร์ลิวคิน-4 ในอาสาสมัคร 5 กลุ่ม อาสาสมัครกลุ่มที่ 1 จำนวน 10 คน ไม่ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า อาสาสมัครกลุ่มที่ 2 จำนวน 10 คน ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบป้องกันล่วงหน้าแบบเข้าในผิวหนัง อาสาสมัครกลุ่มที่ 3 จำนวน 20 คน ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบเข้าในผิวหนังทั้งแบบป้องกันล่วงหน้าและเข็มกระตุ้นห่างจากการฉีดวัคซีนครั้งแรก 6 เดือน อาสาสมัครกลุ่มที่ 4 จำนวน 18 คน ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบหลังสัมผัสโรคแบบฉีดเข้าในผิวหนัง และ อาสาสมัครกลุ่มที่ 5 จำนวน 20 คน ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบหลังสัมผัสโรคแบบฉีดเข้ากล้าม ผลการศึกษาพบว่าการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าทั้งแบบก่อนและหลังสัมผัสโรค ทำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ (cellular immune response) จากการตรวจระดับไซโตไคน์ อินเตอร์ฟีรอนแกมมา และ อินเตอร์ลิวคิน-4 และ การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นทำให้เพิ่มระดับของอินเตอร์ฟีรอนแกมมา และ อินเตอร์ลิวคิน-4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของปริมาณเซลล์ที่สร้างอินเตอร์ฟีรอนแกมมา และ อินเตอร์ลิวคิน-4 จากวิธีการฉีดวัคซีนทั้งแบบเข้าในผิวหนังและเข้ากล้ามที่ 7 วันภายหลังการฉีดวัคซีน ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (RNab) มีความสัมพันธ์กับ ระดับของเซลล์ที่สร้างไซโตไคน์ อินเตอร์ฟีรอนแกมมา และ อินเตอร์ลิวคิน-4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($r = 0.738$ และ 0.6533 ตามลำดับ)

ตารางที่ 9 สรุปข้อมูลการศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากเซลล์ทางด้านไซโตไคน์ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า [66-68]

คณะผู้วิจัย (ปี พ.ศ.)	ลักษณะการศึกษา	สูตรการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า	จำนวนอาสาสมัคร (คน)	ผลการศึกษา
อภิญเพ็ญ สาระยา และ คณะ (2553)	Prospective controlled study	PEP	20 (-10 คน รับ PEP-ID -10 คน รับ PEP-IM)	ที่ 7 วันภายหลังจากได้รับวัคซีน -กลุ่มที่ได้รับ PEP-ID มีระดับของอีโอ-แทคซิน (eotaxin) และ อินเตอร์ลิวคิน-ไฟว์ (interleukin -5) สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ -กลุ่มที่ได้รับ PEP-IM มีระดับของอินเตอร์ลิวคิน-วัน เบตา (IL-1 beta) สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
Ayres J.A. และ คณะ (2549)	Prospective controlled study	PEP ร่วมกับอิมมูโนโกลบุลิน	53 (-33 คน รับ PEP-IM -20 คน ไม่ได้รับวัคซีนและอิมมูโนโกลบุลิน)	ที่ 48 ชั่วโมงภายหลังจากได้รับวัคซีน พบการเพิ่มสูงขึ้นของระดับอินเตอร์ฟีรอน-แกมมา (interferon-gamma) อินเตอร์ลิวคิน-ทู (interleukin -2) และ อินเตอร์ลิวคิน-เท็น (interleukin -10) ของกลุ่มที่ได้รับวัคซีนและอิมมูโนโกลบุลิน เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม
Muniswamappa M. และ คณะ (2558)	Prospective controlled study	PEP และ PrEP	78 (-10 คนไม่ได้วัคซีน -10 คนรับ PrEP-ID -20 คนรับ PrEP-ID และ booster -18 คนรับ PEP-ID -20 คนรับ PEP-IM)	ที่ 7 วันภายหลังจากได้รับวัคซีน PEP และ PrEP ทำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้านเซลล์ (cellular immune response) จากการตรวจระดับไซโตไคน์ อินเตอร์ฟีรอนแกมมา และ อินเตอร์ลิวคิน-4

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

คณะผู้วิจัย (ปี พ.ศ.)	ลักษณะการศึกษา	สูตรการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า	จำนวนอาสาสมัคร (คน)	ผลการศึกษา
				-การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นทำให้เพิ่มระดับของอินเตอร์ฟีรอนแกมมา และอินเตอร์ลิวคิน-4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ -ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของปริมาณเซลล์ที่สร้างอินเตอร์ฟีรอนแกมมา และ อินเตอร์ลิวคิน-4 จากวิธีการฉีดวัคซีนทั้งแบบเข้าในผิวหนังและเข้ากล้าม

[a] PEP; post-exposure rabies prophylaxis, PrEP; pre-exposure rabies prophylaxis

[b] PEP-ID; intradermal post-exposure rabies prophylaxis โดยการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงเข้าในผิวหนังปริมาณ จุดละ 0.1 มิลลิลิตร ครั้งละ 2 จุดที่บริเวณต้นแขนทั้ง 2 ข้างในวันที่ 0, 3, 7 และ 28

[c] PEP-IM; intramuscular post-exposure rabies prophylaxis โดยการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงเข้ากล้าม ปริมาณครั้งละ 1 หลอด ที่บริเวณต้นแขน ในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 28

[d] PrEP-ID; intradermal pre-exposure rabies prophylaxis โดยการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงเข้าในผิวหนังปริมาณ จุดละ 0.1 มิลลิลิตร ครั้งละ 1 จุดที่บริเวณต้นแขนในวันที่ 0, 7 และ 28

[e] Booster; การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น โดยการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงเข้าในผิวหนังปริมาณ จุดละ 0.1 มิลลิลิตร ครั้งละ 1 จุดที่บริเวณต้นแขนในวันที่ 0 และ 3

Chulalongkorn University

สรุปรายละเอียดของไซโตไคน์และผลทางชีวภาพของไซโตไคน์ที่มีรายงานการศึกษาภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ไซโตไคน์และผลทางชีวภาพ [69]

ไซโตไคน์	เซลล์ที่เป็นแหล่งกำเนิดหลัก	เซลล์เป้าหมายและผลทางชีวภาพ
Interleukin-2 (IL-2)	T cells	T cells: proliferation and differentiation into effector and memory cells; promotes regulatory T cell development, survival, and function NK cells: proliferation, activation B cells: proliferation, antibody synthesis (in vitro)
Interleukin-4 (IL-4)	CD4+ T cells (TH2), mast cells	B cells: isotype switching to IgE T cells: TH2 differentiation, proliferation Macrophages: alternative activation and inhibition of IFN-γ–mediated classical activation Mast cells: proliferation (in vitro)
Interleukin-5 (IL-5)	CD4+ T cells (TH2), group 2 innate lymphoid cells	Eosinophils: activation, increased generation B cells: proliferation, IgA production (in vitro)
Interleukin-10 (IL-10)	Macrophages, T cells (mainly regulatory T cells)	Macrophages, dendritic cells: inhibition of expression of IL-12, costimulators, and class II MHC
Interleukin-1β (IL-1β)	Macrophages, dendritic cells, fibroblasts, endothelial cells, keratinocytes, hepatocytes	Endothelial cells: activation (inflammation, coagulation) Hypothalamus: fever Liver: synthesis of acute-phase proteins T cells: TH17 differentiation

ไซโตไคน์	เซลล์ที่เป็นแหล่งกำเนิดหลัก	เซลล์เป้าหมายและผลทางชีวภาพ
Interferon-gamma (IFNγ)	T cells (TH1, CD8+ T cells),NK cells	Macrophages: classical activation (increased microbicidal functions) B cells: isotype switching to opsonizing and complementfixing IgG subclasses (established in mice) T cells: TH1 differentiation Various cells: increased expression of class I and class II MHC molecules, increased antigen processing and presentation to T cells

2.6 การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นด้วยการฉีดเข้าในผิวหนังแบบ 4 จุด (4-site intradermal rabies booster vaccination)

เป็นเวลากว่า 20 ปีที่ประเทศไทยได้ริเริ่มการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าชนิดฉีดเข้าในผิวหนัง จุดประสงค์เพื่อลดค่าใช้จ่ายและเพิ่มโอกาสการได้รับวัคซีนชนิดเซลล์เพาะเลี้ยงให้แก่ประชาชนแทนที่วัคซีนที่ทำจากสมองสัตว์แบบเดิม นับเนื่องมาถึงปัจจุบันมีผู้ป่วยนับล้านคนในหลายประเทศที่ได้รับการฉีดวัคซีนด้วยวิธีนี้ การฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนัง ซึ่งก็คือวิธีเดียวกับการฉีดวัคซีนบีซีจี หรือ การทำทดสอบผิวหนัง(skin testing) มีหลักการโดยใช้ปริมาณวัคซีนเพียงจำนวนน้อยฉีดเข้าในชั้นผิวหนังซึ่งเป็นบริเวณที่มี antigen presenting cells อยู่เป็นจำนวนมาก และกระตุ้นให้เกิดการสร้างภูมิคุ้มกันขึ้น

จิตรา รัตนวงศ์ศิริ และ คณะ [70] ได้ศึกษา การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบ cell-mediated immune responses ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0, 3, 7 และ จำนวน 1 จุด บริเวณต้นแขนใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 28 และ 91 เทียบกับ การฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 5 ครั้งในวันที่ 0, 3, 7, 14, 28 และ 91 ในอาสาสมัครทั้งหมดจำนวน 16 คน อายุระหว่าง 13-62 ปีพบว่า อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังมีการตอบสนองทาง cell-mediated immune responses (CMIR) โดยการตรวจ Lymphocyte Transformation Test (LTT) พบ อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันตั้งแต่วันที่ 7 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มแรก และมีระดับสูงสุดในวันที่

14 ในขณะที่ อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข้ากล้ามมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในวันที่ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มแรก และมีระดับสูงสุดในวันที่ 28 การฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังมีการตอบสนองทาง CMIR ที่มากกว่า การฉีดวัคซีนเข้ากล้ามอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกเหนือจากนี้ยังตรวจพบ Rabies Neutralizing Antibody (RNab) Titers ในวันที่ 7, 14, 28 และ 91 ภายหลังการได้รับวัคซีนเข็มแรก ในอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังมีค่าสูงกว่า อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข้ากล้าม

ในปี พ.ศ.2530 ประพันธ์ ภานุภาค และ คณะ [31] ได้ศึกษา การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทั้งแบบ humoral and cell-mediated immune responses ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0, 3 และ 7 เทียบกับ การฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 5 ครั้งในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 28 ในอาสาสมัครผู้ใหญ่ทั้งหมดจำนวน 29 คน พบว่าอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังมีการตอบสนองทาง humoral immune responses โดยการตรวจ Rabies Neutralizing Antibody (RNab) Titers ในวันที่ 7, 14, 28 และ 35 ภายหลังการได้รับวัคซีนเข็มแรก มีค่าสูงกว่า อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข้ากล้าม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 8 และ การตอบสนองทาง cell-mediated immune responses โดยการตรวจ Lymphocyte Transformation Test (LTT) พบ อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังมีการตอบสนองที่เร็วกว่า และ มากกว่าอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข้ากล้าม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 11 การศึกษาของ ประพันธ์ ภานุภาค และคณะ ซึ่งศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำและจากเซลล์ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0, 3 และ 7 เทียบกับ การฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 5 ครั้งในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 28 ในอาสาสมัครผู้ใหญ่ซึ่งไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน [31]

สูตรการฉีดวัคซีน	ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Geometric mean titers of rabies neutralizing antibody titers; IU/ml) (range)	
	วันที่ 7	วันที่ 14
ฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด ในวันที่ 0, 3 และ 7	0.02 ± 1.72 * (0 - 4.43)	12.66 ± 0.73 * (2.3 - 235.22)
ฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้าม ในวันที่ 0, 3, 7, 14 และ 28	0	5.95±0.71 (0.60 - 22.40)

*p-value < 0.05

ต่อมา ธีระพงษ์ ตัณฑวิเชียร และคณะ [29] ได้ศึกษาเปรียบเทียบการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นด้วยการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังแบบ 4 จุด บริเวณต้นแขน และต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 เพียงครั้งเดียว กับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นเข้ากล้าม 2 เข็มในวันที่ 0 และ3 ตามที่องค์การอนามัยโลกแนะนำ (conventional booster regimen) ในอาสาสมัครที่เคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบก่อนสัมผัสโรคมาก่อน 1 ปี ผลพบว่าระดับภูมิคุ้มกัน (rabies neutralizing antibody) ในกลุ่มที่ฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังแบบ 4 จุดครั้งเดียว เพิ่มขึ้นเร็วกว่า และสูงกว่าในกลุ่มที่ได้รับวัคซีน 2 เข็มเข้ากล้ามในวันที่ 0, 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และภูมิคุ้มกันดังกล่าวคงอยู่ในระดับที่ป้องกันโรคได้อย่างน้อย 1 ปี

ตารางที่ 12 ระดับภูมิคุ้มกัน (rabies neutralizing antibody) ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นจากการศึกษาของธีระพงษ์ ตัณฑวิเชียร และคณะ [29]

สูตรการฉีดวัคซีน	วันที่หลังรับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น					
	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 14	วันที่ 150	วันที่ 360
4-site ID (n=20)						
GMT (IU/ml)	0.40	0.41	1.42*	76.38*	19.20*	8.62*
(Range)	(0.04-3.67)	(0.05-2.59)	(0.24-4.36)	(17.56-417.7)	(4.01-336.3)	(1.62-200)
จำนวนอาสาสมัครที่มี RNab น้อยกว่า 0.5 IU/ml	12	10	1	0	0	0
IM (n=22)						
GMT (IU/ml)	0.43	0.41	0.82	12.18	3.39	1.86
(Range)	(0.15-5.73)	(0.12-5.03)	(0.21-8.11)	(2.97-100)	(1.14-16.10)	(0.19-7.34)
จำนวนอาสาสมัครที่มี RNab น้อยกว่า 0.5 IU/ml	14	12	5	0	0	1

[a]4-site ID หมายถึง สูตรการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0

[b]IM หมายถึง สูตรการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3

GMT; geometric mean titer

RNab; rabies neutralizing antibody titers

* p-value < 0.05

จากผลการศึกษาเห็นได้ว่า การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนัง จำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 สามารถทำให้มีสัดส่วนของอาสาสมัครที่มีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามากกว่า 0.5 IU/ml ในวันที่ 5 ภายหลังการฉีดวัคซีน มากกว่า และ อาสาสมัครยังมีค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่วันที่ 360 สูงกว่าการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3
นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาของ ผกามาศ ขาวปลอด และคณะซึ่งทำในลักษณะเดียวกัน [30]

ตารางที่ 13 สรุปผลการศึกษาเปรียบเทียบระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าระหว่างการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด purified Vero cell rabies vaccine (PVRV) เข็มกระตุ้นแบบภายหลังสัมผัสโรคด้วยสูตรการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนัง จำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 กับ สูตรการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3 ในอาสาสมัครผู้ใหญ่ชาวไทยที่สุขภาพดี ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน [29, 30]

คณะผู้วิจัย	ปี พ.ศ.	สูตรการฉีดวัคซีน	จำนวนอาสาสมัคร	ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Geometric mean titers of rabies neutralizing antibody titers; IU/ml) (range)		
				วันที่ 5	วันที่ 7	วันที่ 14
ธีระพงษ์ ตัณฑวิเชียร และ คณะ	2542	4-site ID	20	1.42* (0.24-4.36)	-	76.38* (17.56-417.7)
		IM	22	0.82 (0.21-8.11)	-	12.18 (2.97-100)
ผกามาศ ขาวปลอด และ คณะ	2545	4-site ID	20	-	44.21* (12.5-135.4)	143.4* (10.7-244.1)
		IM	23	-	11.29 (2.0-79.5)	30.47 (2.5-1110.8)

[a] 4-site ID หมายถึง สูตรการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0

[b] IM หมายถึง สูตรการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3

* p-value < 0.05

ดังนั้น สถานเสาวภา สภากาชาดไทย จึงได้ใช้สูตรการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนัง 4 จุดครั้งเดียวในการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น เป็นอีกทางเลือกหนึ่งเพื่อลดจำนวนครั้งของการมารับบริการของผู้ป่วยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2541 ถึงปัจจุบันวิธีนี้ได้ถูกใช้ในผู้ป่วยที่มีการสัมผัสโรคแบบ WHO category II และ III มากกว่า 5,000 คน ทั้งนี้มากกว่า สองในสามของผู้ป่วย มีการสัมผัสโรคแบบ WHO Category III ในจำนวนนี้มีผู้ป่วยที่สัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าจากสัตว์ที่ติดเชื้อโรคพิษสุนัขบ้า ซึ่งมีผลการตรวจ Fluorescent Antibody Test (FAT) เป็นบวก แต่ไม่พบมีรายงานการเกิดโรคพิษสุนัขบ้าในผู้ป่วยที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบ 4 จุดครั้งเดียวนี้เลย [71] ส่วนผลข้างเคียงจากการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นเข้าในผิวหนังแบบ 4 จุดครั้งเดียวนั้น พบว่ามีอาการข้างเคียงเฉพาะที่ เช่น อาการปวดที่ตำแหน่งฉีดวัคซีนได้บ่อยกว่าเมื่อเทียบกับการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังครั้งละ 1 จุด จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3 ส่วนอาการไข้ เพลีย พบได้มากกว่าเล็กน้อยและไม่รุนแรง ปัจจุบัน องค์การอนามัยโลกได้แนะนำวิธีการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบเข้าในผิวหนัง 4 จุด ครั้งเดียวนี้ เป็นสูตรทางเลือก (alternative regimen) [10] ทั้งนี้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น ระหว่างอาสาสมัครที่เคยได้รับสูตรการฉีดวัคซีนที่ต่างกัน อายุของอาสาสมัครผู้ใหญ่ และ ระยะเวลาที่เคยได้รับการฉีดวัคซีนมาก่อน ดังข้อมูลจากการศึกษาของ ขนิษฐา สุวรรณศรีนนท์ และคณะ [72] ซึ่งฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนัง จำนวน 1 จุด บริเวณต้นแขน ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0, 3 ในผู้ใหญ่จำนวนทั้งสิ้น 118 คนที่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงที่ระยะเวลา 5-21 ปี ก่อนด้วยสูตรการฉีดวัคซีนทั้งแบบก่อนและหลังสัมผัสโรค ผลพบว่า การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นสามารถทำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน อาสาสมัคร 117 คน มีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies neutralizing antibody titers) เกินกว่า 0.5 IU/ml ที่วันที่ 7 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มแรก ส่วนอาสาสมัคร 1 คนที่เหลือ มีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่วันที่ 7 เท่ากับ 0.48 IU/ml และ ที่วันที่ 14 เท่ากับ 6.25 IU/ml

2.7 การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในผู้ติดเชื้อเอชไอวี (Rabies vaccination in HIV-infected patients)

สำหรับ รายงานและการศึกษาเกี่ยวกับผู้ติดเชื้อเอชไอวี และ โรคพิษสุนัขบ้า หรือ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า มีรายละเอียดดังนี้

ในปี พ.ศ. 2539 Adle-Biassette และ คณะ [73] ได้รายงานกรณีตัวอย่าง ผู้ติดเชื้อเอชไอวีป่วยเป็นโรคพิษสุนัขบ้าเนื่องจากรับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าไม่ครบโดยผู้ป่วยมีระยะฟักตัว อาการและอาการแสดงของโรคแบบ classical furious rabies รายงานนี้แสดงให้เห็นถึงความเสี่ยงของผู้ติดเชื้อเอชไอวี ที่มีโอกาสสัมผัสโรค เช่นเดียวกับประชากรทั่วไปในประเทศที่เป็นแหล่งระบาดของโรค และ การดูแลรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่สัมผัสโรคพิษสุนัขบ้า เป็นเรื่องที่สามารถพบได้ในเวชปฏิบัติ

อย่างไรก็ตาม การดูแลรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่สัมผัสโรคพิษสุนัขบ้า มีประเด็นที่ต้องพิจารณาเป็นพิเศษ เมื่อพบว่า ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีจำนวน CD4+ T-lymphocytes ต่ำ จะมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันหลังได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าน้อยกว่าผู้ที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี หรือผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีจำนวน CD4+ T-lymphocytes สูง ซึ่งบางครั้งการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันดังกล่าวของผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีจำนวน CD4+ T-lymphocytes ต่ำนั้น ไม่เพียงพอในการป้องกันโรค จึงได้มีความพยายามในการศึกษาวิธีการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าให้แก่ ผู้ติดเชื้อเอชไอวี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีจำนวน CD4+ T-lymphocytes ต่ำ ดังนี้

Deshpande และคณะ ศึกษาการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าหลังสัมผัสโรคแบบเข้ากล้าม 5 เข็ม (ESSEN IM; 1-1-1-1-1) ด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยง (PCECV) แก่อาสาสมัคร 3 กลุ่ม ประกอบด้วย ผู้ที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี ผู้ติดเชื้อเอชไอวีแต่ยังไม่มีอาการ (asymptomatic HIV infection) และ ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีอาการแล้ว (symptomatic HIV infection) โดยผู้ติดเชื้อกลุ่มนี้มีจำนวน CD4+ T-lymphocytes น้อยกว่า 400เซลล์/มิลลิลิตร ตรวจระดับภูมิคุ้มกันหลังได้รับวัคซีนพบร้อยละ 100, 76 และ 57 ของอาสาสมัครในกลุ่มผู้ที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี ผู้ติดเชื้อเอชไอวีแต่ยังไม่มีอาการ และ ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีอาการ มีภูมิคุ้มกันเพียงพอในการป้องกันโรคตามลำดับ ทั้งนี้เห็นได้ว่า การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าหลังสัมผัสโรคแบบ 5 เข็มเข้ากล้ามตามมาตรฐาน ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันที่เพียงพอในมากกว่าร้อยละ 40 ของผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีอาการ

จากนั้นมีการศึกษาที่ สถานเสาวภา สภากาชาดไทย โดย วิภาพร ใจเจริญทรัพย์ และคณะ[17] ในผู้ติดเชื้อเอชไอวี ซึ่งมีประวัติสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าจำนวน 9 คน รับการรักษาโดยการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าหลังสัมผัสโรคแบบเข้าในผิวหนัง (TRC – ID; 2-2-2-0-1-1) ด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยง (PVRV) ร่วมกับการให้ ERIG 40 IU/กิโลกรัม ผลพบว่า ผู้ป่วย 5 จาก 9 คน ซึ่งมี CD4+

T-lymphocytes น้อยกว่า 300 เซลล์/มิลลิลิตร (อยู่ในช่วงระหว่าง 111-250 เซลล์/มิลลิลิตร) มีภูมิคุ้มกันป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าอยู่ในระดับต่ำจนถึงตรวจวัดไม่ได้ ส่วนผู้ป่วยอีก 4 คนที่เหลือซึ่งมี CD4+ T-lymphocytes มากกว่า 300 เซลล์/มิลลิลิตร (อยู่ในช่วงระหว่าง 316 – 950 เซลล์/มิลลิลิตร) มีระดับภูมิคุ้มกันป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าสูงกว่าที่องค์การอนามัยโลก (WHO) กำหนดในการป้องกันโรค (RNab มากกว่า 0.5 IU/มล.) ต่อมาเมื่อองค์การอนามัยโลกได้แนะนำให้รักษาผู้สัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าซึ่งมีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunocompromised hosts) ด้วยการฉีดวัคซีนเข้ากล้าม และเพิ่มขนาดของวัคซีนที่ใช้ ธีระพงษ์ ตัณฑวิเชียร และคณะ[18] จึงได้ศึกษาโดยการเพิ่มขนาดของวัคซีน (double doses of rabies vaccines) ด้วยการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนัง ขนาด 2 เท่าของการฉีดเข้าในผิวหนังปกติ (ID; 4-4-4-0-2-2) ร่วมกับการให้ HRIG ซึ่งการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังหลายจุดที่ต่างตำแหน่งกัน เป็นการกระตุ้นเม็ดเลือดขาวที่ทำหน้าที่ในการสร้างภูมิคุ้มกันในต่อมน้ำเหลืองหลายกลุ่ม น่าจะทำให้เกิดการสร้างภูมิคุ้มกันในระดับที่สูงกว่า แต่ผลก็ยังพบว่า ผู้ติดเชื้อเอชไอวีบางรายซึ่งมี CD4+ T-lymphocytes น้อยกว่า 200 เซลล์/มิลลิลิตร (อยู่ในช่วงระหว่าง 25 -199 เซลล์/มิลลิลิตร) มีระดับภูมิคุ้มกันไม่เพียงพอในการป้องกันโรค ต่างกับผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มี CD4+ T-lymphocytes สูงกว่า ซึ่งมีการตอบสนองดีทุกราย แม้ในภายหลัง จะได้มีการศึกษาโดยการเพิ่มขนาดของวัคซีนฉีดเข้ากล้ามสูตร ESSEN เป็น 2 เท่า (double doses ESSEN regimen; 2-2-2-2-2) ร่วมกับการผสม adjuvant คือ aluminium hydroxide-adsorbed tetanus toxoid ก็ยังไม่สามารถทำให้ผู้ติดเชื้อเอชไอวี ที่มี CD4+ T-lymphocytes น้อยกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร มีภูมิคุ้มกันเพียงพอในการป้องกันโรค หรือ การศึกษาโดย ศิริวรรณ ศิริกวิน และ คณะ[19] ซึ่งฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข้าในผิวหนังด้วยสูตร modified eight-site regimen (8-8-8-8-8) ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มี CD4+ T-lymphocytes น้อยกว่า 200 เซลล์/มิลลิลิตร (อยู่ในช่วงระหว่าง 69 -190 เซลล์/มิลลิลิตร) ผู้ติดเชื้อ เอชไอวีทุกรายได้รับยาต้านไวรัส (antiretroviral therapy) พบว่าผู้ป่วยสามารถสร้างภูมิคุ้มกันได้เพียงพอในการป้องกันโรค ทั้งนี้ในการศึกษานี้มีผู้ป่วยเพียง 1 รายที่มี CD4+ T-lymphocytes น้อยกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร (คือ 69 เซลล์/มิลลิลิตร) และเมื่อ ติดตามไปเป็นเวลา 1 ปี พบผู้ติดเชื้อ เอชไอวีทุกรายที่ติดตามได้ มีระดับ CD4+ T-lymphocytes มากกว่า 150 เซลล์/มิลลิลิตร (อยู่ในช่วงระหว่าง 161 -426 เซลล์/มิลลิลิตร)

ในส่วนของการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบก่อนสัมผัสโรค (pre-exposure rabies prophylaxis; PrEP) อุสา ทิสยากร และ คณะ[20] ศึกษาในผู้ป่วยเด็กที่ติดเชื้อเอชไอวี พบว่ากลุ่มผู้ป่วยเด็กที่มี CD4+ T-lymphocytes น้อยกว่าร้อยละ 15 มีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคต่ำกว่ากลุ่มผู้ป่วยเด็กที่มี CD4+T-lymphocytes มากกว่าร้อยละ 15 และกลุ่มเด็กซึ่งไม่ติดเชื้อเอชไอวี

นอกจากนี้ ชิษณุ พันธุ์เจริญ และ คณะ[74] ได้รายงาน กรณีผู้ป่วยเด็กติดเชื้อเอชไอวีซึ่งมี CD4+ T-lymphocytes เพียง 44 เซลล์/มิลลิลิตร (ร้อยละ4) ตอบสนองทางภูมิคุ้มกันไม่เพียงพอต่อการป้องกันโรค ในการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าทั้งแบบก่อนและหลังสัมผัสโรค

เห็นได้ว่า ในปัจจุบันยังไม่มีวัคซีน หรือ สูตรการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าวิธีใดที่สามารถกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันให้สูงถึงระดับที่เพียงพอในการป้องกันโรคในผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องอย่างรุนแรง เช่น ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีค่า CD4+ T-lymphocytes ต่ำมากๆได้ จึงแนะนำให้ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีความเสี่ยงต่อการสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้า ควรรับการฉีดวัคซีนแบบก่อนสัมผัสโรค ในขณะที่มีค่า CD4+ T-lymphocytes ในระดับสูง เหมือนกับการฉีดวัคซีนอื่นๆที่ผู้ป่วยจะยังมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันดีอยู่ โดยหวังว่าผู้ป่วยจะมีภูมิคุ้มกันจดจำ (immune memory) ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันที่เพียงพอเมื่อมีการสัมผัสโรคได้ หรือหากผู้ติดเชื้อเอชไอวีมี CD4+ T-lymphocytes ต่ำ การรับยาต้านไวรัสจนค่าCD4+ T-lymphocytes กลับมามีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ อาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะเพิ่มการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันภายหลังได้รับวัคซีน ดังมีการศึกษาของ Luc B.S. Gelinck และ คณะ[21] ที่ทำในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 30 คน ซึ่งเดิมเคยมี CD4+ T-lymphocytes เฉลี่ยประมาณ 131 เซลล์/มิลลิลิตร (อยู่ในช่วงระหว่าง 28 -279 เซลล์/มิลลิลิตร) หลังจากได้รับยาต้านไวรัส เฉลี่ยประมาณ 3.4 ปี จนมีระดับ CD4+ T-lymphocytes เฉลี่ยประมาณ 537 เซลล์/มิลลิลิตร (อยู่ในช่วงระหว่าง 353 -772 เซลล์/มิลลิลิตร) เมื่อได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าจำนวน 2 เข็ม เข้ากล้ามในวันที่ 0 และ 84 ซึ่งถือว่าเป็นการได้รับวัคซีนทั้งแบบ primary และ booster immunization ผลการศึกษาพบว่า ผู้ติดเชื้อมีภูมิคุ้มกันเพียงพอในการป้องกันโรค และเมื่อตรวจซ้ำอีก 5 ปี สองในสามของผู้ป่วยก็ยังตรวจพบภูมิคุ้มกันดังกล่าว นอกจากนี้ การศึกษาของ L. Azzoni และคณะ[22] ในปี พ.ศ. 2555 พบว่าภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข้ากล้ามให้แก่ผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 3 เข็ม ในวันที่ 0, 7 และ 42 จากนั้น ฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นเข้ากล้ามอีก 1 เข็มที่วันที่ 378 ผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 25 คน ซึ่งรับยาต้านไวรัสสม่ำเสมอมีค่า RNab อย่างน้อย 0.5 IU/มล ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นทุกคน ส่วนผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ได้รับยาต้านไวรัสไม่สม่ำเสมอจำนวน 19 คนจากผู้ติดเชื้อ 20 คน มีค่า RNab อย่างน้อย 0.5 IU/มล

ทั้งนี้ วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า เป็นวัคซีนชนิดเชื้อตาย (inactivated vaccine) สามารถฉีดให้แก่ ผู้ติดเชื้อเอชไอวีได้อย่างปลอดภัย จากการศึกษาต่างๆ ไม่พบมีผลข้างเคียงรุนแรง อีกทั้งไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับ CD4+ และ CD8+ และ ปริมาณเชื้อไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือด (HIV viral load) ภายหลังได้รับวัคซีน รวมถึงไม่มีผลต่อการดำเนินโรคของเอชไอวีเช่นเดียวกับวัคซีนชนิดอื่น[19, 21, 42]

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย (Research design)

การวิจัยเชิงทดลอง (Experimental study) ลักษณะ Randomized control trial

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research methodology)

3.2.1 ประชากร (Population) และ ตัวอย่าง (Sample)

กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกเข้ามาศึกษา (Inclusion criteria)

1. ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่สุขภาพดี ไม่มีอาการแสดงทางคลินิก (asymptomatic HIV infection)
2. มีอายุ 18-60 ปี
3. อาสาสมัครมีหลักฐานแสดงการมีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ในกระแสเลือดตั้งแต่ 200 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไปอย่างต่อเนื่อง อย่างน้อย 2 ครั้ง ครั้งสุดท้ายภายในระยะเวลา 1 ปี นับถึงวันคัดเลือกอาสาสมัคร
4. เคยรับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบก่อน หรือ หลังสัมผัสโรคด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงโดยได้รับวัคซีนอย่างน้อย 3 ครั้ง ในระยะเวลา 1-4 สัปดาห์ และขณะนั้นได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อเอชไอวีแล้ว โดยมิได้กำหนดระยะเวลาที่ห่างจากการรับวัคซีนครั้งสุดท้ายก่อนมาเข้าร่วมการศึกษา
5. ยินดีเข้าร่วมการศึกษาวิจัย โดยลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมโครงการ
6. อาสาสมัครสามารถมาตามกำหนดนัดของการวิจัยได้ตลอดจนจบการศึกษา

กฎเกณฑ์ในการคัดเลือกออกจากการศึกษา (Exclusion criteria)

1. ผู้ที่มีไข้ หรือมีอาการเจ็บป่วยเฉียบพลัน นับตั้งแต่ก่อนวันที่คัดเลือกอาสาสมัครเป็นเวลา 1 สัปดาห์ (temporary exclusion)

2. ผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องอื่นๆ นอกเหนือจากการติดเชื้อเอชไอวี เช่น โรคภูมิคุ้มกันบกพร่องแต่กำเนิด ไม่มีม้าม รับประทานยา หรือ ได้รับการรักษาที่กดภูมิคุ้มกัน เช่น ยาสเตียรอยด์ การฉายรังสี
3. ผู้ที่มีโรคเรื้อรังที่รุนแรงอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่นโรคตับอักเสบอย่างรุนแรง โรคไตวายเรื้อรัง หัวใจวาย
4. ผู้ที่มีอาการและอาการแสดงของการติดเชื้อฉวยโอกาส มาภายในระยะเวลา 1 ปี ก่อนเข้าร่วมโครงการวิจัย จากการประเมินทางคลินิก
5. ผู้ที่มีอาการและอาการแสดงของความเจ็บป่วยของระยะเอดส์ (AIDS-defining illnesses) ตาม Center of Disease Control (CDC) classification ของประเทศสหรัฐอเมริกา มาภายในระยะเวลา 1 ปีก่อนเข้าร่วมโครงการวิจัย จากการประเมินทางคลินิก
6. ผู้ที่สัมผัสสัตว์ซึ่งเป็นโรคพิษสุนัขบ้ามาภายในระยะเวลา 1 ปี ก่อนเข้าร่วมโครงการวิจัย
7. ผู้มีประวัติแพ้วัคซีน หรือ ส่วนประกอบของวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า
8. หญิงวัยเจริญพันธุ์ที่กำลังตั้งครรภ์ จากการซักประวัติประจำเดือน และการคุมกำเนิด
9. ผู้ที่ได้รับยาต้านมาลาเรียมาภายในระยะเวลา 2 เดือนก่อนวันคัดเลือกอาสาสมัคร
10. ผู้ที่ได้รับเลือดหรือส่วนประกอบของเลือดมาภายใน 3 เดือนก่อนวันคัดเลือกอาสาสมัคร
11. เข้าร่วมโครงการวิจัยอื่นที่ได้รับยา หรือวัคซีนทดลอง ซึ่งอาจมีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของอาสาสมัครมาภายใน 4 สัปดาห์ก่อนเข้าร่วมการศึกษานี้
12.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2.2 เทคนิคในการสุ่มตัวอย่าง (Sample techniques)

ประชากรเป้าหมาย (Target population)

ผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวีที่สุขภาพดี ไม่มีอาการแสดงทางคลินิก มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ในกระแสเลือดตั้งแต่ 200 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป ไม่มีอาการและอาการแสดงของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสและความเจ็บป่วยของระยะเอดส์ ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงมาก่อน โดยมิได้กำหนดระยะเวลาที่ห่างจากการรับวัคซีนครั้งสุดท้ายก่อนมาเข้าร่วมการศึกษา

ประชากรตัวอย่าง (Sample population)

ผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวีที่สุขภาพดี ไม่มีอาการแสดงทางคลินิก มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ในกระแสเลือดตั้งแต่ 200 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป ไม่มีอาการและอาการแสดงของ

โรคติดเชื้อฉวยโอกาสและความเจ็บป่วยของระยะเอดส์ ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยงมาก่อน โดยมิได้กำหนดระยะเวลาที่ห่างจากการรับวัคซีนครั้งสุดท้ายก่อนมาเข้าร่วมการศึกษาซึ่งมารับบริการที่สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

ขนาดตัวอย่าง (Sample size determination)

เนื่องจากเป็นการหาขนาดตัวอย่างของ 2 กลุ่ม ที่เป็นอิสระต่อกัน โดยตัววัดเป็นค่าเฉลี่ยของข้อมูลชนิดปริมาณ จึงใช้วิธีคำนวณขนาดตัวอย่างโดยสูตร

$$n/group = \frac{2(z_\alpha + z_\beta)^2 \sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

แต่เนื่องจากไม่มีการศึกษาในลักษณะเดียวกันนี้ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีมาก่อน จึงใช้ค่า effect size (ES) ในการคำนวณ โดยใช้สูตร $\frac{n}{group} = \frac{2(z_\alpha + z_\beta)^2}{\left(\frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sigma}\right)^2} = \frac{2(z_\alpha + z_\beta)^2}{(ES)^2}$

กำหนดค่าความเชื่อมั่น 95% หรือ α = 0.05 จะได้ค่า $Z_{\alpha/2}$ = 1.96

กำหนดค่ากำลังการทดสอบ 80% หรือ $\beta = 0.2$ จะได้ค่า Z_β = 0.842

เมื่อใช้ ค่า effect size (ES) ที่แตกต่างกัน คำนวณขนาดตัวอย่างได้ดัง ตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ขนาดตัวอย่างต่อกลุ่มแปรตาม effect size

Alpha (α)	Beta (β)	Effect size (ES)[75]		ขนาดตัวอย่างต่อกลุ่ม
0.05	0.2	Small ES	0.2	154.6
			0.3	68.7
			0.4	38.6
		Moderate ES	0.5	24.7
			0.6	17.2
			0.7	12.6
		Large ES	0.8	9.7

ในการศึกษานี้ พิจารณาใช้ค่า moderate effect size = 0.6 ในการคำนวณขนาดตัวอย่าง และเผื่อกรณีที่อาสาสมัครไม่สามารถเข้าร่วมจนจบการศึกษาอีกร้อยละ 10 จำนวนตัวอย่างในแต่ละกลุ่ม จึงเป็น 20 คน ต่อกลุ่ม โดยการศึกษานี้ มีกลุ่มศึกษา และ กลุ่มควบคุม ดังนั้น จึงมีจำนวนอาสาสมัครรวมทั้งสิ้น 40 คน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2.3 การสังเกตและการวัด (Observation and measurement)

ตัวแปรอิสระ คือ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 และ การฉีดวัคซีนแบบควบคุม คือ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 4 การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข้าในผิวหนัง

รูปที่ 5 การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด

ตัวแปรตาม คือ ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (RNab)

ตัวแปรที่ควบคุม คือ ชนิดของวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า การได้รับการรักษาหรือยาอื่นๆที่อาจมีผลต่อการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน

วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่ใช้ในการวิจัยเป็นวัคซีนชนิดเซลล์เพาะเลี้ยง (purified Vero cell rabies vaccine: PVRV; Verorab ®, Importer / Manufacturer: Sanofi Pasteur Ltd., Thailand/Sanofi Pasteur S.A., France / Lot no. L 1101) ซึ่งมีความแรง (potency) 4.0 IU/0.5 mL

การเก็บข้อมูลและวัดผล

1. แบบบันทึกข้อมูล
2. การตรวจระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในเลือด (RNab) ด้วยวิธี Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT)
3. การตรวจระดับ CD4+ และ CD8+ T cell count ในเลือด พร้อมค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (complete blood count: CBC)
4. การตรวจระดับ HIV viral load ในเลือด

ทั้งนี้ การศึกษาเป็น single blind คือ ห้องตรวจปฏิบัติการไม่ทราบข้อมูลของอาสาสมัคร

3.2.4 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

1. ชี้แจงวัตถุประสงค์ ขั้นตอนการวิจัย ประโยชน์ที่ผู้เข้าร่วมวิจัยจะได้รับ รวมถึงผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น ตอบข้อสงสัย ให้เวลาผู้เข้าร่วมวิจัยตัดสินใจโดยอิสระ
2. ผู้เข้าร่วมวิจัยลงนามยินยอมในใบยินยอมเข้าร่วมโครงการ
3. ซักประวัติ ตรวจร่างกาย ตามแบบบันทึกข้อมูล
4. อาสาสมัครรับการเจาะเลือดก่อนการฉีดวัคซีนในวันที่ 0 เพื่อตรวจระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าพื้นฐาน (baseline rabies Neutralizing Antibody Titers) ตรวจเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ และ CD8+ T lymphocyte และ plasma HIV viral load
5. เมื่อทราบผล จึงแบ่งอาสาสมัคร เป็น 2 กลุ่ม โดยเทคนิค stratified block randomization ตามระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าพื้นฐาน น้อยกว่า และ มากกว่าหรือเท่ากับ 0.4 IU/mL ตามหลักฐานที่ได้จากการทบทวนวรรณกรรมและการศึกษา preliminary study ว่าค่าดังกล่าวมีผลต่อการตอบสนองของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในผู้ติดเชื้อเอชไอวี ได้ดังนี้

1. อาสาสมัครกลุ่มที่ 1 จำนวน 20 คน รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0

2. อาสาสมัครกลุ่มที่ 2 จำนวน 20 คน รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบเข้ากล้าม บริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3

6. อาสาสมัครรับการเจาะเลือดเพื่อตรวจระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies Neutralizing Antibody Titers) ในวันที่ 7 และ 14

7.หลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 0 อาสาสมัครจะได้รับสมุดบันทึกอาการข้างเคียง ซึ่งภายหลังบันทึกแล้ว ต้องนำส่งคืนแพทย์ผู้วิจัยในวันที่ 14

หมายเหตุ

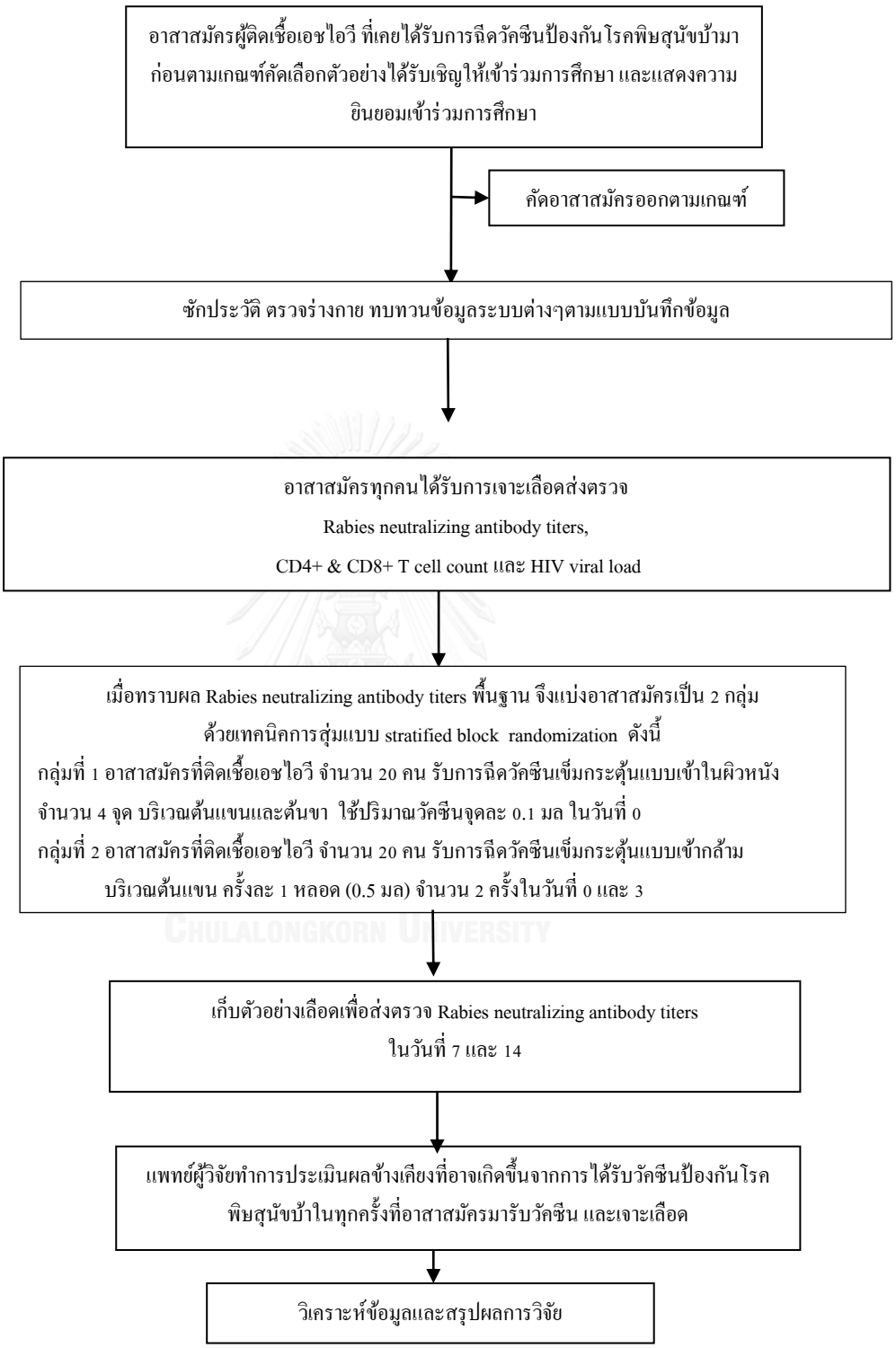
กรณีที่อาสาสมัครไม่สามารถมาตรงตามวันนัดได้ สำหรับการเจาะเลือดในวันที่ 7 และ 14 หลังการฉีดวัคซีนกระตุ้นเข็มแรก อนุญาตให้มีการเจาะเลือด ก่อนหรือหลังวันนัดได้ 1 วัน และ 3 วัน ตามลำดับ

อาสาสมัครจะได้รับการเจาะเลือดครั้งละ 30 มิลลิลิตร ตัวอย่างเลือดที่ส่งตรวจระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าโดยวิธี Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT) จะถูกนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นแยกซีรั่มในอัตรา 3,000 รอบต่อนาที(RPM) นาน 5 นาที เพื่อแยกเก็บซีรั่มไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาตรวจต่อไป ทั้งนี้สำหรับเลือดและส่วนประกอบของเลือดของอาสาสมัครส่วนที่เหลือ จะเก็บไว้เพื่อกรณีการตรวจสอบย้อนหลัง โดยจะเก็บเป็นเวลา 3 ปี จึงทำลาย

หากในวันที่ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนกระตุ้นเข็มแรก มีอาสาสมัครรายใดที่มีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (RNab titers) ต่ำกว่า 0.5 IU/มิลลิลิตร อาสาสมัครจะได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าซ้ำ และ ตรวจติดตามระดับภูมิคุ้มกันดังกล่าวจนกว่าจะมากกว่าหรือเท่ากับ 0.5 IU/ml และ หากอาสาสมัครรายใดถูกสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมกัด หรือสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าในขณะเข้าร่วมวิจัย อาสาสมัครต้องรีบแจ้งแพทย์ผู้วิจัยทราบโดยเร็วที่สุด เพื่อให้คำแนะนำในการดูแลรักษาภายหลังสัมผัสโรค และ ตรวจระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า รวมถึงฉีดวัคซีนเพิ่มเติมในกรณีที่อาสาสมัครมีค่า Rabies Neutralizing Antibody Titers น้อยกว่า 0.5 IU/มล

ในระหว่างการวิจัย อาสาสมัครจะต้องแจ้งแก่แพทย์ผู้วิจัยทราบ กรณีที่มีความเจ็บป่วย หรือ ใช้ยาอื่นใด นอกเหนือจากยาต้านไวรัส และ ยารักษาโรคประจำตัวที่รับประทานอยู่เป็นประจำที่ได้แจ้งให้แพทย์ผู้วิจัยทราบในตอนเข้าร่วมการวิจัยแล้ว

แผนภูมิที่ 2. ขั้นตอนการศึกษาวิจัย



3.2.5 การรวบรวมข้อมูล (Data collection)

คัดกรองอาสาสมัครที่ คลินิกป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า สถานเสาวภา สภากาชาดไทย คลินิกภูมิคุ้มกันของศูนย์ประสานความร่วมมือระหว่างไทย-ออสเตรเลีย-เนเธอร์แลนด์ เพื่อการวิจัยทางคลินิกด้านโรคเอดส์ คลินิกภูมิคุ้มกัน และ คลินิกโรคติดเชื้อของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ดำเนินการวิจัยและเก็บข้อมูลที่คลินิกป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

ผู้คัดกรองอาสาสมัคร ผู้เก็บข้อมูล และ ผู้บันทึกข้อมูล ได้แก่ ผู้ดำเนินการวิจัย และ คณะ ซึ่งได้แก่ แพทย์และพยาบาล ของคลินิกป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

1. การวัดระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies Neutralizing Antibody Titers) ทำที่ ฝ่ายวิจัยและพัฒนา สถานเสาวภา สภากาชาดไทย
2. การวัดระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์ชนิด CD4+ และ CD8+ T cell พร้อมค่าความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด (CBC) และ การวัดปริมาณเชื้อไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือด (HIV viral load) ทำที่ศูนย์ประสานความร่วมมือระหว่างไทย-ออสเตรเลีย-เนเธอร์แลนด์ เพื่อการวิจัยทางคลินิกด้านโรคเอดส์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 15 วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล (Methods of data collection)

Variables		Methods
-Demographic variables	age and gender	interview, extracting from identification card
-Confounding variables	HIV status	
	- positivity of HIV infection	extracting from records
	- duration of HIV infection	interview, extracting from records
	- opportunistic infections	interview
	- HAART receiving	interview, extracting from records
	- CD4+ T cell count	laboratory result
	- CD8+ T cell count	laboratory result
	- HIV viral load	laboratory result
	rabies vaccination history	
	- interval from last immunization	interview, extracting from records
	- previous vaccine and regimens	interview, extracting from records
	- number of previous rabies vaccination	interview, extracting from records
-Co-intervention variables	concomitant treatment	interview, extracting from records
-Outcome variables	Rabies Neutralizing Antibody Titers	laboratory result
	side effect from vaccination	interview, extracting from diary, observation

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

กรณีที่ข้อมูลเป็น categorical data จะทำการสรุปข้อมูลในรูปแบบของ frequency หรือ percentage
กรณีที่ข้อมูลเป็น continuous data จะทำการสรุปข้อมูลในรูปแบบของ mean หรือ median ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการกระจายของข้อมูลว่าเป็นการกระจายแบบปกติ (normal distribution) หรือไม่
การพิจารณาข้อมูลในเชิงวิเคราะห์นั้น ได้กำหนดการทดสอบไว้เป็นแบบสองทาง (two-tailed test)
การเปรียบเทียบข้อมูลระหว่าง 2 กลุ่ม หากข้อมูลมีการกระจายแบบปกติ จะใช้สถิติ independent t-test หากข้อมูลไม่มีการกระจายแบบปกติ จะใช้สถิติ Mann-Whitney U test
การเปรียบเทียบข้อมูลมากกว่า 2 กลุ่ม หากข้อมูลมีการกระจายแบบปกติ จะใช้สถิติ one – way ANOVA หากข้อมูลไม่มีการกระจายแบบปกติ จะใช้สถิติ Kruskal-Wallis test
การเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างช่วงเวลาต่างๆ จะใช้สถิติ 2 – way ANOVA
การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ ใช้วิธี bivariate correlations หากข้อมูลมีการกระจายแบบปกติจะใช้สถิติ Pearson correlation หากข้อมูลไม่มีการกระจายแบบปกติจะใช้สถิติ Spearman rank correlation และใช้ partial correlation เพื่อขจัดอิทธิพลของตัวแปรอื่น
กำหนดค่า p-value < 0.05 จึงจะถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติใช้โปรแกรม IBM SPSS version 21.0

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 16 การวิเคราะห์และสรุปข้อมูล (Data analysis and data summary)

Variables	Data analysis		
	Data summary		
	Type of data	Central tendency	Deviation
1.Demographic variables			
- age	continuous	mean/median	SD/Q_1Q_3
- gender	categorical	percentage/frequency	square root [P(1-P)/N], 95% CI
2. Confounding variables			
HIV status			
- positivity of HIV infection	categorical	percentage/frequency	square root [P(1-P)/N], 95% CI
- duration of HIV infection	continuous	mean/median	
- opportunistic infections			
- HAART receiving	categorical	percentage/frequency	
- CD4+ &CD8+T cell count	categorical	percentage/frequency	SD/ Q_1Q_3
- HIV viral load	continuous	mean/median	square root [P(1-P)/N], 95% CI
rabies vaccination history	continuous	mean/median	square root [P(1-P)/N], 95% CI
- interval from last immunization	continuous	mean/median	square root [P(1-P)/N], 95% CI
- previous vaccine and regimens	categorical	percentage/frequency	SD/Q_1Q_3
- number of previous rabies vaccination	categorical	percentage/frequency	SD/Q_1Q_3
3.Co-intervention Variables			SD/Q_1Q_3
- concomitant treatment	categorical	percentage/frequency	square root [P(1-P)/N], 95% CI
4.Outcome variables			
-Rabies Neutralizing Antibody Titers	continuous	mean/median	square root [P(1-P)/N], 95% CI
-side effect from vaccination	categorical	percentage/frequency	SD/Q_1Q_3 square root [P(1-P)/N], 95% CI

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

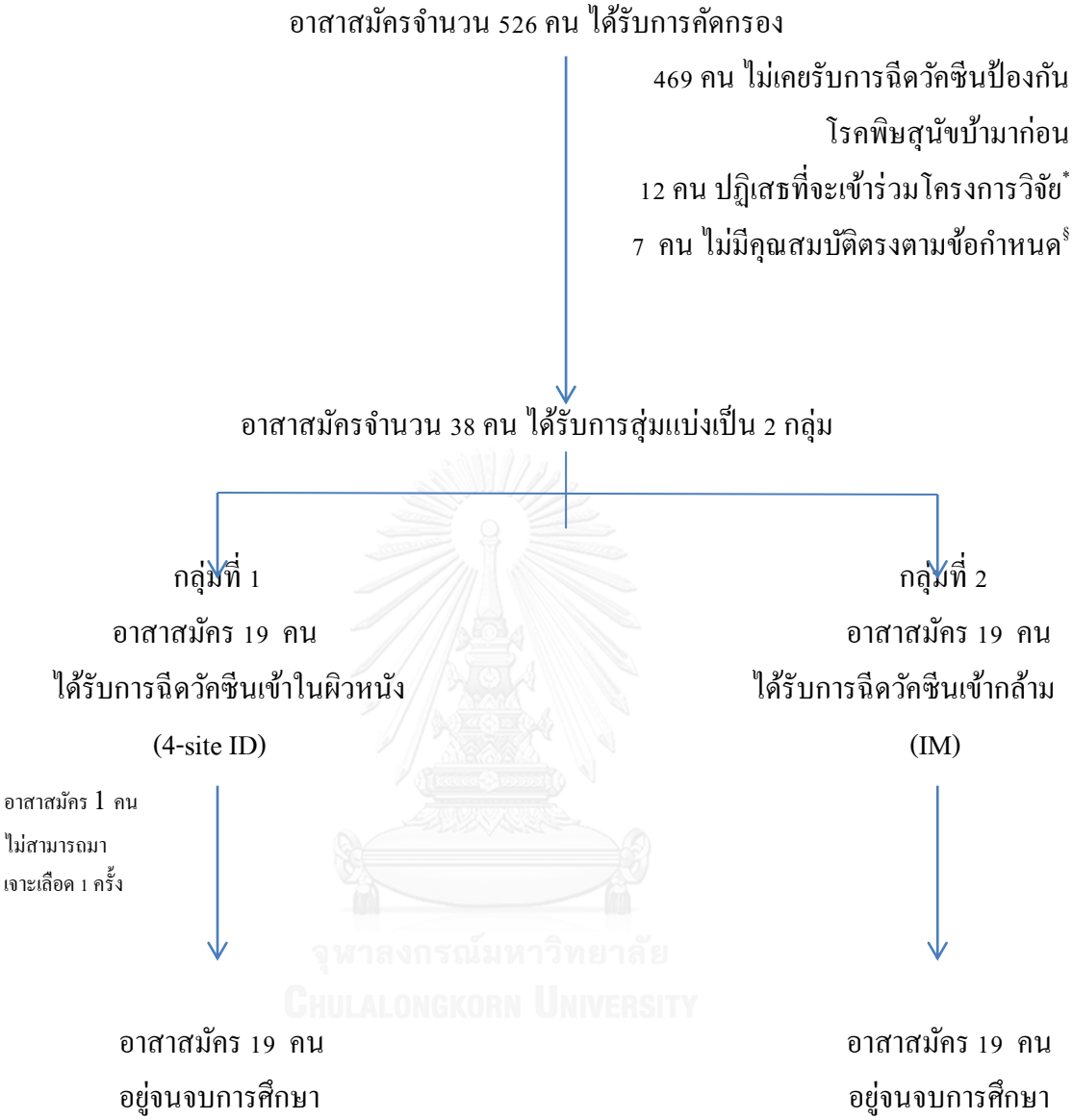
บทที่ 4

ผลการวิจัย

นับตั้งแต่เดือนกันยายน – ธันวาคม พ.ศ. 2558 อาสาสมัครจำนวน 526 คน ได้รับการคัดกรองจาก 4 คลินิก ได้แก่ คลินิกฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า สถานเสาวภา สภากาชาดไทย คลินิกภูมิคุ้มกันของศูนย์ประสานความร่วมมือระหว่างไทย-ออสเตรเลีย-เนเธอร์แลนด์ เพื่อการวิจัยทางคลินิกด้านโรคเอดส์ คลินิกภูมิคุ้มกัน และ คลินิกโรคติดเชื้อของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ อาสาสมัครส่วนใหญ่ไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน แม้อาสาสมัครจำนวนหนึ่งจะเคยถูกสุนัขและแมวกัด และมีความเสี่ยงต่อการสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้า คงเหลืออาสาสมัครจำนวน 38 คนที่มีคุณสมบัติตรงตามเกณฑ์และ สมัครใจเข้าร่วมการศึกษา รายละเอียดดังแผนภูมิที่ 3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

แผนภูมิที่ 3. การดำเนินการวิจัย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

*เหตุผล: ภูมิลำเนาอยู่ต่างจังหวัดจึงไม่สะดวกที่จะมาเข้าร่วมการศึกษา ไม่สะดวกมาเข้าโครงการในวัน-เวลา ราชการ ไม่ต้องการเปิดเผยตนว่าเป็นเอชไอวี

§เหตุผล: มีประวัติติดเชื้อฉวยโอกาสมาภายใน 1 ปี ประวัติการเคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าไม่ชัดเจน ได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าตั้งแต่ก่อนการติดเชื้อเอชไอวี มีประวัติระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ในกระแสเลือดน้อยกว่า 200 เซลล์/มิลลิลิตรภายในระยะเวลา 1 ปี

ข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัคร

อาสาสมัครจำนวนทั้งสิ้น 38 คน อายุเฉลี่ย 46.3 ปี (ตั้งแต่ 22-60 ปี) เป็นชาย 21 คน (ร้อยละ 55.3) อาสาสมัครส่วนใหญ่ (ร้อยละ 73.7) ติดเชื้อเอชไอวีมานานกว่า 10 ปี ทุกคนได้รับยาต้านไวรัส โดยมีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells เฉลี่ย 622 เซลล์/มิลลิลิตร ค่าเฉลี่ยจำนวนเปอร์เซ็นต์ของ CD4+ T cells เท่ากับ 29.6 ไม่มีอาสาสมัครรายใดมีจำนวนเปอร์เซ็นต์ของ CD4+ T cells ต่ำกว่า 15 ค่ากลางของอัตราส่วน CD4/CD8 เท่ากับ 0.85 ร้อยละ 31.6 ของอาสาสมัครมีอัตราส่วนของ CD4/CD8 มากกว่า หรือ เท่ากับ 1 อาสาสมัครทุกคนมีระดับเชื้อไวรัสเอชไอวีในเลือด (plasma HIV RNA) น้อยกว่า 20 copies/mL

ในส่วนประวัติการรับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า อาสาสมัคร 30 คน (ร้อยละ78.9) เคยได้รับวัคซีนมามากกว่า 1 ครั้งโดยระยะเวลาเฉลี่ยตั้งแต่ได้รับวัคซีนครั้งสุดท้ายจนถึงการศึกษานี้ คือ 51.5 เดือน อาสาสมัครจำนวน 33 คน (ร้อยละ 86.8) มีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies neutralizing antibody titers; RNab) อย่างน้อย 0.5 IU/mL ก่อนได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้นในการศึกษานี้ รายละเอียดดังตารางที่ 17

ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยของ อายุ ระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells อัตราส่วนของ CD4/CD8 ระยะเวลาที่ติดเชื้อเอชไอวี ระยะเวลาที่รับยาต้านไวรัส ระยะเวลาตั้งแต่ได้รับวัคซีนครั้งสุดท้ายจนถึงการศึกษานี้ สัดส่วนจำนวนอาสาสมัครที่ระดับเม็ดเลือดขาว ลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells น้อยกว่า 300 เซลล์/มิลลิลิตร สัดส่วนจำนวนอาสาสมัครที่มีระดับ RNab ในวันที่ 0 ก่อนได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้นน้อยกว่า 0.4 IU/mL และ สัดส่วนจำนวนอาสาสมัครที่ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามามากกว่า 1 ครั้ง ระหว่างอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม

ตารางที่ 17 ข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัคร

ข้อมูลพื้นฐาน	จำนวน	
	กลุ่มที่ 1 (4-site ID) (n = 19) (%)	กลุ่มที่ 2 (IM) (n = 19) (%)
ค่าเฉลี่ยอายุ (ปี) (SD)	46.5 (8)	46.2 (10)
เพศ (คน)		
หญิง	9 (47.4 %)	8 (42.1 %)
ชาย	10 (52.6 %)	11 (57.9 %)
ประวัติการติดเชื้อเอชไอวี		
ค่ากลางระยะเวลาที่ติดเชื้อเอชไอวี (เดือน) (Q_1,Q_3)	192 (120, 240)	180 (72, 232)
- จำนวนอาสาสมัครที่ติดเชื้อน้อยกว่า 120 เดือน (คน)	4 (21.0 %)	6 (31.6 %)
- จำนวนอาสาสมัครที่ติดเชื้อ 120 – 239 เดือน (คน)	9 (47.4 %)	9 (47.4 %)
- จำนวนอาสาสมัครที่ติดเชื้อตั้งแต่ 240 เดือน ขึ้นไป (คน)	6 (31.6 %)	4 (21.0 %)
	19 (100 %)	19 (100 %)
กำลังรับยาต้านไวรัส (คน)	156 (108, 192)	132 (60, 180)
ค่ากลางระยะเวลาที่รับยาต้านไวรัส (เดือน) (Q_1,Q_3)	627 (218)	618 (243)
ค่าเฉลี่ยจำนวน CD4+ T cells เซลล์/มิลลิลิตร (SD)	1 (5.3 %)	1 (5.3 %)
- จำนวนอาสาสมัครที่มี CD4+ T cells 200-299 เซลล์/มิลลิลิตร (คน)	3 (15.8 %)	4 (21.0 %)
- จำนวนอาสาสมัครที่มี CD4+ T cells 300-499 เซลล์/มิลลิลิตร (คน)	15 (78.9 %)	14 (73.7 %)
- จำนวนอาสาสมัครที่มี CD4+ T cells ≥ 500 เซลล์/มิลลิลิตร (คน)		

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข้อมูลพื้นฐาน	จำนวน	
	กลุ่มที่ 1 (4-site ID) (n = 19) (%)	กลุ่มที่ 2 (IM) (n = 19) (%)
ค่าเฉลี่ยจำนวนเปอร์เซ็นต์ของ CD4+ T cells (SD)	30.4 (7)	28.8 (8)
ค่ากลางจำนวน CD8+ T cells (เซลล์/มิลลิลิตร) (Q_1,Q_3)	681 (536, 795)	706 (576, 1074)
ค่ากลางอัตราส่วนของ CD4/CD8 (Q_1,Q_3)	0.83 (0.73, 1.06)	0.87 (0.54, 1.06)
- จำนวนอาสาสมัครที่มีอัตราส่วนของ CD4/CD8 ≥ 1.0 (คน)	5 (26.3%)	7 (36.8%)
- จำนวนอาสาสมัครที่มีอัตราส่วนของ CD4/CD8 ≥ 0.8 (คน)	12 (63.2%)	11 (57.9%)
- จำนวนอาสาสมัครที่มีอัตราส่วนของ CD4/CD8 ≥ 0.6 (คน)	16 (84.2%)	13 (68.4%)
จำนวนอาสาสมัครที่มี Plasma HIV RNA < 20 copies/mL (คน)	19 (100 %)	19 (100 %)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข้อมูลพื้นฐาน	จำนวน	
	กลุ่มที่ 1 (4-site ID) (n = 19) (%)	กลุ่มที่ 2 (IM) (n = 19) (%)
<u>ประวัติการรับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า</u>		
จำนวนครั้งที่อาสาสมัครเคยได้รับวัคซีนมาก่อน (คน)		
- 1 ครั้ง	5 (26.3 %)	3 (15.8 %)
- 2 ครั้ง	12 (63.1 %)	13 (68.4 %)
- 3 ครั้ง	1 (5.3 %)	2 (10.5 %)
- 4 ครั้ง	1 (5.3 %)	1 (5.3 %)
ค่ากลางระยะเวลาตั้งแต่ได้รับวัคซีนครั้งสุดท้ายจนถึงการศึกษานี้ (เดือน)(Q_1,Q_3)	51 (36, 58)	52 (48, 58)
- จำนวนอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนมาไม่เกิน 36 เดือน (คน)	5 (26.3 %)	4 (21.1 %)
- จำนวนอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนมา 37 -60 เดือน (คน)	11 (57.9 %)	15 (78.9 %)
- จำนวนอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนมาเกินกว่า 60 เดือน (คน)	3 (15.8 %)	0 (0 %)
จำนวนอาสาสมัครแบ่งตามระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าพื้นฐาน (RNab Day0; IU/mL) (คน)	2 (10.5 %)	2 (10.5 %)
- < 0.4	2 (10.5 %)	2 (10.5 %)
- 0.4 – 1.0	7 (36.8 %)	5 (26.3 %)
- 1.01 -3.0	2 (10.5 %)	4 (21.1 %)
- 3.01-10.0	6 (31.6 %)	6 (31.6 %)
- > 10.0		
หรือ		
- < 0.5	3 (15.8 %)	2 (10.5 %)
- $\geq$ 0.5	16 (84.2 %)	17 (89.5 %)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข้อมูลพื้นฐาน	จำนวน	
	กลุ่มที่ 1 (4-site ID) (n = 19) (%)	กลุ่มที่ 2 (IM) (n = 19) (%)
<u>โรคประจำตัวอื่น</u>*		
มี (คน)	12 (63.2%)	10 (52.6%)
- ความดันโลหิตสูง (คน)	3	2
- ไขมันในเลือดสูง (คน)	8	6
- เบาหวาน (คน)	-	2
- ไทรอยด์เป็นพิษ (คน)	2	-
- สะเก็ดเงิน (คน)	2	-
- เก๊าท์ (คน)	1	-
- ไวรัสตับอักเสบ บี (คน)	2	3
- ไวรัสตับอักเสบ ซี (คน)	1	1

*อาสาสมัคร 1 คน มีโรคประจำตัวอื่นได้มากกว่า 1 ชนิด

ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น

ภายหลังได้รับวัคซีน อาสาสมัคร 37 จาก 38 คน มีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรค พิษสุนัขบ้าสูงขึ้น โดยอาสาสมัคร 5 คนที่เดิมมี RNab < 0.5 IU/mL มีระดับภูมิคุ้มกันสูงขึ้นถึงระดับที่เพียงพอในการป้องกันโรคทุกคน ไม่ว่าจะได้รับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นด้วยวิธีใด เนื่องจากอาสาสมัคร 33 คน (ร้อยละ 86.8) มีระดับ RNab $\geq$ 0.5 IU/mL อยู่ก่อนแล้ว เพื่อศึกษาการตอบสนองต่อการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นจึงใช้ค่าการเปลี่ยนแปลงของระดับ RNab ที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 เทียบกับ RNab ก่อนได้รับวัคซีน คือ วันที่ 0 โดยหากมีค่า RNab ในวันที่ 7 สูงขึ้นจากวันที่ 0 อย่างน้อย 5 เท่า จะถือว่ามี anamnestic immune response [13]

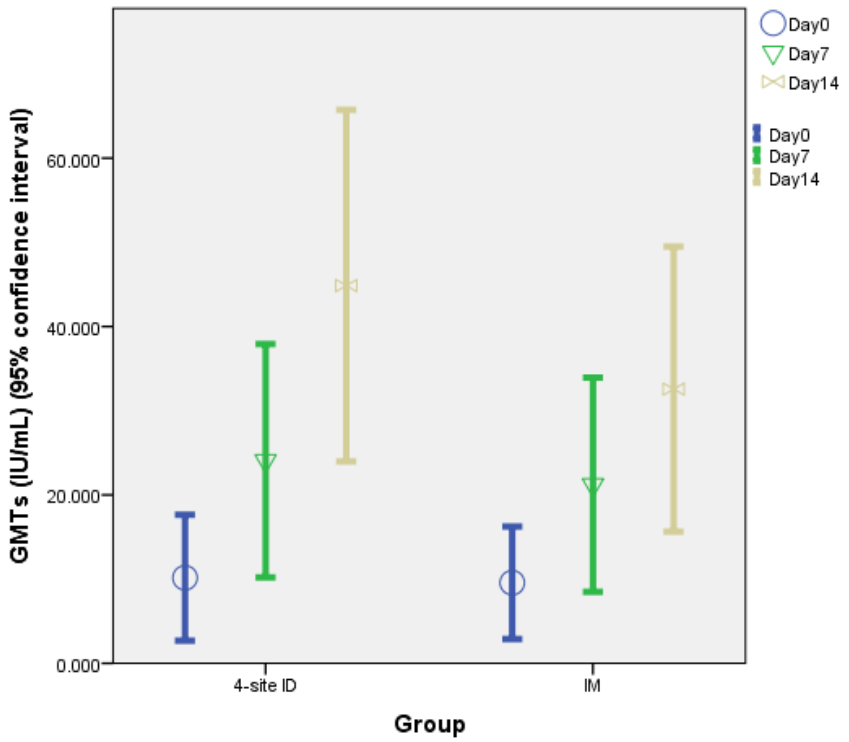
สำหรับค่าเฉลี่ย (Geometric mean titers; GMTs) ของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแสดงในตารางที่ 18 และ รูปที่ 6 เบื้องต้น อาสาสมัครกลุ่มที่ 1 มีค่าเฉลี่ยของ RNab ในวันที่ 0 ต่ำกว่า แต่เมื่อได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้นกลับมีค่าเฉลี่ยของ RNab ในวันที่ 7 และ 14 สูงกว่า อาสาสมัครกลุ่มที่ 2 อย่างไรก็ตาม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value ในวันที่ 0, 7 และ 14 เท่ากับ 0.72, 0.67 และ 0.18 ตามลำดับ)

ตารางที่ 18 ค่าเฉลี่ย (Geometric mean titers) ของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น

สูตรการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น	วันที่หลังรับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น		
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14
กลุ่มที่ 1 **4-site ID** (n=19) GMTs (IU/ml) (Range) 95% CI จำนวนอาสาสมัครที่มี RNab น้อยกว่า 0.5 IU/ml	3.01 (0.21 – 56.56) 2.68 – 17.64 3/19	14.94 (2.19 – 122.57) 10.19 – 37.92 0/18	31.31 (4.60 – 147.68) 23.98 – 65.73 0/19
กลุ่มที่ 2 **IM** (n=19) GMTs (IU/ml) (Range) 95% CI จำนวนอาสาสมัครที่มี RNab น้อยกว่า 0.5 IU/ml	3.79 (0.34 – 56.56) 2.89 – 16.25 2/19	12.89 (1.36 – 119.24) 8.49 – 33.93 0/19	19.83 (2.72 – 135.42) 15.63 – 49.49 0/19
รวมอาสาสมัครทั้งหมด (n=38) GMTs (IU/ml) (Range) 95% CI จำนวนอาสาสมัครที่มี RNab น้อยกว่า 0.5 IU/ml	3.38 (0.21 – 56.56) 5.11 – 14.61 5/38	13.85 (1.36 – 122.57) 13.66 – 31.52 0/37	24.92 (2.72 – 147.68) 25.68 – 51.41 0/38

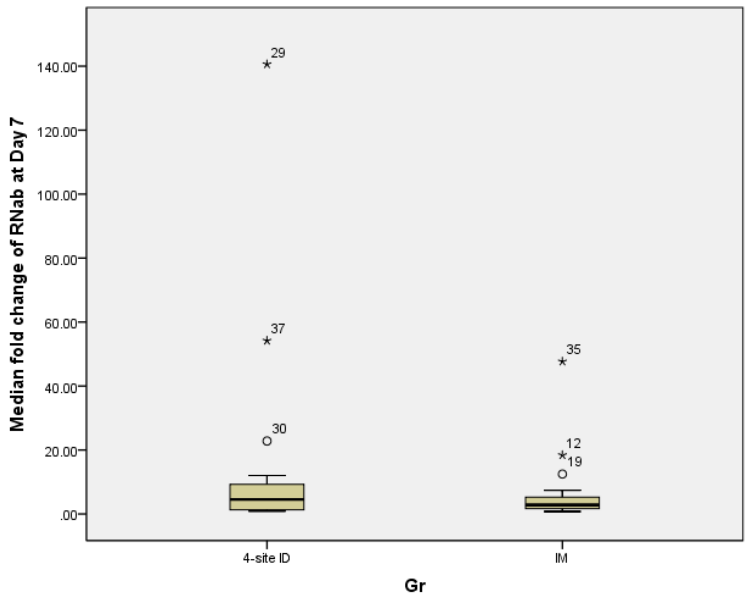
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 6 ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 0, 7 และ 14



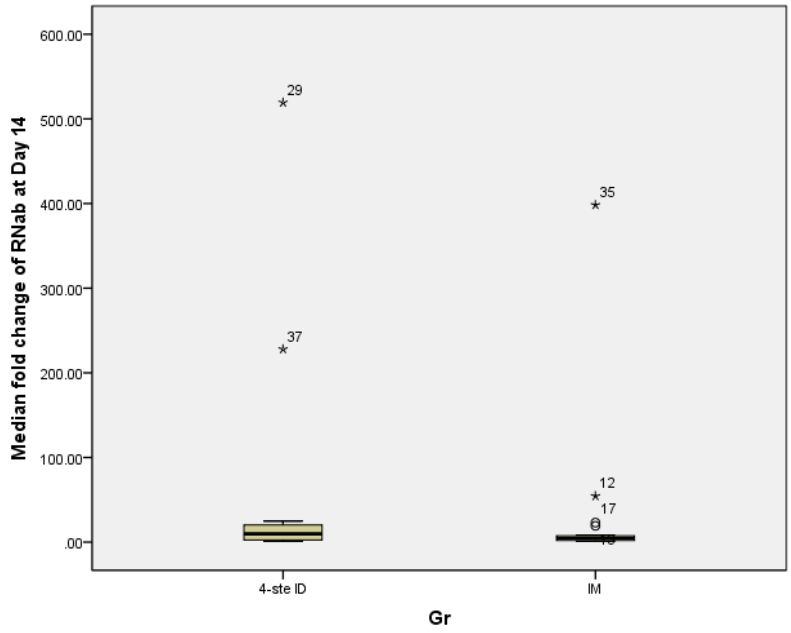
ผลการศึกษา พบว่า อาสาสมัครกลุ่มที่ 1 ซึ่งได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 (4-site ID) มีค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับ RNab ที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 และ 14 เมื่อเทียบกับวันที่ 0 เท่ากับ 4.5 (1.3, 9.9) และ 13.0 (2.4, 20.7) ซึ่งสูงกว่า ค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับ RNab ที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 และ 14 เมื่อเทียบกับ วันที่ 0 ของอาสาสมัครกลุ่มที่ 2 ที่ได้รับการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้าม บริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งใน วันที่ 0 และ 3 (IM) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.8 (1.6, 6.1) และ 4.6 (2.0, 7.8) ตามลำดับ นอกจากนี้ อาสาสมัครกลุ่มที่ 1 ยังมีสัดส่วนของอาสาสมัครที่มี anamnestic immune response ในวันที่ 7 และ 14 เท่ากับ ร้อยละ 50.0 และ ร้อยละ 63.2 ซึ่ง มากกว่า สัดส่วนของอาสาสมัครที่มี anamnestic immune response ในวันที่ 7 และ 14 ของอาสาสมัครกลุ่มที่ 2 ซึ่งเท่ากับ ร้อยละ 26.3 และ ร้อยละ 42.1 ตามลำดับ

รูปที่ 7 กราฟ Box plot แสดงค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้น ในวันที่ 7 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 8 กราฟ Box plot แสดงค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้น ในวันที่ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น



อย่างไรก็ตาม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้น (p-value ในวันที่ 7 และ 14 เท่ากับ 0.52 และ 0.18 ตามลำดับ) และ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของจำนวนอาสาสมัครที่มี anamnestic immune response (p-value ในวันที่ 7 และ 14 เท่ากับ 0.42 และ 0.42 ตามลำดับ)

เมื่อวิเคราะห์ถึงสูตรการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นที่ทำให้ระดับ RNab เพิ่มขึ้นจากระดับก่อนการฉีดวัคซีนในวันที่ 0 พบว่า ในวันที่ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีน อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับวัคซีนแบบ 4-site ID มีสัดส่วนของผู้ที่มี RNab เพิ่มขึ้นจากเดิม อย่างน้อย 30 IU/mL มากกว่าอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับวัคซีนแบบ IM แต่ทั้งนี้จะมีนัยสำคัญในทางคลินิกหรือไม่นั้น เป็นสิ่งที่ต้องศึกษาต่อไป

ตารางที่ 19 จำนวนอาสาสมัครทั้ง 2 กลุ่ม ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบ 4-site ID และแบบ IM แบ่งตามระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 และ 14

ระดับ RNab ที่เพิ่มขึ้นจากในวันที่ 0 (IU/mL)	วันที่ 7		วันที่ 14	
	จำนวนอาสาสมัครกลุ่มที่ 1 (4-site ID) (n=18)	จำนวนอาสาสมัครกลุ่มที่ 2 (IM) (n=19)	จำนวนอาสาสมัครกลุ่มที่ 1 (4-site ID) (n=19)	จำนวนอาสาสมัครกลุ่มที่ 2 (IM) (n=19)
< 10	11	10	6	8
10 - 29	6	8	4	6
30 - 100	0	1	7	4
>100	1	0	2	1

เมื่อทำการแยกวิเคราะห์เฉพาะอาสาสมัครที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ตั้งแต่ 500 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไปจำนวน 29 คน อาสาสมัครจำนวน 15 คนได้รับวัคซีนแบบ 4-site ID และ อาสาสมัครอีก 14 คนได้รับวัคซีนแบบ IM พบว่า อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับวัคซีนแบบ 4-site ID มีค่าเฉลี่ยของ RNab ในวันที่ 14 สูงกว่า อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับวัคซีนแบบ IM อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value ในวันที่ 0, 7 และ 14 เท่ากับ 0.26, 0.09 และ 0.03 ตามลำดับ)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

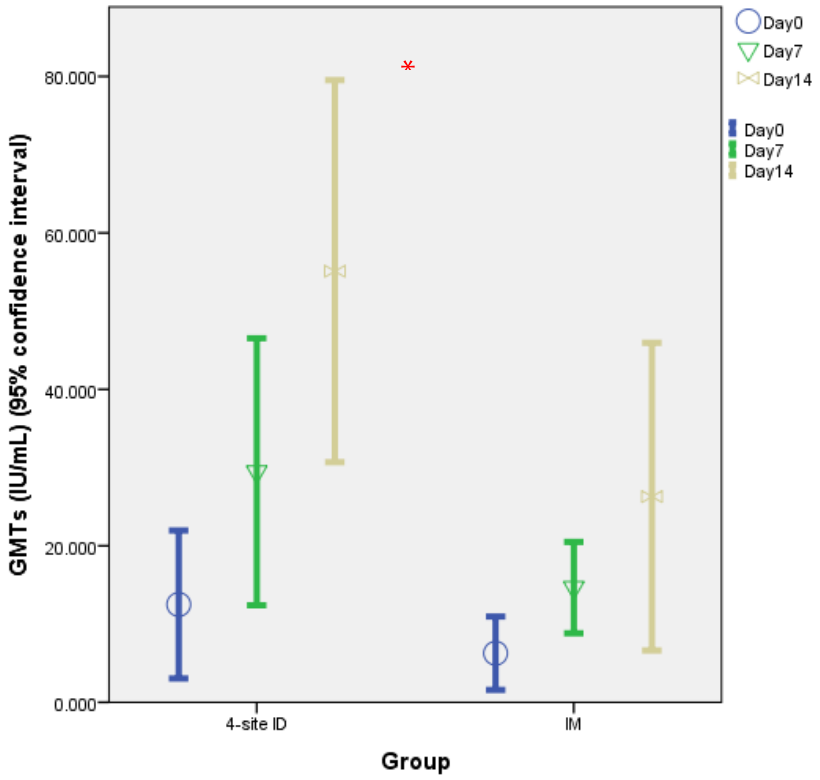
ตารางที่ 20 ค่าเฉลี่ย (Geometric mean titers) ของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นของอาสาสมัครที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ตั้งแต่ 500 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป (n=29)

สูตรการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น	วันที่หลังรับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น		
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14
กลุ่มที่ 1 **4-site ID** (n=15) GMTs (IU/ml) (Range) 95% CI	3.60 (0.2 – 56.6) 3.03 – 21.97	20.90 (4.8 – 122.6) 12.39 – 46.53	44.97 * (8.8 – 147.7) 30.68 – 79.53
กลุ่มที่ 2 **IM** (n=14) GMTs (IU/ml) (Range) 95% CI	2.76 (0.3 – 27.3) 1.58 – 10.97	10.73 (1.4 – 32.3) 8.82 – 20.49	15.40 (2.7 – 135.4) 6.62 – 45.96
รวมอาสาสมัครทั้งหมด (n=29) GMTs (IU/ml) (Range) 95% CI	3.17 (0.2 – 56.6) 4.31 – 14.46	14.98 (1.4 – 122.6) 13.16 – 30.96	26.81 (2.7 – 147.7) 25.02 – 56.38

*p-value < 0.05

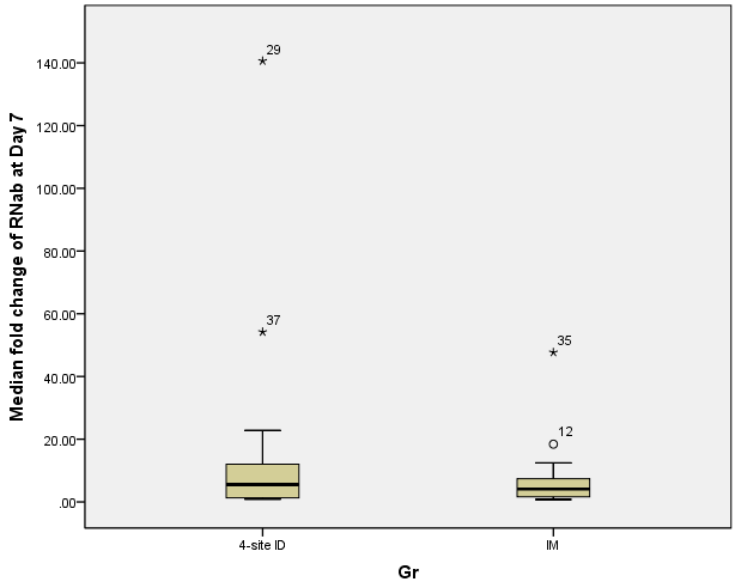
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 9 ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 0, 7 และ 14 ของอาสาสมัครที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ตั้งแต่ 500 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป



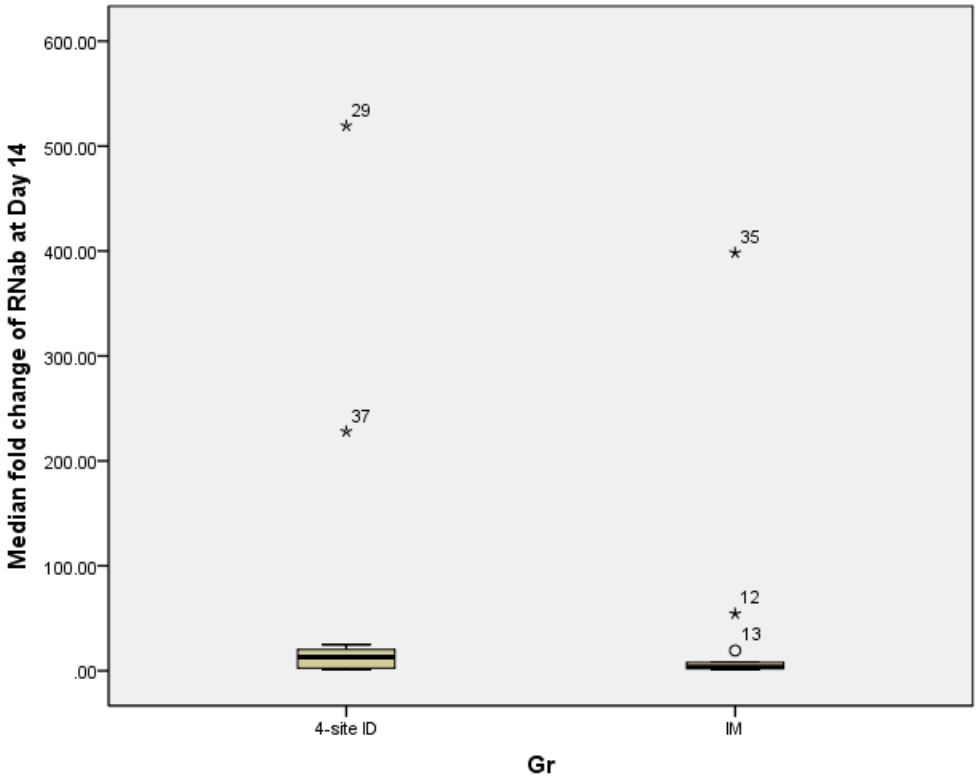
*P-value = 0.03

รูปที่ 10 กราฟ Box plot แสดงค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้น ในวันที่ 7 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นของอาสาสมัครที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ตั้งแต่ 500 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป (n=29)



ผลการศึกษา พบว่า อาสาสมัครกลุ่มที่ 1 ซึ่งได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 (4-site ID) มีค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับ RNab ที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 และ 14 เมื่อเทียบกับวันที่ 0 เท่ากับ 5.6 (1.2, 14.7) และ 13.1 (2.4, 21.4) ซึ่งสูงกว่า ค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับ RNab ที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 และ 14 เมื่อเทียบกับ วันที่ 0 ของอาสาสมัครกลุ่มที่ 2 ที่ได้รับการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้าม บริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งใน วันที่ 0 และ 3 (IM) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 4.1 (1.5, 8.7) และ 3.7 (1.9, 10.7) ตามลำดับ นอกจากนี้ อาสาสมัครกลุ่มที่ 1 ยังมีสัดส่วนของอาสาสมัครที่มี anamnestic immune response ในวันที่ 7 และ 14 เท่ากับ ร้อยละ 57.1 และ ร้อยละ 66.7 ซึ่ง มากกว่า สัดส่วนของอาสาสมัครที่มี anamnestic immune response ในวันที่ 7 และ 14 ของอาสาสมัครกลุ่มที่ 2 ซึ่งเท่ากับ ร้อยละ 35.7 และ ร้อยละ 42.9 ตามลำดับ

รูปที่ 11 กราฟ Box plot แสดงค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้น ในวันที่ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นของอาสาสมัครที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ตั้งแต่ 500 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป (n=29)



ทั้งนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มของอาสาสมัครที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ตั้งแต่ 500 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป (p-value ในวันที่ 7 และ 14 เท่ากับ 0.65 และ 0.16 ตามลำดับ) และ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของจำนวนอาสาสมัครที่มี anamnestic immune response (p-value ในวันที่ 7 และ 14 เท่ากับ 0.41 และ 0.41 ตามลำดับ) มีข้อสังเกตว่า อาสาสมัครที่มีภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนได้รับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นอยู่ในระดับสูงจะมี anamnestic immune response น้อยกว่า อาสาสมัครที่มีภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนได้รับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นอยู่ในระดับต่ำ

ตารางที่ 21 ค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้นและจำนวนอาสาสมัครที่มี anamnestic immune response ในวันที่ 7 และ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบ่งตามระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าก่อนการได้รับวัคซีน (RNab day 0) น้อยกว่า 0.4 IU/mL, 0.4 – 10.0 IU/mL และ มากกว่า 10 IU/mL

ระดับ RNab Day 0 (IU/mL)	ค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับ RNab ที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 เมื่อเทียบกับวันที่ 0 (Q_1,Q_3)	จำนวนอาสาสมัครที่มีค่า RNab เพิ่มขึ้นอย่างน้อย 5 เท่า ในวันที่ 7 (คน) (%)	ค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับ RNab ที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 14 เมื่อเทียบกับวันที่ 0 (Q_1,Q_3)	จำนวนอาสาสมัครที่มีค่า RNab เพิ่มขึ้นอย่างน้อย 5 เท่า ในวันที่ 14 (คน) (%)
RNab < 0.4 (n=4)	50.9 (14.8, 119.0)	3 (75.0)	313.1 (62.8, 489.0)	4 (100.0)
RNab 0.4 - 10 (n=22)	4.3 (3.1, 8.3)	10 (47.6)	7.1 (3.2, 20.2)	15 (68.2)
RNab > 10 (n=12)	1.3 (1.0, 2.2)	1 (8.3)	1.8 (1.4, 3.3)	1 (8.3)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

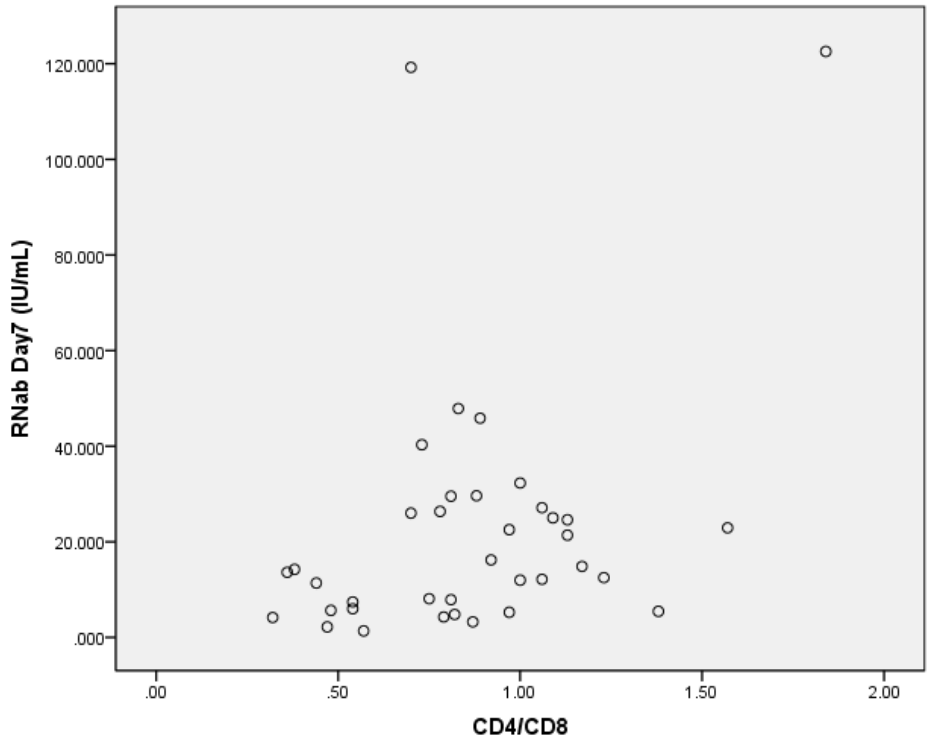
โดยค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้นของอาสาสมัครกลุ่มที่มี RNab ก่อนได้รับวัคซีนมากกว่า 10 IU/mL น้อยกว่า ของอาสาสมัครกลุ่มที่มี RNab ก่อนได้รับวัคซีน 0.4 -10 IU/mL และ อาสาสมัครกลุ่มที่มี RNab ก่อนได้รับวัคซีนน้อยกว่า 0.4 IU/mL อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งในวันที่ 7 (p-valueเท่ากับ 0.004 และ 0.001 ตามลำดับ) และ วันที่ 14 (p-valueเท่ากับ 0.005 และ 0.001 ตามลำดับ)

ปัจจัยที่สัมพันธ์กับระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น

1. ระดับ CD4/CD8

เมื่อทำการทดสอบสหสัมพันธ์ (correlation) ระหว่าง ระดับ CD4/CD8 และ ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น พบว่า ระดับ CD4/CD8 และ ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 7 มีความสัมพันธ์กันในทางบวก (p-value 0.04 และ r = 0.33)

รูปที่ 12 กราฟแสดงสหสัมพันธ์ระหว่าง ระดับ CD4/CD8 และ ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 7



*p-value 0.04 และ r = 0.33

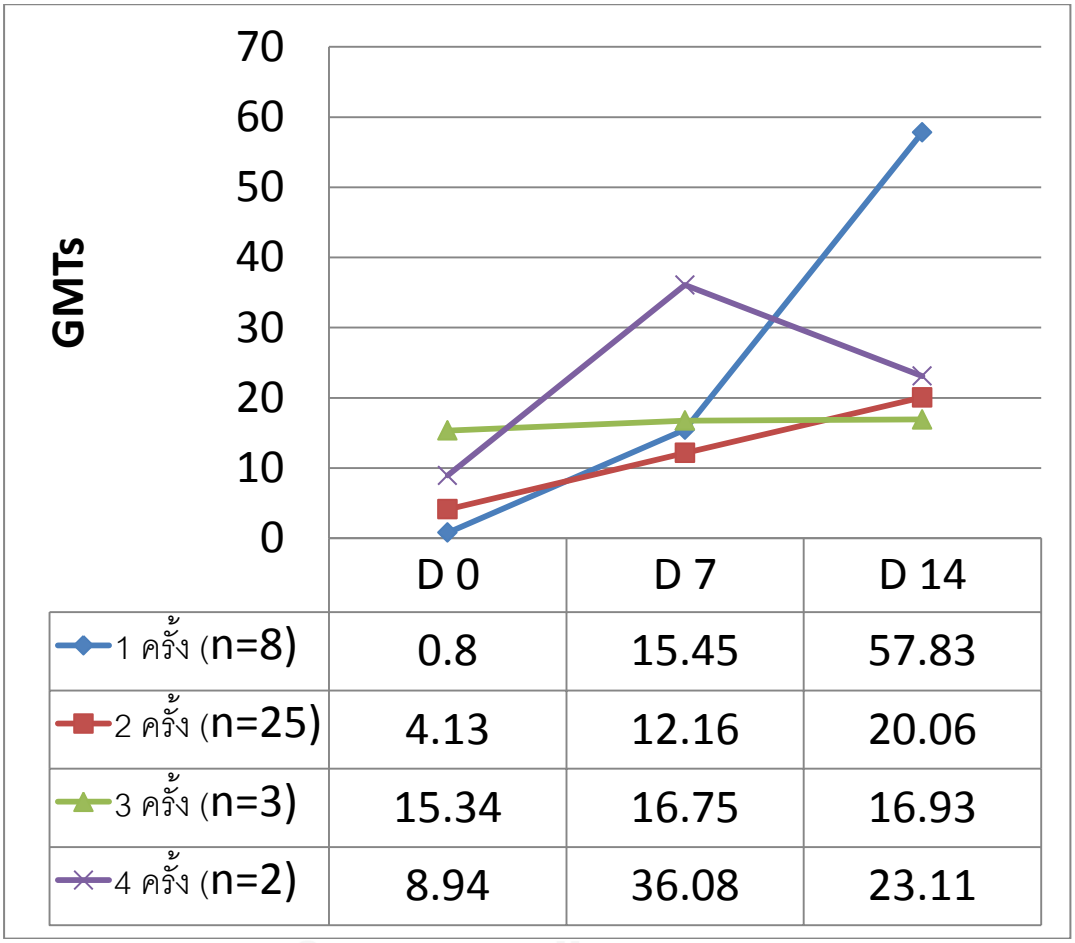
และการทดสอบสหสัมพันธ์บางส่วน (Partial correlation) ภายหลังการควบคุมตัวแปร ได้แก่ ระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในวันที่ 0 วิธีการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น และ จำนวนครั้งของการเคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า ก็ยังพบว่า ระดับ CD4/CD8 และ ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 7 มีความสัมพันธ์กันในทางบวก (p-value 0.04 และ r = 0.35)

2.จำนวนครั้งที่อาสาสมัครเคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน

การทดสอบสหสัมพันธ์บางส่วน ระหว่าง จำนวนครั้งที่อาสาสมัครเคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน กับ ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 14 ภายหลังการควบคุมตัวแปร ได้แก่ ระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในวันที่ 0 วิธีการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น ระยะเวลาที่อาสาสมัครได้รับวัคซีนครั้งสุดท้ายก่อนเข้าการศึกษา และระดับ CD4/CD8 มีความสัมพันธ์กันในทางลบ (p-value 0.00 และ r = - 0.58) จากผลการศึกษาดังรูปที่ 9 และ ตารางที่ 22 อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมาก่อนจำนวน 3 ครั้ง มีแนวโน้มของ anamnestic response ลดลง ในขณะที่อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมาก่อนจำนวน 4 ครั้ง มีระดับภูมิคุ้มกันขึ้นสูงสุดในวันที่ 7 และ ลดลงในวันที่ 14 ต่างจากอาสาสมัครกลุ่มอื่น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 13 ค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบ่งตามจำนวนครั้งของการเคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน



	D 0	D 7	D 14
1 ครั้ง (n=8)	0.8	15.45	57.83
2 ครั้ง (n=25)	4.13	12.16	20.06
3 ครั้ง (n=3)	15.34	16.75	16.93
4 ครั้ง (n=2)	8.94	36.08	23.11

Chulalongkorn University

ค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นของอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน 1 ครั้ง ต่ำกว่า ค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันของอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน 2, 3 และ 4 ครั้ง ในวันที่ 0 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value เท่ากับ 0.009, 0.008 และ 0.03 ตามลำดับ)

ตารางที่ 22 ค่ากลางหรือค่าเฉลี่ยของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้นและจำนวนอาสาสมัครที่มี anamnestic immune response ในวันที่ 7 และ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบ่งตามจำนวนครั้งของการเคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน

จำนวนครั้งที่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน	ค่ากลางหรือค่าเฉลี่ยของจำนวนเท่าของระดับ RNab ที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 เมื่อเทียบกับวันที่ 0 (Q_1,Q_3) หรือ (SD)	จำนวนอาสาสมัครที่มีค่า RNab เพิ่มขึ้นอย่างน้อย 5 เท่า ในวันที่ 7 (คน) (%)	ค่ากลางหรือค่าเฉลี่ยของจำนวนเท่าของระดับ RNab ที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 14 เมื่อเทียบกับวันที่ 0 (Q_1,Q_3) หรือ (SD)	จำนวนอาสาสมัครที่มีค่า RNab เพิ่มขึ้นอย่างน้อย 5 เท่า ในวันที่ 14 (คน) (%)
1 ครั้ง (n=8)	22.8 (7.41, 54.19)	6 (85.7)	24.9 (20.21, 398.29)	8 (100.0)
2 ครั้ง (n=25)	3.6 (1.45, 5.49)	7 (28.0)	4.6 (2.14, 10.39)	11 (44.0)
3 ครั้ง (n=3)	1.1 (0.35)	0 (0.0)	1.1 (0.32)	0 (0.0)
4 ครั้ง (n=2)	6.9 (7.9)	1 (50.0)	4.0 (4.36)	1 (50.0)

ทั้งนี้ค่ากลางของจำนวนเท่าของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพิ่มขึ้นของอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนมาก่อน 3 ครั้ง น้อยกว่า ของอาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนมาก่อน 2 และ 1 ครั้ง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งในวันที่ 7 (p-value เท่ากับ 0.004 และ 0.014 ตามลำดับ) และ วันที่ 14 (p-value เท่ากับ 0.000 และ 0.002 ตามลำดับ)

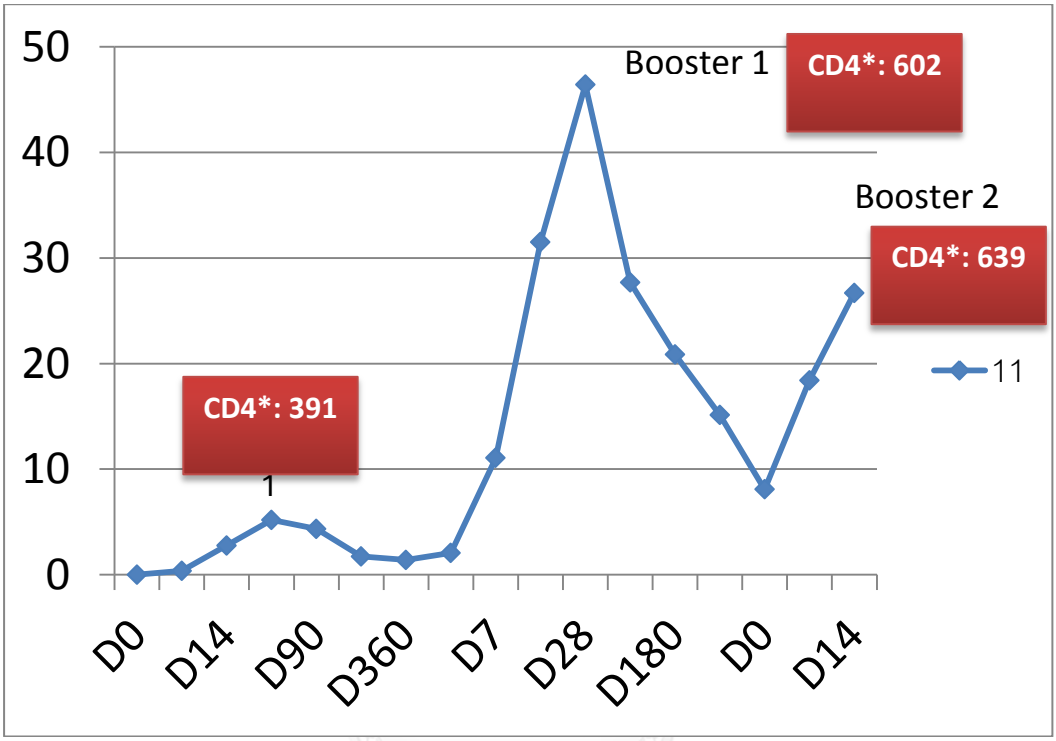
เนื่องจากอาสาสมัครในการศึกษานี้ ส่วนหนึ่งเป็นผู้รับบริการที่คลินิกฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า สถานเสาวภา สภากาชาดไทย จึงทำให้สามารถติดตามข้อมูลย้อนหลังของระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ขณะได้รับวัคซีน และระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนครั้งก่อนๆของอาสาสมัครได้ โดยมีอาสาสมัครจำนวน 11 คน ได้รับการติดตามมาตั้งแต่ผู้ป่วยถูกสัตว์กัดและมารับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก ฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ เข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เพื่อรับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 2 และมีอาสาสมัครจำนวน 26 คน ซึ่งได้รับการติดตามตั้งแต่ผู้ป่วยมารับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ เข้าร่วมโครงการวิจัยนี้เพื่อรับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 2 เพื่อให้เห็นแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นหลายๆครั้ง จึงได้นำข้อมูลย้อนหลังของอาสาสมัครกลุ่มดังกล่าวมาเสนอประกอบการพิจารณาด้วย ดังนี้

ในอาสาสมัครจำนวน 11 คน พบว่า การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ 2 สามารถทำให้เกิด anamnestic immune response โดยการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 2 มี amplitude ของระดับค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าต่ำกว่า การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 14 ค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าของอาสาสมัครจำนวน 11 คน ติดตามตั้งแต่ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2

GMTs



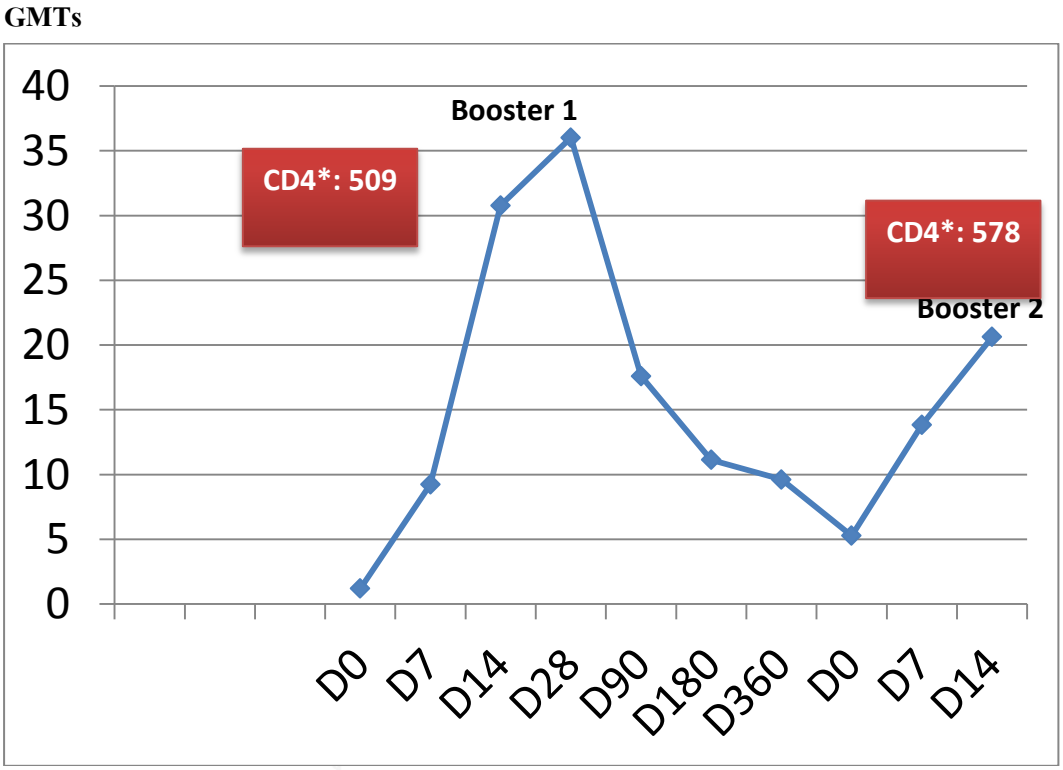
*median

‡ Booster ครั้งที่ 2 คือ การศึกษาครั้งนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ในกลุ่มอาสาสมัครจำนวนมากขึ้น ก็พบการเปลี่ยนแปลงในลักษณะเดียวกัน

รูปที่ 15 ค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าของอาสาสมัครจำนวน 26 คน ติดตามตั้งแต่ การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2



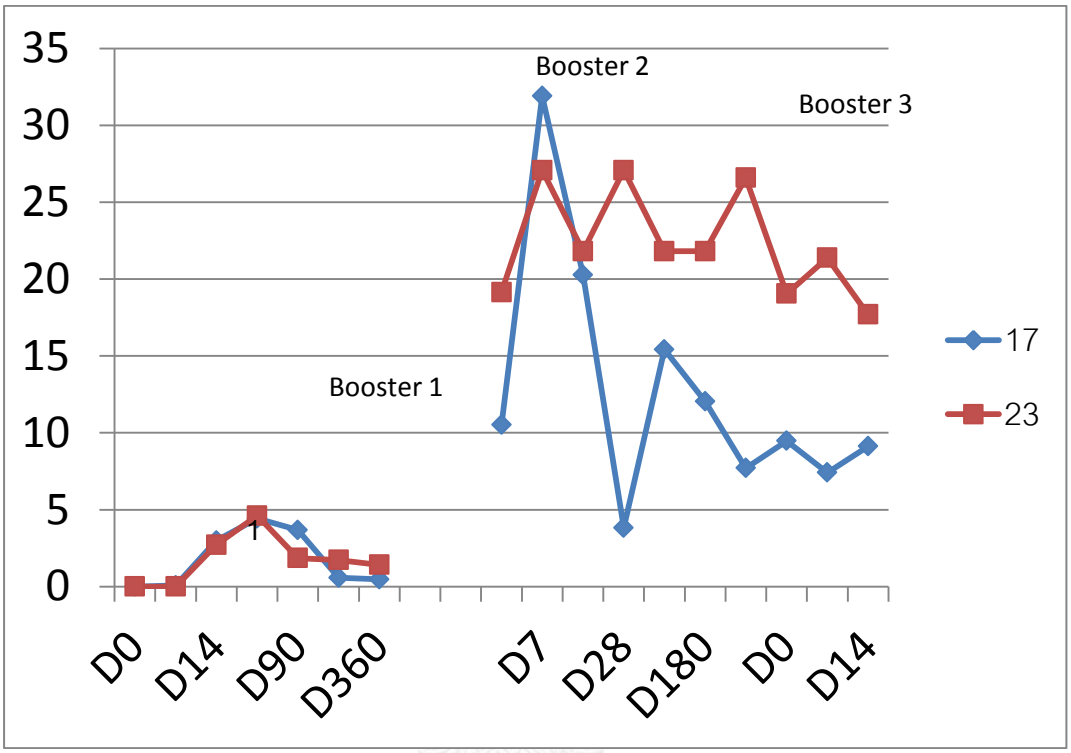
*median

‡ Booster ครั้งที่ 2 คือ การศึกษาครั้งนี้

ข้อมูลแสดงระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนแต่ละครั้งของอาสาสมัครจำนวน 5 คนที่ได้รับวัคซีนมาก่อนจำนวน 3- 4 ครั้ง ดังรูปที่ 12, 13 และ 14

Chulalongkorn University

รูปที่ 16 ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนแต่ละครั้งของอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนมาก่อนจำนวน 3 ครั้ง (อาสาสมัครหมายเลข 17 และ 23)



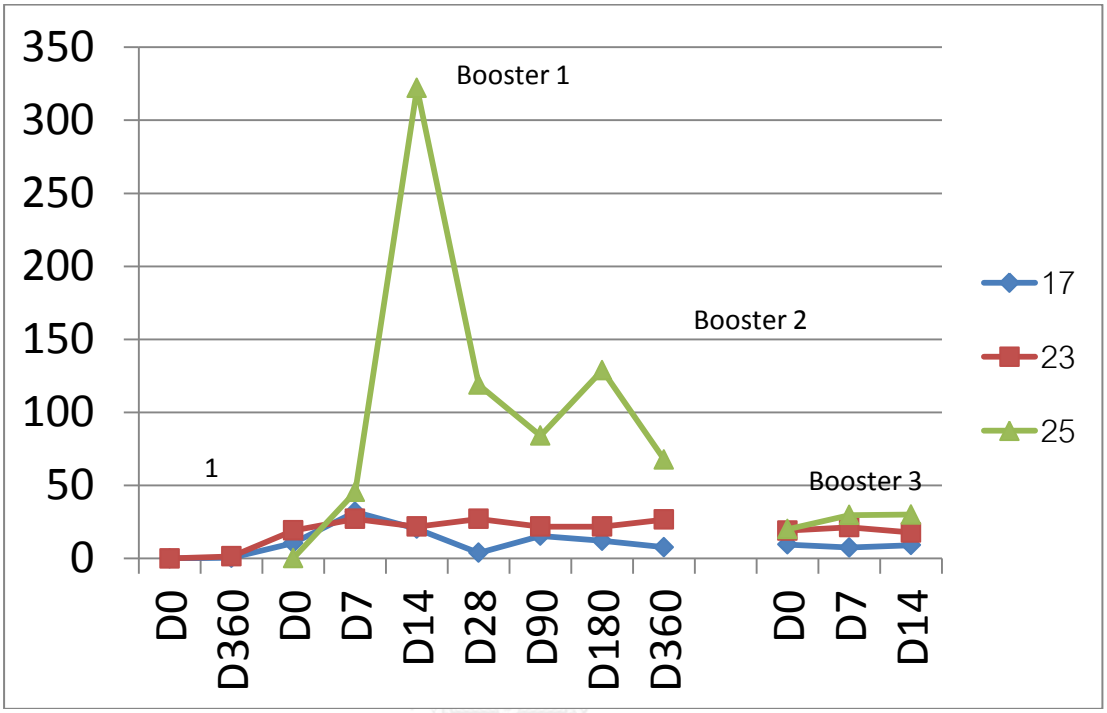
*อาสาสมัครหมายเลข 17 และ 23 มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ณ ปัจจุบันเท่ากับ 576 และ 660 เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ

‡ Booster ครั้งที่ 3 คือ การศึกษาครั้งนี้

† ไม่มีข้อมูลของการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น ครั้งที่ 1

อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมาก่อนจำนวน 3 ครั้ง มีแนวโน้มของ anamnestic response ลดลง

รูปที่ 17 ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนแต่ละครั้งของอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนมาก่อนจำนวน 3 ครั้ง (อาสาสมัครหมายเลข 17, 23 และ 25)



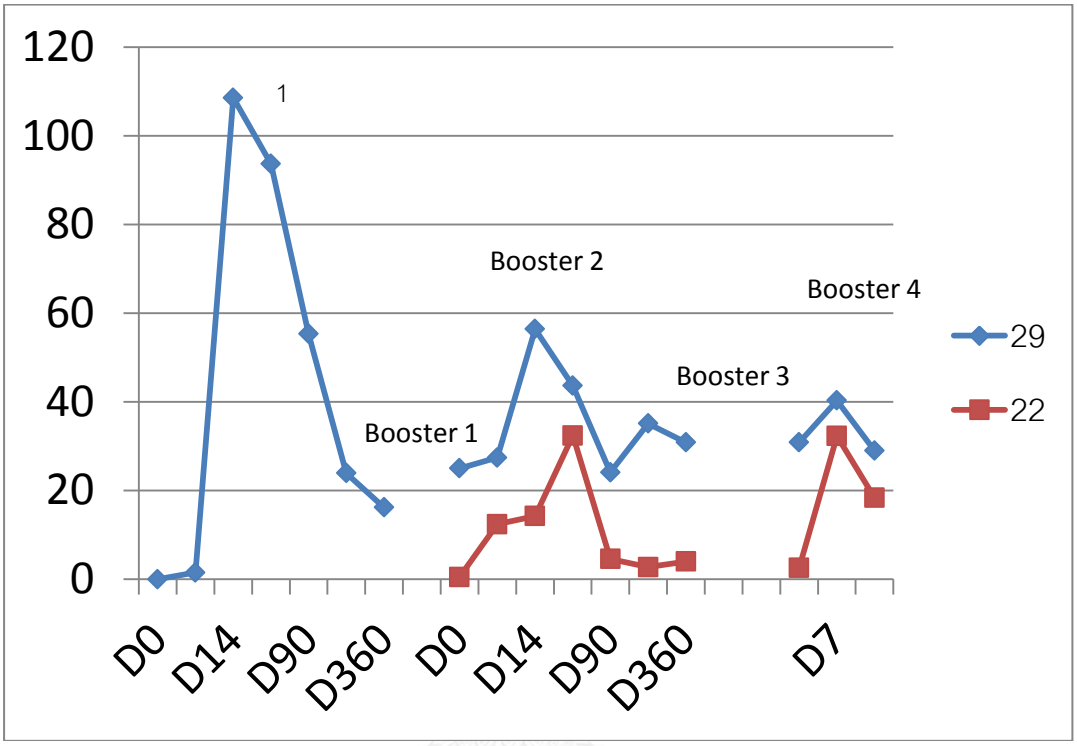
*อาสาสมัครหมายเลข 25 มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ณ ปัจจุบัน เท่ากับ 601 เซลล์/มิลลิลิตร

‡ Booster ครั้งที่ 3 คือ การศึกษาครั้งนี้

† ไม่มีข้อมูลของการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น ครั้งที่ 2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 18 ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนแต่ละครั้งของอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนมาก่อนจำนวน 4 ครั้ง (อาสาสมัครหมายเลข 22 และ 29)



*อาสาสมัครหมายเลข 22 และ 29 มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ณ ปัจจุบัน เท่ากับ 706 และ 892 เซลล์/มิลลิลิตร ตามลำดับ

‡ Booster ครั้งที่ 4 คือ การศึกษาครั้งนี้

† ไม่มีข้อมูลของการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น ครั้งที่ 1 และ 3

อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมาก่อนจำนวน 4 ครั้ง มีระดับภูมิคุ้มกันขึ้นสูงสุดในวันที่ 7 และ ลดลงในวันที่ 14

ส่วนปัจจัยอื่นๆ ได้แก่ ระยะเวลาการติดเชื้อเอชไอวี ระยะเวลาที่รับยาต้านไวรัส และระยะเวลาตั้งแต่ได้รับวัคซีนครั้งสุดท้ายจนถึงการศึกษานี้ ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงกับระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 14

ตารางที่ 23 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 14 กับปัจจัยต่างๆ

ปัจจัย	p-value
- ระยะเวลาการติดเชื้อเอชไอวี	0.74
- ระยะเวลาที่รับยาต้านไวรัส	0.40
- ระยะเวลาตั้งแต่ได้รับวัคซีนครั้งสุดท้าย จนถึงการศึกษา	0.17

การวิเคราะห์พหุตัวแปร (multivariable analysis) ไม่พบมีความสัมพันธ์ระหว่างระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 14 กับ ระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ระดับ CD4/CD8 วิธีการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น และระยะเวลาตั้งแต่ได้รับวัคซีนครั้งสุดท้ายจนถึงการศึกษานี้

ตารางที่ 24 การวิเคราะห์พหุตัวแปรระหว่างระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในวันที่ 14 กับปัจจัยต่างๆ

ปัจจัย	p-value
- ระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+	0.22
- ระดับ CD4/CD8	0.27
- วิธีการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น	0.38
- ระยะเวลาตั้งแต่ได้รับวัคซีนครั้งสุดท้าย จนถึงการศึกษา	0.33

เพื่อศึกษาข้อมูลเบื้องต้นว่า ระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ที่ต่ำในอดีตของผู้ติดเชื้อเอชไอวี มีผลกับการตอบสนองต่อการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าของผู้ติดเชื้อในปัจจุบัน อย่างไร

โดยได้แยกวิเคราะห์เป็น 2 ประเด็น คือ

1. ระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ที่ต่ำ ขณะฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก (primary immunization)
2. ระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ที่เคยต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร ก่อนได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก

1.ระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ที่ต่ำ ขณะฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก

อาสาสมัครจำนวน 11 คน ซึ่งทราบระดับ CD4+ T cells ขณะรับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก ได้รับการแบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ

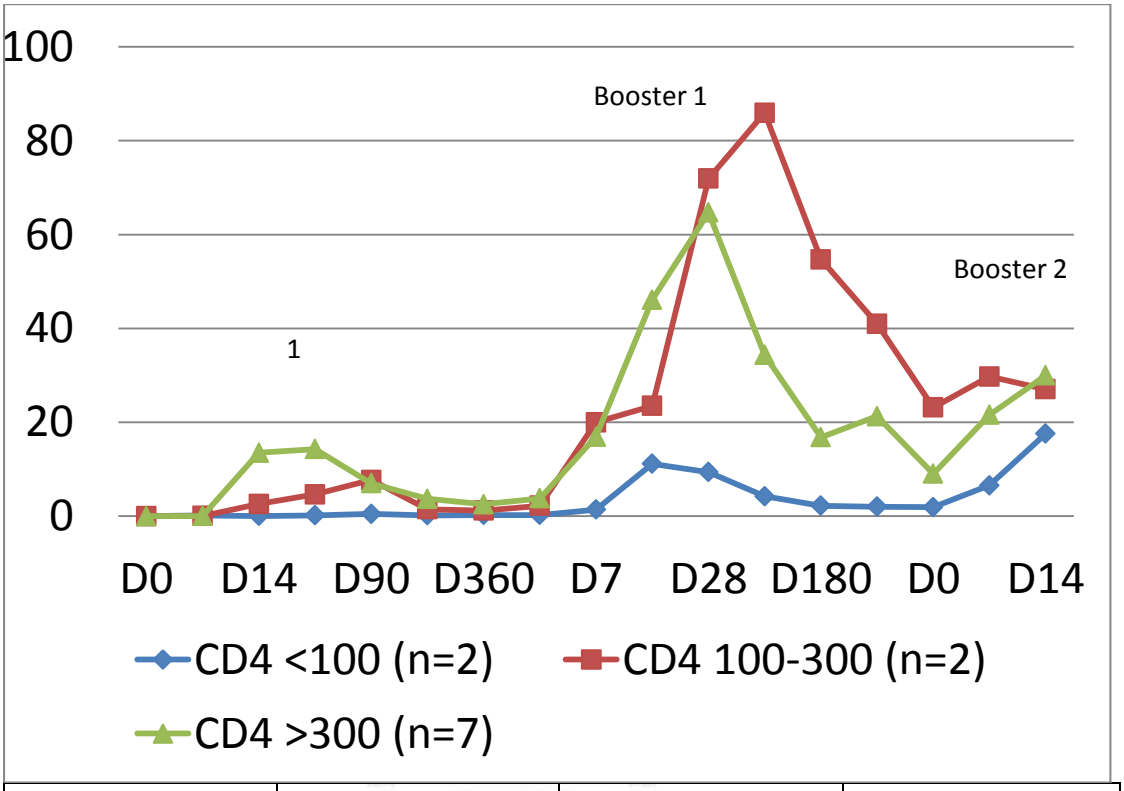
1. กลุ่มที่ 1 อาสาสมัครที่มี CD4+ T cells ขณะได้รับวัคซีนน้อยกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร
2. กลุ่มที่ 2 อาสาสมัครที่มี CD4+ T cells ขณะได้รับวัคซีน 100 - 300 เซลล์/มิลลิลิตร
3. กลุ่มที่ 3 อาสาสมัครที่มี CD4+ T cells ขณะได้รับวัคซีนมากกว่า 300 เซลล์/มิลลิลิตร

ผลการวิเคราะห์พบว่า อาสาสมัครกลุ่มที่ 1 จำนวน 2 คน ซึ่งมี CD4+ T cells ขณะได้รับวัคซีนน้อยกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าต่ำกว่าอาสาสมัครอีก 2 กลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวันที่ 14 และ 30 ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก (p-value 0.04 และ 0.04 ตามลำดับ) เมื่ออาสาสมัครกลุ่มที่ 1 มีระดับ CD4+ T cells สูงขึ้นในการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ 2 ก็ยังพบว่าระดับ RNab ยังมีแนวโน้มต่ำกว่าอาสาสมัครอีก 2 กลุ่ม แม้ว่าค่าเฉลี่ยระดับ CD4+ T cells และ ค่าเฉลี่ยระดับ CD4/CD8 ขณะฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นของอาสาสมัครกลุ่มที่ 1 จะสูงกว่า ค่าเฉลี่ยระดับ CD4+ T cells และ ค่าเฉลี่ยระดับ CD4/CD8 ของอาสาสมัครกลุ่มที่ 2 แล้วก็ตาม รายละเอียดดังรูปที่ 15 และ 16

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 19 ค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าติดตามตั้งแต่ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 ของอาสาสมัครจำนวน 11 คน แบ่งตามระดับ CD4+ T cells ขณะฉีดวัคซีนครั้งแรก

GMTs



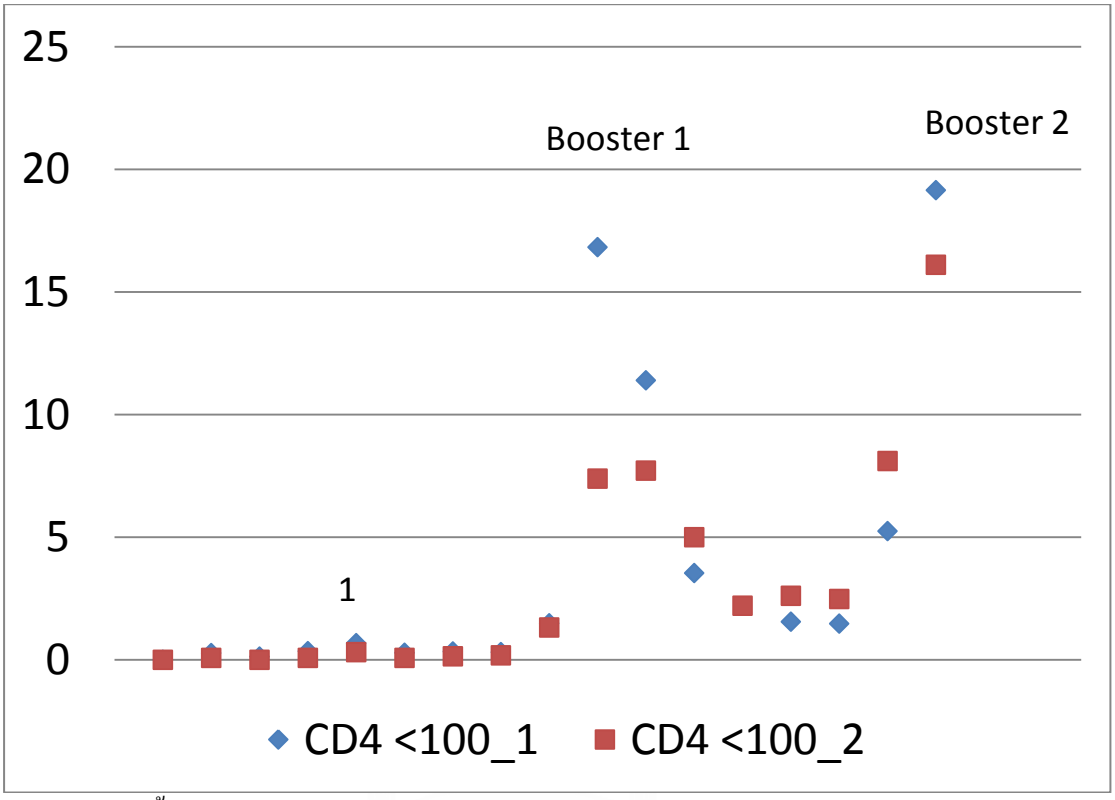
ระดับ CD4+ T cells (เซลล์/มิลลิลิตร)	ระดับ CD4+ ขณะฉีดวัคซีนครั้งแรก	ระดับ CD4+ ขณะฉีดวัคซีนกระตุ้นครั้งที่ 1	ระดับ CD4+ ขณะฉีดวัคซีนกระตุ้นครั้งที่ 2
< 100 (n=2) *	57	464	563
100-300 (n=2) *	263	315	417
> 300 (n=7) §	600	649	660

*mean

§median

‡ Booster ครั้งที่ 2 คือ การศึกษาครั้งนี้

รูปที่ 20 ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าติดตามตั้งแต่ การฉีดวัคซีนป้องกันโรค พิษสุนัขบ้าครั้งแรก การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 ของอาสาสมัครจำนวน 2 คน ซึ่งมีระดับ CD4+ T cells ขณะฉีดวัคซีนครั้งแรกน้อยกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร



*อาสาสมัครทั้งสอง มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells ณ ปัจจุบัน เท่ากับ 384 และ 743 เซลล์/มิลลิลิตร และอัตราส่วน CD4/CD8 เท่ากับ 0.75 และ 0.97 ตามลำดับ

‡ Booster ครั้งที่ 2 คือ การศึกษาครั้งนี้

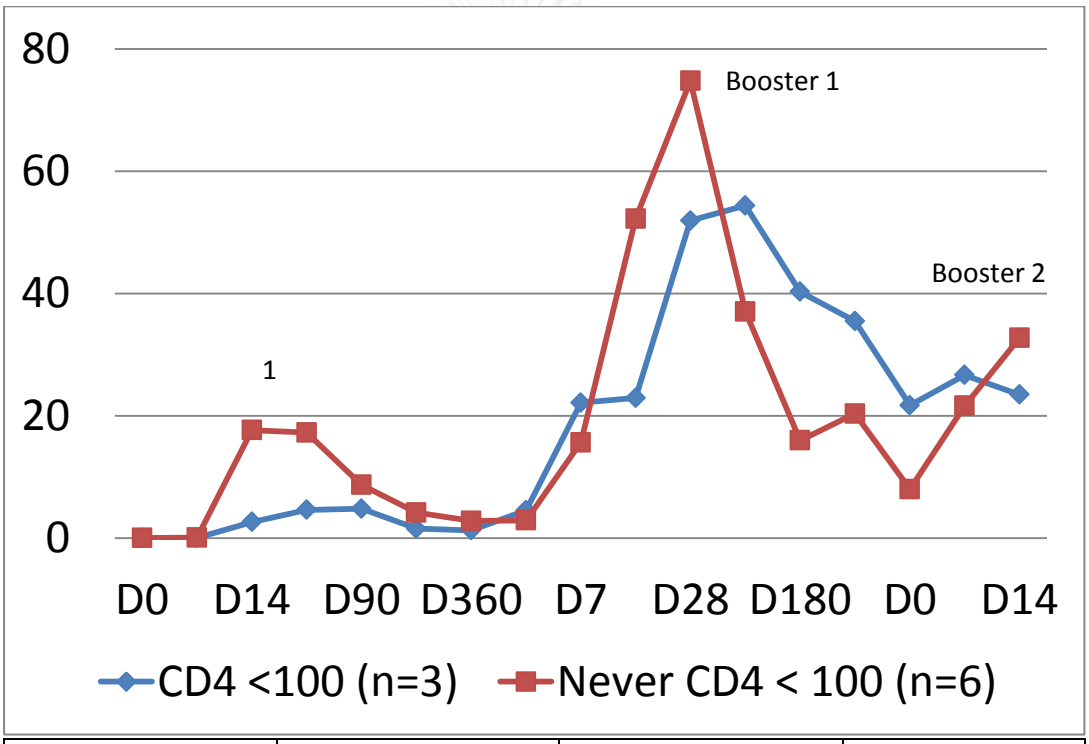
จากรูปแสดงถึงแนวโน้มของอาสาสมัครทั้ง 2 คนที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรกขณะที่มีระดับ CD4+ T cells น้อยกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร ว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกัน

จึงมีข้อสังเกตว่า การได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรกขณะที่มีระดับ CD4+ T cells น้อยกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร อาจมีผลกับการตอบสนองต่อการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นในระยะยาว

2. ระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells เคยต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร ก่อนได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก

จากเวชระเบียนของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และ สถานเสาวภา สภากาชาดไทย อาสาสมัครจำนวน 9 จาก 34 คน (ร้อยละ 26.5) มีหลักฐานว่าระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells เคยต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร ก่อนได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก

รูปที่ 21 ค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าติดตามตั้งแต่ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก และ การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 ของอาสาสมัครจำนวน 9 คน แบ่งตามประวัติการเคยมีระดับ CD4+ T cells ต่ำกว่า หรือ ไม่เคยต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร



ระดับ CD4+ T cells (เซลล์/มิลลิลิตร)	ค่ากลางระดับ CD4+ ขณะฉีดวัคซีนครั้งแรก	ค่ากลางระดับ CD4+ขณะฉีดวัคซีนกระตุ้นครั้งที่ 1	ค่ากลางระดับ CD4+ ขณะฉีดวัคซีนกระตุ้นครั้งที่ 2
เคยมี CD4 < 100 (n=3)	271	365	576
ไม่เคยมี CD4 < 100 (n=6)	519.5	663.5	692

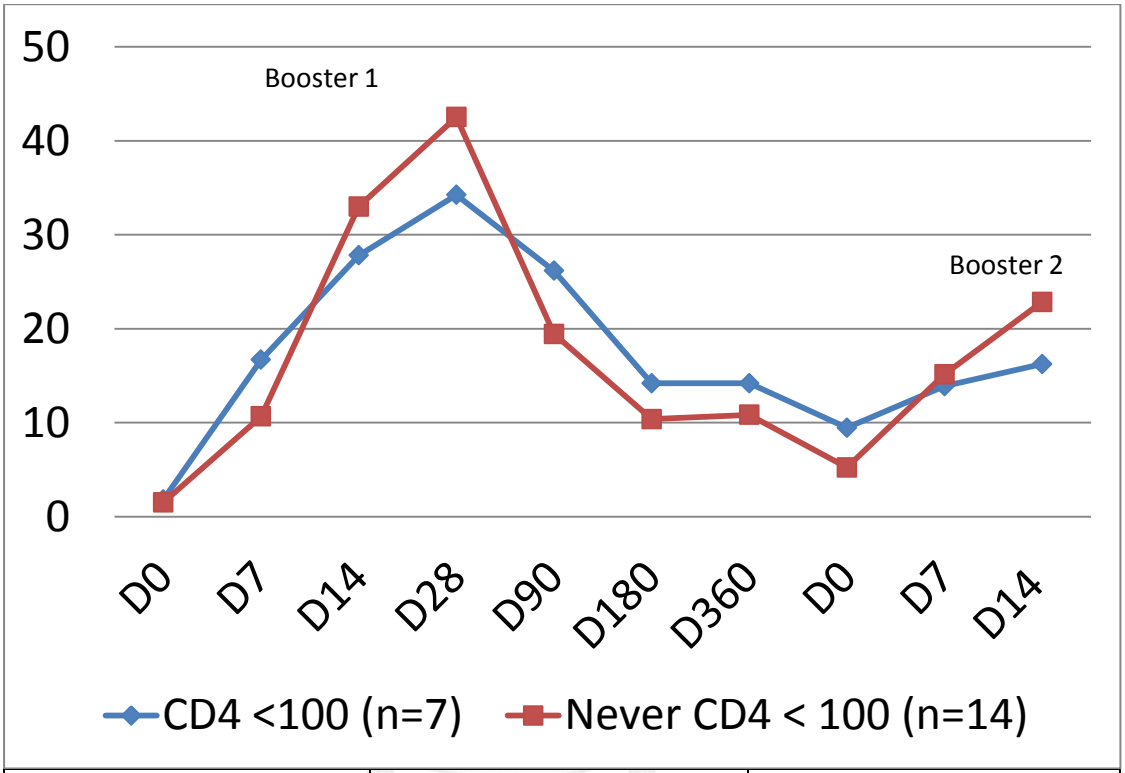
‡ Booster ครั้งที่ 2 คือ การศึกษาครั้งนี้

ในอาสาสมัครจำนวน 9 คนซึ่งติดตามตั้งแต่ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก และ การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 พบว่า อาสาสมัครกลุ่มที่เคยมี CD4+ T cells ต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร ก่อนได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก จำนวน 3 คน มีค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าต่ำกว่าอาสาสมัครที่ไม่เคยมี CD4+ T cells ต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในวันที่ 14 และ 30 ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก (p-value 0.02 และ 0.02 ตามลำดับ) ซึ่งขณะนั้น อาสาสมัคร 3 คนมีค่ากลางของระดับ CD4+ T cells เพียง 271 เซลล์/มิลลิลิตร เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลในอาสาสมัครจำนวนมากขึ้น ดังรูปที่ 18 และ 19 ไม่พบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าระหว่างอาสาสมัครที่เคยมีระดับ CD4+ T cells ต่ำกว่า หรือ ไม่เคยต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร ในการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในเวลาต่อมา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 22 ค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าติดตามตั้งแต่ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 ของอาสาสมัครจำนวน 21 คน แบ่งตามประวัติการเคยมีระดับ CD4+ T cells ต่ำกว่า หรือ ไม่เคยต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร

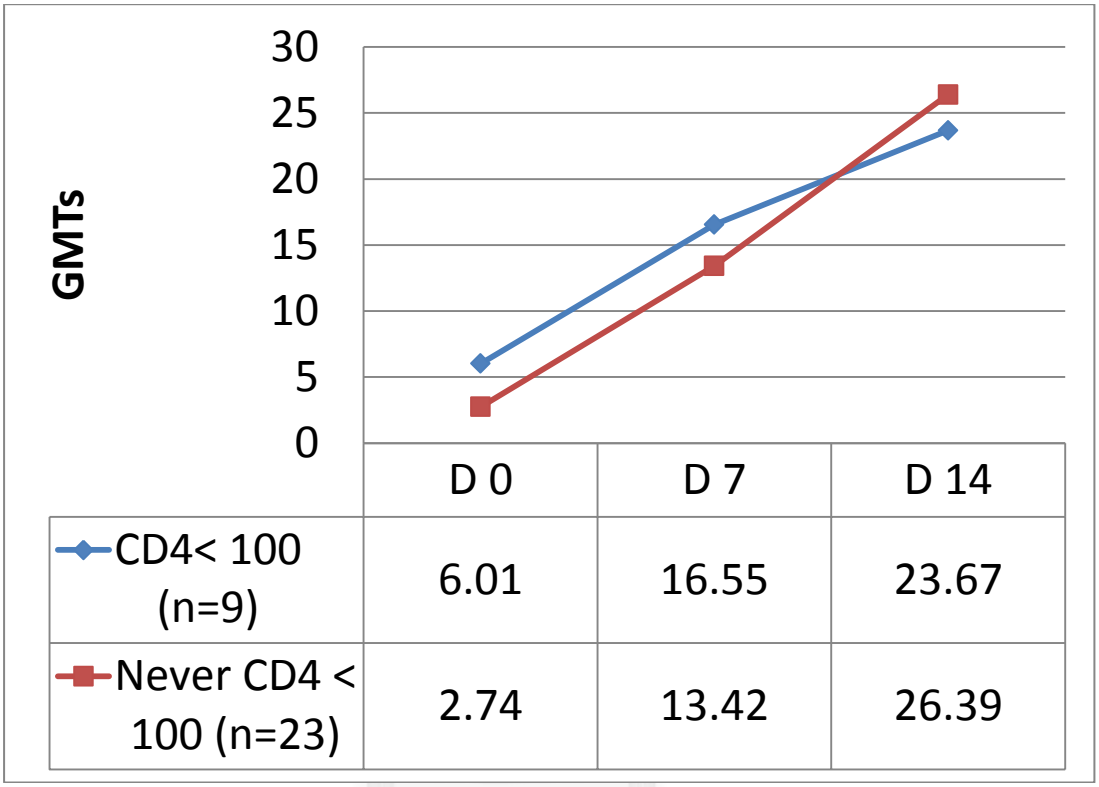
GMTs



ระดับ CD4+ T cells (เซลล์/มิลลิลิตร)	ค่ากลางระดับ CD4+ขณะฉีดวัคซีนกระตุ้นครั้งที่ 1	ค่ากลางระดับ CD4+ขณะฉีดวัคซีนกระตุ้นครั้งที่ 2
เคยมี CD4 < 100 (n=7)	421	531
ไม่เคยมี CD4 < 100 (n=14)	531	620

‡ Booster ครั้งที่ 2 คือ การศึกษาครั้งนี้

รูปที่ 23 ค่าเฉลี่ยของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นของอาสาสมัครจำนวน 32 คน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ตามประวัติการเคยมีระดับ CD4+ T cells ต่ำกว่าหรือ ไม่เคยต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร



* ค่ากลาง CD4+ (median) เท่ากับ 561 เซลล์/มิลลิลิตร

** ค่ากลาง CD4+ (median) เท่ากับ 598.5 เซลล์/มิลลิลิตร

รูอาสาสมัคร 2 คนจากทั้งหมด 34 คน มี CD4+ T cells ต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร ขณะได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก

การคงอยู่ของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Longevity of rabies neutralizing antibody)

ระยะเวลาที่นานที่สุดที่อาสาสมัครได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งสุดท้ายก่อนมาเข้าร่วมการศึกษานี้ คือ 156 เดือน โดยอาสาสมัครจำนวน 1 คนนั้นยังคงมีค่า RNab ในระดับที่ตรวจวัดได้ เท่ากับ 0.21 IU/mL ส่วนระยะเวลาที่นานที่สุดที่อาสาสมัครได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งสุดท้ายก่อนมาเข้าร่วมการศึกษาแล้วยังคงมีระดับ RNab ≥ 0.5 IU/mL คือ 84 เดือน โดยหลักการระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคจะลดลงตามเวลา ดังนั้นกลุ่มของอาสาสมัครที่รับวัคซีนมานานจะมีสัดส่วนของผู้ที่มี RNab ≥ 0.5 IU/mL น้อยกว่า กลุ่มของอาสาสมัครที่เพิ่งได้รับวัคซีน อย่างไรก็ตาม ในการศึกษานี้ อาสาสมัคร 2 คน จาก 4 คน ซึ่งรับวัคซีนครั้งสุดท้ายมาภายใน 1 ปี พบมีระดับ RNab < 0.5 IU/mL เมื่อทบทวนประวัติโดยละเอียด พบเพียง อาสาสมัครทั้งสองมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีร่วมด้วย แต่มีค่า HBV viral load น้อยกว่า 10 copies/mL โดยไม่มีอาการผิดปกติอื่น อาสาสมัครทั้งสองสุขภาพดี ไม่เคยมีระดับ CD4+ T cells ต่ำกว่า 370 เซลล์/มิลลิลิตร และตอบสนองดีต่อการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น รายละเอียดดังตารางที่ 23 และ 24

ตารางที่ 25 จำนวนอาสาสมัครที่มีระดับภูมิคุ้มกันเพียงพอในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (RNab ≥ 0.5 IU/mL) ก่อนได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้นแบ่งตามระยะเวลาตั้งแต่ได้รับวัคซีนครั้งสุดท้ายจนถึงการศึกษานี้

ระยะเวลาตั้งแต่ได้รับวัคซีนครั้งสุดท้ายจนถึงการศึกษานี้ (เดือน)	จำนวนอาสาสมัครที่มี RNab ≥ 0.5 IU/mL (คน) (%)
≤ 12	2 (50.0)
13 - ≤ 36	5 (100.0)
37 - ≤ 60	24 (92.3)
>60	2 (66.6)

ตารางที่ 26 ข้อมูลของอาสาสมัครซึ่งได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาไม่เกิน 1 ปี และ มีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าต่ำกว่า 0.5 IU/mL

อาสาสมัครหมายเลข	อายุ (ปี)	ระดับ CD4+ ปัจจุบัน (เซลล์/มิลลิลิตร)	ระดับ CD4+ ย้อนหลัง 2 ปี (เซลล์/มิลลิลิตร)	ระดับ HIV RNA ปัจจุบัน (copies/mL)	ระยะเวลาที่รับวัคซีนครั้งสุดท้ายจนถึงการศึกษานี้ (เดือน)	จำนวนครั้งที่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน	โรคประจำตัวอื่น
38	32	907 (35%)	-687 (26%) -678 (27%) -609 (26%)	< 20 (< 40 ตั้งแต่กันยายน พ.ศ.2554)	12	1	ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (HBV viral load < 10 copies/mL) เคยเป็น Cervical intraepithelial neoplasia (CIN) แต่รักษาหายแล้ว การรักษาปัจจุบัน: Efavirenz, Lamivudine, Tenofovir
40	35	649 (27%)	-370 (18%) -491 (22%) -510 (26%) -575 (23%)	< 20 (< 40 ตั้งแต่สิงหาคม พ.ศ.2556)	6	1	ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี และ ซี เคยเป็นซิฟิลิสแต่รักษาครบและหายแล้ว การรักษาปัจจุบัน: Efavirenz, Lamivudine, Tenofovir

การศึกษาของ Alain Strady และ คณะ[76] ในปี พ.ศ. 2541 ซึ่งได้ทำการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นให้กับอาสาสมัครสุขภาพดีจำนวน 312 คน และติดตามเป็นระยะเวลา 10 ปี พบว่า หาก RNab ที่วันที่ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 ของอาสาสมัครรายใดที่มีค่าเกินกว่า 30 IU/mL แล้ว ในเวลาอีก 10 ปี อาสาสมัครรายนั้นก็จะยังคงมี RNab $\geq$ 0.5 IU/mL แต่

จากการศึกษานี้ พบว่า อาสาสมัคร 1 คน จากจำนวน 12 คน ที่มี RNab ที่วันที่ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 เกินกว่า 30 IU/mL ได้มี RNab ลดลงต่ำกว่า 0.5 IU/mL แล้วที่ระยะเวลาเพียง 58 เดือน โดยอาสาสมัครคนดังกล่าวมีระดับ CD4+ T cells ขณะได้รับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นครั้งที่ 1 คือ 101 เซลล์/มิลลิลิตร ระดับ CD4+ T cells และ ระดับ CD4/CD8 ในปัจจุบันเท่ากับ 342 เซลล์/มิลลิลิตร และ 0.47 ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าต่ำที่สุดทั้งในขณะได้รับวัคซีนกระตุ้นครั้งที่ 1 และปัจจุบัน ในบรรดาอาสาสมัครจำนวน 12 คนนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

อาการไม่พึงประสงค์ภายหลังการฉีดวัคซีน

เช่นเดียวกับการศึกษาอื่นๆ ที่พบอาการไม่พึงประสงค์ภายหลังการฉีดวัคซีนแบบเข้าในผิวหนังมากกว่าการฉีดแบบเข้ากล้าม อย่างไรก็ตาม อาการส่วนใหญ่ไม่รุนแรง มีอาสาสมัครเพียง 2 คนที่ต้องรับประทานยาเพื่อบรรเทาอาการ และ อาการหายเป็นปกติภายใน 3-5 วัน

ตารางที่ 27 อาการไม่พึงประสงค์ภายหลังได้รับวัคซีน

อาการไม่พึงประสงค์	จำนวนอาสาสมัครที่มีอาการ (คน)	
	กลุ่มที่ 1 (4-site ID)	กลุ่มที่ 2 (IM)
<u>อาการเฉพาะที่</u>		
ปวด	3*	1
บวม	5	0
คัน	7*	0
แดง	12	0
<u>อาการตามระบบ</u>		
ครั่นเนื้อตัว	3	0
คันตามตัว	1	0
ปวดข้อ	0	1
ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ	3	2
เวียนศีรษะ	1	1
ปวดศีรษะ	1	1

หมายเหตุ * อาสาสมัครจำนวน 1 คนรับประทานยาเพื่อบรรเทาอาการ

§ อาสาสมัคร 1 คน มีอาการได้มากกว่า 1 อย่าง

อาสาสมัคร 1 คนในกลุ่มที่ 1 มีอาการไม่พึงประสงค์ที่ไม่สัมพันธ์กับการได้รับวัคซีน (non-vaccine related adverse events) คือ ไอ น้ำมูกใส หลังจากได้รับวัคซีนไปแล้ว 6 วัน อาสาสมัครจึงไม่ได้มารับการเจาะเลือดในวันที่ 7 อาสาสมัครรับประทานยาบรรเทาตามอาการและหายเป็นปกติใน 2 วัน ไม่มีอาการไม่พึงประสงค์รุนแรง (serious adverse events) เกิดขึ้นในการศึกษานี้

บทที่ 5

อภิปรายผลการวิจัย

5.1 อภิปรายผลการวิจัย

หลักการของการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันด้วยวัคซีน คือ เมื่อร่างกายได้รับวัคซีนซึ่งถือเป็นสิ่งแปลกปลอม antigen presenting cells (APC) ที่อยู่บริเวณนั้น จะนำแอนติเจนของวัคซีนไปทางท่อน้ำเหลืองเข้าสู่ต่อมน้ำเหลืองที่ซึ่ง APC จะนำเสนอแอนติเจนของวัคซีนให้แก่ naïve T cells เมื่อ naïve T cells ได้รับการกระตุ้นจะเปลี่ยนแปลง และเพิ่มจำนวนไปเป็น effector T cells ซึ่งมีบทบาทในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมและ interact กับ B cells ทำให้ B cells เกิดการเปลี่ยนแปลง เพิ่มจำนวน รวมถึง isotype switching เกิดเป็น antibody-secreting cells และ memory B cells หลังจากที่สามารถควบคุมการบุกรุกจากสิ่งแปลกปลอมได้แล้ว ร้อยละ 90 ของ effector T cells จะเกิด apoptosis เหลือเพียงบางส่วนที่จะกลายเป็น T effector-memory (T_{EM}) หรือ T central-memory (T_{CM}) ที่จำเพาะกับแอนติเจนนั้นๆ ต่อไป โดย T_{EM} จะอยู่ในเยื่อบุ และ periphery ทำหน้าที่ต่อต้านสิ่งแปลกปลอมเมื่อมีการบุกรุกซ้ำ ส่วน T_{CM} จะอยู่ที่ผิวหนังและต่อมน้ำเหลืองทำหน้าที่ในการกระตุ้น APC หลั่ง interleukin-2 และ interleukin-10 และแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเป็น T_{EM} ในยามที่ร่างกายต้องการ สำหรับประสิทธิภาพของการบริหารวัคซีนด้วยการฉีดเข้าในผิวหนัง (intradermal) นอกจากจะเกิดจากการให้แอนติเจนไปยังบริเวณที่มี APC อยู่หนาแน่นแตกต่างจากการฉีดวัคซีนเข้ากล้ามซึ่งมีเพียง APC ในกระแสเลือดที่มีจำนวนน้อยกว่าในการนำพาแอนติเจนแล้ว การฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังยังทำให้มีการเพิ่มขึ้นของแรงดันใน interstitial tissue เพิ่ม capillary permeability เพิ่มการไหลเวียนและดูดซึมของน้ำเหลือง ทำให้มีการ drainage ของแอนติเจนของวัคซีนที่อิสระไปสู่ต่อมน้ำเหลือง และ APC ที่ต่อมน้ำเหลืองนำเสนอแอนติเจนนี้ให้กับ naïve T cells ต่อไป [77, 78]

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวีที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ในกระแสเลือดตั้งแต่ 200 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป มีสุขภาพดี ไม่มีอาการและอาการแสดงของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสและความเจ็บป่วยของระยะเอดส์ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อนโดยมิได้กำหนดระยะเวลาที่ห่างจากการรับวัคซีนครั้งสุดท้ายก่อนมาเข้าร่วม

การศึกษา มีการตอบสนองดีต่อการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้น โดยการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด 1 ครั้ง (ใช้ปริมาณวัคซีนร้อยละ 80 ของการฉีดแบบเข้ากล้ามด้วยวัคซีนชนิด purified Vero cell rabies vaccine) ทำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันด้านสารน้ำด้วยการวัดระดับ Rabies neutralizing antibody titers สูงกว่าการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบเข้ากล้าม ทั้งนี้พบความแตกต่างดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในอาสาสมัครที่มีเม็ดเลือดขาวลิมโฟท์ชนิด CD4+ ตั้งแต่ 500 เซลล์/มิลลิลิตรขึ้นไป ดังนั้นในผู้ติดเชื้อเอชไอวีทั่วไปการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด 1 ครั้งจึงมีข้อได้เปรียบกว่าการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบเข้ากล้ามในแง่ของความสะดวก ประหยัดเวลา และค่าใช้จ่าย และมีข้อด้อยกว่าในด้านอาการไม่พึงประสงค์ภายหลังได้รับการฉีด ซึ่งส่วนใหญ่ เป็นเพียงอาการเฉพาะที่

เนื่องจาก การศึกษานี้ มีความแตกต่างจากการศึกษาลักษณะเดียวกันที่ทำในอาสาสมัครสุขภาพดี[29,30] โดยการศึกษาในอาสาสมัครสุขภาพดีนั้น ทำในอาสาสมัครที่ไม่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน และให้อาสาสมัครได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก (primary immunization) และวัคซีนเข็มกระตุ้น ด้วยการฉีดวัคซีนสูตรที่กำหนด ในจำนวนครั้งและ ระยะเวลาที่เท่ากัน ดังนั้น ปัจจัยกวนต่างๆ ได้แก่ จำนวนครั้งของการเคยได้รับวัคซีนมาก่อน ระยะห่างจากการรับวัคซีนครั้งสุดท้ายก่อนมาเข้าร่วมการศึกษา ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าพื้นฐาน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การที่อาสาสมัครส่วนใหญ่มีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าพื้นฐานเกินกว่า 0.5 IU/mL ซึ่งเป็นระดับที่เพียงพอในการป้องกันโรคตั้งแต่แรกอยู่ก่อนแล้ว เหล่านี้อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้การศึกษา ไม่สามารถแสดงให้เห็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด 1 ครั้ง เมื่อเทียบกับ การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบเข้ากล้าม เช่นเดียวกับการศึกษาในอาสาสมัครสุขภาพดีได้

ข้อมูลจากการศึกษาในอดีต พบว่า ระดับภูมิคุ้มกันภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่ขึ้นเร็วกว่า และ สูงกว่า จะทำให้มีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่คงอยู่นานกว่า [79] ผลจากการศึกษานี้ การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด 1 ครั้ง ทำให้มีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าสูงกว่า และ มีสัดส่วนของอาสาสมัครที่มีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าสูงขึ้นจากเดิมอย่างน้อย 30 IU/mL มากกว่า การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบเข้ากล้าม แต่ทั้งนี้จะมีผลทำให้อาสาสมัครกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด 1 ครั้ง มีการคงอยู่ของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าที่เพียงพอ (RNab ≥ 0.5 IU/mL) ยาวนานกว่า และ ครอบคลุมระยะฟักตัว (incubation period) ของโรคพิษสุนัขบ้าหรือไม่ จำเป็นต้องมีการศึกษาต่อเนื่องต่อไป โดยอาจ

เพิ่มเติมติดตามระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าของอาสาสมัครกลุ่มนี้ที่ระยะเวลาเกินกว่า 1 ปีภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น

การทบทวนวรรณกรรมการศึกษาการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังด้วย วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า วัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบี และ วัคซีนป้องกันไข้หวัดใหญ่ ในอาสาสมัครที่ไม่ติดเชื้อเอชไอวี พบว่า การฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังด้วยปริมาณแอนติเจนที่น้อยกว่า สามารถทำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ไม่ด้อยกว่าการฉีดวัคซีนเข้ากล้าม หรือ เข้าใต้ผิวหนัง (subcutaneous) สำหรับวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบี การฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังสามารถทำให้ผู้ที่ไม่ตอบสนองภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนเข้ากล้าม เช่น ผู้ป่วยไตวายที่ได้รับการฟอกไต ผู้เปลี่ยนไต กลับมามี seroconversion ได้ [78, 80] ส่วนในผู้ติดเชื้อเอชไอวี การศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังกับ เข้ากล้ามก็ให้ผลในลักษณะเดียวกัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 28 สรุปการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังกับการฉีดวัคซีนเข้ากล้ามในผู้ติดเชื้อเอชไอวี [81-85]

คณะผู้วิจัย (ปี พ.ศ.)	ลักษณะการศึกษา	ชนิดของวัคซีน	วิธีการศึกษา	ผลการศึกษา
Garg S. et. al. (2559)	Prospective randomized controlled study	วัคซีนป้องกันไข้หวัดใหญ่	อาสาสมัครผู้ใหญ่ 400 คน -200 คน รับวัคซีน 15 µg/dose IM -200 คน รับวัคซีน 15 µg/dose ID	-ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับภูมิคุ้มกันและร้อยละของ อาสาสมัครที่มี seroprotection -ในอาสาสมัครที่มี CD4+ < 200 เซลล์/มิลลิลิตร อาสาสมัครที่ได้วัคซีนแบบ IM (n=45) มี seroconversion และ seroprotection สูงกว่า กลุ่มที่ได้รับวัคซีนแบบ ID (n=40) -อาสาสมัครมากกว่าร้อยละ 80ของการศึกษา มี detectable HIV RNA
Seo YB et. al. (2559)	Prospective randomized controlled study	วัคซีนป้องกันไข้หวัดใหญ่	อาสาสมัครผู้ใหญ่ 90 คน -30 คน รับวัคซีน 15 µg/dose IM -30 คน รับวัคซีน 9 µg/dose ID -30 คน รับวัคซีน 15 µg/dose ID	-ไม่มีความแตกต่างของ GMTs ผล interferon-gamma ELISPOT assay อัตรา seroconversion อัตรา seroprotection และ mean fold increase (MFI)
Torsak B. et. al. (2554)	Prospective randomized controlled study	วัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบี	อาสาสมัครอายุ 1-18 ปี จำนวน 80 คน CD4% ≥ 15% หรือ > 200 เซลล์/มิลลิลิตร ได้รับวัคซีนคนละ 3 โดส -41 คน รับวัคซีน 2 µg/dose ID -39 คน รับวัคซีน 10 µg/dose IM	อัตราของ protective antibody titers พอๆกัน แต่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนแบบ IM มี GMTs ของ Anti-HBs สูงกว่า

คณะผู้วิจัย (ปี พ.ศ.)	ลักษณะการศึกษา	ชนิดของวัคซีน	วิธีการศึกษา	ผลการศึกษา
Ramezani A. et. al. (2557)	Prospective randomized controlled study	วัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบี	อาสาสมัครผู้ใหญ่ 42 คนซึ่งไม่ตอบสนองต่อการฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบีมาแล้ว 3 โดส รับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น 1 ครั้ง -20 คน รับวัคซีน 10 µg/dose ID -22 คน รับวัคซีน 20 µg/dose IM	-ไม่มีความแตกต่างของอัตรา seroconversion (Anti-HBs ≥ 10 IU/L) -กลุ่มที่ได้รับวัคซีนแบบ IM มี Anti-HBs ภายหลังได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้นสูงกว่า
Troy SB et. al. (2558)	Prospective randomized controlled study	วัคซีนป้องกันโปลิโอชนิดเชื้อตาย	อาสาสมัครผู้ใหญ่ 231 คน -66 คน รับวัคซีน 40% ของโดสมาตรฐาน ID -66 คน รับวัคซีน 20% ของโดสมาตรฐาน ID -66 คน รับวัคซีนโดสมาตรฐาน IM -33 คน รับวัคซีน 40% ของโดสมาตรฐาน IM (โดสมาตรฐาน IM; 0.5 mL)	กลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนแบบ 40% ของโดสมาตรฐาน ID มีระดับภูมิคุ้มกันสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับการฉีดแบบโดสมาตรฐาน IM แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

[a] ID; intradermal

[b] IM; intramuscular

[c] ELISPOT; Enzyme-linked Immunospot

[d] GMTs; geometric mean titers

[e] Anti-HBs; Anti-Hepatitis B surface antigen

ทั้งนี้มีข้อสังเกต จากการศึกษาของ Garg S. และ คณะ ว่า ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มี CD4+ น้อยกว่า 200 เซลล์/มิลลิลิตร มีระดับภูมิคุ้มกันภายหลังได้รับวัคซีนป้องกันไข้หวัดใหญ่แบบเข้ากล้าม สูงกว่าแบบเข้าในผิวหนังด้วยปริมาณวัคซีนขนาดมาตรฐานเท่ากัน [83] จึงมีความเป็นไปได้ว่า ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ต่ำ อาจตอบสนองต่อการฉีดวัคซีนเข้าในผิวหนังได้ไม่ดี และอาจเป็นส่วนหนึ่งที่อธิบายผลการศึกษานี้ที่ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ น้อยกว่า 500 เซลล์/มิลลิลิตร ตอบสนองต่อการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด 1 ครั้งได้ไม่เหนือกว่าการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นแบบเข้ากล้ามเหมือนอาสาสมัครสุขภาพดี กอปรกับมีการศึกษา *in vitro, in vivo* และ *ex vivo* ในเอชไอวี ที่แสดงถึงความผิดปกติของ APC ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีบทบาทสำคัญในการฉีดวัคซีนแบบเข้าในผิวหนัง ทั้งในแง่การทำงานที่ผิดปกติ และ จำนวนที่ลดลงของ CD123+/CD303+ plasmacytoid dendritic cells, CD11c+ myeloid dendritic cells ในกระแสเลือด และ Langerhans cells ที่ผิวหนัง [86, 87] อย่างไรก็ตาม Liang F. และคณะ ได้รายงานในปี พ.ศ. 2556 ถึงกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วยเอชไอวีจำนวน 15 คนซึ่งได้รับการทำทดสอบผิวหนังโดยมีจำนวนและการตอบสนองของ skin-resident dendritic cells ปกติ [88] ประกอบกับการศึกษา APC ในเอชไอวีนั้น ทำได้ยาก เนื่องจาก APC เป็นกลุ่มเซลล์ที่มีความหลากหลาย จำนวนเซลล์น้อย การตรวจบางอย่างใช้เทคนิคยุ่งยาก และปัจจัยจากผู้ป่วย เช่น ระยะของโรค การรับประทานยาต้านไวรัส เหล่านี้อาจมีผลกับการตรวจ จึงทำให้มีข้อมูลเกี่ยวกับเรื่องนี้อยู่เพียงจำนวนน้อย การศึกษาเกี่ยวกับ การฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นเพื่อที่จะตอบคำถามประเด็นนี้ในอนาคต จึงควรได้มีการศึกษาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากเซลล์ควบคู่กัน เพิ่มจำนวนอาสาสมัครเพื่อเพิ่มกำลังทางสถิติวิจัย คัดเข้าอาสาสมัครที่มี CD4+ น้อยกว่า 200 เซลล์/มิลลิลิตร ที่ยังไม่ได้รับยาต้านไวรัส เริ่มการศึกษาในอาสาสมัครกลุ่มที่ยังไม่เคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน ติดตามตั้งแต่การฉีดวัคซีนครั้งแรก (primary immunization) ไปจนถึง การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น และติดตามอาสาสมัครเป็นระยะเวลานานขึ้น

การติดเชื้อเอชไอวีทำให้สมดุลของเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด T cells เสียไป โดย CD4+ T cells ถูกทำลาย ในขณะที่มีการเพิ่มจำนวนของ CD8+ T cells ทำให้อัตราส่วน CD4+/CD8+ น้อยกว่า 1 แม้ว่าผู้ติดเชื้อจะได้รับยาต้านไวรัสจนมีปริมาณ CD4+ T cells สูงขึ้น และ ไวรัสในกระแสเลือดลดลงจนถึงระดับตรวจวัดไม่ได้ แต่อัตราส่วน CD4+/CD8+ ในผู้ป่วยส่วนใหญ่มักยังคงผิดปกติ มีหลายการศึกษาแสดงให้เห็นว่า อัตราส่วน CD4+/CD8+ ที่ต่ำมีความสัมพันธ์กับภาวะ immune activation, immune senescence, viral reservoir size และ ความเสี่ยงต่อภาวะความเจ็บป่วยที่ไม่ใช่เอดส์ (non-AIDS defined events)(89-94) [70-75] Willard Tinago และ คณะ รายงานในปี พ.ศ. 2557 ว่า อัตราส่วน CD4+/CD8+ อาจบ่งแสดงถึง naive and effector memory T-cell subsets[95]

และ ในปี พ.ศ. 2559 Francisco Fuster และ คณะ ได้แสดงให้เห็นว่า อัตราส่วน CD4+/CD8+ ที่มากกว่า 0.4 มีความสัมพันธ์กับการเกิด seroconversion ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบีในผู้ติดเชื้อเอชไอวี [96] สำหรับการศึกษานี้ ก็พบความสัมพันธ์ระหว่าง อัตราส่วน CD4+/CD8+ กับระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในวันที่ 7 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น การนำอัตราส่วน CD4+/CD8+ ซึ่งสามารถตรวจได้ง่าย ทราบผลเร็ว ราคาไม่แพง มาใช้ เป็น biomarker เพื่อดูความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกันในผู้ติดเชื้อเอชไอวี จึงเป็นเรื่องที่น่าศึกษาเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในทางเวชปฏิบัติ

ขนิษฐา สุวรรณศรีนนท์ และ คณะ รายงานการศึกษาการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นในกลุ่มผู้ที่มีอาชีพเสี่ยงต่อการสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้า เช่น สัตวแพทย์ ผู้ที่ทำงานในห้องปฏิบัติการเกี่ยวข้องกับเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้าจำนวน 107 คน เปรียบเทียบระดับภูมิคุ้มกันระหว่างอาสาสมัครกลุ่มที่ 1 ซึ่งได้รับการฉีดวัคซีนแบบ primary immunization มาเพียง 1 ครั้ง กับอาสาสมัครกลุ่มที่ 2 ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นมาแล้ว 1-4 ครั้ง พบว่า ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในวันที่ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นของอาสาสมัครกลุ่มที่ 1 สูงกว่า กลุ่มที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [97] ต่อมา พิมประภา เวชพงษา และคณะ ได้ศึกษาผลของการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นในอาสาสมัครสุขภาพดีซึ่งเป็นผู้บริจาคซีรั่มสำหรับการผลิตอิมมูโนโกลบุลินป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Human Rabies Immunoglobulin; HRIG) ซึ่งต้องได้รับการฉีดวัคซีนกระตุ้นทุก 3 เดือนมาเป็นเวลาอย่างน้อย 2 ปี พบว่า อาสาสมัครจำนวน 37 คน จากทั้งหมด 41 คน เป็น low responder คือ มีระดับภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นน้อยกว่า 2 เท่าจากค่าพื้นฐาน และ อาสาสมัครกลุ่มนี้มีจำนวนของ $CD4^{+}CD25^{hi}FoxP3^{+}$ regulatory T cells สูงกว่า อาสาสมัครอีก 4 คนซึ่งเป็นกลุ่ม responder (ข้อมูลยังไม่ได้ตีพิมพ์) และเช่นเดียวกัน การศึกษานี้ได้แสดงให้เห็นแนวโน้มว่า ผู้ที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นหลายๆครั้งจะมี anamnestic response ต่ำกว่าผู้ที่ได้รับการฉีดวัคซีนมาเพียงครั้งเดียว ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกได้โดย ผู้ที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นมาหลายครั้งจะมีระดับภูมิคุ้มกันสูงเกินกว่าระดับในการป้องกันโรคอันจะมีประโยชน์ในกลุ่มผู้ที่ต้องสัมผัสโรคพิษสุนัขบ้าแบบต่อเนื่องและมีโอกาสรับเชื้อโดยไม่รู้ตัว เช่น เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องกับเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้า แต่หากเป็นประชากรทั่วไปที่มีความเสี่ยงต่อการสัมผัสโรคน้อย ให้ฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นเมื่อมีข้อบ่งชี้คือ การสัมผัสโรคเท่านั้น

การศึกษาแบบ meta-analysis ยืนยันว่า ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ได้รับการฉีดวัคซีนสูตรมาตรฐานจะมีระดับภูมิคุ้มกัน seroprotection ลดลงเร็วกว่าผู้รับวัคซีนสุขภาพดี(98) [79]โดยหากผู้ติดเชื้อเอชไอวีได้รับวัคซีนในขณะที่รับยาต้านไวรัสแล้ว จะมีระดับภูมิคุ้มกันที่ยาวนานกว่ากลุ่มที่รับวัคซีนขณะยังไม่ได้รับยาต้านไวรัส [99] นอกจากนี้ ปริมาณไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือดขณะรับวัคซีนสามารถ

ใช้พยากรณ์การคงอยู่ของระดับภูมิคุ้มกันในผู้ติดเชื้อที่ได้รับวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบเอ วัคซีนไข้เหลือง และ นิวโมคอคคัสวัคซีนได้ [100-102] จากการศึกษาปัจจุบัน ผู้ติดเชื้อเอชไอวีสามารถมีการคงอยู่ของระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าได้ยาวนาน แต่ในขณะเดียวกันก็พบผู้ติดเชื้อบางคนมีระดับภูมิคุ้มกันลดลงเร็วกว่าที่ควรจะเป็น และบางคนลดลงต่ำกว่าระดับในการป้องกันโรคในระยะเวลาน้อยกว่า 1 ปี ทั้งนี้ข้อมูลจากอาสาสมัครสุขภาพดี สามารถพบจำนวนผู้ที่มีระดับภูมิคุ้มกันต่ำกว่าระดับในการป้องกันโรคภายในเวลา 1 ปี ได้ร้อยละ 9.5 ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนสูตร 5 เข็มเข้ากล้าม (ESSEN) และร้อยละ 15.0 – 37.5 ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนังครั้งละ 4 จุด จำนวน 3 ครั้งในวันที่ 0, 3 และ 7 [103-106] พบจำนวนผู้ที่มีระดับภูมิคุ้มกันต่ำกว่าระดับในการป้องกันโรคภายในเวลา 3 เดือน ได้ร้อยละ 4.7 – 7.3 ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนังครั้งละ 4 จุด จำนวน 3 ครั้งในวันที่ 0, 3 และ 7 และการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนังครั้งละ 2 จุด จำนวน 3 ครั้งในวันที่ 0, 3 และ 7 และ 1 จุด จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 28, 90 (2-2-2-0-1-1) ร่วมกับการให้อิมมูโนโกลบุลิน [106] ในปัจจุบัน ยังไม่ทราบปัจจัยที่เป็นมูลเหตุทำให้ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าของอาสาสมัครบางคนลดลงเร็วกว่าอาสาสมัครส่วนใหญ่ รวมถึงอาสาสมัครผู้ติดเชื้อเอชไอวีในโครงการวิจัยนี้ด้วย อย่างไรก็ตามอาสาสมัครดังกล่าวตอบสนองดี มี anamnestic response ต่อการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น จึงนำมาสู่ข้อแนะนำให้ผู้ติดเชื้อเอชไอวีควรได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ากระตุ้นทุกครั้งที่มีการสัมผัสโรค โดยไม่คำนึงถึงระยะเวลาที่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน

การศึกษาข้อมูลของอาสาสมัครตั้งแต่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าครั้งแรก ทำให้ได้ข้อสังเกตว่า การให้วัคซีนในขณะที่ผู้ติดเชื้อเอชไอวีมีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ต่ำโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ต่ำกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร อาจมีผลระยะยาวกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในเวลาต่อมา ประกอบกับ การศึกษาของ สุดา สีบุญเรือง (ข้อมูลยังไม่ได้ตีพิมพ์) พบ อาสาสมัคร 1 รายที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าตั้งแต่ก่อนติดเชื้อเอชไอวี และต่อมาเม็ดเลือดขาว ลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ต่ำ (101 เซลล์/มิลลิลิตร) เมื่อได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น ก็มี anamnestic response และระดับภูมิคุ้มกันสูงเพียงพอในการป้องกันโรคเป็นเวลาอย่างน้อย 365 วันที่ติดตาม เหล่านี้อาจสนับสนุนข้อเสนอแนะของการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบก่อนสัมผัสโรคในขณะที่ผู้ป่วยเอชไอวียังมีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ สูง เพื่อให้เกิดการสร้าง memory T cells ที่มีประสิทธิภาพ ส่วนกรณีของการเกิด immune restoration ที่ไม่สมบูรณ์ แม้ผู้ติดเชื้อจะมีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ เกินกว่า 500 เซลล์/มิลลิลิตร แล้วนั้น[21] ไม่พบเป็นปัญหาในเวชปฏิบัติสำหรับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นด้วยสูตรที่องค์การอนามัยโลกกำหนด ดังข้อมูลจากการศึกษาได้แสดงให้เห็นว่า อาสาสมัครที่เคยมีระดับเม็ด

เลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ น้อยกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร กลับมามีการตอบสนองต่อวัคซีนใกล้เคียงกับผู้ที่ไม่เคยมีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ น้อยกว่า 100 เซลล์/มิลลิลิตร เลย

5.2 สรุปผล

จากผลการศึกษาสามารถให้ข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการพิจารณาฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นให้แก่ผู้ติดเชื้อเอชไอวีได้ดังนี้

1. ฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นเมื่อมีข้อบ่งชี้
2. มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ มากกว่า 200 เซลล์/มิลลิลิตร มีสุขภาพดี ได้รับยาต้านไวรัส ไม่มีอาการและอาการแสดงของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสและความเจ็บป่วยของระยะเอดส์ ไม่มีโรคเรื้อรังที่รุนแรง และ ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องอื่นๆ รวมถึง การใช้ยากดภูมิคุ้มกัน และ สเตียรอยด์
3. มีหลักฐานเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าแบบภายหลังสัมผัสโรคด้วยวัคซีนเซลล์เพาะเลี้ยง สูตรการฉีดแบบเข้ากล้าม จำนวน 5 เข็ม มาภายในระยะเวลาไม่เกิน 10 ปี
4. ฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นด้วยสูตรการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 หรือ สูตรการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3 เท่านั้น ยังไม่มีข้อมูลของการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นด้วยสูตรการฉีดวัคซีนแบบฉีดเข้าในผิวหนังใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3
5. ฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นทุกครั้งที่สัมผัสโรค โดยไม่คำนึงถึงระยะเวลาที่เพิ่งได้รับวัคซีนครั้งสุดท้าย
6. การดูแลบาดแผลภายหลังสัมผัสโรค ด้วยการล้างน้ำ ฟอกสบู่ และใส่ยาฆ่าเชื้อ ยังคงเป็นขั้นตอนที่สำคัญ และไม่อาจทดแทนด้วยการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นได้

5.3 เปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้าที่เคยมีการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกของการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 ให้แก่ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน จึงไม่มีการศึกษาก่อนหน้าที่จะนำมาเปรียบเทียบได้ มีเพียงการศึกษาการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นจากคณะนักวิจัยอีก 2 กลุ่มซึ่งใช้เพียงการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นจำนวน 1 เข็มเข้ากล้าม ดังนี้ Luc B.S. Gelinck และ คณะศึกษาในผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 30 คน ซึ่งเดิมเคยมี CD4+ T-lymphocytes เฉลี่ย

ประมาณ 131 เซลล์/มิลลิลิตร (อยู่ในช่วงระหว่าง 28 -279 เซลล์/มิลลิลิตร) หลังจากได้รับยาต้านไวรัส เฉลี่ยประมาณ 3.4 ปี จนมีระดับ CD4+ T-lymphocytes เฉลี่ยประมาณ 537 เซลล์/มิลลิลิตร (อยู่ในช่วงระหว่าง 353 -772 เซลล์/มิลลิลิตร) เมื่อได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า จำนวน 2 เข็ม เข้ากล้ามในวันที่ 0 และ 84 ซึ่งถือว่าเป็นการได้รับวัคซีนทั้งแบบ primary และ booster immunization ผลการศึกษาพบว่า ผู้ติดเชื้อมีภูมิคุ้มกันเพียงพอในการป้องกันโรค และเมื่อตรวจซ้ำอีก 5 ปี สองในสามของผู้ป่วยก็ยังตรวจพบภูมิคุ้มกันดังกล่าว [21] และ การศึกษาของ L. Azzoni และคณะในปี พ.ศ. 2555 พบว่า ภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข้ากล้ามให้แก่ผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 3 เข็ม ในวันที่ 0, 7 และ 42 จากนั้น ฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นเข้ากล้ามอีก 1 เข็มที่วันที่ 378 ผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวน 25 คนซึ่งรับยาต้านไวรัสสม่ำเสมอมีค่า Rabies Neutralizing Antibody (RNab) Titers อย่างน้อย 0.5 IU/มล ภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นทุกคน ส่วนผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ได้รับยาต้านไวรัสไม่สม่ำเสมอจำนวน 19 คนจากผู้ติดเชื้อ 20 คน มีค่า Rabies Neutralizing Antibody (RNab) Titers อย่างน้อย 0.5 IU/มล [22]

5.4 จุดเด่นของการศึกษา

การศึกษาที่ยังไม่เคยมีผู้วิจัยมาก่อน

การศึกษานี้เป็นการศึกษาแบบ randomized, controlled, single blind (ห้องตรวจปฏิบัติการไม่ทราบข้อมูลของอาสาสมัคร)

การตรวจทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT) เป็นการตรวจมาตรฐาน (gold standard) สำหรับตรวจระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า

มีการตรวจระดับเชื้อไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือด (HIV RNA)

การศึกษาใช้สูตรการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลกจึงเป็นสูตรที่ใช้แพร่หลายทั้งในประเทศไทย และ ต่างประเทศ สามารถนำผลการศึกษาไปใช้ประกอบการจัดทำแนวทางการดูแลรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่สัมผัสโรคพิษสุนัขบ้า และนำมาใช้ในทางคลินิกได้

มีรายละเอียดย้อนหลังของระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ T cells และ ระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าของอาสาสมัคร จึงทำให้เห็นแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงและข้อมูลระยะยาว

5.5 จุดด้อยของการศึกษา

จำนวนอาสาสมัครน้อยจึงไม่เพียงพอที่จะแสดงให้เห็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้

ระยะเวลาในการติดตามอาสาสมัครสั้น

ประชากรที่ศึกษามีความหลากหลายของประวัติการได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน จึงทำให้ข้อมูลพื้นฐานแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามสิ่งนี้เป็นลักษณะของผู้มารับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าในทางเวชปฏิบัติจริง ผลการศึกษาจึงมีประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้กรณีที่มีประวัติการรับวัคซีนมาต่างกัน อย่างไรก็ตามในแง่ของคุณสมบัติของอาสาสมัคร เนื่องจากอาสาสมัครในการวิจัยนี้ เป็น ผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อเอชไอวีที่ มีระดับเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซท์ชนิด CD4+ ในกระแสเลือดตั้งแต่ 200 เซลล์/มิลลิลิตร ขึ้นไป สุขภาพดีไม่มีอาการแสดงทางคลินิก ไม่มีอาการและอาการแสดงของโรคติดเชื้อฉวยโอกาสและความเจ็บป่วยของระยะเอดส์ ได้รับยาต้านไวรัส ปริมาณไวรัสในกระแสเลือดน้อยจนถึงระดับที่ตรวจวัดไม่ได้ ไม่มีโรคเรื้อรังที่รุนแรง และ ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องอื่นๆ รวมถึง การใช้ยากดภูมิคุ้มกัน และ สเตียรอยด์ ดังนั้นจึงควรระมัดระวังการนำผลการศึกษาไปใช้กับผู้ติดเชื้อเอชไอวีทั่วไปในประเด็นนี้ด้วย

5.6 ข้อเสนอแนะ

การตรวจการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากสารน้ำ (humoral immune response) เป็นเพียงส่วนหนึ่งของการศึกษาการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อวัคซีน สำหรับเชื้อไวรัสพิษสุนัขบ้ายังมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากเซลล์ (cell-mediated immune response) ซึ่งมีบทบาทสำคัญและเชื่อว่าเป็นส่วนที่ปกป้องสัตว์ที่ติดเชื้อโรคพิษสุนัขบ้าในขณะที่ยังตรวจวัดระดับแอนติบอดีไม่ได้ให้รอดชีวิตจากโรคพิษสุนัขบ้า [79] การประเมินการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันจากเซลล์ร่วมด้วยจะทำให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนขึ้นถึงความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันภายหลังการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบฉีดเข้าในผิวหนังจำนวน 4 จุด บริเวณต้นแขนและต้นขา ใช้ปริมาณวัคซีนจุดละ 0.1 มล ในวันที่ 0 แก่ผู้ติดเชื้อเอชไอวี อันจะนำไปสู่การศึกษาที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการบริหารวัคซีนให้แก่ผู้ติดเชื้อเอชไอวี หรือ การค้นหาความบกพร่องของระบบภูมิคุ้มกันอันเป็นผลจากการติดเชื้อเอชไอวีที่ยังมีข้อมูลอยู่เพียงจำนวนน้อย อาทิ เช่น ความผิดปกติของ antigen presenting cells หรือ innate immune system ทั้งนี้การเพิ่มจำนวนอาสาสมัครเพื่อเพิ่มกำลังทางสถิติวิจัย คัดเข้าอาสาสมัครที่มี CD4+ น้อยกว่า 200 เซลล์/มิลลิลิตร ที่ยังไม่ได้รับยาต้านไวรัส การเริ่มการศึกษาในอาสาสมัครกลุ่มที่ยังไม่เคยได้รับวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อนแล้วติดตามตั้งแต่การฉีดวัคซีนครั้งแรก (primary immunization) ไปจนถึง การฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น

การติดตามอาสาสมัครเป็นระยะเวลานานขึ้น เช่น 6 เดือน ถึง 1 ปี จะทำให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์นำไปสู่การดูแลผู้ติดเชื้อเอชไอวี รวมถึงอาจขยายผลการศึกษาไปยังกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องรุนแรงอื่นๆ ได้ นอกจากนี้ การวิจัยเพิ่มเติมเกี่ยวกับการใช้อัตราส่วน CD4+/CD8+ เป็น biomarker เพื่อพิจารณาประกอบการให้วัคซีน หรือ พยากรณ์การตอบสนองต่อวัคซีนอื่นๆ และภาวะ immune tolerance ภายหลังได้รับวัคซีนของผู้ติดเชื้อเอชไอวี ก็เป็นประเด็นที่ควรได้รับการศึกษาต่อเนื่องต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1. Johnson N, Vos A, Freuling C, Tordo N, Fooks AR, Muller T. Human rabies due to Lyssavirus infection of bat origin. Vet Microbiol 2010;142:151-9.
2. Kuzmin IV, Mayer AE, Niezgoda M, Markotter W, Agwanda B, Breiman RF, et al. Shimoni bat virus, a new representative of the Lyssavirus genus. Virus Res 2010;149: 197-210.
3. Rupprecht CE, Hanlon CA, Hemachudha T. Rabies re-examined. Lancet Infect Dis 2002;2:327-43.
4. Bogel K, Motschwiller E. Incidence of rabies and post-exposure treatment in developing countries. Bull World Health Organ 1986;64:883-7.
5. Manning SE, Rupprecht CE, Fishbein D, Hanlon CA, Lumlertdacha B, Guerra M, et al. Human rabies prevention-United States, 2008: recommendations of the Advisory committee on Immunization Practices. MMWR 2008;57:1-28.
6. Gautret P, Schwartz E, Shaw M, Soula G, Gazin P, Delmont J, et al. Animal-associated injuries and related diseases among returned travellers: a review of the GeoSentinel Surveillance Network. Vaccine 2007;25:2656-63.
7. Hemachudha T. Rabies and dog population control in Thailand: success or failure? J Med Assoc Thai 2005;88:120-3.
8. Mitmoonpitak C, Tepsumethanon V. Dog rabies in Bangkok. J Med Assoc Thai 2002;85:71-6.
9. World Health Organization. Rabies vaccines: WHO position paper-recommendations. Vaccine 2010;28:7140-2.
10. World Health Organization. WHO Expert Consultation on Rabies. Second report. World Health Organ Tech Rep Ser 2013:1-139.
11. Anderson LJ, Sikes RK, Langkop CW, Mann JM, Smith JS, Winkler WG, et al. Postexposure trial of a human diploid cell strain rabies vaccine. J Infect Dis 1980;142:133-8.
12. Rosanoff E, Tint H. Responses to human diploid cell rabies vaccine: neutralizing antibody responses of vaccinees receiving booster doses of human diploid cell rabies vaccine. Am J Epidemiol 1979;110:322-7.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

13. Fishbein DB, Bernard KW, Miller KD, Van der Vlugt T, Gains CE, Bell JT, et al. The early kinetics of the neutralizing antibody response after booster immunizations with human diploid cell rabies vaccine. Am J Trop Med Hyg 1986;35:663-70.

14. Roukens AH, Vossen AC, van Dissel JT, Visser LG. Reduced dose pre-exposure primary and booster intradermal rabies vaccination with a purified chick embryo cell vaccine (PCECV) is immunogenic and safe in adults. Vaccine 2008;26:3438-42.

15. Gibbons RV, Rupprecht CE. Postexposure rabies prophylaxis in immunosuppressed patients. JAMA 2001;285:1574-5.

16. Hay E, Derazon H, Bukish N, Scharf S, Rishpon S. Postexposure rabies prophylaxis in a patient with lymphoma. JAMA 2001;285:166-7.

17. Jaijaroensup W, Tantawichien T, Khawplod P, Tepsumethanon S, Wilde H. Postexposure rabies vaccination in patients infected with human immunodeficiency virus. Clin Infect Dis 1999; 28:913-4.

18. Tantawichien T, Jaijaroensup W, Khawplod P, Sitprija V. Failure of multiple-site intradermal postexposure rabies vaccination in patients with human immunodeficiency virus with low CD4+ T lymphocyte counts Clin Infect Dis 2001;33:122-4.

19. Sirikwin S, Likanonsakul S, Waradejwinyoo S, Pattamadilok S, Kumperasart S, Chaovavanich A, et al. Antibody response to an eight-site intradermal rabies vaccination in patients infected with Human Immunodeficiency Virus. Vaccine 2009;27:4350-4.

20. Thisyakorn U, Pancharoen C, Ruxrungtham K, Ubolyam S, Khawplod P, Tantawichien T, et al. Safety and immunogenicity of preexposure rabies vaccination in children infected with human immunodeficiency virus type 1. Clin Infect Dis 2000;30:218.

21. Gelinck LB, Jol-van der Zijde CM, Jansen-Hoogendijk AM, Brinkman DM, van Dissel JT, van Tol MJ, et al. Restoration of the antibody response upon rabies vaccination in HIV-infected patients treated with HAART. AIDS 2009;23:2451-8.

22. Azzoni L, Foulkes AS, Firnhaber C, Yin X, Xiang ZQ, Li Y, et al. Antiretroviral therapy interruptions result in loss of protective humoral immunity to neoantigens in HIV-infected individuals. AIDS 2012;26:1355-62.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

23. Vora NM, Orciari LA, Niezgoda M, Selvaggi G, Stosor V, Lyon GM, et al. Clinical management and humoral immune responses to rabies post-exposure prophylaxis among three patients who received solid organs from a donor with rabies. Transplant Infect Dis 2015;17:389-95.

24. Rodriguez-Romo R, Morales-Buenrostro LE, Lecuona L, Escalante-Santillan N, Velasco-Villa A, Kuzmin I, et al. Immune response after rabies vaccine in a kidney transplant recipient. Transplant Infect Dis 2011;13:492-5.

25. Kopel E, Oren G, Sidi Y, David D. Inadequate antibody response to rabies vaccine in immunocompromised patient. Emerg Infect Dis 2012;18:1493-5.

26. Cramer CH, 2nd, Shieck V, Thomas SE, Kershaw DB, Magee JC, Lopez MJ. Immune response to rabies vaccination in pediatric transplant patients. Pediatric transplantation 2008;12:874-7.

27. Rahimi P, Vahabpour R, Aghasadeghi MR, Sadat SM, Howaizi N, Mostafavi E, et al. Neutralizing Antibody Response after Intramuscular Purified Vero Cell Rabies Vaccination (PVRV) in Iranian Patients with Specific Medical Conditions. PloS One 2015;10:0139171

28. Wiwanitkit V. Rabies Vaccination in a Pediatric Patient with Acute Myeloid Leukemia during the Course of Chemotherapy: a Case report. Iranian journal of cancer prevention 2014;7:105-6.

29. Tantawichien T, Benjavongkulchai M, Limsuwan K, Khawplod P, Kaewchompoo W, Chomchey P, et al. Antibody response after a four-site intradermal booster vaccination with cell-culture rabies vaccine. Clin Infect Dis 1999;28:1100-3.

30. Khawplod P, Benjavongkulchai M, Limusanno S, Chareonwai S, Kaewchompoo W, Tantawichien T, et al. Four-site intradermal postexposure boosters in previously rabies vaccinated subjects. J Travel Med 2002;9:153-5.

31. Phanuphak P, Khawplod P, Sirivichayakul S, Siriprasomsub W, Ubol S, Thaweepathomwat M. Humoral and cell-mediated immune responses to various economical regimens of purified Vero cell rabies vaccine. Asian Pac J Allergy Immunol 1987;5:33-7.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

32. Rousseau MC, Moreau J, Delmont J. Vaccination and HIV: a review of the literature. Vaccine 1999;18:825-31.

33. Nicolini LA, Giacobbe DR, Di Biagio A, Viscoli C. Insights on common vaccinations in HIV- infection: efficacy and safety. Journal of preventive medicine and hygiene 2015;56:28-32.

34. Stanley SK, Ostrowski MA, Justement JS, Gantt K, Hedayati S, Mannix M, et al. Effect of immunization with a common recall antigen on viral expression in patients infected with human immunodeficiency virus type 1. N Engl J Med 1996;334:1222-30.

35. Calmy A, Bel M, Nguyen A, Combescure C, Delhumeau C, Meier S, et al. Strong serological responses and HIV RNA increase following AS03-adjuvanted pandemic immunization in HIV- infected patients. HIV medicine 2012;13:207-18.

36. Onlamoon N, Unpol P, Boonchan M, Sukapirom K, Wittawatmongkol O, Chokephaibulkit K, et al. Immune activation and viral replication after vaccination with an influenza A H1N1 2009 vaccine in HIV-infected children receiving antiretroviral therapy. Disease markers 2013;35:221-7.

37. Irungu E, Mugo N, Ngure K, Njuguna R, Celum C, Farquhar C, et al. Immune response to hepatitis B virus vaccination among HIV-1 infected and uninfected adults in Kenya. J Infect Dis 2013;207:402-10.

38. Neilsen GA, Bodsworth NJ, Watts N. Response to hepatitis A vaccination in human immunodeficiency virus-infected and -uninfected homosexual men. J Infect Dis 1997;176:1064-7.

39. Wilkin T, Lee JY, Lensing SY, Stier EA, Goldstone SE, Berry JM, et al. Safety and immunogenicity of the quadrivalent human papillomavirus vaccine in HIV-1-infected men. J Infect Dis 2010;202:1246-53.

40. Levin MJ, Gershon AA, Weinberg A, Song LY, Fentin T, Nowak B, et al. Administration of live varicella vaccine to HIV-infected children with current or past significant depression of CD4(+) T cells. J Infect Dis 2006;194:247-55.

41. Wallace MR, Brandt CJ, Earhart KC, Kuter BJ, Grosso AD, Lakkis H, et al. Safety and immunogenicity of an inactivated hepatitis A vaccine among HIV-infected subjects. Clin Infect Dis 2004;39:1207-13.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

42. Thisyakorn U, Pancharoen C, Wilde H. Immunologic and virologic evaluation of HIV-1-infected children after rabies vaccination. Vaccine 2001;19:1534-7.

43. Rivas P, Herrero MD, Puente S, Ramirez-Olivencia G, Soriano V. Immunizations in HIV- infected adults. AIDS reviews 2007;9:173-87.

44. Staples JE, Gershman M, Fischer M, Centers for Disease C, Prevention. Yellow fever vaccine: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR 2010;59:1-27.

45. ราชบัณฑิตยสถาน. พจนานุกรมศัพท์แพทย์ อังกฤษ-ไทย ฉบับราชบัณฑิตยสถาน. พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ: อักษรเจริญทัศน์;2523.

46. Jones JL, Hanson DL, Dworkin MS, Alderton DL, Fleming PL, Kaplan JE, et al. Surveillance for AIDS-defining opportunistic illnesses, 1992-1997. MMWR 1999;48: 1-22.

47. Gaudin Y, Ruigrok RW, Brunner J. Low-pH induced conformational changes in viral fusion proteins: implications for the fusion mechanism. J Gen Virol 1995;76:1541-56.

48. Jackson AC. Current and future approaches to the therapy of human rabies. Antiviral Res 2013;99:61-7.

49. Camelo S, Lafage M, Lafon M. Absence of the p55 Kd TNF-alpha receptor promotes survival in rabies virus acute encephalitis. J Neurovirol 2000;6:507-18.

50. Irwin DJ, Wunner WH, Ertl HC, Jackson AC. Basis of rabies virus neurovirulence in mice: expression of major histocompatibility complex class I and class II mRNAs. J Neurovirol 1999;5:485-94.

51. Jackson AC, Rossiter JP, Lafon M. Expression of Toll-like receptor 3 in the human cerebellar cortex in rabies, herpes simplex encephalitis, and other neurological diseases. J Neurovirol 2006;12:229-34.

52. Marquette C, Van Dam AM, Ceccaldi PE, Weber P, Haour F, Tsiang H. Induction of immunoreactive interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha in the brains of rabies virus infected rats. J Neuroimmunol 1996;68:45-51.

53. Wang ZW, Sarmento L, Wang Y, Li XQ, Dhingra V, Tseggai T, et al. Attenuated rabies virus activates, while pathogenic rabies virus evades, the host innate immune responses in the central nervous system. J Virology 2005;79:12554-65.

54. Baloul L, Camelo S, Lafon M. Up-regulation of Fas ligand (FasL) in the central nervous system: a mechanism of immune evasion by rabies virus. J Neurovirol 2004;10:372-82.

55. Hemachudha T, Ugolini G, Wacharapluesadee S, Sungkarat W, Shuangshoti S, Laothamatas J. Human rabies: neuropathogenesis, diagnosis, and management. Lancet Neurol 2013;12:498-513.

56. Lafon M. Subversive neuroinvasive strategy of rabies virus. Arch Virol 2004:149-59.

57. Johnson N, Cunningham AF, Fooks AR. The immune response to rabies virus infection and vaccination. Vaccine 2010;28:3896-901.

58. Perry LL, Lodmell DL. Role of CD4+ and CD8+ T cells in murine resistance to street rabies virus. J Virology 1991;65:3429-34.

59. Xiang ZQ, Knowles BB, McCarrick JW, Ertl HC. Immune effector mechanisms required for protection to rabies virus. Virology 1995;214:398-404.

60. Moore SM, Hanlon CA. Rabies-specific antibodies: measuring surrogates of protection against a fatal disease. PLoS Negl Trop Dis 2010;4:595.

61. Gans HA, Yasukawa LL, Sung P, Sullivan B, DeHovitz R, Audet S, et al. Measles humoral and cell-mediated immunity in children aged 5-10 years after primary measles immunization administered at 6 or 9 months of age. J Infect Dis 2013;207:574-82.

62. Frazer IH, Jones B, Dimitrakakis M, Mackay IR. Intramuscular versus low-dose intradermal hepatitis B vaccine. Assessment by humoral and cellular immune response to hepatitis B surface antigen. Med J Aust 1987;146:242-5.

63. Ghendon Y. The immune response to influenza vaccines. Acta Virol 1990;34:295-304.

64. Swain SL, McKinstry KK, Strutt TM. Expanding roles for CD4(+) T cells in immunity to viruses. Nat Rev Immunol 2012;12:136-48.

65. Sant AJ, McMichael A. Revealing the role of CD4(+) T cells in viral immunity. J Exp Med 2012;209:1391-5.

66. Saraya A, Wacharapluesadee S, Khawplod P, Tepsumethanon S, Briggs D, Asawavichienjinda T, et al. A preliminary study of chemo- and cytokine responses in rabies vaccine recipients of intradermal and intramuscular regimens. Vaccine 2010; 28:4553-7.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

67. Ayres JA, Barraviera B, Calvi SA, Carvalho NR, Peracoli MTS. Antibody and cytokine serum levels in patients subjected to anti-rabies prophylaxis with serum-vaccination. Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases 2006;12:435-55.

68. Venkataswamy MM, Madhusudana SN, Sanyal SS, Taj S, Belludi AY, Mani RS, et al. Cellular immune response following pre-exposure and postexposure rabies vaccination by intradermal and intramuscular routes. Clin Exp Vaccine Res 2015;4:68-74.

69. Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Shiv Pillai. Cellular and Molecular Immunology. Eighth edition. Philadelphia: Elsevier Saunders;2014.

70. Ratanavongsiri J, Sriwanthana B, Ubol S, Phanuphak P. Cell-mediated immune response following intracutaneous immunisation with human diploid cell rabies vaccine. Asian Pac J Allergy Immunol 1985;3:187-90.

71. Tantawichien T, Tantawichien T, Supit C, Khawplod P, Sitprija V. Three-year experience with 4-site intradermal booster vaccination with rabies vaccine for postexposure prophylaxis. Clin Infect Dis 2001;33:2085-7.

72. Suwansrinon K, Wilde H, Benjavongkulchai M, Banjongkasaena U, Lertjarutorn S, Boonchang S, et al. Survival of neutralizing antibody in previously rabies vaccinated subjects: a prospective study showing long lasting immunity. Vaccine 2006;24:3878-80.

73. Adle-Biassette H, Bourhy H, Gisselbrecht M, Chretien F, Wingertsmann L, Baudrimont M, et al. Rabies encephalitis in a patient with AIDS: a clinicopathological study. Acta Neuropathol 1996;92:415-20.

74. Pancharoen C, Thisyakorn U, Tantawichien T, Jaijaroensup W, Khawplod P, Wilde H. Failure of pre- and postexposure rabies vaccinations in a child infected with HIV. Scand J Infect Dis 2001;33:390-1.

75. Cohen J. Statistical power analysis for the behavioral sciences. Second edition. Hillsdale, NJ: Lawrence Earlbaum Associates;1988.

76. Strady A, Lang J, Lienard M, Blondeau C, Jaussaud R, Plotkin SA. Antibody persistence following preexposure regimens of cell-culture rabies vaccines: 10-year follow-up and proposal for a new booster policy. J Infect Dis 1998;177:1290-5.

77. Esser MT, Marchese RD, Kierstead LS, Tussey LG, Wang F, Chirmule N, et al. Memory T cells and vaccines. Vaccine 2003;21:419-30.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

78. Nicolas JF, Guy B. Intradermal, epidermal and transcutaneous vaccination: from immunology to clinical practice. Expert Rev Vaccines 2008;7:1201-14.

79. Moore SM, Wilkerson MJ, Davis RD, Wyatt CR, Briggs DJ. Detection of cellular immunity to rabies antigens in human vaccinees. J Clin Immunol 2006;26:533-45.

80. Micozkadioglu H, Zumrutdal A, Torun D, Sezer S, Ozdemir FN, Haberal M. Low dose intradermal vaccination is superior to high dose intramuscular vaccination for hepatitis B in unresponsive hemodialysis patients. Ren Fail 2007;29:285-8.

81. Troy SB, Kouiavskaia D, Siik J, Kochba E, Beydoun H, Mirochnitchenko O, et al. Comparison of the Immunogenicity of Various Booster Doses of Inactivated Polio Vaccine Delivered Intradermally Versus Intramuscularly to HIV-Infected Adults. J Infect Dis 2015;211:1969-76.

82. Bunupuradah T, Ananworanich J, Pancharoen C, Petoumenos K, Prasitsuebsai W, Wongngam W, et al. Randomized study of intradermal compared to intramuscular hepatitis B vaccination in HIV-infected children without severe immunosuppression. Vaccine 2011;29:2962-7.

83. Garg S, Thongcharoen P, Praphasiri P, Chitwarakorn A, Sathirapanya P, Fernandez S, et al. Randomized Controlled Trial to Compare Immunogenicity of Standard-Dose Intramuscular Versus Intradermal Trivalent Inactivated Influenza Vaccine in HIV-infected Men Who Have Sex with Men in Bangkok, Thailand. Clin Infect Dis 2016; 62:383-91.

84. Seo YB, Lee J, Song JY, Choi HJ, Cheong HJ, Kim WJ. Safety and immunogenicity of influenza vaccine among HIV-infected adults: Conventional vaccine vs. intradermal vaccine. Hum Vaccin Immunother 2016;12:478-84.

85. Ramezani A, Janbakhsh A, Gol-Mohammadi M, Banifazl M, Aghakhani A, Eslamifar A, et al. Serological response to one intradermal or intramuscular hepatitis B virus vaccine booster dose in human immunodeficiency virus-infected nonresponders to standard vaccination. Perspect Clin Res 2014;5:134-8.

86. Piguet V, Caucheteux SM, Iannetta M, Hosmalin A. Altered antigen-presenting cells during HIV- 1 infection. Curr Opin HIV AIDS 2014;9:478-84.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

87. Cruz SH, Nadal SR, Nadal CR, Calore EE. Evaluation of Langerhans cells counts comparing HIV-positive and negative anal squamous cell-carcinoma patients. Acta Cir Bras 2012;27:720-6.

88. Liang F, Bond E, Sandgren KJ, Smed-Sorensen A, Rangaka MX, Lange C, et al. Dendritic cell recruitment in response to skin antigen tests in HIV-1-infected individuals correlates with the level of T-cell infiltration. AIDS 2013;27:1071-80.

89. Mussini C, Lorenzini P, Cozzi-Lepri A, Lapadula G, Marchetti G, Nicastri E, et al. CD4/CD8 ratio normalisation and non-AIDS-related events in individuals with HIV who achieve viral load suppression with antiretroviral therapy: an observational cohort study. Lancet HIV 2015;2:98-106.

90. Serrano-Villar S, Deeks SG. CD4/CD8 ratio: an emerging biomarker for HIV. Lancet HIV 2015;2:76-7.

91. Lu W, Mehraj V, Vyboh K, Cao W, Li T, Routy JP. CD4:CD8 ratio as a frontier marker for clinical outcome, immune dysfunction and viral reservoir size in virologically suppressed HIV- positive patients. J Int AIDS Soc 2015;18:20052.

92. Caby F, Guihot A, Lambert-Niclot S, Guiguet M, Boutolleau D, Agher R, et al. Determinants of a Low CD4/CD8 Ratio in HIV-1-Infected Individuals Despite Long-term Viral Suppression. Clin Infect Dis 2016;62:1297-303.

93. Serrano-Villar S, Sainz T, Lee SA, Hunt PW, Sinclair E, Shacklett BL, et al. HIV-infected individuals with low CD4/CD8 ratio despite effective antiretroviral therapy exhibit altered T cell subsets, heightened CD8+ T cell activation, and increased risk of non-AIDS morbidity and mortality. PLoS Pathog 2014;10:1004078.

94. Buggert M, Frederiksen J, Noyan K, Svard J, Barqasho B, Sonnerborg A, et al. Multiparametric bioinformatics distinguish the CD4/CD8 ratio as a suitable laboratory predictor of combined T cell pathogenesis in HIV infection. J Immunol 2014;192:2099-108.

95. Tinago W, Coghlan E, Macken A, McAndrews J, Doak B, Prior-Fuller C, et al. Clinical, immunological and treatment-related factors associated with normalised CD4+/CD8+ T-cell ratio: effect of naive and memory T-cell subsets. PloS One 2014;9:97011.

96. Fuster F, Vargas JI, Jensen D, Sarmiento V, Acuna P, Peirano F, et al. CD4/CD8 ratio as a predictor of the response to HBV vaccination in HIV-positive patients: A prospective cohort study. Vaccine 2016;34:1889-95.

97. Suwansrinon K, Benjavongkulchai M. What are the consequences of having frequent rabies booster vaccinations? Asian Biomedicine 2008;2:157-9.

98. Kerneis S, Launay O, Turbelin C, Batteux F, Hanslik T, Boelle PY. Long-term immune responses to vaccination in HIV-infected patients: a systematic review and meta-analysis. Clin Infect Dis 2014;58:1130-9.

99. Sutcliffe CG, Moss WJ. Do children infected with HIV receiving HAART need to be revaccinated? Lancet Infect Dis 2010;10:630-42.

100. Crum-Cianflone NF, Wilkins K, Lee AW, Grosso A, Landrum ML, Weintrob A, et al. Long-term durability of immune responses after hepatitis A vaccination among HIV-infected adults. J Infect Dis 2011;203:1815-23.

101. Pacanowski J, Lacombe K, Campa P, Dabrowska M, Poveda JD, Meynard JL, et al. Plasma HIV- RNA is the key determinant of long-term antibody persistence after Yellow fever immunization in a cohort of 364 HIV-infected patients. J Acquir Immune Defic Syndr 2012;59:360-7.

102. Madhi SA, Klugman KP, Kuwanda L, Cutland C, Kayhty H, Adrian P. Quantitative and qualitative anamnestic immune responses to pneumococcal conjugate vaccine in HIV-infected and HIV-uninfected children 5 years after vaccination. J Infect Dis 2009;199: 1168-76.

103. Sudarshan MK, Narayana DH, Madhusudana SN, Holla R, Ashwin BY, Gangaboraiah B, et al. Evaluation of a one week intradermal regimen for rabies post-exposure prophylaxis: results of a randomized, open label, active-controlled trial in healthy adult volunteers in India. Hum Vaccin Immunother 2012;8:1077-81.

104. Zhang X, Zhu Z, Wang C. Persistence of rabies antibody 5 years after postexposure prophylaxis with vero cell antirabies vaccine and antibody response to a single booster dose. Clin Vaccine Immunol 2011;18:1477-9.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

105. Warrell MJ, Riddell A, Yu LM, Phipps J, Diggle L, Bourhy H, et al. A simplified 4-site economical intradermal post-exposure rabies vaccine regimen: a randomised controlled comparison with standard methods. PLoS Negl Trop Dis 2008;2:224.

106. Shantavasinkul P, Tantawichien T, Wilde H, Sawangvaree A, Kumchat A, Ruksaket N, et al. Postexposure rabies prophylaxis completed in 1 week: preliminary study. Clin Infect Dis 2010;50:56-60.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการตรวจวัดระดับ Rabies neutralizing antibody titers (RNab) โดยวิธี Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (RFFIT)

ตัวอย่างซีรั่มของผู้ป่วยจะถูก inactivate ด้วยความร้อนที่ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยใช้ 2% bovine serum เป็นตัวทำละลายให้เป็นสารละลายที่มีความเจือจาง 2 เท่า (two fold) ใน 96-well tissue culture plate จากนั้นผสมด้วย standard strain of rabies แล้วจึงทำการ incubation ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสใน 5% CO_2 incubator นาน 90 นาที จากนั้นใส่ 1.5×10^6 cell/ml of Baby Hamster Kidney-21 แล้วทำการ incubation ต่อเป็นเวลา 21 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เสร็จแล้วทำการ fix plates ด้วย 90% Acetone และ stain ด้วย Fluorescene isothiocyanate (FITC) เพื่อติดฉลาก Antirabies ด้วยการ conjugation นาน 45 นาทีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการตรวจสอบด้วย Fluorescent microscope แต่ละ well จะได้รับการอ่าน 8 field ถ้าพบเซลล์ positive cell อย่างน้อยหนึ่งเซลล์ใน field ใดก็ตามถือว่า positive ใช้ 50% inhibition of fluorescence และคำนวณโดยวิธีของ Reed and Muench neutralizing antibody โดยใช้ WHO Standard Immune serum (Paul-Ehrlich-institute Tollwut-Standard-Serum WS3) เป็นซีรั่มอ้างอิง หน่วยวัดที่คำนวณได้จะออกมาเป็น international unit per milliliter (IU/ml)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข

การศึกษาเรื่อง การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันหลังการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่เคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Immune Response After Booster Vaccination in HIV-Infected Patients Who Had Previously Received Primary Rabies Immunization)

โดย สุดา สีบุญเรือง และ คณะ (ข้อมูลยังไม่ได้ตีพิมพ์)

ทำการศึกษาในปี พ.ศ. 2554 – 2556 ที่สถานเสาวภา สภากาชาดไทย

โดยศึกษาใน ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่สุขภาพดีไม่มีอาการแสดงทางคลินิก (asymptomatic HIV-1 infection) จำนวน 33 คน ซึ่งเคยได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้ามาก่อน มารับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบภายหลังสัมผัสโรค ด้วยสูตรการฉีดวัคซีนแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3

<u>ผลการศึกษา</u>

ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่สุขภาพดีไม่มีอาการแสดงทางคลินิก (asymptomatic HIV-1 infection) จำนวน 14 คน มีอายุเฉลี่ย 42.5 ปี (ตั้งแต่ 29 – 56 ปี) เป็นชาย ร้อยละ 57.1 มีระยะเวลาการติดเชื้อเอชไอวีเฉลี่ย 114 เดือน (ตั้งแต่ 36 – 252 เดือน) อาสาสมัครทุกคนรับยาต้านไวรัส และมีระดับ CD4+ T lymphocytes count เฉลี่ย 499.5 เซลล์/มิลลิลิตร (ตั้งแต่ 201 – 744 เซลล์/มิลลิลิตร) ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเข็มกระตุ้นแบบเข้ากล้ามบริเวณต้นแขน ครั้งละ 1 หลอด (0.5 มล) จำนวน 2 ครั้งในวันที่ 0 และ 3 อาสาสมัครทุกคนมี anamnestic immune response ต่อการฉีดวัคซีน โดย มีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันโรคพิษสุนัขบ้า (Rabies Neutralizing Antibody Titers; RNab) มากกว่า 0.5 IU/มล ตั้งแต่วันที่ 7 ภายหลังการฉีดวัคซีน และ ที่วันที่ 14 ภายหลังการฉีดวัคซีนกระตุ้นเข็มแรก มี ค่า GMT ของ RNab ที่วันที่ 14 เท่ากับ 5.52 IU/มิลลิลิตร (ค่าน้อยที่สุด 0.5 IU/มิลลิลิตร ค่ามากที่สุด 18.34 IU/มิลลิลิตร)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

ชื่อ นางสาวสุดา พันธุ์รินทร์

วันเดือนปีเกิด 22 กรกฎาคม พ.ศ. 2520 จังหวัดกรุงเทพมหานคร

วุฒิการศึกษา

พ.ศ. 2544 แพทยศาสตร์บัณฑิต คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (เกียรตินิยมอันดับ 1)

พ.ศ. 2550 วุฒิบัตรผู้มีความรู้ความชำนาญในการประกอบวิชาชีพเวชกรรม สาขาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2557- ปัจจุบัน แพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขาวิชาโรคภูมิแพ้และภูมิคุ้มกันคลินิก ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประสบการณ์การทำงาน

พ.ศ. 2544 – 2545 แพทย์เพิ่มพูนทักษะโรงพยาบาลโพธาราม จ.ราชบุรี

พ.ศ. 2545 – 2546 ตำแหน่งนายแพทย์ 4 โรงพยาบาลสวนผึ้ง จ.ราชบุรี

พ.ศ. 2546 – 2547 ตำแหน่งนายแพทย์ 5 โรงพยาบาลบางแพ จ.ราชบุรี

พ.ศ. 2550 – 2552 ตำแหน่งนายแพทย์ 7 โรงพยาบาลทองผาภูมิ จ.กาญจนบุรี

พ.ศ. 2552 – ปัจจุบัน ตำแหน่งผู้เชี่ยวชาญ นายแพทย์ ระดับ 8 ด้านวิชาการ ฝ่ายบริการและวิจัยคลินิก สถานเสาวภา

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University