

การศึกษาระดับภูมิคุ้มกันหลังจากติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ในผู้ใหญ่ที่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2565

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

IMMUNOGENICITY IN PREVIOUSLY VACCINATED ADULTS AFTER COVID 19 INFECTION



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Medicine

Department of Medicine

FACULTY OF MEDICINE

Chulalongkorn University

Academic Year 2022

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาระดับภูมิคุ้มกันหลังจากติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ในผู้ใหญ่ที่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน
โดย	น.ส.วราลี เต็บศิริ
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงเลลานี ไพฑูรย์พงษ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์กำพล สุวรรณพิมลกุล

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของ
การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉันทชาย สิทธิพันธุ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. แพทย์หญิงชนิดา วินะยานุวัติคุณ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงเลลานี ไพฑูรย์พงษ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์กำพล สุวรรณพิมลกุล)

..... กรรมการ
(อาจารย์ นายแพทย์รณพิชัย โชคสุวัฒน์สกุล)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ แพทย์หญิงรณณีย์ ชัยวาฤทธิ์)

วราลี เต็บศิริ : การศึกษาระดับภูมิคุ้มกันหลังจากติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ในผู้ใหญ่ที่เคยได้รับวัคซีนมาก่อน. (IMMUNOGENICITY IN PREVIOUSLY VACCINATED ADULTS AFTER COVID 19 INFECTION) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. พญ.เลลานี ไพฑูรย์พงษ์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ. นพ.กำพล สุวรรณพิมลกุล

งานวิจัยชิ้นนี้ทำขึ้นเพื่อประเมินระดับภูมิคุ้มกันในผู้ใหญ่หลังจากที่ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ในผู้ใหญ่ที่เคยได้รับวัคซีนมาก่อนเทียบกับผู้ที่รับวัคซีนเข็มกระตุ้นด้วย AZD1222 ภายหลังจากที่ได้รับวัคซีนครบ โดยใช้อาสาสมัครเป็นบุคลากรทางการแพทย์ ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย แบ่งเป็นกลุ่มติดเชื้อคือเป็นผู้ที่ติดเชื้อไวรัสหลังจากได้รับวัคซีน CoronaVac ครบ และกลุ่มเข็มกระตุ้นคือเป็นผู้ที่ได้รับวัคซีน AZD1222 หลังจากได้รับวัคซีน CoronaVac ครบ และวัดระดับภูมิคุ้มกันเป็น surrogate virus neutralization test (sVNT) ต่อ wild-type และ Omicron variant (BA.1) ที่ 3 และ 6 เดือนหลังจากติดเชื้อหรือหลังได้วัคซีนเข็มกระตุ้น

อาสาสมัครบุคลากรทางการแพทย์ทั้งหมด 50 ราย แบ่งเป็นกลุ่มติดเชื้อ 25 ราย และกลุ่มเข็มกระตุ้น 25 ราย มีค่ามัธยฐานของระดับ sVNT ต่อ wild-type ที่ 3 เดือน คือ 97.87% (IQR 97.78%-97.94%) ในกลุ่มติดเชื้อและ 97.60% (IQR 94.6%-98%) ในกลุ่มเข็มกระตุ้น ($p=0.21$) ในขณะที่ค่ามัธยฐานของระดับ sVNT ที่ 6 เดือน คือ 97.68% (IQR 95.86%-97.92%) ในกลุ่มติดเชื้อสูงกว่า 92.6% (IQR 79.8%-97.9%) ในกลุ่มเข็มกระตุ้น ($p=0.04$) โดยสรุป ภูมิคุ้มกันต่อไวรัสโคโรนา 2019 ต่อ wild-type ที่ 3 เดือน ในผู้ใหญ่ที่ได้รับวัคซีน CoronaVac สองครั้งและมีประวัติการติดเชื้อมีระดับใกล้เคียงและไม่ด้อยกว่ากับกลุ่มที่ได้รับ AZD1222 เข็มกระตุ้น อย่างไรก็ตาม กลุ่มที่ติดเชื้อจะมีภูมิคุ้มกันที่ 6 เดือน ต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น

สาขาวิชา อายุรศาสตร์

ปีการศึกษา 2565

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

6470061730 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD: COVID-19, immunogenicity, neutralizing antibodies

Varalee Terbsiri : IMMUNOGENICITY IN PREVIOUSLY VACCINATED ADULTS AFTER COVID 19 INFECTION. Advisor: Asst. Prof. LEILANI PAITONPONG, M.D. Co-advisor: Assoc. Prof. GOMPOL SUWANPIMOLKUL, M.D.

Immunity against COVID-19 infection in vaccinated individuals varies based on the vaccine type, duration after vaccination or infection, and SARS-CoV-2 variant type. We conducted a observational study to evaluate the immunogenicity of a booster vaccination with AZD1222 after two doses of CoronaVac (booster group) compared to individuals who had COVID-19 infection after receiving two doses of CoronaVac (infection group). We used a surrogate virus neutralization test (sVNT) to evaluate immunity against wild-type and Omicron variant (BA.1) at 3 and 6 months after infection or booster dose. Of the 50 participants, 25 were in the infection group, and 25 were in the booster group. At 3 months post-infection or booster vaccination, the median sVNT against wild-type at 3 months after infection or booster vaccination was 97.87% (IQR 97.78%-97.94%) in the infection group and 97.6% (IQR 94.6%-98%) in the booster group ($p=0.21$). At 6 months, the median sVNT against wild-type was 97.68% (IQR 95.86%-97.92%) in the infection group higher than 92.6% (IQR 79.8%-97.9%) in the booster group ($p=0.04$). In conclusion, immunity against the wild-type virus at 3 months after two doses of CoronaVac-vaccinated HCWs with a history of COVID-19 infection was non-inferior to that of HCWs who received a booster dose of AZD1222. However, the infection group exhibited better immunity than the booster group at 6 months.

Field of Study: Medicine

Student's Signature

Academic Year: 2022

Advisor's Signature

Co-advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงได้เนื่องจากคำแนะนำและความช่วยเหลือจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง เลลानी ไพฑูรย์พงษ์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และรองศาสตราจารย์ นายแพทย์ กำพล สุวรรณพิมลกุล ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ทั้งสองท่านเป็นผู้ให้แนวคิดของงานวิจัย ให้คำแนะนำในการเก็บข้อมูล ตลอดจนการประเมินวิเคราะห์ผล

นอกจากนี้งานวิจัยฉบับนี้ยังได้รับความคิดเห็น ความเมตตา และความช่วยเหลือจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ โอภาส พุทธเจริญ หัวหน้าศูนย์โรคอุบัติใหม่ด้านคลินิก, ดร. แพทย์หญิง วรพรรณ จันทรบญกุล อาจารย์กุมารแพทย์โรคติดเชื้อ และ ดร.สุภาภรณ์ วัชรพฤษชาติ นักวิจัยศูนย์โรคอุบัติใหม่ด้านคลินิกทุกท่านได้เสียสละเวลาให้คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ซึ่งผู้วิจัยกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอบพระคุณพยาบาล และเจ้าหน้าที่ศูนย์โรคอุบัติใหม่ด้านคลินิก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บข้อมูลวิจัย การเก็บตัวอย่างเลือด และการตรวจทางห้องปฏิบัติการ และขอบพระคุณอาสาสมัครทุกท่านที่เสียสละเวลาอันมีค่าในการเข้าร่วมงานวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ กราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจตลอดมา

วราลี เดิบศิริ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญ

	หน้า
.....	ค
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญแผนภูมิ.....	ญ
บทที่ 1	1
บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rationale)	1
1.2 คำถามของการวิจัย (Research question).....	1
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives).....	1
1.4 สมมติฐาน (Hypothesis).....	2
1.5 คำสำคัญ (Keywords).....	2
1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumption).....	3
1.7 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework).....	3
บทที่ 2	4
ทบทวนวรรณกรรม	4
2.1 ทบทวนวรรณกรรมงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Review Literature).....	4
บทที่ 3	8

วิธีดำเนินการวิจัย	8
3.1 รูปแบบการวิจัย (Research Design).....	8
3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology).....	8
3.3 ขนาดตัวอย่าง (Sample size calculation).....	9
3.4 ขั้นตอนการทำวิจัย (Research Process).....	10
3.5 การวัดผล (Measurement).....	12
3.6 การรวบรวมข้อมูล (Data Collection).....	15
3.7 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Expected benefit and application)....	15
3.8 ข้อจำกัดในการวิจัย (Limitation).....	15
3.9 การเปิดเผยข้อมูล (Participant’s identification).....	15
3.10 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis).....	16
บทที่ 4	17
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	17
4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา และข้อมูลพื้นฐาน (Baseline characteristic)	17
4.2 ผลเปรียบเทียบผลการศึกษา (Result and comparison).....	19
บทที่ 5	23
อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และ ข้อเสนอแนะ	23
5.1 อภิปรายผล (Discussion).....	23
5.2 สรุปผล (Conclusion).....	25
5.3 ข้อดีของการศึกษานี้ (Strength).....	26
5.4 ข้อด้อยของการศึกษานี้ (Weakness).....	26
5.5 ข้อเสนอแนะ (Suggestion)	27
บรรณานุกรม.....	28
ประวัติผู้เขียน	33



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ขั้นตอนการทำวิจัย.....	12
ตารางที่ 2 ข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัคร.....	17
ตารางที่ 3 ตารางเปรียบเทียบระดับภูมิคุ้มกันเป็น surrogate viral neutralization test ต่อเชื้อโคโรนา 2019 สายพันธุ์ wild-type และ Omicron (BA.1) ระหว่างกลุ่มติดเชื้อ (infection group) และกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น (booster group).....	19
ตารางที่ 4 ตารางเปรียบเทียบระดับ anti-nucleocapsid IgG และ IgM ระหว่างกลุ่มติดเชื้อ และกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น.....	22

สารบัญแผนภูมิ

	หน้า
แผนภูมิที่ 1 กรอบแนวความคิดในการวิจัย.....	3
แผนภูมิที่ 2 สรุปแบบแผนโครงการ.....	11
แผนภูมิที่ 3 แผนภูมิอธิบายค่ามัธยฐานของระยะห่างระหว่างการวิจัยแต่ละช่วง ในกลุ่มติดเชื้อ (infection group) และกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น (booster group).....	18
แผนภูมิที่ 4 กราฟแท่งแสดงระดับ sVNT (%) inhibition ต่อ wild-type ที่ 3 และ 6 เดือนหลังการติดเชื้อในกลุ่มติดเชื้อ และหลังการฉีดวัคซีนในกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น.....	20
แผนภูมิที่ 5 กราฟแท่งแสดงระดับ sVNT ต่อ Omicron variant (BA.1) ที่ 3 เดือนหลังการติดเชื้อในกลุ่มติดเชื้อ และหลังการฉีดวัคซีนในกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น.....	20
แผนภูมิที่ 6 กราฟเส้นแสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ sVNT ต่อ wild-type ที่ 3 และ 6 เดือนหลังการติดเชื้อในกลุ่มติดเชื้อ และหลังการฉีดวัคซีนในกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น.....	21

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย (Background and rationale)

หากกล่าวถึงการติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ปัจจุบันเป็นปัญหาระดับโลกที่ทุกประเทศกำลังเร่งหาทางแก้ไข ส่งผลต่อการใช้ชีวิตของประชากรทั่วโลก ไม่ว่าจะเป็นด้านเศรษฐกิจ การเมือง และสังคม ซึ่งหลังจากเชื้อโรคนี้ได้แพร่กระจาย จนทำให้มีผู้ติดเชื้อทั่วโลกก็ได้มีการพัฒนาแนวทางการป้องกัน หนึ่งในนั้นคือวัคซีนที่ช่วยทั้งป้องกันและลดอัตราการเสียชีวิต ซึ่งปัจจุบันมีวัคซีนที่ WHO อนุมัติ แบ่งเป็น 3 ชนิด ได้แก่ mRNA, viral vector และ inactivated vaccine

ในประเทศไทย โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์เริ่มมีการฉีดวัคซีนตั้งแต่เดือน มีนาคม 2564 เป็นต้นมา และวัคซีนที่ได้รับคือ CoronaVac ของบริษัท Sinovac และ AZD1222 ของบริษัท AstraZeneca ต่อมาได้มีการระบาดระลอกที่ 4 ในประเทศไทยตั้งแต่วันที่ 6 ก.ค. 64 เป็นต้นมา ซึ่งเป็นเชื้อที่กลายพันธุ์ และแพร่เชื้อได้ง่ายกว่า ส่งผลให้คนที่ได้รับวัคซีนไปแล้ว และอาจมีภูมิคุ้มกันที่ต่ำลง จำนวนหนึ่งติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ภายหลังจากการฉีดวัคซีนแล้ว ซึ่งหลังจากการติดเชื้อของคนกลุ่มดังกล่าวคาดว่าจะมีภูมิคุ้มกันเพียงพอเทียบเท่ากับการฉีดวัคซีนกระตุ้น จึงเป็นที่มาของงานวิจัยชิ้นนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาภูมิคุ้มกันภายหลังจากการติดเชื้อของคนที่เคยฉีดวัคซีนมาก่อน เทียบเท่ากับภูมิคุ้มกันของคนที่เคยฉีดวัคซีนและได้รับวัคซีนกระตุ้น

1.2 คำถามของการวิจัย (Research question)

ภูมิคุ้มกันในคนไทยที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ภายหลังจากการฉีดวัคซีนป้องกันครบ 2 เข็ม จะมีระดับภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันโรคไม่ต่ำกว่าคนที่ฉีดวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนาครบ 2 เข็ม และได้รับวัคซีนกระตุ้นเข็มที่ 3 หรือไม่

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย (Objectives)

วัตถุประสงค์หลัก :

- เพื่อพิสูจน์ว่าภูมิคุ้มกันในคนไทยที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ภายหลังจากการฉีดวัคซีนป้องกันครบ 2 เข็ม จะมีระดับภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันโรค ไม่ต่ำกว่าคนไทยที่ฉีดวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนาครบ 2 เข็ม และได้รับวัคซีนกระตุ้นเข็มที่ 3

วัตถุประสงค์รอง :

- เพื่อศึกษาอัตราการคงอยู่ของระดับภูมิคุ้มกันภายหลังจากการติดเชื้อ ในกลุ่มที่เคยฉีดวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ครบแล้ว ที่ 6 เดือน
- เพื่อศึกษาอัตราการคงอยู่ของระดับภูมิคุ้มกันภายหลังจากการฉีดวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 เข็มกระตุ้นที่ 6 เดือน
- เพื่อศึกษาความสามารถของ Neutralizing Antibody สำหรับ variant strain
- เพื่อศึกษาระดับภูมิคุ้มกันภายหลังจากฉีดวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 เข็มกระตุ้น

1.4 สมมติฐาน (Hypothesis)

ภูมิคุ้มกันในคนไทยที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ภายหลังจากการฉีดวัคซีนป้องกันครบ 2 เข็ม จะมีระดับภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันโรคไม่ต่ำกว่าคนที่ฉีดวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนาครบ 2 เข็ม และได้รับวัคซีนกระตุ้นเข็มที่ 3

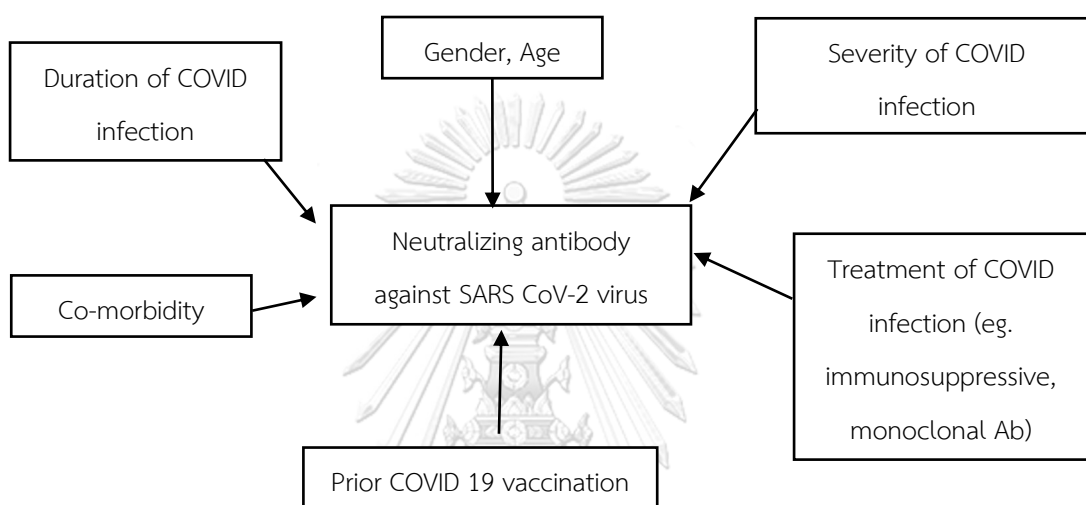
1.5 คำสำคัญ (Keywords)

- วัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID 19 vaccine)
- ระดับภูมิคุ้มกันโรค (SARS-CoV2 neutralizing antibody, SARS-CoV2 IgG antibody)
- อัตราของอาสาสมัครเปลี่ยนจากไม่มีภูมิเป็นมีภูมิคุ้มกัน (Seroconversion rate)
- สายพันธุ์ดั้งเดิม (wild-type) เป็นเชื้อไวรัส SARS-CoV2 สายพันธุ์ที่ระบาดเริ่มต้นที่ เมืองอู่ฮั่น ประเทศจีน หรือเรียกว่าสายพันธุ์ Wuhan-Hu-1
- สายพันธุ์ Omicron (BA.1) เป็นเชื้อไวรัสสายพันธุ์ย่อยของเชื้อไวรัส SARS-CoV2 หรือเรียกว่าสายพันธุ์ B.1.1.529.1

1.6 ข้อตกลงเบื้องต้น (Assumption)

ในระหว่างวิจัยผู้เข้าร่วมวิจัยจะต้องไม่ได้รับวัคซีนป้องกันการติดเชื้อโคโรนา 2019 และต้องไม่ได้รับการวินิจฉัยว่าติดเชื้อโคโรนา 2019 ในระหว่างอยู่ในงานวิจัย

1.7 กรอบแนวความคิดในการวิจัย (Conceptual framework)



แผนภูมิที่ 1 กรอบแนวความคิดในการวิจัย

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 ทบทวนวรรณกรรมงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Review Literature)

เชื้อไวรัสโคโรนา 2019 เป็น RNA virus ประกอบไปด้วย RNA ที่มีหน้าที่ควบคุมการสร้างโปรตีนและสารต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของไวรัส ทั้ง structural protein และ non structural protein⁽¹⁾ structural protein ที่มีความสำคัญได้แก่ spike (S) protein, membrane (M) protein, envelope (E) protein และ nucleocapsid (N) protein โปรตีนต่างๆ มีหน้าที่ช่วยในการยึดเกาะเซลล์โฮสต์ หรือจับสารต่าง ๆ ออกมานอกเซลล์ไวรัส และ surface glycoprotein บนผิวของไวรัสที่ช่วยให้ไวรัสเกาะเซลล์ของโฮสต์ได้ดีขึ้น^(2, 3)

ซึ่งหนึ่งในการตรวจหาภูมิคุ้มกันที่ใช้กันอย่างแพร่หลายคือการตรวจแอนติบอดีซึ่งเป็นการสร้างภูมิที่จำเพาะต่อโปรตีนในส่วนต่างๆของเชื้อไวรัสที่เกิดขึ้นจากการตอบสนองของร่างกาย เช่น anti-spike IgA, anti-spike IgG, anti-nucleocapsid IgM, anti-nucleocapsid IgG จากการศึกษาของ Burbelo PD และคณะ⁽⁴⁾ ได้ตรวจ antibodies ในผู้ป่วยหลังจากติดเชื้อโคโรนา 2019 โดยส่งตรวจ anti-nucleocapsid และ anti-spike หลังจากมีอาการเกิน 15 วัน พบว่า anti-nucleocapsid มี sensitivity 100% และ specificity 100% ในขณะที่ anti-spike มี sensitivity 91% และ specificity 100% นอกจากการตรวจแอนติบอดีดังกล่าวแล้วยังมีการตรวจแอนติบอดีอีกประเภทหนึ่งซึ่งเรียกว่า neutralizing antibody (NT) ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อการติดเชื้อ และสามารถป้องกันการติดเชื้อโดยแอนติบอดีชนิดนี้สามารถจับกับโปรตีนส่วนด้านนอกของไวรัส เพื่อป้องกันไม่ให้ไวรัสจับกับโปรตีนบนเซลล์ของมนุษย์ การตรวจหา neutralizing antibody จึงมีประโยชน์ในการวินิจฉัยที่ใช้ในการติดตามระดับภูมิคุ้มกันของร่างกายที่จะป้องกันการติดเชื้อซ้ำ⁽⁵⁾

Zhang Y. และคณะ⁽⁶⁾ การศึกษาในผู้ใหญ่อายุ 18-59 ปี ในประเทศจีน จำนวน 600 คนใน phase 2 เพื่อดูความปลอดภัยและระดับภูมิคุ้มกันต่อ SARS-CoV-2 หลังได้รับวัคซีน วัคซีนที่ใช้เป็นชนิด inactivated vaccine (CoronaVac) โดยฉีด 2 ครั้ง ห่าง 14 หรือ 28 วัน และแบ่งเป็นวัคซีน 2 ขนาด คือ 3 ไมโครกรัมและ 6 ไมโครกรัม และวัคซีนหลอก กลุ่มที่ได้วัคซีน 3 ไมโครกรัมห่าง 14 วัน, 3 ไมโครกรัมห่าง 28 วัน, 6 ไมโครกรัมห่าง 14 วัน และ 6 ไมโครกรัมห่าง 28 วัน กลุ่มละ 118-119 คน วัด seroconversion ของ neutralizing antibodies ต่อ live SARS-CoV-2 หลังได้รับวัคซีนครบ 2 ครั้ง โดยวัดที่ 14 วัน และ 28 วันหลังได้วัคซีนครบในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนห่าง 14 วัน และวัดที่ 28 วันหลังได้วัคซีนครบในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนห่าง 28 วัน พบว่าทั้ง 2 ขนาดให้ผลเหมือนกัน โดยผลของวัคซีนแบบ 3 ไมโครกรัม ห่าง 14 วัน พบว่า seroconversion rate ของ neutralizing

antibodies ต่อ live SARS-CoV-2 อยู่ที่ 92.4% ที่ 14 วันหลังได้วัคซีน และ 94.1% ที่ 28 วันหลังได้วัคซีน โดยมีค่า GMT 27.6 (95%CI 22.7-33.5) และ 23.8 (95%CI 20.5-27.7) ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ได้รับวัคซีนแบบ 3 ไมโครกรัม ห่าง 28 วัน ผลที่ 28 วันหลังได้รับวัคซีนครบพบว่า seroconversion rate อยู่ที่ 97.4% และ GMT 44.1 (95%CI 37.2-52.2) และจากการศึกษาของ Vaileiou E. และคณะ⁽⁷⁾ ได้รายงานการฉีดวัคซีนในประเทศสกอตแลนด์ว่า หลังได้รับวัคซีน ChAdOx1 nCoV-19 (Oxford AstraZeneca) เพียง 1 เข็ม พบว่าลดอัตราการนอนโรงพยาบาลจากการติดเชื้อได้ 88% (95%CI 75-94)

หลังจากได้การฉีดวัคซีนอย่างแพร่หลายมากขึ้น ทำให้ประชากรบางคนเกิดผลข้างเคียงจากวัคซีนบางชนิด จนต้องเปลี่ยนไปฉีดวัคซีนอีกชนิดหนึ่ง จึงได้มีการเริ่มศึกษาเกี่ยวกับวัคซีนไขว้ (heterologous vaccine) มากขึ้น จากการศึกษาของ Lui X. และคณะ⁽⁸⁾ ที่ตีพิมพ์เมื่อสิงหาคม 2021 ได้ศึกษาการฉีดวัคซีนไขว้ 2 ชนิด คือ ChAdOx1-AstraZeneca และ BNT162b2-Pfizer แบ่งเป็น 8 กลุ่ม ChAd/ChAd, ChAd/BNT, BNT/BNT หรือ BNT/ChAd โดยฉีดห่างกัน 28 หรือ 84 วัน ในอาสาสมัครที่อายุมากกว่า 50 ปี และไม่เคยติดเชื้อมาก่อน จำนวน 830 คน เพื่อศึกษาระดับภูมิคุ้มกันและความปลอดภัยในแต่ละกลุ่ม ตรวจสอบเป็น geometric mean concentration of SARS-CoV-2 anti-spike IgG ที่ 28 วันหลังฉีดวัคซีนครบ พบว่า ในกลุ่ม ChAd/BNT (12906 ELU/mL) มีประสิทธิภาพไม่ต่ำกว่า ChAd/ChAd (1392 ELU/mL) โดยวัคซีนไขว้ทั้ง ChAd/BNT และ BNT/ChAd มีประสิทธิภาพในการป้องกันความรุนแรงของโรคได้และปลอดภัย โดยในกลุ่มประชากรเดียวกันมีการศึกษาของ Shaw RH และคณะ⁽⁹⁾ ทำการศึกษาความปลอดภัยและผลข้างเคียงหลังได้รับวัคซีน 2 เข็มต่างชนิดกัน คือ AstraZeneca และ Pfizer โดยฉีดห่างกัน 28 หรือ 84 วัน พบว่าการให้วัคซีนต่างชนิดกันมีผลข้างเคียงจากวัคซีน เช่น ไข้ ปวด มากกว่าการให้ชนิดเดียวกัน

ต่อมาได้มีการศึกษาเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ฉีดวัคซีนหลังจากการติดเชื้อแล้ว จากการศึกษาของ Yalçin TY และคณะ⁽¹⁰⁾ หาระดับภูมิคุ้มกันในกลุ่มบุคลากรทางการแพทย์ 148 คนในประเทศตุรกี ได้รับวัคซีน CoronaVac 2 เข็ม โดย 74 คนเคยติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 มาก่อน และ 74 คนไม่เคยติดเชื้อมาก่อน โดยวัด SARS-CoV-2 IgGsp antibodies และ neutralizing antibodies ที่ก่อนได้รับวัคซีนโดสแรก และในวันที่ได้รับวัคซีนเข็มที่ 2 และ 28 วันหลังได้รับวัคซีนครบ พบว่าในกลุ่มที่เคยติดเชื้อมาก่อน 64% ไม่มีภูมิคุ้มกันที่เพียงพอหลังฉีดวัคซีนเพียง 1 เข็ม แต่ทุกคนมีภูมิคุ้มกันเพียงพอหลังฉีดวัคซีนเข็มที่ 2 แล้ว

จากการศึกษาของ Eyre DW และคณะ⁽¹¹⁾ ศึกษาระดับภูมิคุ้มกัน SARS-CoV-2 anti-spike IgG (Abbott SARS-CoV-2 IgG II Quant assay) 14 วันหลังฉีดวัคซีน ในบุคลากรทางการแพทย์ต่อการฉีดวัคซีน Pfizer-BioNTech หรือ Oxford-AstraZeneca ทั้ง 1 และ 2 เข็ม พบว่าใน 3610 คน มี seropositive 99.5% หลังจากฉีด Pfizer-BioNTech และ 97.1% หลังจากฉีด Oxford-AstraZeneca ครบ 1 เข็ม โดยพบว่า ผู้ที่เคยติดเชื้อก่อนได้รับวัคซีนจำนวน 67 คน และผู้ที่มีภูมิคุ้มกันก่อนได้รับวัคซีน จำนวน 169 คน มีระดับภูมิคุ้มกันหลังได้รับวัคซีน 1 เข็มสูงกว่าผู้ที่ไม่เคยติดเชื้อทั้ง Pfizer และ AstraZeneca vaccine และผู้ที่เคยติดเชื้อที่ได้รับ Pfizer เพียง 1 เข็ม มีระดับภูมิคุ้มกันสูงกว่าผู้ที่ไม่เคยติดเชื้อที่ได้รับวัคซีนครบ 2 เข็ม

Arnaud G.L. และคณะ⁽¹²⁾ ทำการศึกษาระดับของภูมิคุ้มกันในกลุ่มคนที่ทำงานในโรงพยาบาล หลังจากติดเชื้อโคโรนา 2019 จำนวน 200 คน ที่ 1, 3 และ 6 เดือน โดยมีค่า Anti-RBD geometric mean concentration (GMCs) อยู่ที่ 74.2 (95%CI 62.7-87.8), 103.2 (95%CI 87.9-121.2) และ 123.3 (103.4-147.0) ตามลำดับ ซึ่งเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาหลังการติดเชื้อ นอกจากนี้ งานวิจัยนี้ได้มีการตรวจภูมิคุ้มกันโดยวัด anti-N antibodies โดยมีค่า detectable > 97% ตลอดระยะเวลา 6 เดือน และยังพบว่าผู้ที่มีค่า Neutralizing antibodies detectable อยู่ที่ 99.5% (195/196) ของจำนวนอาสาสมัครทั้งหมด โดยค่าเฉลี่ยของ geometric mean concentration (GMCs) ด้วยวิธี sVNT ลดลงตามระยะเวลา ที่ 1 เดือนอยู่ที่ 19.2 AU/mL (95%CI: 16.1-22.9) ที่ 3 เดือนอยู่ที่ 15.0 AU/mL (95%CI: 12.9-17.3) และที่ 6 เดือนอยู่ที่ 9.1 AU/mL (95%CI: 7.4-11.1) โดยภายหลังการติดเชื้อที่ 6 เดือนเกือบทั้งหมดของอาสาสมัครมีภูมิคุ้มกันเพียงพอ

Krammer F. และคณะ⁽¹³⁾ ทำการเก็บข้อมูลระดับภูมิคุ้มกัน SARS-CoV-2 spike IgG ภายหลังได้รับวัคซีนชนิด mRNA (Pfizer และ Moderna vaccine) ของอาสาสมัครอายุ 24 ถึง 68 ปี จำนวน 110 คน โดยเป็นผู้ที่มีระดับภูมิคุ้มกันอยู่เดิมก่อนได้รับวัคซีนจำนวน 43 คน พบว่า ผู้ที่เคยมีภูมิคุ้มกันอยู่เดิมก่อนได้รับวัคซีนมีระดับภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นหลังจากได้รับวัคซีนชนิด mRNA เพียง 1 เข็มมากกว่าผู้ที่ไม่เคยมีภูมิคุ้มกันมาก่อน 10 ถึง 45 เท่า และมีความมธยฐานระดับภูมิคุ้มกันสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เคยมีภูมิคุ้มกันมาก่อนหลังวัคซีนครบ 2 เข็ม เช่นเดียวกับ การศึกษาของ Bradley T. และคณะ⁽¹⁴⁾ ซึ่งวัดระดับภูมิคุ้มกันชนิด neutralizing antibodies ต่อ SARS-CoV-2 (Genscript) ที่พบว่าผู้ที่เคยมีการติดเชื้อมาก่อนใน 30 ถึง 60 วันมีระดับภูมิคุ้มกันสูงกว่าผู้ที่ไม่เคยติดเชื้อ

Chia WN. และคณะ⁽¹⁵⁾ ทำการศึกษาลักษณะการเปลี่ยนแปลงของระดับภูมิคุ้มกันภายหลังการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ในประเทศสิงคโปร์ ในผู้ป่วย 164 คน โดยติดตามในวันที่ 180 หลังมีอาการ พบว่าผล neutralizing antibodies เป็นลบ ร้อยละ 12, ระดับภูมิคุ้มกันลดลงเร็วใน 180 วัน (rapid waning) ร้อยละ 27, ลดลงแต่ยังคงเป็นบวก (slow waning) ร้อยละ 28, ระดับภูมิคุ้มกันคงที่

(persistent) ร้อยละ 32, และ ระดับภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้นช้า (delayed response) ร้อยละ 2 พบว่า ผู้ที่มีระดับภูมิคุ้มกันคงที่สัมพันธ์กับการมีโรคที่รุนแรง ซึ่งลักษณะดังกล่าวอาจจะเป็นตัวอย่างของการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่แตกต่างกันหลังจากการติดเชื้อ

นอกจากนี้ มีงานวิจัยของ Jantarabenjakul W. และคณะ⁽¹⁶⁾ วัดระดับภูมิคุ้มกันในบุคลากรทางการแพทย์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ได้รับวัคซีน CoronaVac 2 เข็ม และฉีดเข็มกระตุ้นด้วย ChAdOx1 หรือกระตุ้นด้วย BNT162b2 วัดระดับ surrogate neutralizing antibody (sVNT) ต่อ wild-type ที่ 4 และ 12 สัปดาห์ พบว่ามีร้อยละของระดับ sVNT ที่ 4 สัปดาห์อยู่ที่ 98.1% ในกลุ่มฉีดกระตุ้นด้วย ChAdOx1 และ 98.5% ในกลุ่มที่กระตุ้นด้วย BNT162b2 ในขณะที่มีร้อยละของระดับ sVNT ที่ 12 สัปดาห์ อยู่ที่ 97.9% ทั้งสองกลุ่ม

จากงานวิจัยของ Suntronwong N. และคณะ⁽¹⁷⁾ เป็น observational study ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อโคโรนา 2019 หลังฉีดวัคซีน CoronaVac 2 เข็ม และผู้ที่ได้รับวัคซีน CoronaVac 2 เข็ม และวัคซีน AZD1222 เป็นเข็มกระตุ้น โดยวัดระดับ sVNT ที่ 30 วัน พบว่ามีร้อยละของระดับ sVNT ต่อ wild-type อยู่ที่ 97.7% ในกลุ่มที่ได้รับ AZD1222 เป็นเข็มกระตุ้น และ 97.5% ในกลุ่มที่ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หลังฉีดวัคซีนครบ

และสุดท้ายการศึกษาที่ใกล้เคียงกับการศึกษาของเรามากที่สุดทำโดย Zhu KL. และคณะ⁽¹⁸⁾ ทำในประเทศจีน ดูระดับภูมิคุ้มกันเป็น neutralizing antibodies ที่เกิดจากการฉีดวัคซีน Coronavac 2 เข็ม และกระตุ้นด้วย ZF2001 ซึ่งเป็นวัคซีนชนิดโปรตีนซับยูนิต กับภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการติดเชื้อ delta variant หลังการฉีดวัคซีน รวมทั้งภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการฉีดวัคซีนหลังการติดเชื้อ alpha variant พบว่าที่ 6 เดือนหลังการฉีด ZF2001 เข็มกระตุ้นมีภูมิคุ้มกันต่อ wild-type ที่ต่ำ NAb titer 57 (NT₅₀ 72%) และมีภูมิคุ้มกันที่ต่ำมากต่อ Omicron variant ในขณะที่ภูมิคุ้มกันหลังจากติดเชื้อ delta variant ในผู้ที่ฉีดวัคซีน Coronavac ครบ 2 เข็มแล้ว ที่ 6 เดือนมีภูมิคุ้มกันต่อ wild-type ที่สูง NAb titer 1209 (NT₅₀ 100%) แต่ภูมิคุ้มกันต่อ Omicron variant ลดต่ำลงมา

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 รูปแบบการวิจัย (Research Design)

เป็นการศึกษาวิจัยทางคลินิกแบบ observational study

3.2 ระเบียบวิธีการวิจัย (Research Methodology)

ประชากร (Population) : คนไทยอายุ > 18 ปี ที่ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีน 1 ชนิด และคนไทยอายุ > 18 ปี ที่ได้รับวัคซีนกระตุ้นเข็มที่ 3

ประชากรเป้าหมาย (Target Population) : ผู้ที่อายุ > 18 ปี ที่ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ระลอกที่ 3-4 ภายหลังได้รับการฉีดวัคซีน 1 ชนิดโดยวัคซีนที่ได้รับคือ CoronaVac ของบริษัท Sinovac และผู้ที่อายุ > 18 ปี ที่ได้รับวัคซีนกระตุ้นเข็มที่ 3 โดยวัคซีนชนิดแรกที่ได้รับคือ CoronaVac ของบริษัท Sinovac และวัคซีนเข็มกระตุ้น 1 เข็ม เป็นคนละชนิดกัน

วิธีการเข้าถึงอาสาสมัคร (Approach to participant): โทรติดต่อประชาสัมพันธ์เชิญชวนเข้าโครงการให้ผู้เข้าเกณฑ์การวิจัย, แจ้งวิธีการติดต่อกลับ และแจ้งแพทย์ในโรงพยาบาลทราบ หากมีผู้เข้ารับบริการที่เป็นประชากรกลุ่มเป้าหมาย ให้แจ้งทีมผู้วิจัยทราบเพื่อแจ้งข้อมูลโครงการ และนำข้อมูลจากการศึกษา “การศึกษาระดับภูมิคุ้มกันในบุคลากรโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และหน่วยงานเครือข่ายที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019” สำหรับในกลุ่มที่ฉีดวัคซีนกระตุ้น AZD1222 เป็นเข็มที่ 3 และกลุ่มที่เคยติดเชื้อเฉพาะช่วง 3 เดือนหลังติดเชื้อ

เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย (Inclusion criteria) อาสาสมัครต้องมีความสมบูรณ์ตามหลักเกณฑ์ต่อไปนี้ทุกข้อ จึงจะสามารถเข้าร่วมในโครงการวิจัยได้

- อาสาสมัครอายุมากกว่า 18 ปี และไม่เกิน 60 ปี
- ได้รับความยินยอมโดยสมัครใจให้เข้าร่วมในโครงการวิจัย
- มีข้อใดข้อหนึ่งใน 2 ข้อต่อไปนี้

- 1.) เคยป่วยด้วยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ภายใน 4 เดือนที่ผ่านมา และได้รับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ครบ 2 เข็มมาก่อน ติดเชื้ออย่างน้อย 14 วัน

2.) ได้รับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ทั้งหมด 3 เข็ม โดยสองเข็มแรกเป็นวัคซีน CoronaVac และเข็มสุดท้ายเป็นวัคซีน AZD1222 เป็นเข็มกระตุ้น (booster)

เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครออกจากโครงการวิจัย (Exclusion criteria)

- ได้รับวัคซีนอื่นๆ ในช่วงระยะเวลา 4 เดือนที่ผ่านมา
- ได้รับเลือดหรือผลิตภัณฑ์จากเลือดหรืออิมมูโนโกลบูลินในช่วงระยะเวลา 3 เดือนที่ผ่านมา
- อยู่ในภาวะ high-level immunosuppression ได้แก่ ยากดภูมิคุ้มกันขนาดสูง คือ prednisolone > 20 mg/day, rituximab, TNF alpha blocker, MTX > 0.4 mg/kg/week
- ได้รับ monoclonal antibody, JAK inhibitor และ convalescent plasma for COVID-19
- เฉพาะกลุ่มที่ได้รับวัคซีนทั้งหมด 3 เข็ม จะต้องไม่เคยติดเชื้อโคโรนา 2019 มาก่อน จากการซักประวัติ

กระบวนการขอความยินยอม (Informed consent process): กระบวนการขอความยินยอมจะทำที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยแพทย์ผู้ทำวิจัยอธิบายขั้นตอนการดำเนินการวิจัย ความเสี่ยงและประโยชน์ ตอบข้อสงสัยจน อาสาสมัครเข้าใจ และให้เวลาตัดสินใจโดยอิสระ ก่อนลงนามให้ความยินยอมเข้าร่วมในการวิจัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

3.3 ขนาดตัวอย่าง (Sample size calculation)

ในการศึกษานี้คาดว่า ความแตกต่างระหว่างสองกลุ่มจะต้องไม่เกิน 10% inhibition และจากผลการสุ่มตรวจ (pilot study) ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อหลังได้วัคซีนครบ 2 เข็ม พบว่าที่ 3 เดือน มีระดับ surrogate viral neutralizing test (sVNT) อยู่ที่ 98% inhibition ซึ่งคาดว่าความต่างของระดับภูมิคุ้มกันจากการวัดด้วยวิธี sVNT ไม่ควรเกิน 10% inhibition คำนวณโดยใช้สูตร non-inferiority trial for continuous data

$$n_2 = \frac{(z_{1-\alpha} + z_{1-\beta})^2 \sigma^2 (1 + \frac{1}{k})}{(\epsilon - \delta)^2}$$

$$\epsilon = \mu_2 - \mu_1$$

กำหนดให้

- Mean difference (ϵ) = 10
- Margin (δ) = 1
- Alpha (α) = 0.05
- Beta (β) = 0.2, power 80%
- สัดส่วนกลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่ม มีปริมาณเท่ากัน 1:1
- Standard deviation (σ) หรือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของทั้ง 2 กลุ่ม = 10.7 โดยอ้างอิงจากการศึกษาก่อนหน้า⁽⁵⁾

จะคำนวณได้ขนาดตัวอย่างทั้งหมด 36 ราย และเมื่อคิดว่าอาจจะมีอาสาสมัครประมาณร้อยละ 20 ถอนตัวออกจากโครงการหรือได้รับวัคซีนกระตุ้นหรือติดเชื้อ จะสามารถคำนวณขนาดตัวอย่างได้ทั้งหมด 22 ราย ต่อกลุ่ม

3.4 ขั้นตอนการทำวิจัย (Research Process)

วิธีการวิจัย/วิธีดำเนินการวิจัย (ตารางที่ 1)

1.) ผู้วิจัยเชิญชวนอาสาสมัครเพื่อเข้าร่วมในโครงการวิจัยตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ และอธิบายถึงประโยชน์ของโครงการวิจัยและวิธีการวิจัย และนำข้อมูลจากงานวิจัย “การศึกษาระดับภูมิคุ้มกันในบุคลากรโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และหน่วยงานเครือข่ายที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019” สำหรับในกลุ่มที่ฉีดวัคซีนกระตุ้นเข็มที่ 3 และกลุ่มที่เคยติดเชื้อเฉพาะช่วง 3 เดือนหลังติดเชื้อ

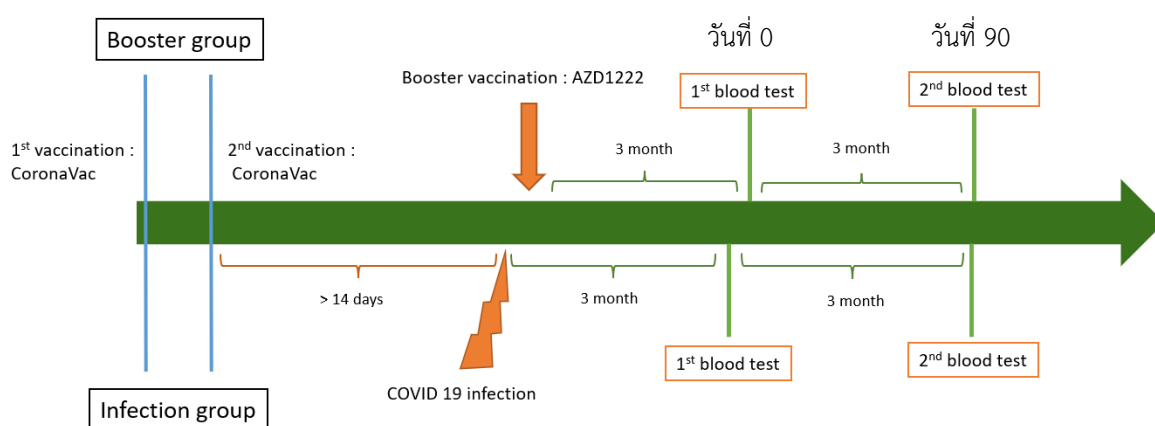
2.) บันทึกข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยโดยให้ผู้เข้าร่วมตอบแบบคัดกรองประวัติ และผู้วิจัยกรอกลงในแบบฟอร์มการเก็บข้อมูลการวิจัย

3.) ทำการตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคน้อย 2 ครั้ง คือ หลังจากติดเชื้อหรือหลังจากฉีดวัคซีนเข็มที่ 3 อย่างน้อย 3 เดือน (+/- 4 สัปดาห์), และ 6 เดือน (+/- 4 สัปดาห์) เพื่อประเมินการระดับและการคงอยู่ของระดับภูมิคุ้มกัน

- วันที่ 0 ของการเข้าร่วมโครงการใช้ข้อมูลจากการศึกษา “การศึกษาระดับภูมิคุ้มกันในบุคลากรโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์และหน่วยงานเครือข่ายที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019”: วันที่ 0 คือหลังติดเชื้อหรือหลังฉีดวัคซีนเข็มสุดท้าย 3 เดือน (+/- 4 สัปดาห์) ทำการเก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 4 มล. จากอาสาสมัครทุกรายเพื่อส่งตรวจระดับภูมิคุ้มกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019

-วันที่ 90 คือหลังติดเชื้อหรือหลังฉีดวัคซีนเข็มสุดท้าย 6 เดือน (+/- 4 สัปดาห์) ซักประวัติการวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 และการฉีดวัคซีนในช่วงที่ผ่านมา และเก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 4 มล. เพื่อส่งตรวจระดับภูมิคุ้มกันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019

มีแบบแผนโครงการได้สรุปเป็นรูปภาพใน แผนภูมิที่ 2 เพื่อแสดงให้เห็นชัดเจนขึ้น



แผนภูมิที่ 2 สรุปแบบแผนโครงการ

โดยจะมีการแจ้งผลการตรวจระดับภูมิคุ้มกันในอาสาสมัครหลังจากวิเคราะห์ข้อมูลแล้ว การเข้าร่วมวิจัยจะไม่มีผลกับการรับวัคซีนในอนาคตของผู้ร่วมวิจัย หากระหว่างการศึกษาเมื่อผู้ป่วยได้รับวัคซีนใหม่ และ/หรือติดเชื้อโคโรนา 2019 จะถูกนำออกจากการศึกษา

ตารางที่ 1 ขั้นตอนการทำวิจัย

Type of contact	Visit 1	Visit 2
Time point (s) window	Day 0	Day 90
Sampling timepoint(s)	3 month after infection/ vaccination (+/- 28)	6 month after infection/ vaccination (+/- 28)
Informed consent	●	
Check inclusion/ exclusion criteria	●	●
Collect demographic data	●	
Collect Medical history and medication	●	
History of has been diagnosed of COVID-19	●	●
Blood sampling - immune response assessment (~10 mL)	●	●

3.5 การวัดผล (Measurement)

จุดยุติหลัก (Primary endpoints) สำหรับการศึกษาระดับภูมิคุ้มกัน ได้แก่

-เปรียบเทียบระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ที่ 3 และ 6 เดือนระหว่างกลุ่มที่ติดเชื้อภายหลังฉีดวัคซีนเทียบกับกลุ่มที่ได้รับวัคซีนกระตุ้นครบ 3 เข็ม

จุดยุติรอง (Secondary endpoints) สำหรับการศึกษาระดับภูมิคุ้มกัน ได้แก่

-เปรียบเทียบอัตราการเปลี่ยนระดับภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันโรคได้ที่ 3 และ 6 เดือนระหว่างกลุ่มที่ติดเชื้อภายหลังฉีดวัคซีนเทียบกับกลุ่มที่ได้รับวัคซีนกระตุ้นครบ 3 เข็ม

-วัดการตอบสนองของระดับ surrogate virus neutralization test (sVNT) ตามช่วงเวลา
ที่ 3 และ 6 เดือน ทั้งสองกลุ่ม

การตรวจทางห้องปฏิบัติการและการแปลผล

การตรวจทางห้องปฏิบัติการทำโดยนักเทคนิคการแพทย์ที่เชี่ยวชาญในห้องปฏิบัติการทดลอง
ที่ได้มาตรฐานในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

1.) การตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV2 neutralizing antibody) โดยวิธี Blocking Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) จากเลือด โดย
รายงานผลเป็นแบบ qualitative จาก cPass™ SARS-CoV-2 Neutralization Antibody
Detection Kit (GenScript) ซึ่งได้รับการรับรองจาก FDA Emergency Use ทำในห้องปฏิบัติการ
ด้วยเทคนิค surrogate viral neutralizing test (sVNT) โดยมีวิธีการตรวจ คือนำเลือดของ
อาสาสมัครผสมกับ receptor binding domain conjugated to horseradish peroxidase (RBD-
HRP) หลังจากนั้นจึงนำไปใส่ในภาชนะที่มี human ACE2 receptor protein (hACE2) เกาะอยู่
ก่อนนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นจะเติม 3,3',5,5'-
tetramethylbenzidine (TMB) และ incubate อีกเป็นเวลา 15 นาที ตามด้วยการเติม stop
solution ทำให้ซีรัมที่มี neutralizing antibodies ยังยับยั้งปฏิกิริยาระหว่าง RBD-hACE2 และจะถูก
ชะล้างออกจากภาชนะทำให้มีสีเกิดขึ้น ไล่ตั้งแต่ไม่มีสีไปจนถึงสีเหลืองอ่อน ในทางตรงกันข้ามหาก
ซีรัมไม่มี neutralizing antibodies จะทำให้ RBD จับกับ hACE2 และแสดงเป็นสีเหลืองออกมา
และวัดระดับออกมาเป็นค่า low OD₄₅₀ โดยระดับ sVNT ดังกล่าวที่ใช้ RBD-HRP ธรรมดา เป็นสาย
พันธุ์ wild-type จะรายงานเป็น percent signal inhibition ซึ่งคำนวณจากสมการด้านล่าง⁽¹⁹⁾

$$\% \text{ inhibition} = 1 - (\text{OD sample} / \text{OD negative control} \times 100\%)$$

นอกจากนี้ในการศึกษา ยังส่ง neutralizing antibody ต่อ SARS-CoV2 specific strain
Omicron variant (BA.1) ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ระบาดอยู่ในประเทศไทยช่วงพฤศจิกายน 2564 เป็นสาย
พันธุ์ที่กลายพันธุ์ต่อมาและอาจจะมีการหลบหลีกภูมิคุ้มกันได้ ในการศึกษานี้จึงได้ทำการตรวจ
ภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เพิ่มขึ้น โดยใช้วิธีการตรวจเหมือนกันกับการตรวจ sVNT ต่อ
wild-type แต่เปลี่ยน RBD-HRP Omicron variant, His tag (BA.1) แทนการใช้ RBD-HRP ธรรมดา
หน่วยวัดที่คำนวณได้จะออกมาเป็น Percent signal inhibition เช่นกัน โดยจะส่งตรวจที่
ห้องปฏิบัติการ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การแปลผล : การไม่มีภูมิคุ้มกัน (Seronegative) หมายถึง ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV2 Neutralizing Antibody) ผล < 30% Signal Inhibition

การมีภูมิคุ้มกันถึงระดับที่ป้องกันโรคได้ (Sero-protection) หมายถึงการมีภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV2 Neutralizing Antibody) ผล $\geq 68\%$ Signal Inhibition⁽²⁰⁾ โดยมีการศึกษาแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับ sVNT ซึ่งสามารถทำได้โดยไม่ต้องมีห้องปฏิบัติการที่มีความปลอดภัยทางชีวภาพระดับ 3 สอดคล้องกับระดับ 90% plaque reduction neutralization (PRNT90) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานและยอมรับในระดับสากลสำหรับการหาระดับ antibodies ต่อ SARS-CoV-2⁽²¹⁾ แต่ PRNT มีกระบวนการทำยากกว่าและต้องทำในห้องปฏิบัติการที่มีความปลอดภัยทางชีวภาพระดับ 3 เท่านั้น

2.) การตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV2 antibody) โดยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) จากเลือด ของบริษัท EUROIMMUN ซึ่งจะตรวจ antibody ต่อส่วนของ nucleocapsid (N) แบ่งเป็น IgM และ IgG ซึ่งได้รับการรับรองจาก FDA Emergency Use หน่วยวัดที่คำนวณได้จะออกมาเป็น Ratio โดยจะส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การแปลผล : การไม่มีภูมิคุ้มกัน (Seronegative) หมายถึง ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV2 Antibody) ผล Ratio < 1.1

การมีภูมิคุ้มกัน (Seropositive) หมายถึง ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV2 Antibody) ผล Ratio ≥ 1.1

การจัดการกับตัวอย่างทางชีวภาพที่เหลือ: ตัวอย่างเลือดที่เหลือจะเก็บไว้ที่ Chula Clinical Research Center เป็นเวลา 10 ปี หากต้องการใช้ตัวอย่างเลือดเพื่อศึกษาเพิ่มเติม จะทำการขอ IRB เพื่อพิจารณาก่อน หลังจากครบระยะเวลาที่กำหนดแล้วจะทำลายทิ้งตามมาตรฐานของห้องปฏิบัติการ

3.6 การรวบรวมข้อมูล (Data Collection)

ผู้ดำเนินการวิจัย บันทึกข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัคร ได้แก่ ข้อมูลทั่วไป ได้แก่ เพศ อายุ, ข้อมูลโรคประจำตัว ได้แก่ โรคประจำตัว ยาที่ใช้ประจำ(ที่มีผลต่อภูมิคุ้มกัน), ข้อมูลการฉีดวัคซีนก่อนหน้านี้น ชนิดของวัคซีนและวันที่ฉีด, ข้อมูลการติดเชื้อ ได้แก่ วันที่วินิจฉัยวันแรก และความรุนแรงของการติดเชื้อ และผลการตรวจระดับภูมิคุ้มกันลงในแบบฟอร์มการเก็บข้อมูลเพื่อการวิจัย

การเชิญชวนอาสาสมัครจะใช้การโทรศัพท์เชิญชวน และแนะนำให้มาเจาะเลือดในวันและเวลาที่กำหนด โดยพยาบาลผู้เชี่ยวชาญ ก่อนหน้าเจาะเลือดจะมีผู้อธิบายรายละเอียดงานวิจัย และเซ็นเอกสารยินยอมในการเข้าร่วมงานวิจัย โดยเปิดโอกาสให้ซักถามก่อน

3.7 ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย (Expected benefit and application)

ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้ จะช่วยประเมินประสิทธิภาพของการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น และยืนยันภูมิคุ้มกันภายหลังจากการติดเชื้อหลังฉีดวัคซีนครบว่ามีระดับภูมิคุ้มกันในเกณฑ์ที่สามารถป้องกันโรค และระดับการป้องกันสามารถอยู่ได้นานอย่างน้อย 6 เดือน เพื่อสนับสนุนการพิจารณาการฉีดวัคซีนในคนไทยต่อไป

3.8 ข้อจำกัดในการวิจัย (Limitation)

การวิจัยนี้ต้องให้ผู้ป่วยเข้าร่วมอยู่ในการวิจัยโดยหากฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นระหว่างนั้นจะถูกนำออกจากการศึกษา จึงมีการแจ้งผลการตรวจภูมิคุ้มกันให้แก่อาสาสมัครและอธิบายให้เข้าใจโดยละเอียดให้อาสาสมัครตัดสินใจด้วยตนเอง

3.9 การเปิดเผยข้อมูล (Participant's identification)

ข้อมูลทั้งหมดของอาสาสมัครจะถูกปกปิดเป็นความลับ ไม่มีการนำข้อมูลที่แสดงตัวตนของอาสาสมัครไปเปิดเผยเด็ดขาด ทั้ง ชื่อ อายุ เพศ ประวัติการติดเชื้อ และการฉีดวัคซีนทั้งหมด โดยการระบุตัวอาสาสมัครจะใช้หมายเลขทดแทนเพื่อปกปิดข้อมูล หากมีความจำเป็นต้องเปิดเผยข้อมูลที่สามารถระบุตัวตนได้ จะต้องได้รับการยินยอมจากอาสาสมัครเท่านั้น

3.10 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

การวิเคราะห์ข้อมูลทำโดยโปรแกรม IBM SPSS Statistics สำหรับ windows version 28 และแผนภูมิทั้งหมดทำโดยโปรแกรม GraphPad Prism v9.4 คัด p value < 0.05 ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ นำเสนอข้อมูลพื้นฐานและอัตราการเปลี่ยนแปลงภูมิคุ้มกันโรค (seroconversion) เป็นร้อยละ และอัตราส่วน หากข้อมูลเป็นข้อมูลแบบต่อเนื่องและแจกแจงแบบปกติ จะรายงานเป็นค่าเฉลี่ย (mean) และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) แต่หากข้อมูลเป็นแบบต่อเนื่องและแจกแจงไม่ปกติ เช่น ระดับ sVNT และระยะห่างระหว่างการติดเชื้อหรือฉีดวัคซีนกับการเจาะเลือด จะรายงานเป็นค่ามัธยฐาน (median) และ พิสัยควอไทล์ (IQR; interquartile range)

เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงภูมิคุ้มกันโรคหลังจากติดเชื้อภายหลังการฉีดวัคซีน กับข้อมูลของผู้ที่มีภูมิคุ้มกันหลังฉีดวัคซีนครบ 2 เข็มและฉีดวัคซีนกระตุ้น โดยใช้วิธี Mann-Whitney U test เนื่องจากเป็นข้อมูลที่แจกแจงไม่ปกติ นอกจากนี้ยังทดสอบว่าข้อมูลทั้งสองกลุ่มและอัตราการเปลี่ยนแปลงของ sVNT ไม่ด้อยกว่ากัน (non-inferiority) โดยใช้วิธี Hodges-Lehmann method รายงานเป็นผลต่างมัธยฐาน (median difference) และช่วงความเชื่อมั่นที่ 95% (95% confidence interval)

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ประชากรที่นำมาศึกษา และข้อมูลพื้นฐาน (Baseline characteristic)

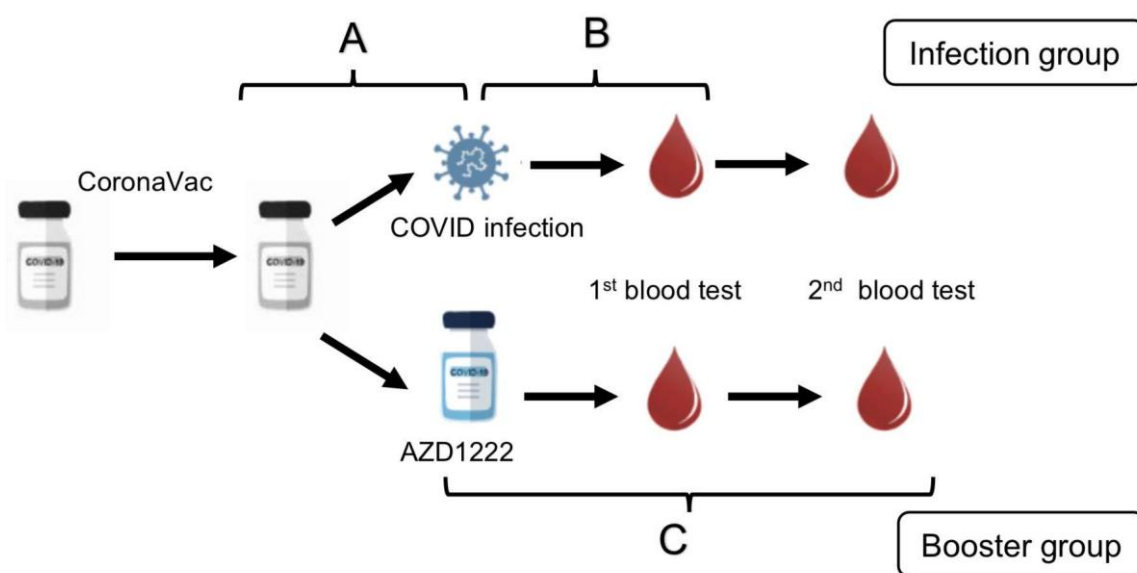
อาสาสมัครทั้งหมด 50 ราย ถูกนำเข้ามาในการศึกษา โดย 25 ราย เป็นกลุ่มที่ติดเชื้อหลังจากได้รับวัคซีนครบ (เรียกว่า กลุ่มติดเชื้อ) และอีก 25 ราย เป็นกลุ่มที่ได้รับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นหลังจากได้รับวัคซีนครบ (เรียกว่า กลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น) โดยทั้งหมดมีอายุเฉลี่ยอยู่ที่ 42 ปี และส่วนใหญ่เป็นเพศหญิงถึง 76% ข้อมูลพื้นฐานอื่นๆของอาสาสมัครได้แจกแจง ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ข้อมูลพื้นฐานของอาสาสมัคร

	กลุ่มติดเชื้อ (N = 25)	กลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น (N = 25)
อายุ (mean, SD)	39 ± 8	44 ± 7
เพศชาย	9 (36 %)	3 (12 %)
ตำแหน่งหน้าที่		
แพทย์	1	8
พยาบาล	1	8
ผู้ช่วยพยาบาล	2	2
เภสัชกร	1	0
อื่นๆ	20	7
มีโรคประจำตัว	10	7
ความรุนแรงในการติดเชื้อ		
อาการไม่รุนแรง (URI symptom)	13	
ปอดติดเชื้อ	12	
ระยะห่างระหว่างการฉีดวัคซีน	71 (68-78)	89 (87-91)
Coronavac เข็มสุดท้าย กับการติดเชื้อหรือการฉีดวัคซีน AZD1222		
(median, IQR, วัน)		
ระยะห่างระหว่างการฉีดวัคซีนเข็มสุดท้ายหรือการติดเชื้อ กับการเจาะเลือดครั้งแรก (median, IQR, วัน)	90 (88-92)	91 (91-92)
ระยะห่างระหว่างการฉีดวัคซีนเข็มสุดท้ายหรือการติดเชื้อ กับการเจาะเลือดครั้งที่สอง (median, IQR, วัน)	162 (160-164)	169 (168-170)

URI = upper respiratory tract infection, IQR = interquartile range

จากข้อมูลพื้นฐานอายุเฉลี่ย คือ 39 (SD \pm 8) ปี ในกลุ่มติดเชื้อและ 44 (SD \pm 7) ปี ในกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น ในขณะที่กลุ่มติดเชื้อเป็นเพศชาย 36% (9/25 ราย) และกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้นเป็นเพศชาย 12% (3/25 ราย) หากพิจารณาที่ตำแหน่งงาน พบว่ากลุ่มฉีดเข็มกระตุ้นเป็นแพทย์ 8 ราย และเป็นพยาบาล 8 ราย ซึ่งมากกว่ากลุ่มติดเชื้อ โดย 80% (20/25) ในกลุ่มติดเชื้อเป็นเจ้าหน้าที่ที่ทำงานอยู่ในตำแหน่งอื่นๆ เช่น แม่บ้าน เลขานุการ หรือนักเทคนิคการแพทย์ แต่หากพิจารณาจากโรคประจำตัว พบว่ากลุ่มติดเชื้อมีโรคประจำตัว 40% (10/25 ราย) และกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้นมีโรคประจำตัว 28% (7/25 ราย)



Interval (median, IQR, วัน)	A	B	C
Infection group	71 (68-78)	90 (88-92)	162 (160-164)
Booster group	89 (87-91)	91 (91-92)	169 (168-170)

IQR = interquartile range

แผนภูมิที่ 3 แผนภูมิอธิบายค่ามัธยฐานของระยะห่างระหว่างการวิจัยแต่ละช่วง ในกลุ่มติดเชื้อ (infection group) และกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น (booster group)

ในส่วนของคุณ้ยฐานของระยะห่างระหว่างการฉีดวัคซีนเข็มสุดท้ายหรือการติดเชื้อ กับการเจาะเลือดครั้งแรก เท่ากันในทั้งสองกลุ่ม คือ 91 (91-92) วันในกลุ่มฉีดวัคซีน และ 90 (88-92) วันในกลุ่มติดเชื้อ แสดงในแผนภูมิที่ 3 นอกจากนี้หากพิจารณา ความรุนแรงขณะที่มีการติดเชื้อในกลุ่มติดเชื้อ พบว่า 52% (13/25 ราย) มีอาการไม่รุนแรง และ 48% (12/25 ราย) มีภาวะปอดติดเชื้อ ซึ่งทุกรายที่ปอดติดเชื้อไม่ได้รับออกซิเจน หรือเสียชีวิตในการรักษา โดยตลอดการศึกษาไม่มีอาสาสมัครที่หายไปจากการศึกษา (loss to follow up) และไม่มีอาสาสมัครที่มีอาการที่สงสัยว่าติดเชื้อโคโรนา 2019 หรือตรวจพบการติดเชื้อระหว่างที่อยู่ในการศึกษา

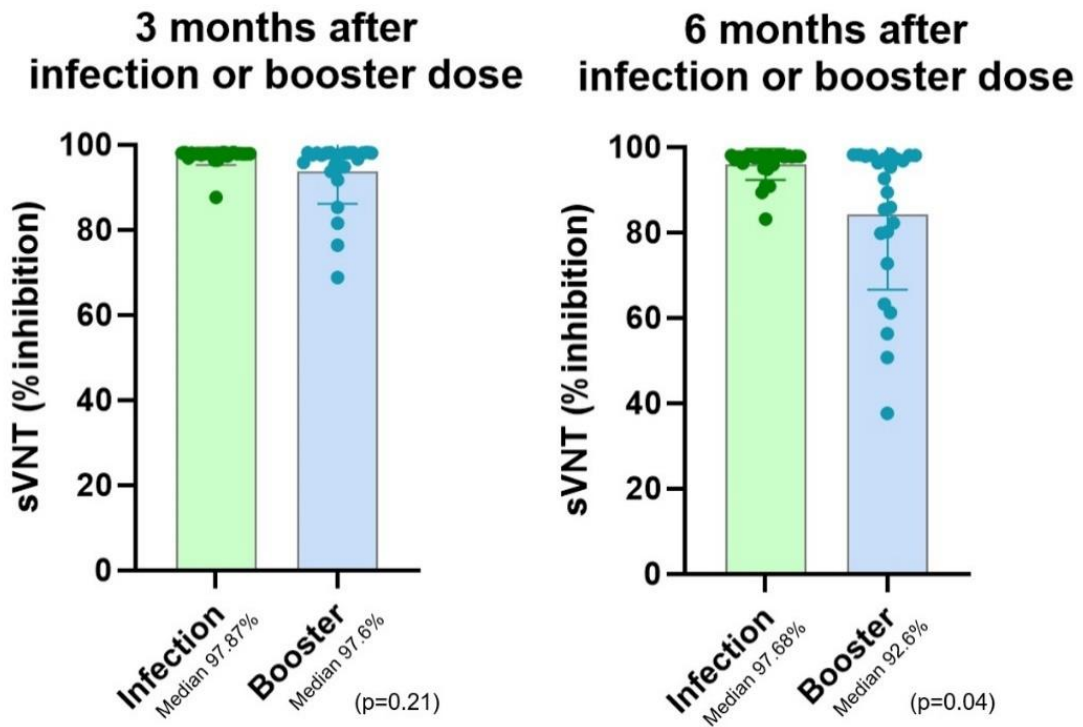
4.2 ผลเปรียบเทียบผลการศึกษา (Result and comparison)

ค่ามัธยฐานของระดับ sVNT ต่อ wild-type ที่ 3 เดือนหลังจากติดเชื้อหรือหลังจากวัคซีนเข็มสุดท้าย คือ 97.87% (IQR 97.78%-97.94%) ในกลุ่มติดเชื้อ และ 97.60% (IQR 94.6%-98%) ในกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น ($p=0.21$) ส่วนค่ามัธยฐานของระดับ sVNT ต่อ wild-type ที่ 6 เดือน คือ 97.68% (IQR 95.86%-97.92%) และ 92.6% (IQR 79.8%-97.9%) ในกลุ่มติดเชื้อและกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น ตามลำดับ ($p=0.04$) ดังแสดงในตารางที่ 3 และแผนภูมิที่ 4

ตารางที่ 3 ตารางเปรียบเทียบระดับภูมิคุ้มกันเป็น surrogate viral neutralization test ต่อเชื้อโคโรนา 2019 สายพันธุ์ wild-type และ Omicron (BA.1) ระหว่างกลุ่มติดเชื้อ (infection group) และกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น (booster group)

ผลการศึกษา		กลุ่มติดเชื้อ (N=25) (median, IQR)	กลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น (N=25) (median, IQR)	Median difference (95% CI)	P value
sVNT ต่อ wild type	3 เดือน	97.87% (97.78-97.94%)	97.60% (94.6-98%)	0.28 (-0.09,2.30)	0.21
	6 เดือน	97.68% (95.86-97.92%)	92.6% (79.8-97.9%)	2.75 (0.02,12.65)	0.04
sVNT ต่อ Omicron (BA.1)	3 เดือน	34.9% (7.7-54.1%)	21.79% (10.81-32.2%)	4.91 (-8.66,24.84)	0.53
	6 เดือน	24.7% (7.4-46.9%)			

IQR = interquartile range, CI = confidence interval

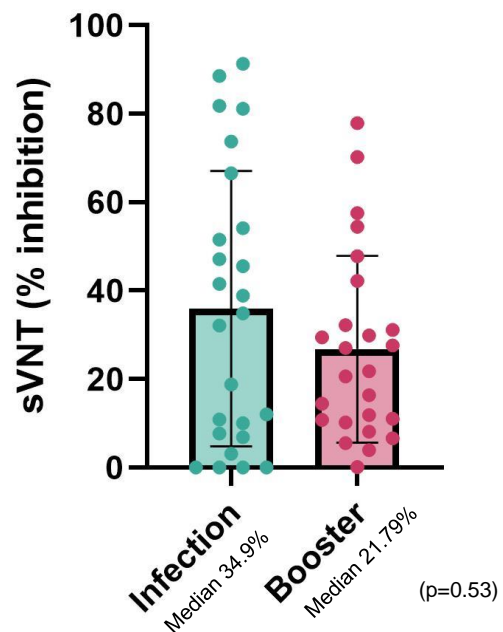


แผนภูมิที่ 4 กราฟแท่งแสดงระดับ sVNT (%) inhibition ต่อ wild-type ที่ 3 และ 6 เดือนหลังการติดเชื้อในกลุ่มติดเชื้อ และหลังการฉีดวัคซีนในกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น

ในขณะที่ค่ามัธยฐานของระดับ sVNT ต่อ omicron BA.1 มีระดับต่ำกว่าระดับ sVNT ต่อ wild-type ในทั้งสองกลุ่มโดย ระดับ sVNT ต่อ omicron BA.1 ที่ 3 เดือนหลังการติดเชื้อคือ 34.9% (IQR 7.7-54.1%) และที่ 3 เดือนหลังการฉีดวัคซีนครั้งล่าสุดคือ 21.79% (IQR 10.81%-32.2%) (p=0.53) แสดงในแผนภูมิที่ 5

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN

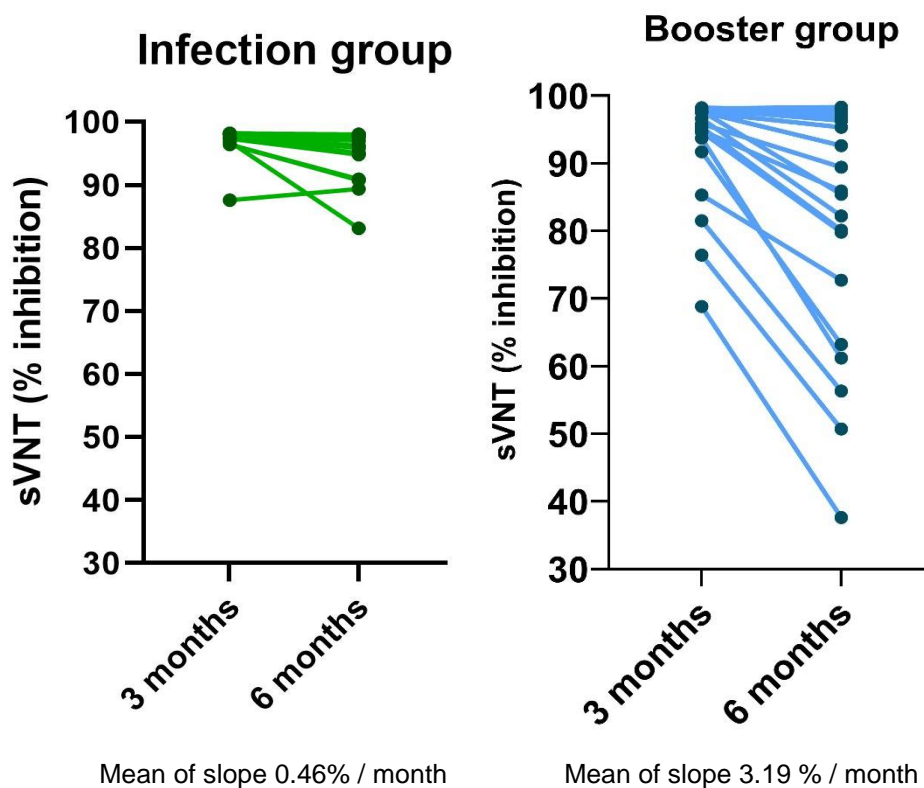
Omicron variant (BA.1)



แผนภูมิที่ 5 กราฟแท่งแสดงระดับ sVNT ต่อ Omicron variant (BA.1) ที่ 3 เดือนหลังการติดเชื้อในกลุ่มติดเชื้อ และหลังการฉีดวัคซีนในกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น

พิจารณาจาก ผลต่างมัธยฐาน (median difference) และช่วงความเชื่อมั่นที่ 95% พบว่า ผลต่างของระดับ sVNT ระหว่างสองกลุ่มต่อ wild-type ที่ 3 เดือนอยู่ที่ 0.28 (95% CI; -0.09, 2.30) ซึ่งพิสูจน์ได้ว่าไม่ต่ำกว่า แต่ผลต่างของระดับ sVNT ระหว่างสองกลุ่มต่อ wild-type ที่ 6 เดือนอยู่ที่ 2.75 (95% CI; 0.02, 12.65) โดยกลุ่มติดเชื้อมีระดับภูมิคุ้มกันที่สูงกว่ากลุ่มฉีดวัคซีนอย่างชัดเจน โดยผลต่างของทั้งสองกลุ่มมีระดับ sVNT ที่ 6 เดือนแตกต่างกันมากกว่าระดับ sVNT ที่ 3 เดือน และผลต่างของ sVNT ต่อสายพันธุ์ Omicron ที่ 3 เดือนอยู่ที่ 4.91 (95% CI; -8.66, 24.84) ซึ่งไม่พบความแตกต่างกันในสองกลุ่ม

นอกจากนั้นในการศึกษายังได้คิดอัตราการเปลี่ยนแปลง (slope) ของระดับ sVNT ต่อ wild-type ที่ 3 และ 6 เดือนในแต่ละกลุ่ม พบว่ามีอัตราการเปลี่ยนแปลงเฉลี่ยอยู่ที่ 0.46% ต่อเดือนในกลุ่มติดเชื้อ และ 3.19% ต่อเดือนในกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น การเปลี่ยนแปลงแสดงเป็นกราฟเส้นในแผนภูมิที่ 6 โดยหากคำนวณเป็นผลต่างค่าเฉลี่ยของอัตราการเปลี่ยนแปลง (mean difference of slope) พบว่าความแตกต่างอยู่ที่ -2.73 (95% CI; -4.28, -1.18) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงในกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น มีอัตราการลดลงของ sVNT ที่มากกว่ากลุ่มติดเชื้อ ระหว่าง 3 และ 6 เดือนหลังการติดเชื้อหรือการฉีดวัคซีนเข็มสุดท้าย



แผนภูมิที่ 6 กราฟเส้นแสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับ sVNT ต่อ wild-type ที่ 3 และ 6 เดือนหลังการติดเชื้อในกลุ่มติดเชื้อ และหลังการฉีดวัคซีนในกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น

นอกจากนี้ในการศึกษายังได้ดูผล anti-nucleocapsid antibodies ในอาสาสมัครทั้งหมด 50 ราย ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 4 โดยหลังจากการติดเชื้อ 3 เดือน มีอาสาสมัครในกลุ่มติดเชื้อที่มีผลบวกของ anti-nucleocapsid IgG อยู่ 88% (22/25 ราย) และหลังจากการติดเชื้อ 6 เดือนเหลืออาสาสมัครที่มีผลบวกของ anti-nucleocapsid IgG อยู่ 84% (21/25 ราย) ในขณะที่พบผลบวกของ anti-nucleocapsid IgG ในอาสาสมัครกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น แค่ 8% (2/25 ราย) ที่ 3 เดือนหลังการฉีดวัคซีน และ 4% (1/25 ราย) ที่ 6 เดือนหลังการฉีดวัคซีน

สำหรับ anti-nucleocapsid IgM พบผลบวกในระดับที่ต่ำในทุกกลุ่ม คือ 8% (2/25 ราย) ที่ 3 เดือนหลังการติดเชื้อ และ 4% (1/25 ราย) ที่ 6 เดือนหลังการติดเชื้อในกลุ่มติดเชื้อ โดยไม่พบอาสาสมัครที่มีผลบวกต่อ anti-nucleocapsid IgM เลยในกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น

ตารางที่ 4 ตารางเปรียบเทียบระดับ anti-nucleocapsid IgG และ IgM ระหว่างกลุ่มติดเชื้อ และ กลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น

	กลุ่มติดเชื้อ		กลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น	
	3 เดือน (N=25)	6 เดือน (N=25)	3 เดือน (N=25)	6 เดือน (N=25)
Anti-nucleocapsid IgG (N, %positive)	22 (88%)	21 (84%)	2 (8%)	1 (4%)
Anti-nucleocapsid IgM (N, %positive)	2 (8%)	1 (4%)	0	0

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และ ข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผล (Discussion)

จากข้อมูลพื้นฐานของทั้งสองกลุ่มพบว่าอายุเฉลี่ยของอาสาสมัครเป็นวัยกลางคน และไม่ได้อยู่ในกลุ่มเสี่ยงสูงที่จะเกิดอาการรุนแรงหากติดเชื้อโคโรนา 2019 เนื่องจากทั้งหมดเป็นบุคลากรทางการแพทย์และยังคงทำงานอยู่ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง (76%) มากกว่าเพศชาย ถึงแม้ว่าในกลุ่มติดเชื้อมีจำนวนบุคลากรที่เป็นแพทย์และพยาบาลน้อยกว่ากลุ่มฉีดเข็มกระตุ้น แต่บุคลากรทางการแพทย์ในตำแหน่งอื่นๆ เช่น แม่บ้าน ก็มีความเสี่ยงในการติดเชื้อโคโรนา 2019 จากการทำงานได้เช่นกัน สำหรับโรคประจำตัวของทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างกันไม่มาก โดยโรคประจำตัวดังกล่าวไม่ส่งผลต่อภูมิคุ้มกันของอาสาสมัคร อีกทั้งผู้วิจัยได้คัดเลือกอาสาสมัครที่อยู่ในภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องออกไปตั้งแต่ก่อนนำเข้าการศึกษา ในส่วนของระยะห่างระหว่างการฉีดวัคซีนและการติดเชื้อ กับการเจาะเลือดทั้งสองครั้ง ไม่มีความแตกต่างกันทั้งสองกลุ่ม เนื่องจากบุคลากรทางการแพทย์จะได้รับวัคซีนในระยะเวลาใกล้เคียงกัน มีการติดเชื้อช่วงระยะเวลาเดียวกันเนื่องจากเป็นช่วงที่ระบาดใหญ่ของเชื้อโคโรนา 2019 และสามารถเชิญชวนมาเจาะเลือดได้สะดวก ทำให้ลดปัจจัยกวนจากระยะห่างของการเจาะเลือดแต่ละครั้งไปได้

ผลการศึกษาพบว่าการแจกแจงข้อมูลของระดับ sVNT มีการแจกแจงแบบไม่ปกติ จึงใช้ค่ามัธยฐานมาใช้คำนวณ โดยแนวโน้มการแจกแจงสามารถดูได้จากแผนภูมิที่ 3 ซึ่งการแจกแจงเป็นแบบไม่ปกติ เป็นเพราะการตรวจวัดระดับ neutralizing antibodies มีการวัดเป็น percent signal inhibition และอาสาสมัครส่วนใหญ่มีภูมิคุ้มกันในระดับสูง ทำให้คำนวณออกมาได้ระดับค่อนข้างสูง และมีจำนวนอาสาสมัครเพียงกลุ่มละ 25 ราย นอกจากนี้ผู้วิจัยไม่ได้วัดระดับ sVNT ต่อ Omicron variant BA.1 ที่ 6 เดือน เนื่องจากระดับ sVNT ต่อ Omicron variant BA.1 ที่ 3 เดือน มีระดับต่ำมาก และงบประมาณมีจำกัด

จากผลการศึกษาพบว่าระดับ sVNT ที่ 3 เดือน ภายหลังจากติดเชื้อโคโรนา 2019 ในผู้ป่วยที่ได้รับวัคซีน CoronaVac ไม่ด้อยกว่าภูมิคุ้มกันในผู้ที่ได้รับการฉีดวัคซีน AZD1222 กระตุ้นเป็นเข็มที่ 3 หลังจากการฉีดวัคซีน CoronaVac สองเข็ม ซึ่งมีผลต่างของระดับ sVNT ที่ 3 เดือนอยู่ที่ 3.5 (95% CI, 0.30-6.69) ซึ่งพิสูจน์ได้ว่าไม่ด้อยกว่า โดยก่อนหน้านี้มีการศึกษาเกี่ยวกับการสร้างภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยที่ติดเชื้อโคโรนา 2019 หลังการได้รับวัคซีน (breakthrough infection) ซึ่งส่วนใหญ่แล้วการติดเชื้อภายหลังการฉีดวัคซีนจะเพิ่มระดับ sVNT และระดับ antibodies ได้อย่างมีนัยสำคัญ^(22, 23, 24) แต่การศึกษาเหล่านี้ ส่วนมากเป็นการศึกษาในผู้ที่ฉีดวัคซีน mRNA หรือ AZD1222 เป็นวัคซีนหลัก อย่างไรก็ตามการศึกษานี้เรามีผลการศึกษาสอดคล้องกันการศึกษาก่อนหน้า⁽¹⁷⁾ ซึ่งแสดงถึงระดับภูมิคุ้มกันที่ใกล้เคียงกันในผู้ที่ติดเชื้อภายหลังการฉีดวัคซีน CoronaVac เทียบกับผู้ที่ได้รับวัคซีน

AZD1222 เป็นเข็มที่ 3 หลังการฉีดวัคซีน CoronaVac แต่การศึกษาดังกล่าวเป็นการศึกษาภายหลัง 1 เดือนซึ่งเป็นการศึกษาระยะสั้น ในขณะที่การศึกษาของเราให้ข้อมูลมากกว่าโดยแสดงผลการศึกษาในระยะยาวที่ 3 และ 6 เดือนหลังการฉีดวัคซีน

นอกจากนี้การที่ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าที่ 3 เดือนหลังจากติดเชื้อโคโรนา 2019 ในกลุ่มติดเชื้อ มีระดับภูมิคุ้มกันที่ไม่แตกต่างกับระดับภูมิคุ้มกันที่ 3 เดือนหลังจากฉีดวัคซีน AZD1222 เป็นเข็มกระตุ้น อาจอนุมานได้ว่าสำหรับผู้ที่ได้รับวัคซีนครบแล้วและเคยติดเชื้อโคโรนา 2019 อาจเลื่อนระยะเวลาของการรับวัคซีนเข็มกระตุ้นเพิ่มเติมออกไปอย่างน้อย 3 เดือน หากการระบาดช่วงนั้นยังเป็นสายพันธุ์เดียวกับที่เคยติดเชื้อ ซึ่งต้องอาศัยการศึกษาในอนาคตเพื่อยืนยันสมมติฐานดังกล่าว และจากผลการศึกษาของเราซึ่งแสดงให้เห็นว่าระดับภูมิคุ้มกันที่ 6 เดือน ในกลุ่มติดเชื้อมีระดับ sVNT สูงกว่ากลุ่มฉีดวัคซีนกระตุ้น ซึ่งการค้นพบนี้ สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่แสดงให้เห็นว่าภูมิคุ้มกันที่เกิดภายหลังจากการติดเชื้อในผู้ที่ได้รับวัคซีนแล้วนั้น มีระดับที่สูงกว่าและทนทานกว่า ผู้ที่ได้รับวัคซีนเพียงอย่างเดียว⁽²⁵⁾ อาจเป็นเพราะภูมิคุ้มกันแบบลูกผสม (hybrid immunity) ที่เกิดจากการติดเชื้อร่วมกับการฉีดวัคซีน สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่ทนทานกว่า เนื่องจากการติดเชื้อมีการกระตุ้น memory B cell ที่เป็น T cell dependent ได้ดีกว่า รวมทั้งภูมิคุ้มกันลูกผสมกระตุ้นระดับ CD4⁺ T cell ได้ดีกว่าทำให้มีการป้องกันการติดเชื้อข้ามสายพันธุ์ได้อีกด้วย⁽²⁶⁾

จากผลการศึกษา พบว่าอัตราการเปลี่ยนแปลงของระดับ sVNT ต่อ wild-type จาก 3 ไป 6 เดือน ในกลุ่มฉีดเข็มกระตุ้นมีการเปลี่ยนแปลงของ sVNT มากกว่ากลุ่มติดเชื้อ ซึ่งแปลว่าการติดเชื้ออาจกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่คงทนกว่าการฉีดวัคซีน โดยหากคำนวณเป็นผลต่างค่าเฉลี่ยมีช่วงความเชื่อมั่นที่ 95% อยู่ที่ -4.28, -1.18 ซึ่งยืนยันว่าผลต่างของทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างกันจริง อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้ทำในผู้ที่ฉีดเข็มกระตุ้นเป็น AZD1222 ซึ่งเป็นวัคซีนชนิด viral vector มีการใช้น้อยลงในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามมีการศึกษาที่ให้ผลในแนวทางเดียวกัน⁽²⁷⁾ ทำที่ประเทศแอฟริกาใต้ในคนไข้ที่ได้รับวัคซีน AZD1222 แบ่งเป็นกลุ่มที่เคยติดเชื้อมาก่อนและกลุ่มที่ไม่เคยติดเชื้อมาก่อน พบว่าอัตราการตกลงของภูมิคุ้มกันในกลุ่มที่เคยติดเชื้อมาก่อนน้อยกว่ากลุ่มที่ไม่เคยติดเชื้อเลย

การศึกษาของเราได้ลดปัจจัยกวนที่อาจเกิดขึ้นได้จากการศึกษา โดยสามารถเชิญอาสาสมัครที่ฉีดวัคซีนระยะห่างใกล้เคียงกัน ใช้วัคซีนยี่ห้อเดียวกัน และติดเชื้อในเวลาใกล้เคียงกันได้ เนื่องจากอาสาสมัครทั้งหมดเป็นบุคลากรในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ทำให้ผู้วิจัยสามารถเข้าถึงได้สะดวก ปัจจุบันมีข้อมูลของภูมิคุ้มกันระยะยาวถึง 6 เดือน ของผู้ที่ติดเชื้อโคโรนา 2019 หลังจากได้รับวัคซีน CoronaVac ครบสองเข็ม⁽¹⁸⁾ ซึ่งให้ผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาของเรา แต่อาสาสมัครทั้งหมดในการศึกษาของเราได้รับวัคซีนชนิดเดียวกัน ฉีดวัคซีนช่วงเดียวกัน และพบการติดเชื้อโคโรนา 2019 ในช่วงใกล้กัน ซึ่งทำให้การศึกษาของเรามีปัจจัยกวนน้อยกว่า และไม่เหมือนกับการศึกษาอื่นที่มีมา

อีกทั้งการศึกษาของเรายังแสดงผลของภูมิคุ้มกันของทั้ง wild-type และ Omicron variant (BA.1) ที่เป็นเชื้อที่กลายพันธุ์ เพื่อหาระดับภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ (cross-neutralizing immunity) อีกด้วย ซึ่งพบว่าระดับ sVNT ต่อ Omicron variant (BA.1) มีระดับที่ต่ำมากในอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม ซึ่งชี้ให้เห็นว่าผู้ที่มีภูมิคุ้มกันไม่ว่าจากการติดเชื้อหรือฉีดวัคซีนมาก่อนนั้น ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสที่กลายพันธุ์ใหม่ได้ สอดคล้องกับการศึกษาที่มีมาก่อนหน้านี้^(24, 28) ที่พบว่าผู้ที่ฉีดวัคซีนครบแล้ว และผู้ที่เคยติดเชื้อโคโรนา 2019 สายพันธุ์ดั้งเดิมทั้งสายพันธุ์ Wuhan และสายพันธุ์ Delta มีระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสสายพันธุ์ Omicron ต่ำมาก จากข้อมูลดังกล่าวเราจึงควรส่งเสริมมาตรการป้องกันการติดเชื้อโคโรนา 2019 ต่อไป เช่น การใส่หน้ากาก การล้างมือ และหลีกเลี่ยงการไปอยู่ในที่แออัด เนื่องจากเชื้อไวรัสยังคงมีการกลายพันธุ์อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ในอนาคตควรมีการศึกษาเกี่ยวกับวัคซีนเพื่อป้องกันการติดเชื้อโคโรนา 2019 สายพันธุ์ใหม่ๆ และความจำเป็นในการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้นต่อไป

นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ตรวจ anti-nucleocapsid antibodies ในตัวอย่างจากอาสาสมัคร เพื่อประเมินว่าภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นเป็นภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการติดเชื้อ หรือเป็นภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจากการฉีดวัคซีน ซึ่งในกลุ่มที่ฉีดวัคซีนอาจมีการติดเชื้อที่ไม่มีอาการได้⁽²⁹⁾ ถึงแม้ว่าการตรวจ anti-nucleocapsid antibodies จะไม่สามารถแยกสองกรณีดังกล่าวได้ชัดเจน แต่จากผลการศึกษาของเราพบว่าในกลุ่มติดเชื้อมีจำนวนของผู้ที่มีระดับภูมิคุ้มกันของ anti nucleocapsid เป็นบวก สูงกว่ากลุ่มฉีดเข็มกระตุ้นอย่างชัดเจน ซึ่งแสดงให้เห็นและสนับสนุนว่าการศึกษาของเราจะมีการปะปนกันน้อยในทั้งสองกลุ่ม

5.2 สรุปผล (Conclusion)

การศึกษานี้ แสดงให้เห็นว่าระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโคโรนา 2019 สายพันธุ์ wild-type ที่ 3 เดือน ภายหลังจากติดเชื้อโคโรนา 2019 ในผู้ป่วยที่ได้รับวัคซีน CoronaVac ไม่ต่ำกว่าภูมิคุ้มกันในผู้ที่ได้รับการฉีดวัคซีน AZD1222 กระตุ้นเป็นเข็มที่ 3 หลังจากการฉีดวัคซีน CoronaVac สองเข็ม แต่ระดับภูมิคุ้มกันที่ 6 เดือนภายหลังจากการติดเชื้อโคโรนา 2019 มีระดับที่สูงกว่าภูมิคุ้มกันภายหลังจากการฉีดวัคซีน AZD1222 แต่ทั้งสองกลุ่มมีระดับภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ต่อสายพันธุ์ Omicron (BA.1) ต่ำมากและไม่มีความแตกต่างกันทั้งสองกลุ่ม

5.3 ข้อดีของการศึกษานี้ (Strength)

การศึกษานี้ทำในกลุ่มอาสาสมัครที่จำเพาะคือบุคลากรทางการแพทย์ และเป็นการศึกษาสำหรับผู้ที่เคยได้รับ CoronaVac มาก่อน ซึ่งเป็นวัคซีนชนิด inactivated ที่มีใช้ในช่วงแรกและใช้เฉพาะในแถบประเทศเอเชีย ทำให้มีการศึกษาเกี่ยวกับวัคซีนนี้น้อยกว่าวัคซีนที่ใช้ในประเทศแถบอเมริกาและยุโรป ซึ่งจากผลการศึกษา ก็ได้ยืนยันว่าประสิทธิภาพของวัคซีนดังกล่าว ถึงแม้จะถูกฉีดเข็มกระตุ้นไปแล้ว ก็ยังไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อโคโรนา 2019 ได้

นอกจากนี้วิธีการดำเนินการวิจัยของการศึกษานี้ได้ทำในกลุ่มอาสาสมัครที่มีลักษณะใกล้เคียงกัน กล่าวคือเป็นกลุ่มคนอายุน้อยและแข็งแรง ทำให้มีปัจจัยกวนน้อย และเนื่องจากภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นอาจจะมี ความแตกต่างกันหากตรวจในระยะเวลาที่แตกต่างกัน การศึกษานี้จึงเชิญชวนอาสาสมัครที่ทุกคนได้รับวัคซีนในช่วงเวลาใกล้เคียงกัน มีการติดเชื้อในช่วงเดียวกัน และเจาะเลือดในวันเดียวกัน ทำให้ระยะห่างในแต่ละช่วงของงานวิจัยไม่แตกต่างกัน เป็นการลดปัจจัยกวนที่อาจเกิดขึ้นได้

5.4 ข้อด้อยของการศึกษานี้ (Weakness)

ข้อด้อยของการศึกษานี้ ประการแรกคือในกลุ่มผู้ติดเชื้อไม่ได้รับการยืนยันสายพันธุ์ แต่อย่างไรก็ตามช่วงที่นำอาสาสมัครเข้าการศึกษาเป็นช่วงเดือน ก.ค.-ส.ค. 2564 ซึ่งเป็นช่วงที่ delta variant (B.1.617.2) ระบาดในประเทศไทย⁽³⁰⁾ และอาสาสมัครมีการติดเชื้อช่วงเดียวกัน จึงอนุมานได้ว่าอาสาสมัครทั้งหมดติดเชื้อสายพันธุ์ delta variant เดียวกัน ประการที่สองการศึกษานี้เป็นการศึกษาขนาดเล็กมีจำนวนอาสาสมัครน้อย แต่ถึงแม้มีข้อจำกัดดังกล่าวก็พบว่าระดับ neutralizing antibodies ที่ตรวจพบมีระดับที่สูงมากอย่างมีนัยสำคัญ รวมทั้งมีข้อมูลเพียงที่จะบอกระดับความแตกต่างได้ ประการที่สาม ปัจจุบันการตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 โดยเฉพาะ sVNT ไม่มีเกณฑ์กำหนดชัดเจนว่าควรมีระดับเท่าไรที่จะสามารถป้องกันการติดเชื้อได้ อย่างไรก็ตามระดับ sVNT ที่สูงบ่งชี้ว่าเลือดของผู้นั้นมีระดับแอนติบอดีที่สามารถจับกับเชื้อไวรัส และป้องกันการติดเชื้อไปที่เซลล์ได้ และสุดท้ายการศึกษานี้ทำในเฉพาะบุคลากรทางการแพทย์ที่มีสุขภาพแข็งแรง โรคประจำตัวน้อย และได้รับวัคซีน CoronaVac ซึ่งเป็นวัคซีนที่ใช้น้อยในท้องตลาด ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาในอนาคตในประชากรกลุ่มอื่นๆ โดยเฉพาะกลุ่มเสี่ยงที่จะเกิดโรครุนแรงได้ และขยายผลการศึกษาไปยังวัคซีนชนิดอื่นๆด้วย

5.5 ข้อเสนอแนะ (Suggestion)

จากการศึกษาหากมีอาสาสมัครเข้าร่วมเพิ่มขึ้น จะทำให้ข้อมูลสมบูรณ์มากขึ้น และอาจขยายผลไปใช้ในวงกว้างได้ แต่ปัจจุบันเชื้อโคโรนา 2019 ได้มีการกลายพันธุ์ตลอดเวลา ทำให้การมีภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นไม่ว่าจะจากการติดเชื้อเดิม หรือจากการฉีดวัคซีน ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้อีกต่อไป การศึกษาเกี่ยวกับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโคโรนา 2019 ในอนาคตจึงควรมุ่งเน้นเกี่ยวกับเชื้อที่กลายพันธุ์ variant ต่างๆ ทั้งใหม่และเก่าว่าสามารถมีภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ได้หรือไม่

อีกทั้งควรมีการศึกษาเกี่ยวกับวัคซีนใหม่ๆ ถึงความจำเป็นและวิธีการฉีดวัคซีน ทั้งชนิดของการฉีดเข็มกระตุ้น ระยะห่างของการฉีดเข็มกระตุ้น และการระยะห่างของการฉีดวัคซีนหลังการติดเชื้อ เพื่อเป็นแนวทางในการตัดสินใจในการฉีดวัคซีนต่อไป นอกจากนี้อาจขยายผลไปยังกลุ่มประชากรที่เป็นกลุ่มเสี่ยงสูงที่จะมีอาการรุนแรงจากการติดเชื้อ โดยรวบรวมประชากรกลุ่มดังกล่าวเข้าการศึกษาให้มากขึ้นเพื่อเป็นแนวทางในการฉีดวัคซีนต่อไป

บรรณานุกรม

1. Forni D, Cagliani R, Clerici M, Sironi M. Molecular evolution of human coronavirus genomes. *Trends in microbiology*. 2017;25(1):35-48.
2. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of medical virology*. 2020;92(4):418-23.
3. Wu A, Peng Y, Huang B, Ding X, Wang X, Niu P, et al. Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China. *Cell host & microbe*. 2020;27(3):325-8.
4. Burbelo PD, Riedo FX, Morishima C, Rawlings S, Smith D, Das S, et al. Detection of nucleocapsid antibody to SARS-CoV-2 is more sensitive than antibody to spike protein in COVID-19 patients. *MedRxiv*. 2020.
5. Putcharoen O, Wacharapluesadee S, Chia WN, Paitoonpong L, Tan CW, Suwanpimolkul G, et al. Early detection of neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 in COVID-19 patients in Thailand. *PloS one*. 2021;16(2):e0246864.
6. Zhang Y, Zeng G, Pan H, Li C, Hu Y, Chu K, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18–59 years: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial. *The Lancet infectious diseases*. 2021;21(2):181-92.
7. Vasileiou E, Simpson CR, Shi T, Kerr S, Agrawal U, Akbari A, et al. Interim findings from first-dose mass COVID-19 vaccination roll-out and COVID-19 hospital admissions in Scotland: a national prospective cohort study. *The Lancet*. 2021;397(10285):1646-57.
8. Liu X, Shaw RH, Stuart AS, Greenland M, Aley PK, Andrews NJ, et al. Safety and immunogenicity of heterologous versus homologous prime-boost schedules with an adenoviral vectored and mRNA COVID-19 vaccine (Com-COV): a single-blind, randomised, non-inferiority trial. *The Lancet*. 2021;398(10303):856-69.
9. Shaw RH, Stuart A, Greenland M, Liu X, Van-Tam JSN, Snape MD. Heterologous prime-boost COVID-19 vaccination: initial reactogenicity data. *The Lancet*. 2021;397(10289):2043-6.
10. Yalçın TY, Topçu Dİ, Doğan Ö, Aydın S, Sarı N, Erol Ç, et al. Immunogenicity after

two doses of inactivated virus vaccine in healthcare workers with and without previous COVID-19 infection: Prospective observational study. *Journal of medical virology*. 2022;94(1):279-86.

11. Eyre DW, Lumley SF, Wei J, Cox S, James T, Justice A, et al. Quantitative SARS-CoV-2 anti-spike responses to Pfizer–BioNTech and Oxford–AstraZeneca vaccines by previous infection status. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021;27(10):1516. e7-. e14.

12. L'Huillier AG, Meyer B, Andrey DO, Arm-Vernez I, Baggio S, Didierlaurent A, et al. Antibody persistence in the first 6 months following SARS-CoV-2 infection among hospital workers: a prospective longitudinal study. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021;27(5):784. e1-. e8.

13. Krammer F, Srivastava K, Alshammary H, Amoako AA, Awawda MH, Beach KF, et al. Antibody responses in seropositive persons after a single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine. *New England Journal of Medicine*. 2021;384(14):1372-4.

14. Bradley T, Grundberg E, Selvarangan R, LeMaster C, Fraley E, Banerjee D, et al. Antibody responses after a single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine. *New England Journal of Medicine*. 2021;384(20):1959-61.

15. Chia WN, Zhu F, Ong SWX, Young BE, Fong S-W, Le Bert N, et al. Dynamics of SARS-CoV-2 neutralising antibody responses and duration of immunity: a longitudinal study. *The Lancet Microbe*. 2021;2(6):e240-e9.

16. Jantarabenjakul W, Sodsai P, Chantasrisawad N, Jitsatja A, Ninwattana S, Thippamom N, et al. Dynamics of Neutralizing Antibody and T-Cell Responses to SARS-CoV-2 and Variants of Concern after Primary Immunization with CoronaVac and Booster with BNT162b2 or ChAdOx1 in Health Care Workers. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(5).

17. Suntronwong N, Yorsaeng R, Puenpa J, Auphimai C, Thongmee T, Vichaiwattana P, et al. COVID-19 breakthrough infection after inactivated vaccine induced robust antibody responses and cross-neutralization of SARS-CoV-2 variants, but less immunity against Omicron. *Vaccines*. 2022;10(3):391.

18. Zhu K-L, Jiang X-L, Zhan B-D, Wang X-J, Xia X, Cao G-P, et al. Durability of neutralization against Omicron subvariants after vaccination and breakthrough infection. *Cell reports*. 2023;42(2).

19. Taylor SC, Hurst B, Charlton CL, Bailey A, Kanji JN, McCarthy MK, et al. A new SARS-CoV-2 dual-purpose serology test: highly accurate infection tracing and neutralizing antibody response detection. *Journal of clinical microbiology*. 2021;59(4):e02438-20.
20. De Santis GC, Mendrone A, Langhi Jr D, Covas DT, Fabron Jr A, Cortez AJP, et al. Suggested guidelines for convalescent plasma therapy for the treatment of COVID-19. *Hematology, transfusion and cell therapy*. 2021;43:212-3.
21. Perera RA, Ko R, Tsang OT, Hui DS, Kwan MY, Brackman CJ, et al. Evaluation of a SARS-CoV-2 surrogate virus neutralization test for detection of antibody in human, canine, cat, and hamster sera. *Journal of clinical microbiology*. 2021;59(2):e02504-20.
22. Zhu KL, Gao HX, Yao L, Rong J, Yang L, Zhang Z, et al. Delta Infection After Vaccination Elicits Potent Neutralizing Immunity Against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Omicron. *J Infect Dis*. 2022;226(9):1551-5.
23. Rössler A, Riepler L, Bante D, von Laer D, Kimpel J. SARS-CoV-2 Omicron variant neutralization in serum from vaccinated and convalescent persons. *New England Journal of Medicine*. 2022;386(7):698-700.
24. Servellita V, Syed AM, Morris MK, Brazer N, Saldhi P, Garcia-Knight M, et al. Neutralizing immunity in vaccine breakthrough infections from the SARS-CoV-2 Omicron and Delta variants. *Cell*. 2022;185(9):1539-48. e5.
25. Epsi NJ, Richard SA, Lindholm DA, Mende K, Ganesan A, Huprikar N, et al. Understanding "Hybrid Immunity": Comparison and Predictors of Humoral Immune Responses to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection (SARS-CoV-2) and Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Vaccines. *Clin Infect Dis*. 2023;76(3):e439-e49.
26. Crotty S. Hybrid immunity. *Science*. 2021;372(6549):1392-3.
27. Madhi SA, Kwatra G, Richardson SI, Koen AL, Baillie V, Cutland CL, et al. Durability of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine and hybrid humoral immunity against variants including omicron BA.1 and BA.4 6 months after vaccination (COV005): a post-hoc analysis of a randomised, phase 1b-2a trial. *Lancet Infect Dis*. 2023;23(3):295-306.
28. Duan L-J, Jiang W-G, Wang Z-Y, Yao L, Zhu K-L, Meng Q-C, et al. Neutralizing immunity against SARS-CoV-2 Omicron BA. 1 by infection and vaccination. *Iscience*.

2022;25(9):104886.

29. Demmer RT, Baumgartner B, Wiggen TD, Ulrich AK, Strickland AJ, Naumchik BM, et al., editors. Identification of natural SARS-CoV-2 infection in seroprevalence studies among vaccinated populations. *Mayo Clinic Proceedings*; 2022: Elsevier.

30. WHO. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) WHO Thailand Situation Report 194 - 29 July 2021 2021 [Available from: <https://reliefweb.int/report/thailand/coronavirus-disease-2019-covid-19-who-thailand-situation-report-194-29-july-2021>].





จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาว วราลี เด็บศิริ
วัน เดือน ปี เกิด	19 สิงหาคม พ.ศ. 2535
สถานที่เกิด	จังหวัด กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2560 แพทยศาสตรบัณฑิต พ.ศ. 2564 วุฒิบัตรผู้มีความรู้ความชำนาญประกอบวิชาชีพเวชกรรม สาขาอายุรศาสตร์
ที่อยู่ปัจจุบัน	27 ซ. โชติวัฒน์ 6 ถ.ประชาชื่น บางซื่อ กรุงเทพฯ 10800



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY