การศึกษาระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยโควิด-๑๙ ที่ยืนยันการติดเชื้อด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส แยกตามความรุนแรงของโรค

นายฐาปกรณ์ ศิระวัฒนชัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาอายุรศาสตร์ ภาควิชาอายุรศาสตร์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2564
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Detection of Neutralizing Antibody Against SARS-CoV-2 in RT-PCR Confirmed COVID-19 Patient with Diverse Disease Severity

Mr. Thapakorn Sirawattanachai

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

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 2021

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยโควิด-๑๙ ที่ยืนยันการติดเชื้อด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส แยกตามความรุนแรงของโรค
โดย	นายฐาปกรณ์ ศิระวัฒนชัย
สาขาวิชา	อายุรศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์โอภาส พุทธเจริญ

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

---------- คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ฉันชาย สิทธิพันธุ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

---------- ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. แพทย์หญิงรัชต์ธร ปัญจประทีป)

---------- อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์โอภาส พุทธเจริญ)

---------- กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ปิยะพันธ์ พฤกษพานิช)

---------- กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์รุจิภาส สิริจตุภัทร)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ฐาปกรณ์ ศิระวัฒนชัย : การศึกษาระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยโควิด-๑๙ ที่ยืนยันการติดเชื้อด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส แยกตามความรุนแรงของโรค. (Detection of Neutralizing Antibody Against SARS-CoV-2 in RT-PCR Confirmed COVID-19 Patient with Diverse Disease Severity) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. นพ.โอภาส พุทธเจริญ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ด้วยวิธี sVNT ในผู้ป่วยโควิด-19 ที่กลุ่มอายุและความรุนแรงของโรคแตกต่างกัน

วิธีการวิจัย ตัวอย่างเลือดผู้ป่วยโรคโควิด-19 ที่ยืนยันการวินิจฉัยด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส หลังจากป่วยที่ 1, 3, 6 และ 12 เดือนตามลำดับ นำมาทดสอบหาค่าปฏิกิริยาลบล้างฤทธิ์ด้วยวิธี sVNT และนำไปทดสอบหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์กับค่าปฏิกิริยาลบล้างฤทธิ์ด้วยวิธี cVNT

ผลการศึกษา ระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์หลังจากผู้ป่วยติดเชื้อมีค่าลดลงเมื่อเวลาผ่านไป แต่ยังพบผลบวก (มีระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์มากกว่า 30%) ได้หลังจากติดเชื้อนานกว่า 12 เดือน โดยกลุ่มผู้ป่วยอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 50 ปี มีระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์สูงกว่าผู้ป่วยที่อายุน้อยกว่า 50 ปี แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ผู้ป่วยที่มีระดับความรุนแรงของโรคปานกลาง และรุนแรง/วิกฤติ มีระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่ 1 เดือน 3 เดือน และ 6 เดือน สูงกว่าผู้ป่วยที่มีระดับความรุนแรงโรคน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และได้นำตัวอย่างที่ตรวจระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ด้วยวิธี sVNT มาตรวจซ้ำด้วยวิธี cVNTพบว่า มีความสัมพันธ์กันในระดับสูง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ที่ 0.835

สรุป ระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่ตรวจด้วยวิธี sVNT สามารถตรวจพบได้หลังจากป่วยมาแล้วกว่า 1 ปี กลุ่มผู้ป่วยที่มีระดับความรุนแรงโรคปานกลาง และรุนแรง/วิกฤติ มีแนวโน้มจะมีระดับระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์สูงกว่าผู้ป่วยความรุนแรงของโรคน้อย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สาขาวิชา อายุรศาสตร์ ลายมือชื่อนิสิต .....

ปีการศึกษา 2564 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....

6370079030 : MAJOR MEDICINE

KEYWORD: SARS-CoV-2 Neutralizing antibody COVID-19 Immunology

Thapakorn Sirawattanachai : Detection of Neutralizing Antibody Against SARS-CoV-2 in RT-PCR Confirmed COVID-19 Patient with Diverse Disease Severity. Advisor: Asst. Prof. OPASS PUTCHAROEN, M.D.

Objective: This study aimed to measure neutralizing antibodies using sVNT in patients with PCR-confirmed COVID-19 infection and diverse disease severity.

Methods: Blood specimens from patients with PCR-confirmed COVID-19 at 1, 3, 6 and 12 months after recovery were tested for NAbs against SARS-CoV-2 using sVNT. The correlation between the NAbs (level of inhibition by sVNT) and disease severity were determined.

Results: In the patient with mild, moderate, and severe/critical disease, neutralizing antibody measured by sVNT decreased over time, but were still positive (higher than 30%) at 12-months after recovery, in all severity groups. Older patients (age ≥ 50 years) developed a higher percentage of inhibition after infection but not meet statistically significant. Patients with moderate and severe diseases developed a significantly higher percentage of inhibition at 1-month, 3-months, and 6-months after infection. A panel of COVID-19 sera first determined by sVNT were chosen for a comparative and correlation study between sVNT and cVNT an both assays demonstrated an excellent correlation.

Conclusion: Antibody response measured by sVNT can determine the protective immune response from SARS-CoV-2 infection and can be positive for more than 1 year according to our study. Patients with moderate to severe disease tend to develop a higher percentage of neutralizing antibody than the patients with mild COVID-19 infection.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Field of Study:	Medicine	Student's Signature .....
Academic Year:	2021	Advisor's Signature .....

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงได้เนื่องจากความเมตตากรุณาและความช่วยเหลือเป็นอย่างดีจาก ผศ. นพ. โอภาส พุทธเจริญ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ได้เสียสละเวลาในการให้คำปรึกษาอย่าดีเสมอมา ซึ่งผู้วิจัยกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้ ขอบพระคุณพยาบาลและเจ้าหน้าที่ศูนย์โรคอุบัติใหม่ด้านคลินิก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บข้อมูลเก็บตัวอย่างเลือดและขอบพระคุณผู้ป่วยและผู้ดูแลทุกท่านที่เสียสละเวลาอันมีค่าในการเข้าร่วมโครงการครั้งนี้ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของทุกท่านที่กล่าวมา ตลอดจนผู้ที่ไม่ได้กล่าวนามในที่นี้ ซึ่งมีส่วนให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี สุดท้ายนี้ กราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจตลอดมา

ฐาปกรณ์ ศิระวัฒนชัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญ

หน้า

.....ค

บทคัดย่อภาษาไทย.....ค

.....ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....ง

กิตติกรรมประกาศ.....จ

สารบัญ.....ฉ

บทที่ 1.....1

บทนำ.....1

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย.....1

คำถามของการวิจัย.....2

วัตถุประสงค์งานวิจัย.....3

สมมติฐาน.....3

ข้อตกลงเบื้องต้น.....4

กรอบความคิดแนววิจัย.....4

การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย.....5

ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย.....9

อุปสรรค์ที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรฐานการแก้ไข.....9

บทที่ 2.....10

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....10

บทที่ 3.....16

วิธีดำเนินการวิจัย.....16

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รูปแบบการวิจัย....16
ระเบียบการวิจัย....16
ขนาดตัวอย่าง....17
ขั้นตอนการทำวิจัย....18
การรวบรวมข้อมูล....20
ข้อจำกัดในการวิจัย....20
การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย....21
การคิดวิเคราะห์ข้อมูล....21
บทที่ 4....22
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล....22
ประชากรที่นำมาศึกษา....22
ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย (ตารางที่ 2)....22
บทที่ 5....38
อภิปรายผล สรุปงานวิจัย และข้อเสนอแนะ....38
อภิปรายผล....38
สรุปผลการวิจัย....41
ข้อดีของการศึกษานี้....41
ข้อด้อยของการศึกษานี้....42
ข้อเสนอแนะ....42
บรรณานุกรม....43
ประวัติผู้เขียน....50

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ในปัจจุบันโรคติดเชื้อโควิด-19 เป็นปัญหาที่สำคัญที่ทำให้เกิดการติดเชื้อทั่วโลก ข้อมูล ณ วันที่ 15 ธ.ค. 2563 มีจำนวนผู้ติดเชื้อทั่วโลกกว่า 70 ล้านคน โดยการติดเชื้อกระจายเป็นวงกว้างและมีการแพร่กระจายอย่างต่อเนื่อง มีผลกระทบต่อระบบสุขภาพ สาธารณสุข และทางเศรษฐกิจอย่างรุนแรงแบบที่ไม่เคยเกิดมาก่อน นอกจากนี้เชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคโควิด-19 หรือเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 เป็นไวรัสตัวใหม่ที่ทำให้เกิดการระบาดใหญ่ในครั้งนี้ยังมีข้อมูลเกี่ยวกับคุณสมบัติของไวรัส การตอบสนองต่อการติดเชื้อของมนุษย์และมีการศึกษาและข้อมูลอย่างจำกัด จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการที่จะทำการศึกษาวิจัย เพื่อหาวิธีการวินิจฉัย การรักษาและการป้องกันโรคโควิด-19

วิธีที่เป็นวิธีมาตรฐานในการวินิจฉัยโรคโควิด-19 คือการตรวจหาหลักฐานว่ามีเชื้อ SARS-CoV-2 จากระบบทางเดินหายใจคือการตรวจโดยวิธี Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) ซึ่งเป็นวิธีที่ต้องใช้เครื่องมือที่ซับซ้อนไม่ได้มีทั่วไป นอกจากนี้การตรวจโดยวิธีนี้อาจจะมีความไวลดลงในผู้ที่มีอาการมานานมากกว่า 1 สัปดาห์หรือในระยะท้ายของการติดเชื้อ การตรวจอื่น ๆ ที่สามารถใช้ในการตรวจวินิจฉัยได้แก่การตรวจหาแอนติบอดีซึ่งเป็นการสร้างภูมิที่จำเพาะของการติดเชื้อที่เกิดขึ้นจากการตอบสนองของร่างกาย โดยทั่วไปการตรวจระดับแอนติบอดีมักจะเริ่มตรวจพบหลังวันที่ 7 ที่เริ่มมีอาการโดยที่จะตรวจพบแอนติบอดีชนิด IgM ขึ้นก่อน ตามมาด้วย IgG ตามลำดับ นอกจากการตรวจแอนติบอดีดังกล่าวแล้วยังมีการตรวจแอนดีบอดีอีกประเภทหนึ่งที่เรียกว่า neutralizing antibody(NT) ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อการติดเชื้อและสามารถป้องกันการติดเชื้อโดยแอนติบอดีชนิดนี้สามารถจับกับโปรตีนส่วนด้านนอกของไวรัส เพื่อป้องกันไม่ให้ไวรัสจับกับโปรตีนบนเซลล์ของมนุษย์ การตรวจหา neutralizing antibody จึงมีประโยชน์ในการวินิจฉัยที่ใช้ในการติดตามระดับภูมิคุ้มกันของร่างกายที่จะป้องกันการติดเชื้อซ้ำ ทำให้ช่วยพิจารณาว่าผู้ใดปลอดภัยจากการแพร่กระจายเชื้อเช่นการออก immunity passport นอกจากนี้การตรวจ neutralizing antibody ยังมีประโยชน์ในการใช้ติดตามหลังการศึกษาผู้ที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคโควิด-19 การตรวจหา neutralizing antibody

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ด้วยวิธีดั้งเดิม หรือ conventional virus neutralization test (cVNT) เป็นวิธีที่ยุ่งยากเนื่องจากต้องมีการเพาะเชื้อไวรัสที่มีชีวิต ต้องทำในห้องปฏิบัติการชีวนิรภัยระดับสูงและใช้บุคคลากรที่เชี่ยวชาญพิเศษ จึงทำให้มีการพัฒนาวิธีการตรวจแบบใหม่ที่ใช้หลักการ Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) แบบใหม่ที่เรียกว่า surrogate neutralization test (sVNT) ทำให้การตรวจทำได้ง่ายมากขึ้นและมีการศึกษาที่ทดสอบความไว ความจำเพาะเทียบเท่าวิธีที่เป็นมาตรฐานแบบเดิม[1, 2]

นอกจากนี้การวัดระดับ neutralizing antibody ในคนไข้โควิด-19 ที่มีความรุนแรงของโรคที่แตกต่างกัน ร่วมกับการวัดระดับการตอบสนองของภูมิคุ้มกันอื่น ๆ ของร่างกายที่บ่งชี้ว่ามีการอักเสบ (cytokine panel) จึงมีความจำเป็นในการเข้าใจพยาธิสภาพของโรคโควิด-19 และมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ควรมีการศึกษาในประชากรไทยที่อาจมีการตอบสนองต่อการติดเชื้อและมีการติดเชื้อของไวรัสที่แตกต่างจากประชากรเชื้อชาติอื่น การรู้ neutralizing antibody แบบรวดเร็ว แม่นยำ และทำได้ง่าย จะช่วยให้การเปิดธุรกิจต่าง ๆ ที่ได้รับผลกระทบจากมาตรการการปิดสถานบริการต่าง ๆ และช่วยการดำเนินงานต่างที่ขับเคลื่อนเศรษฐกิจของประเทศเป็นไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

คำถามของการวิจัย

คำถามหลัก

ผู้ป่วยโควิด-19 ที่มีความรุนแรงที่แตกต่างกัน จะมีระดับการตอบสนองของ surrogate virus neutralization test แตกต่างกันหรือไม่

คำถามรอง

1. ผู้ป่วยโควิด-19 กลุ่มอายุที่แตกต่างกัน จะมีระดับการตอบสนองของ surrogate virus neutralization test แตกต่างกันหรือไม่
2. ระดับ surrogate virus neutralization test เปลี่ยนแปลงอย่างไรหลังเริ่มมีอาการป่วยที่ 1, 3, 6, และ 12 เดือน

3. ประสิทธิภาพของ surrogate virus neutralization test ในการวินิจฉัยโรคโควิด-19 และสัมพันธ์กับระดับ conventional virus neutralization test หรือไม่

วัตถุประสงค์งานวิจัย

วัตถุประสงค์หลัก

เพื่อศึกษาว่าระดับ surrogate virus neutralization test ต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ในผู้ป่วยโควิด-19 ที่ยืนยันการติดเชื้อด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ที่มีความรุนแรงของโรคแตกต่างกัน มีระดับแตกต่างกันอย่างไร

วัตถุประสงค์รอง

1. เพื่อศึกษาว่าระดับ surrogate virus neutralization test ต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ในผู้ป่วยโควิด-19 ที่ยืนยันการติดเชื้อด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ที่กลุ่มอายุแตกต่างกัน มีระดับแตกต่างกันอย่างไร
2. เพื่อศึกษาการตอบสนองของระดับ neutralizing antibody ต่อเชื้อ SARS-CoV-2 หลังจากป่วยที่ 1, 3, 6, และ 12 เดือน
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของ surrogate virus neutralization test และเปรียบเทียบความสัมพันธ์กับ conventional virus neutralization test

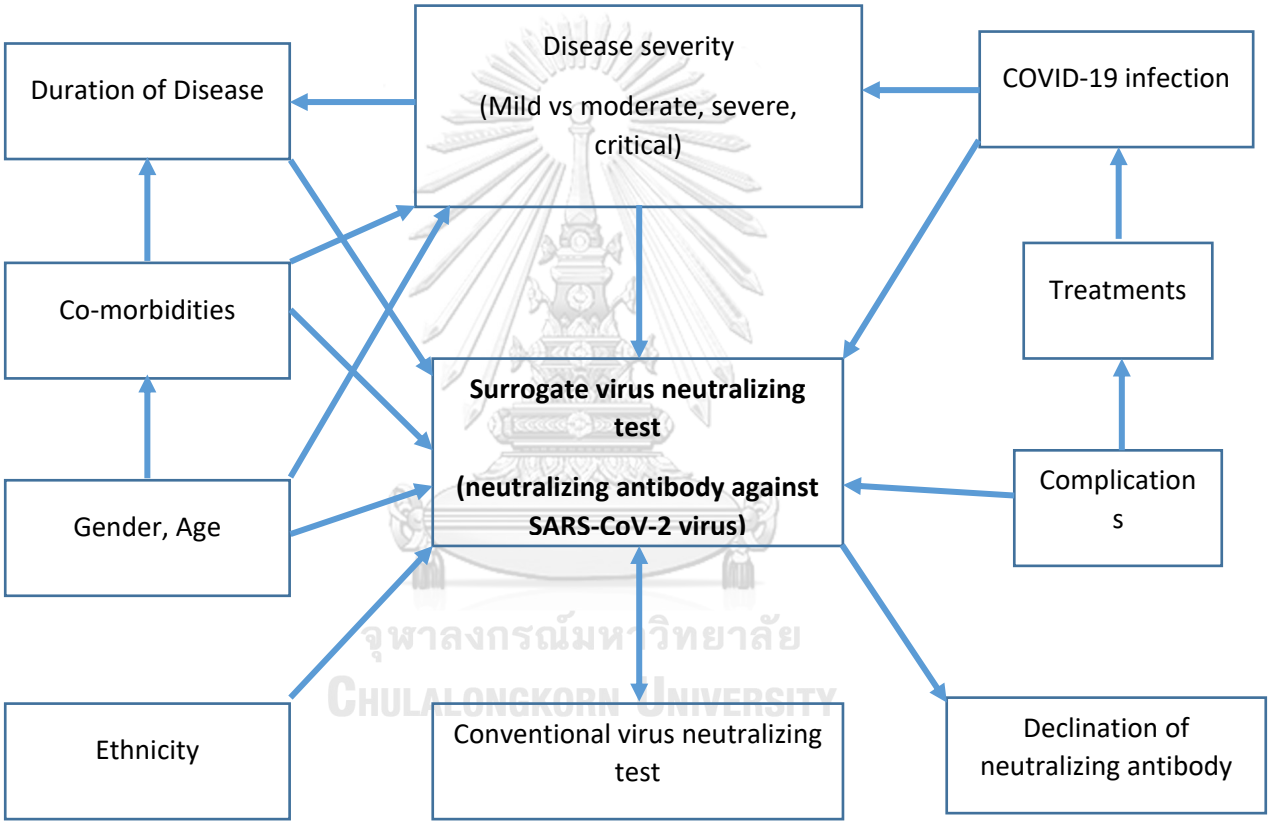
สมมติฐาน

1. ผู้ป่วยกลุ่มที่มีความรุนแรงของโรคน้อยจะมีการลดลงของ surrogate virus neutralization test มากกว่ากลุ่มที่มีความรุนแรงของโรคมาก
2. ผู้ป่วยกลุ่มที่มีอายุมากจะมีการลดลงของ surrogate virus neutralization test มากกว่ากลุ่มที่มีอายุน้อย
3. surrogate virus neutralization test มีประสิทธิภาพในการวินิจฉัยโรคโควิด-19 และสัมพันธ์กับระดับ conventional virus neutralization test

ข้อตกลงเบื้องต้น

ผลตรวจ RT-PCR for SARS CoV-2 ที่ให้ผลบวก ถือว่าเป็นโรคโควิด-19

กรอบความคิดแนววิจัย



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

การให้คำนิยามเชิงปฏิบัติที่จะใช้ในการวิจัย

1. ความรุนแรงของโรคติดเชื้อโควิด-19

ในเดือนพฤษภาคม 2563 องค์การอนามัยโลกได้ออกแนวทางปฏิบัติการดูแลรักษาผู้ป่วยโควิด-19 โดยกำหนดความรุนแรงของโรคไว้ดังนี้[3]

ความรุนแรงของโรค		**ลักษณะอาการตามความรุนแรง**
อาการน้อย Mild		ผู้ป่วยที่มีอาการเข้าได้กับโรคโควิด-19 ที่ไม่มีอาการของปอดอักเสบหรือภาวะออกซิเจนต่ำ
อาการปานกลาง Moderate	ปอดอักเสบ	อาการเข้าได้กับปอดอักเสบ (ไข้,ไอ, หอบเหนื่อย, หายใจเร็ว) โดยไม่มีภาวะปอดอักเสบรุนแรง และวัด SpO2 ได้มากกว่า 90%ที่อากาศธรรมดา (room air) การวินิจฉัยด้วยอาการแสดงเป็นหลัก อาจพิจารณาส่งตรวจเอ็กซเรย์ปอด, เอ็กซเรย์คอมพิวเตอร์, อัลตราซาวน์ เพื่อช่วยในการวินิจฉัย และ/หรือแยกภาวะแทรกซ้อนทางระบบทางเดินหายใจ
อาการรุนแรง Severe	ปอดอักเสบรุนแรง	อาการเข้าได้กับปอดอักเสบ (ไข้,ไอ, หอบเหนื่อย, หายใจเร็ว) ร่วมกับพบความผิดปกติอย่างน้อย 1 ข้อได้แก่ - หายใจ > 30 ครั้งต่อนาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

		- ภาวะกลุ่มอาการหายใจลำบากรุนแรง (severe respiratory distress) - ระดับ SpO2 ต่ำกว่า 90% ที่อากาศธรรมดา การวินิจฉัยด้วยอาการแสดงเป็นหลัก อาจพิจารณาส่งตรวจเอ็กซเรย์ปอด, เอ็กซเรย์คอมพิวเตอร์, อัลตราซาวน์ เพื่อช่วยในการวินิจฉัย และ/หรือแยกภาวะแทรกซ้อนทางระบบทางเดินหายใจ
อาการวิกฤติ Critical	กลุ่มอาการหายใจลำบากเฉียบพลัน Acute respiratory distress syndrome (ARDS)	**เริ่มมีอาการ: เ**กิดหลังจากปอดอักเสบภายใน 1 สัปดาห์ หรือมีการ เปลี่ยนแปลงของอาการทางปอดที่แย่ลง **การตรวจทางรังสี:** (เอ็กซเรย์ปอด, เอ็กซเรย์คอมพิวเตอร์, อัลตราซาวน์) พบความผิดปกติแบบ bilateral opacities ที่ไม่ได้เกิดจากภาวะน้ำเกิน หรือความผิดปกติแบบlobar หรือ lung collapse หรือ nodules. **ค้นหาสาเหตุของความผิดปกติจากการตรวจทางรังสี:** ระบบทางเดินหายใจล้มเหลวที่ไม่ได้มีสาเหตุมาจากหัวใจวายหรือมีภาวะน้ำเกิน โดยพิจารณาตรวจเพิ่มเติมเพื่อยืนยัน/สนับสนุน เช่น การตรวจ echocardiogram **ระดับความผิดปกติของกระบวนการออกซิจิเนชั่น**

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

		1. Mild ARDS: 200 mmHg < PaO2/FiO2**a** ≤ 300 mmHg (with PEEP or CPAP ≥ 5 cmH2O) 2. Moderate ARDS: 100 mmHg < PaO2/FiO2 ≤ 200 mmHg (with PEEP ≥ 5 cmH2O) 3. Severe ARDS: PaO2/FiO2 ≤ 100 mmHg (with PEEP ≥ 5 cmH2O)
	ภาวะติดเชื้อ Sepsis	คือภาวะที่อวัยวะล้มเหลวเฉียบพลันที่รุนแรงถึงแก่ชีวิตอันเกิดจากปฏิกิริยาของภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อเชื้อโรค อาการที่บ่งบอกถึงภาวะอวัยวะล้มเหลวเฉียบพลันได้แก่ ระดับความรู้สึกเปลี่ยนแปลง หายใจเร็วหรือหายใจลำบาก ความเข้มข้นออกซิเจนในเลือดลดต่ำลง ปัสสาวะออกลดลง ชีพจรเร็ว ชีพจรเบา ปลายมือปลายเท้าเย็น ความดันตก ผิวหนังเกิดการเปลี่ยนสี(skin mottling) ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการพบการแข็งตัวของเลือดผิดปกติ เกร็ดเลือดต่ำ เลือดเป็นกรด ระดับlactateในเลือดสูงขึ้น หรือมีภาวะเหลือง (hyperbilirubinemia)
	ภาวะช็อกจากการติดเชื้อ Septic shock	ภาวะความดันต่ำที่ไม่สามารถแก้ไขได้โดยการให้สารน้ำ ต้องใช้ยากระตุ้น(vasopressor)เพื่อให้ระดับ MAP ≥ 65 mmHg และมี serum lactate มากกว่า 2 mmol/L.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2. PCR-confirmed COVID-19

ผู้ป่วยที่มาตรวจที่ศูนย์โรคอุบัติใหม่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์จะได้รับการเก็บสิ่งส่งตรวจจากโพรงจมูกและคอ (nasopharyngeal and throat swab) จากนั้นนำสิ่งส่งตรวจไปสกัดสารพันธุกรรมด้วย magLEAD kit หรือ cobas® 6800 system (Roche Diagnostics, Switzerland) และนำสารพันธุกรรมไปเพิ่มจำนวน จากนั้นทำการตรวจหายีน open reading frame1ab (ORF1ab) และยีน E โดยมีค่าต่ำสุดที่จะตรวจจับได้ (limit of detection) ที่ 100 copies/mL และ cycle threshold (Ct) ที่ 38 สิ่งส่งตรวจที่ให้ผลบวกจะถูกตรวจหายีน RdRp และยีน E ซ้ำเพื่อยืนยันผลบวกตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก

3. Neutralizing antibody

Neutralizing antibody คือ แอนติบอดีที่ไปจับกับ envelop spike ของไวรัส แล้วสามารถยับยั้งไวรัสนั้น ๆ ไม่ให้เข้าไปติดเชื้อในเซลล์มนุษย์ได้ เป็นแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อเชื้อไวรัสนั้น ๆ มีประโยชน์ช่วยในการวินิจฉัย และทำนายการป้องกันการติดเชื้อไวรัสนั้น ๆ ได้[1] การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวัดระดับ neutralizing antibody จะรายงานผลเป็น % inhibition การตรวจวัดระดับ neutralizing antibody มีหลายวิธีได้แก่

Conventional virus neutralization test (cVNT) เป็นการวัดระดับ neutralizing antibody จากเลือดของผู้ป่วย โดยทดสอบการยับยั้งเชื้อไวรัสโดยตรง จึงต้องทำในห้องปฏิบัติการระบบความปลอดภัยทางชีวภาพระดับ 3 (BSL3) ใช้เวลาในการทดสอบ 2-4 วัน[1]

Pseudovirus-based virus neutralization test (pVNT) จะใช้ส่วนประกอบของไวรัสในการทดสอบทางห้องปฏิบัติการแทนการใช้ไวรัสจริง มีความปลอดภัย ทำในห้องปฏิบัติการระบบความปลอดภัยทางชีวภาพระดับ 2 (BSL2) อย่างไรก็ตาม กระบวนการทดสอบใช้เวลาในการทดสอบ 2-4 วัน[4, 5]

Surrogate virus neutralization test (sVNT) เป็นการตรวจทางห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)โดยใช้

purified receptor-binding domain (RBD) ของไวรัสและ ACE2 receptor ของเซลล์มนุษย์ในจานทดลอง เลียนแบบการเข้าเซลล์ของไวรัส SARS-CoV-2 ผ่านทาง ACE2 ของเซลล์มนุษย์ แล้วหยดสิ่งส่งตรวจที่สงสัยว่าจะมี neutralizing antibody ไปเพื่อยับยั้งปฏิกิริยาของ RBD – ACE2 ดังกล่าว ด้วยหลักการเดียวกับ cVNT และ pVNT การตรวจนี้ใช้เวลาเพียง 1-2 ชั่วโมงและทำในห้องปฏิบัติการระบบความปลอดภัยทางชีวภาพระดับ 2 (BSL2) โดยไม่ต้องใช้ไวรัสจริงหรือส่วนประกอบของไวรัส [1, 2]

ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1. นำองค์ความรู้ที่ได้รับเพื่อวินิจฉัยแยกโรค และเพื่อติดตามภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยได้
2. นำองค์ความรู้ที่ได้รับเพื่อคาดการณ์และแยกกลุ่มผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ SARS-CoV-2 เมื่อมีการระบาดกระลอกถัดไป

อุปสรรค์ที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรฐานการแก้ไข

อุปสรรค์ในการดำเนินงานของโครงการ	**แนวทางการลดความเสี่ยง**
1. ผู้ป่วยไม่มา follow-up ทำให้ขาดตัวอย่างและข้อมูลบางช่วงเวลา	1. ประสานโทรนัดผู้ป่วยก่อนถึงวันนัดหมายเพื่ออำนวยความสะดวกในการนัดหมายหากไม่สามารถมาตามนัดครั้งแรกได้
2. ผู้ป่วยไม่ยินดีเข้าร่วมโครงการ	2. ชี้แจงวัตถุประสงค์ และความเสี่ยงให้ผู้ป่วยเข้าใจ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ไวรัสโคโรนา หรือ Coronaviruses (CoVs) เป็นไวรัสที่ก่อโรคในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและสัตว์ปีก ก่อให้เกิดอาการและอาการแสดงต่าง ๆ มากมาย โดยพบการระบาดที่รุนแรงในปี ค.ศ. 2002-2003 ในประเทศจีน[6] ซึ่งต่อมากลายเป็นโรคระบาดที่มีผลกระทบทั่วโลก มีชื่อว่า severe acute respiratory syndrome หรือ SARS โดยพบหลักฐานว่ามนุษย์ได้รับเชื้อมาจากค้างคาว และมี intermediate host ได้แก่ raccoon dog และ palm civet[7] การระบาดของ SARS ทำให้มนุษย์มีความเข้าใจเพิ่มขึ้นเกี่ยวกับเชื้อไวรัสโคโรนา ทั้งในแง่ของโครงสร้าง ลักษณะพันธุกรรม การกลายพันธุ์ เพื่อผลิตวิทยาการใหม่ ๆ มาใช้ในการตรวจวินิจฉัย ป้องกันและรักษา เพื่อรับมือกับการระบาดที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต[8]

ในปีค.ศ. 2012 มีการระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสทางเดินหายใจ ในประเทศซาอุดิอาราเบีย และดินแดนตะวันออกกลาง พบภายหลังว่าเกิดจากเชื้อโคโรนาไวรัสอีกเช่นกัน ตั้งชื่อว่า Middle East respiratory syndrome corona virus (MERS-CoV) มีอัตราตายกว่า 40%[9] การระบาดครั้งนี้เชื้อว่ามนุษย์ได้รับเชื้อผ่านมาทางอูฐ ในปัจจุบันยังพบการระบาดของโรค MERS-CoV อยู่เป็นระยะ แต่จำกัดเฉพาะในประเทศซาอุดิอาราเบีย

การระบาดของไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่เริ่มจากมณฑลอู่ฮั่น สาธารณรัฐประชาชนจีนในเดือนธันวาคม 2562[10] และลุกลามจนมีผู้ป่วยติดเชื้อทั่วโลก เชื้อก่อโรค ต่อมาพบว่าเป็นโคโรนา 2019-nCoV ไวรัสโคโรนาสายพันธุ์นี้มีความใกล้เคียงกับไวรัส SARS-CoV ที่ทำให้เกิดการระบาดครั้งใหญ่เมื่อปี ค.ศ. 2002[11] เรียกไวรัสสายพันธุ์ใหม่นี้ว่า SARS-CoV-2 virus และเรียกชื่อโรคติดเชื้อทางเดินหายใจที่เกิดจาก SARS-CoV-2 ว่าโรคโควิด-19 (COVID-19) [12, 13] ไวรัสชนิดนี้แพร่กระจายผ่านทางละอองฝอย(doplet) มีรายงานว่าสามารถแพร่กระจายผ่านทางอากาศ(airborne) ได้บางกรณี[14] เมื่อได้รับเชื้อมาแล้วจะยังไม่แสดงอาการทันที เชื้อมีระยะฟักตัวเฉลี่ย 5-6 วัน และนานได้ถึง 14 วัน โดยในระยะนี้สามารถเกิดการแพร่กระจายของเชื้อได้ โดยผู้ที่ได้รับเชื้อสามารถแพร่กระจายเชื้อได้ก่อนแสดงอาการ 1-3 วัน[15] ลักษณะดังกล่าวเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการระบาดได้เป็นวงกว้าง อย่างไรก็ตามผู้ป่วยกว่าร้อยละ 80 มีอาการไม่รุนแรง-ปานกลาง มีเพียงร้อยละ 15 ที่มีอาการรุนแรง และผู้ป่วยร้อยละ 5 ที่มีอาการวิกฤติ[16] ข้อมูลจากการศึกษาพบว่าปัจจัยที่สัมพันธ์กับอาการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รุนแรงได้แก่ อายุมากกว่า 60 ปี สูบบุหรี่ โรคประจำตัวบางอย่างได้แก่ เบาหวาน ความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ โรคไตเรื้อรัง โรคปอดเรื้อรัง และโรคมะเร็ง[17, 18] อาการและอาการแสดงของผู้ป่วยดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 อาการของผู้ป่วยโควิด-19 ที่พบบ่อย อ้างอิงจากข้อมูลขององค์การอนามัยโลก[3]

อาการที่พบ	เปอร์เซ็นต์ที่พบ (%)
ไข้	83-99
ไอ	59-82
อ่อนเพลีย	44-70
เบื่ออาหาร	40-84
หายใจลำบาก	31-40
ปวดเมื่อยกล้ามเนื้อ	11-35

อาการอื่นๆที่พบได้แก่ เจ็บคอ คัดจมูก ปวดศีรษะ ถ่ายเหลว คลื่นไส้ อาเจียนการได้กลิ่นลดลง การรับรสลดลง[19-21] ผู้ป่วยที่อายุมาก หรือผู้ป่วยที่ภูมิคุ้มกันบกพร่องอาจมีอาการแสดงที่ไม่ตรงไปตรงมา เช่น ระดับการรู้สึกตัวลดลง เคลื่อนไหวช้าลง สับสน โดยที่ไม่มีไข้[22-24]

โคโรนาไวรัสเป็น RNA virus ขนาดใหญ่ โครงสร้างของเชื้อไวรัสโคโรนาประกอบไปด้วย RNA ขนาดความยาว 28-30 กิโลเบส[9] มีหน้าที่ควบคุมการสร้างโปรตีนและสารต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของไวรัส ทั้ง structural protein และ non-structural protein[8] structural protein ที่มีความสำคัญได้แก่ spike (S) protein, membrane (M) protein, envelope (E) protein และ nucleocapsid (N) protein โปรตีนต่างๆ มีหน้าที่ช่วยในการยึดเกาะเซลล์โฮสต์ หรือขับสารต่าง ๆ ออกมานอกเซลล์ไวรัส และ surface glycoprotein บนผิวของไวรัสที่ช่วยให้ไวรัสเกาะเซลล์ของโฮสต์ได้ดีขึ้น[25-27]สำหรับ SARS CoV-2 นั้น โปรตีนที่มีความสำคัญที่ใช้ในการเข้าสู่เซลล์ของมนุษย์ นำไปสู่การติดเชื้อคือ spike protein (S protein) ซึ่งอยู่บนผิวของโครงสร้างไวรัส[28] ประกอบด้วย S1 subunit และ S2 subunit โดย S1 subunit นั้นจะมีตำแหน่งจำเพาะที่ใช้จับกับ Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) ของเซลล์มนุษย์ เรียกว่า receptor binding domain (RBD) เมื่อมีการจับกันของ RBD-ACE2 แล้ว จะเกิดการปรับเปลี่ยนโครงสร้างและเกิดการรวมกันของ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เยื่อหุ้มไวรัสและเซลล์มนุษย์ (membrane fusion) ซึ่งควบคุมโดย S2 subunit ทำให้ไวรัสสามารถเข้าไปยังเซลล์ของมนุษย์ได้ในที่สุด[29]

การตรวจหาเชื้อไวรัสโคโรนาจากสิ่งส่งตรวจ วิธีที่มีความจำเพาะมากที่สุดคือการทำ viral culture ซึ่งมีขั้นตอนยุ่งยากซับซ้อน ต้องใช้เวลาและค่าใช้จ่ายมาก ปัจจุบันการตรวจที่เป็นที่ยอมรับคือการตรวจ Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) ต่อเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ต่าง ๆ ทั้ง SARS-CoV, MERS-CoV และ SARS-CoV-2 มีความสะดวกรวดเร็ว ทำได้แพร่หลาย และยังสามารถบอก viral burden ของผู้ป่วยรายต่าง ๆ ได้[30-32] อย่างไรก็ตามการตรวจหาสารพันธุกรรมยังมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ความไวที่ลดลงเมื่อสิ่งส่งตรวจได้จากผู้ป่วยที่อยู่ในระยะท้ายของโรค ไม่สามารถใช้ตรวจติดตามผู้ป่วยย้อนหลังได้กรณีเคยได้รับเชื้อมาก่อนแล้ว และไม่สามารถบอกถึงระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสได้[1] การตรวจหา antibody ต่อเชื้อไวรัส โดยการตรวจหาและวัดระดับ immunoglobulin หรือ antibody ได้แก่ IgM IgG หรือ IgA[33] ด้วยวิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) เป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็ว ราคาไม่แพง สามารถบอกถึงระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสนั้นๆได้ มีประโยชน์ในด้านการศึกษาทางระบาดวิทยา และการติดตามผู้ป่วย อย่างไรก็ตาม ระดับภูมิคุ้มกันดังกล่าวจะต้องใช้เวลาให้ร่างกายสร้างขึ้นมา โดยทั่วไประยะเวลา 7-14 วัน[34, 35] และการพบ antibody ดังกล่าวไม่ได้สัมพันธ์กับการป้องกันการติดเชื้อไวรัสซ้ำแต่อย่างใด

การตรวจ neutralizing antibody เป็นอีกหนึ่งวิธีการตรวจวัดแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 โดย แอนติบอดีดังกล่าวไปจับกับ S protein ของไวรัส ทำให้ RBD ไม่สามารถไปจับกับ ACE2 ของเซลล์มนุษย์ จึงสามารถยับยั้งไวรัสนั้น ๆ ไม่ให้เข้าไปติดเชื้อในเซลล์มนุษย์ได้ การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวัดระดับ neutralizing antibody จะรายงานผลเป็น % inhibition neutralizing antibody เป็นแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อเชื้อไวรัสนั้น ๆ นอกจากมีประโยชน์ช่วยในการวินิจฉัยและทำนายการป้องกันการติดเชื้อไวรัสนั้น ๆ ได้[1] การตรวจวัดระดับ neutralizing antibody ด้วยวิธีดั้งเดิม หรือ conventional virus neutralization test (cVNT) จะใช้ไวรัส SARS-CoV-2 ที่ยังมีชีวิต ผสมกับเซรั่มของผู้ป่วยที่ต้องการตรวจ และนำไปใส่ในเซลล์โคลนนิ่งที่ใช้สำหรับการตรวจ (African green monkey kidney clone, Vero-E6) และนำไปเพาะที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมาวัดระดับ neutralization titer การตรวจวิธีนี้มีขั้นตอนที่ยุ่งยากซับซ้อน และอันตรายต่อตัวผู้ปฏิบัติมาก ต้องทำในห้องปฏิบัติการระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ

ระดับ 3 (BSL3) ใช้เวลาในการทดสอบ 2-4 วัน จึงไม่เหมาะกับการนำมาใช้จริงในเวชปฏิบัติ การตรวจวัดระดับ neutralizing antibody อีกวิธีเป็นการจำลอง S protein ของไวรัสแทนการใช้ไวรัสจริงในการทดสอบ เรียกว่า pseudovirus neutralization assay[36] มีความปลอดภัย ทำในห้องปฏิบัติการระบบความปลอดภัยทางชีวภาพระดับ 2 (BSL2) อย่างไรก็ตาม กระบวนการทดสอบใช้เวลาในการทดสอบ 2-4 วัน

Chee Wah Tan และคณะ[1] ทำการวิจัยและพัฒนาวิธีการในการตรวจวัดระดับ Neutralizing antibodyโดยจำลองปฏิสัมพันธ์ระหว่าง RBD ของไวรัสกับ ACE2 ของเซลล์มนุษย์ โดยใช้ RBD ที่สังเคราะห์ขึ้นมาทำปฏิกิริยากับ ACE2 บนถาดทดลอง เรียกว่า surrogate virus neutralization test (sVNT)และหยดเลือดของผู้ป่วยที่มี neutralizing antibody ลงไปยับยั้งปฏิกิริยาระหว่าง RBD-ACE2 แล้วรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%inhibition) จากนั้นนำ sVNT มาทดสอบกับเลือดของผู้ป่วยยืนยันการติดเชื้อโควิด-19 175 รายจากประเทศสิงคโปร์ และ 50 รายจากมณฑลนานจิง สาธารณรัฐประชาชนจีน พบว่าเมื่อใช้ %inhibition ที่ 30% ความไวและความจำเพาะของการวินิจฉัย COVID-19 ของ sVNT เมื่อทดสอบผู้ป่วยจากประเทศสิงคโปร์เป็น 98.9% และ 100% ตามลำดับ ความไวและความจำเพาะของการวินิจฉัย COVID-19 ของ sVNT เมื่อทดสอบผู้ป่วยจากมณฑลนานจิง สาธารณรัฐประชาชนจีนเป็น 98.9% และ 100% ตามลำดับ ระยะเวลาที่เก็บสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วยในประเทศสิงคโปร์คือ 14-33 วันหลังจากเริ่มมีอาการป่วย และในมณฑลนานจิง สาธารณรัฐประชาชนจีน 27-61 วันหลังจากเริ่มมีอาการป่วย ข้อมูลจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า neutralizing antibody ต่อเชื้อ SARS-CoV-2 คงอยู่นานอย่างน้อย 61 วันหลังจากเริ่มมีอาการป่วย แต่ยังขาดข้อมูลการทดสอบในผู้ป่วยที่มีอาการป่วยน้อยกว่า 14 วัน

ข้อมูลจากการศึกษาของ Katherine Bond และคณะที่ประเทศออสเตรเลียตีพิมพ์ในเดือนสิงหาคม 2020 ศึกษาระดับ neutralizing antibody หลังการติดเชื้อ SARS-CoV-2 virus ในผู้ป่วยโควิด-19 จำนวน 91 รายที่ตรวจยืนยันด้วยวิธี RT-PCR พบว่าความไวและความจำเพาะของระดับแอนติบอดีเมื่อตรวจหลังจากได้รับเชื้อมากกว่า 14 วัน เป็น 91.2% และ 94.4% ตามลำดับ[2] โดยใช้เกณฑ์ inhibition ที่ 20% สอดคล้องกับการศึกษาจากประเทศสิงคโปร์และจีนของ Chen Wah Tan และคณะ[1] แต่เมื่อนำข้อมูลผู้ป่วยที่ตรวจวัดระดับแอนติบอดีก่อน 14 วันมารวมกันโดยใช้เกณฑ์ inhibition ที่ 20% เดียวกันความไวและความจำเพาะของระดับแอนติบอดีลดลงเหลือ 62.7% และ 94.4% ตามลำดับ จากการศึกษานี้จะเห็นว่าหากตรวจวัดระดับ neutralizing antibody ในระยะแรก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ที่ผู้ป่วยมีอาการ ความไวและความจำเพาะจะต่ำและยังไม่สามารถใช้วินิจฉัยการติดเชื้อในระยะแรกได้ดีนัก

ข้อมูลการศึกษาย้อนหลังของ Amin Addetia และคณะ[37] วิเคราะห์ข้อมูลการระบาดของโควิด-19 ในเรือตกปลาที่ออกเดินทางจาก Seattle, Washington ในเดือนพฤษภาคม 2563 ขณะนั้นนักเดินทางจะต้องทำการตรวจคัดกรองโควิด-19 ด้วยวิธี RT-PCR และเจาะเลือดตรวจวัดระดับแอนติบอดีก่อนเดินทาง ผลการตรวจนักเดินทางทุกคนไม่พบ SARS-CoV-2 ก่อนเดินทาง และตรวจพบระดับ neutralizing antibody จากนักเดินทาง 6 ราย ในจำนวนนี้มี 3 รายที่ระดับ neutralizing antibody มีค่าสูงมาก (1:174, 1:161 และ 1:3,082 ด้วยการตรวจneutralizing activity against SARS-CoV-2 spike pseudotyped lentiviral particles จากการศึกษาของ Crawford และคณะ [38] และ %inhibition ที่ 89%, 84%, 93% ด้วยการตรวจ surrogate virus neutralization test kit ของ GenScript) เมื่อเรือเทียบท่า ทำการตรวจ SARS-CoV-2 ซ้ำพบว่านักเดินทาง 103 รายจากทั้งหมด122 รายติดเชื้อโควิด-19 แต่ผู้ป่วย 3 รายที่วัดระดับ neutralizing antibody มีค่าสูงมาก ไม่พบ SAR-CoV-2 จากการตรวจ RT-PCR ข้อมูลจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า neutralizing antibody มีผลป้องกันการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ได้

การศึกษาของ Benjamin Meyer และคณะ[39] ได้มีการนำ surrogate virus neutralization test ของ cPass™, GenScript, USA ที่มีการศึกษาในกลุ่มประชากรข้างต้น มาศึกษาในประชากรประเทศสวิตเซอร์แลนด์จำนวน 269 ราย พบว่าความไวและความจำเพาะของระดับ sVNT เป็น 80.3% และ 99.2% ตามลำดับ โดยผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง (severe, ICU) จะมีการตอบสนองของแอนติบอดี (%inhibition) จากการวัดด้วย sVNT มากกว่าผู้ป่วยกลุ่มที่อาการไม่รุนแรง (mild) ตามการศึกษา และพบว่าความไว (sensitivity)ของ sVNT เมื่อตรวจหลังจากได้รับเชื้อมากกว่า 14 วัน เป็น 91.2% และ 94.4% ในกลุ่มที่มีอาการไม่รุนแรง (mild) และรุนแรง (severe) ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาวัดระดับ neutralizing antibody ของประชากรไทย ไม่มีข้อมูลศึกษาการลดลงของระดับ neutralizing antibody ในระยะยาว และยังไม่มีข้อมูลการตอบสนองต่อแอนติบอดีในผู้ป่วยที่มีความรุนแรงของอาการที่ต่างกัน การศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาแรกที่ตรวจวัดระดับ neutralizing antibody ของประชากรไทย โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองของระดับ antibody และศึกษาระยะเวลาที่ระดับ neutralizing antibody ยังคงอยู่ใน

เลือด โดยใช้การทดสอบ surrogate virus neutralization test ที่ได้จากการศึกษาในประเทศสิงคโปร์และจีนดังที่กล่าวข้างต้น[1] (ภายใต้ชื่อการค้า cPass™, GenScript, USA) เพื่อให้เข้าใจการตอบสนองของระดับ neutralizing antibody ของประชากรไทย และช่วยในการวางแผนรักษาและป้องกันการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ที่อาจเกิดขึ้นซ้ำในอนาคต

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

รูปแบบการวิจัย

Retrospective-prospective study ผู้ป่วย โควิด-19 โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ที่มาติดตามการรักษาที่ 1, 3, 6 และ 12 เดือน

ระเบียบการวิจัย

ประชากร ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น โควิด-19 จากการส่งตรวจ PCR for SARS-CoV-2 virus ที่เข้ารักษาตัวในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

วิธีการเข้าถึงอาสาสมัคร ผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น โควิด-19 จากการส่งตรวจ PCR for SARS-CoV-2 virus ที่เข้ารักษาตัวในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จะได้รับการติดต่อเพื่อนัดมาติดตามอาการ และตรวจเลือดเพิ่มเติม

เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย

ผู้ป่วยโควิด-19ที่ได้รับการตรวจยืนยันด้วยวิธี PCR for SARS-CoV-2 ที่เข้ารับการรักษาตัวที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่าง กุมภาพันธ์ – พฤษภาคม พ.ศ. 2563

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

เกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครออกจากการวิจัย

1. ผู้ป่วยไม่ยินยอมเข้าร่วมโครงการ หรือไม่ยินยอมให้ทำการเจาะเลือด
2. ผู้ป่วยที่ไม่ได้มาติดตามการรักษา

กระบวนการขอความยินยอม

แพทย์ผู้ทำวิจัยให้ข้อมูลโครงการวิจัยกับอาสาสมัครในห้องที่มีความเป็นส่วนตัวที่แยกออกมาจากห้องตรวจ/หอผู้ป่วย โดยให้ข้อมูลคำอธิบาย ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย ความเสี่ยงและประโยชน์ ตอบข้อสงสัยจนผู้ป่วย เข้าใจ และให้เวลาตัดสินใจโดยอิสระ ก่อนลงนามให้ความยินยอมเข้าร่วมในการวิจัย หากยังไม่สามารถ ตัดสินใจได้ในวันนั้น ผู้วิจัยแจกเอกสาร

ข้อมูลและแบบขอความยินยอมให้อาสาสมัครนำกลับไปพิจารณาก่อนตัดสินใจ แล้วนำกลับมาคืนเมื่อมาตรวจครั้งหน้า การลงนามทำโดยใช้อักษรย่อของชื่อและนามสกุล โดยขั้นตอนกระบวนการขอความยินยอมเริ่มก่อนการดำเนินการวิจัย

ขนาดตัวอย่าง

คำนวณขนาดตัวอย่างใช้สูตรคำนวณเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ระหว่าง 2 กลุ่มตัวอย่าง (unpaired T-test)

$$n_A = \kappa n_B \text{ and } n_B = \left(1 + \frac{1}{\kappa}\right)\left(\sigma \frac{z_{1-\alpha/2} + z_{1-\beta}}{\mu_A - \mu_B}\right)^2$$

$$1 - \beta = \Phi\left(z - z_{1-\alpha/2}\right) + \Phi\left(-z - z_{1-\alpha/2}\right) \quad , \quad z = \frac{\mu_A - \mu_B}{\sigma\sqrt{\frac{1}{n_A} + \frac{1}{n_B}}}$$

$$N_{pergroup} = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 \sigma^2}{MCD^2}$$

Chulalongkorn University

กำหนดให้

- Alpha (α) = 0.05
- Beta (β) = 0.20, Power = 80%
- สัดส่วนกลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่ม มีปริมาณเท่ากัน 1:1
- ค่า σ หรือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของทั้ง 2 กลุ่ม = 14.5 เป็นค่าเฉลี่ยโดยอ้างอิงจากการศึกษา[1, 2]
- MCD คือ ค่าประมาณความแตกต่างของข้อมูลทั้ง 2 กลุ่ม ในที่นี้คือค่าประมาณความแตกต่างของระดับ surrogate virus neutralization test ของกลุ่มที่อาการไม่รุนแรง (mild symptom) และกลุ่มที่มีอาการรุนแรง (moderate, severe, critical) อ้างอิง

จากเกณฑ์ของ WHO ที่ได้กล่าวข้างต้น มีค่าเท่ากับ 15 โดยอ้างอิงข้อมูลจากการศึกษา (39)

ผลการคำนวณ ได้ขนาดตัวอย่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง = 15 คนต่อกลุ่ม

กำหนดให้อัตราการขาดการติดตามและออกจากโครงการวิจัยระหว่างวิจัย = 20%

จะได้ขนาดตัวอย่างสุดท้ายของทั้ง 2 กลุ่ม = 15 + (0.2 x 15) = 18 คนต่อกลุ่ม

ขั้นตอนการทำวิจัย

1. ผู้ป่วย โควิด-19 ที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ระหว่าง กุมภาพันธ์ – พฤษภาคม พ.ศ. 2563 ซึ่งตรวจยืนยันการติดเชื้อด้วยวิธี PCR จะได้รับการตรวจเลือดพื้นฐาน และการรักษาตามอาการ และความรุนแรงของโรค เมื่อผู้ป่วยอาการดีขึ้น และไม่อยู่ในระยะแพร่เชื้อ จะถูกจำหน่ายออกจากโรงพยาบาลพร้อมทั้งให้คำแนะนำ และนัดหมายเพื่อติดตามการรักษา
2. นัดหมายผู้ป่วยโควิด-19 ที่หายดีแล้วมาติดตามอาการ จากนั้นอธิบายโครงการวิจัยเพื่อให้ผู้ป่วยตัดสินใจเข้าร่วม หรือไม่เข้าร่วมการวิจัย
3. ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย และอาการทางคลินิก ได้รับการจัดเก็บในระบบฐานข้อมูล Data Bank ของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทำการจัดแยกกลุ่มตามที่ออกแบบไว้ (ตามอายุ และความรุนแรง แบ่งเป็น asymptomatic/ mild /moderate/ severe/critical)
4. นัดหมายผู้ป่วยเพื่อติดตามอาการที่ 1, 3, 6 และ 12 เดือน และเก็บตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยไปตรวจวิเคราะห์ตามแผนการวิจัย
5. สรุปข้อมูล และวิเคราะห์ข้อมูลตามจุดประสงค์ที่วางไว้

การทดสอบทางห้องปฏิบัติการ

1. บุคลากรทางห้องปฏิบัติการ เป็นเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิทยาศาสตร์สุขภาพโรคอุบัติใหม่ รพ.จุฬาลงกรณ์ ที่ได้รับการอบรมการตรวจแอนติบอดีต่อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี ELISA จากประเทศสิงคโปร์ และมีความชำนาญในการตรวจทางห้องปฏิบัติการสูง
2. การตรวจ แอนติบอีชนิด IgG IgM และ neutralizing ใช้หลักการตรวจด้วยวิธี ELISA ที่มหาวิทยาลัย Duke NUS ถ่ายทอดเทคโนโลยีให้แก่ ศูนย์วิทยาศาสตร์สุขภาพโรคอุบัติใหม่ รพ.จุฬาลงกรณ์ โดยใช้ antigen ชนิด RBD ที่มีความแม่นยำ และความจำเพาะสูง (Tan CW, Preprint) การตรวจระดับแอนติบอดีชนิด neutralizing ด้วยวิธี ELISA แสดงระดับการตอบสนองเป็น % inhibition
3. การทดสอบ Serrogate virus neutralization test ในห้องปฏิบัติการ

นำซีรั่มของผู้ป่วยที่ยืนยันการติดเชื้อโควิด-19 ด้วยวิธี RT-PCR มาตรวจวัดระดับ neutralizing antibody against SARS-CoV-2 virusโดยใช้ sVNT assay ตามคำแนะนำของผู้ผลิต (cPass^{TM}, GenScript USA) โดยการนำ horseradish peroxidase-receptor binging domain (HRP-RBD) ไปบ่มกับเซรั่มที่ต้องการตรวจที่ทำให้เจือจางในอัตราส่วน 1:10 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำส่วนประกอบข้างต้นมาใส่ในถาด ELISA plate ที่มี human ACE2 ฉาบอยู่ ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง จากนั้นล้าง HRP-RBD ส่วนที่เกินออกด้วย phosphate-bufferred saline จะเหลือส่วนที่ HRP-RBD จับกับ human ACE2 และ neutralizing antibody ที่อยู่ในเซรั่มของผู้ป่วยจะเข้าไปยับยั้งการจับกันของ RBD-ACE2 แบบแข่งขัน ซึ่งจะนำไปตรวจวัดหาค่าด้วยวิธี colorimetric method ซึ่งตรวจวัดสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสี แล้วนำสารนี้มาวัดการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโดยเทียบกับตัวอย่างเซรั่มควบคุม โดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่มากกว่า 30% จะถือว่าให้ผลบวกอ้างอิงจากงานวิจัย[1, 2, 39]

4. การทดสอบ Conventional virus neutralization test ในห้องปฏิบัติการ

นำซีรั่มของผู้ป่วยที่ยืนยันการติดเชื้อโควิด-19 ด้วยวิธี RT-PCR ที่เจือจางอัตราส่วน 1:2 ปริมาณ 50 ไมโครลิตรมาบ่มกับเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ปริมาณ 50 ไมโครลิตร (เชื้อไวรัส 1,000 $TCID_{50}$ ต่อมิลลิลิตร)ใน 5% FBS in DMEM ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน

90 นาที นำส่วนประกอบที่ได้ไปใส่ในจานที่มีเซลล์ Vero-E6 เรียงตัวเป็นเซลล์ชั้นเดียว บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างเชื้อส่วนที่เกินออก แล้วนำเซลล์ในจานไปในใส่บนสารละลาย 5% FBS in DMEM ก่อนจะนำไปตรวจวัดระดับ neutralizing antibody ที่ค่าความเจือจางทีละสองเท่าตั้งแต่ 1:10 จนถึง 1:320 ซึ่งจะนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับ sVNT และหาความสัมพันธ์

5. นำเลือดของผู้ป่วยที่ทำการตรวจด้วยวิธี sVNT แล้วมาตรวจยืนยันด้วยวิธี cVNT โดยทำในห้องปฏิบัติการ BSL2 plus โดยบุคลากรที่มีประสบการณ์

การรวบรวมข้อมูล

วิธีการเก็บข้อมูล

1. ผู้เข้าร่วมวิจัยได้รับการบันทึกข้อมูลพื้นฐาน ได้แก่ เพศ อายุ สัญญาณชีพ น้ำหนัก ส่วนสูง โรคประจำตัว ตั้งแต่วันที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาล
2. ผู้วิจัยจะแนะนำและอธิบายเกี่ยวกับโครงการวิจัยแก่ผู้เข้าร่วม ในทุกครั้งก่อนที่จะได้รับการเจาะเลือด
3. ผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยจะได้รับการเจาะเลือดปริมาณ 3-5 มิลลิลิตร โดยพยาบาลผู้ชำนาญการ
4. นำเลือดของผู้ป่วยไปทำการตรวจตามวิธีการข้างต้น
5. นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ข้อจำกัดในการวิจัย

1. จำนวนผู้ป่วยในการศึกษามีจำกัด เนื่องจากเป็นการศึกษาในผู้ป่วยโควิด-19 ระลอกแรกที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
2. สิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยแต่ละรายถูกเก็บในระยะเวลาที่แตกต่างกัน
3. ระยะเวลาติดตามอาการที่ค่อนข้างสั้น

การเปิดเผยข้อมูลแสดงตัวตนของผู้ป่วย

ข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยจะถูกเก็บไว้เป็นความลับ จะไม่มีการน้าข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยไปเปิดเผยโดยเด็ดขาด สำหรับการนำข้อมูลไปวิเคราะห์ จะใช้รหัสแทนตัวผู้ป่วยแต่ละราย ในการตีพิมพ์ผลงานการวิจัยหรือน้าเสนอผลงานวิชาการจะเสนอในภาพรวมของผลการวิจัย จะไม่มีการ น้ำข้อมูลที่แสดงตัวตนของผู้ป่วยไปเปิดเผยโดยเด็ดขาด หากมีความจำเป็นต้องแสดงข้อมูลที่เป็นตัวตนของผู้ป่วย จะต้องได้รับการยินยอมจากผู้ป่วยเป็นลายลักษณ์อักษรเท่านั้น

การคิดวิเคราะห์ข้อมูล

1. ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย ได้แก่ข้อมูลอายุ เพศ โรคประจำตัว และผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ จะแสดงเป็นจำนวนและร้อยละ
2. ข้อมูลเชิงปริมาณที่มีการแจกแจงแบบปกติจะรายงานเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ส่วนข้อมูลที่ไม่ได้แจกแจงแบบปกติจะแสดงเป็นค่ามัธยฐาน และพิสัยระหว่างควอไทล์ (IQR)
3. ทดสอบความแตกต่างของระดับ sVNT ระหว่างกลุ่มอายุด้วย Unpaired T – Test สำหรับกรณีที่ข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ หรือใช้สถิติ Mann-Whitney U Test สำหรับกรณีที่ข้อมูลไม่ได้มีการแจกแจงแบบปกติ ทดสอบความแตกต่างของระดับ sVNT ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยที่มีความรุนแรงของโรค mild, moderate และ severe/critical ด้วย one-way ANOVA สำหรับกรณีที่ข้อมูลที่มีการแจกแจงแบบปกติ หรือใช้สถิติ Kruskal-Wallis test สำหรับกรณีที่ข้อมูลไม่ได้มีการแจกแจงแบบปกติ และ pairwise post-hoc test เพื่อหาความแตกต่างระหว่างแต่ละตัวแปร
4. วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ Statistical Package for Social Sciences (SPSS) version 24 for Windows
5. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของ sVNT กับ cVNT โดยใช้ Pearson correlation coefficients

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ประชากรที่นำมาศึกษา

ผู้ป่วยโควิด-19ที่ได้รับการตรวจยืนยันด้วยวิธี PCR for SARS-CoV-2 ที่เข้ารับการรักษาตัวที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ระหว่าง กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2563 โดยมีผู้ป่วยที่อยู่ในเกณฑ์การเข้าร่วมการศึกษาและยินยอมเข้าร่วมการศึกษา ตลอดจนมาติดตามการรักษาและเข้าร่วมการวิจัยที่ 1 เดือน 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือนภายหลังจากหายจากโควิด-19 จำนวนทั้งสิ้น 48 คน

ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย (ตารางที่ 2)

เมื่อพิจารณาข้อมูลทั่วไปของประชากรที่นำมาศึกษา พบว่าผู้ป่วยทั้ง 48 คนนั้นมีอายุเฉลี่ยอยู่ที่ 39.9 ปี ผู้ป่วยที่มีอายุ 50 ปีมีทั้งสิ้น 10 คน คิดเป็นร้อยละ 20.8 จากจำนวนผู้ป่วยทั้งหมดเป็นเพศชายจำนวน 20 คน คิดเป็นร้อยละ 41.6 ผู้ป่วยมีโรคประจำตัวทั้งสิ้น 10 คน เป็นโรคความดันโลหิตสูง 6 คน เบาหวาน 3 คน และมีผู้ป่วยโรคมะเร็งในการศึกษานี้ 1 คน เมื่อพิจารณาผู้ป่วยแยกตามความรุนแรงของโรคตามคำจำกัดความขององค์การอนามัยโลก มีผู้ป่วยที่อาการน้อยจำนวน 24 ราย ผู้ป่วยอาการปานกลาง 12 ราย และผู้ป่วยอาการรุนแรง/วิกฤติ 12 ราย คิดเป็นร้อยละ 50, 25 และ 25 ตามลำดับ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เนื่องจากในช่วงเดือนเมษายน ถึงมิถุนายน พ.ศ. 2564 เกิดการระบาดของไวรัส SARS-CoV2 สายพันธุ์ใหม่ ซึ่งก่อให้เกิดการระบาดเป็นวงกว้าง ขณะนั้นโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์มีความจำเป็นต้องเลื่อนการนัดหมายผู้ป่วยที่ไม่เร่งด่วน เพื่อนำกำลังบุคลากรและทรัพยากรไปให้การดูแลผู้ป่วยโควิด-19 ดังนั้นการติดตามผู้ป่วยในงานวิจัยที่ 12 เดือนหลังจากหายจากโรคจึงต้องเลื่อนมาทำในช่วงปลายเดือนมิถุนายน ถึงต้นเดือนกรกฎาคม 2565 ซึ่งช่วงเวลาดังกล่าว มีวัคซีนป้องกันโรคโควิด-19 ที่ให้ประชาชนสามารถเข้าถึงได้ ในจำนวนผู้ป่วยทั้งหมดที่มาติดตามการรักษาและเข้าร่วมงานวิจัย มีผู้ป่วย 17 คนที่ได้รับวัคซีนโควิด-19 ในจำนวนนี้ได้รับวัคซีนซิโนแวค 11 ราย และแอสตร้าเซนเนก้า 6 ราย โดยทั้งหมดได้รับวัคซีนซิโนแวค 2 เข็ม และแอสตร้าเซนเนก้า 1 เข็มมากกว่า 2 สัปดาห์ก่อนจะมาติดตามอาการตามนัดที่ 12 เดือน ข้อมูลดังแสดงในตารางที่ 2

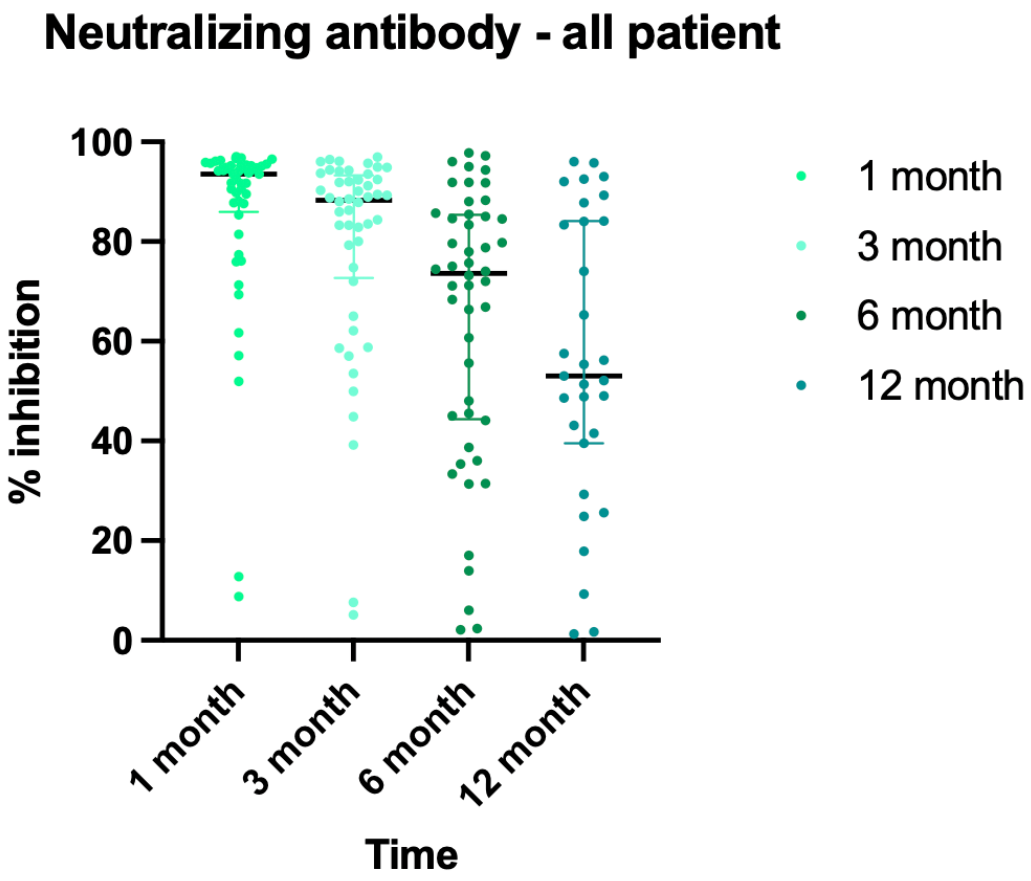
ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยโควิด-19 ที่เข้าร่วมงานวิจัยจำนวนทั้งสิ้น 48 ราย

ข้อมูลของผู้ป่วย	**จำนวน**
อายุ (ปี) [ค่าเฉลี่ย, (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)]	39.9 (11.1)
เพศ [จำนวน, (ร้อยละ)]	
ชาย	20 (41.6)
โรคประจำตัว [จำนวน, (ร้อยละ)]	
ความดันหิตสูง	6 (12.5)
เบาหวาน	3 (6.3)
มะเร็ง	1 (2.1)
ความรุนแรงของโรค [จำนวน, (ร้อยละ)]	
อาการน้อย	24 (50)
อาการปานกลาง	12 (25)
อาการรุนแรง/วิกฤติ	12 (25)
ผู้ป่วยที่ได้รับวัคซีน [จำนวน, (ร้อยละ)] (ได้รับวัคซีนมานานกว่า 2 สัปดาห์ ก่อนจะมาเจาะเลือด)	
วัคซีน CoronaVac	11 (22.92)
วัคซีน ChAdOx1 nCoV-19	6 (12.5)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ผลการศึกษา

จากการวัดระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ต่อไวรัส SARS-CoV-2 ด้วยวิธี sVNT หลังจากผู้ป่วยหายป่วยที่ 1 เดือน 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือน พบว่าระดับของแอนติบอดีมีค่าลดลงเมื่อเวลาผ่านไป โดยมีค่ามัธยฐานระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์เท่ากับ 93.53% (IQR 85.94-95.20), 88.29% (IQR 72.69-93.30), 73.63% (IQR 44.38-85.34), และ 53% (IQR 39.50-84.10) ดังแสดงในแผนภูมิที่ 1



แผนภูมิที่ 1 แสดงระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ของผู้ป่วยโควิด-19 หลังจากมีอาการป่วยที่ 1, 3, 6, และ 12 เดือน รายงานค่ากลางด้วยค่ามัธยฐาน และพิสัยระหว่างควอไทล์

เมื่อพิจารณาระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยที่มีระดับความรุนแรงที่แตกต่างกัน พบว่าค่ามัธยฐานของระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในกลุ่มผู้ป่วยอาการน้อยที่ 1 เดือน 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือนหลังจากหายป่วยมีค่าเท่ากับ 86.76% (พิสัยระหว่างควอไทล์ หรือ interquartile range (IQR) 69.89-93.85), 73.38% (IQR 54.45-88.99) 45.31% (IQR 31.41-84.57) และ 50.35% (IQR 19.65-86.88) ตามลำดับ ค่ามัธยฐานระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในกลุ่มผู้ป่วยอาการปานกลางที่ 1 เดือน 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือนหลังจากหายป่วยมีค่าเท่ากับ 94.66% (IQR 92.39-95.41), 90.48% (IQR 86.61-94.13) 79.23% (IQR 72.54-92.13) และ 69.40% (IQR 45.18-87.98) ตามลำดับ ค่ามัธยฐานระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในกลุ่มผู้ป่วยอาการรุนแรง/วิกฤติที่ 1 เดือน 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือนหลังจากหายป่วยมีค่าเท่ากับ 94.46% (IQR 93.52-95.87), 93.10% (IQR 87.32-95.46) 75.06% (IQR 66.89-87.56) และ 52.60% (IQR 43.35-71.83) ตามลำดับ ดังแสดงในแผนภูมิที่ 2 และตารางที่ 3

ผู้ป่วยโควิด-19 กลุ่มอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 50 ปี มีค่ามัธยฐานระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่ 1 เดือน 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือนหลังจากหายป่วยมีค่าเท่ากับ 93.97% (IQR 89.83-96.00), 90.26% (IQR 85.37-96.06), 85.25% (IQR 45.05-91.85) และ 55.80% (IQR 43.38-87.88) ตามลำดับ ในขณะที่ผู้ป่วยโควิด-19 กลุ่มอายุน้อยกว่า 50 ปี มีค่ามัธยฐานระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่ 1 เดือน 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือนหลังจากหายป่วยมีค่าเท่ากับ 93.03% (IQR 80.45-95.19), 87.12% (IQR 64.32-92.41) 71.63% (IQR 42.78-83.69) และ 52.10% (IQR 25.60-84.10) ตามลำดับ ดังแสดงในแผนภูมิที่ 3 และ ตารางที่ 3

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จะเห็นว่าผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 50 ปีขึ้นไปมีค่ามัธยฐานระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์มากกว่าผู้ป่วยกลุ่มอายุน้อยกว่า 50 ปี ที่ 1 เดือน 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือน แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value ที่ 1 เดือน 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือน มีค่าเท่ากับ 0.401, 0.087, 0.146, และ 0.550 ตามลำดับ) และเมื่อพิจารณาระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความรุนแรงของโรคแตกต่างกัน พบว่าค่ามัธยฐานระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ของผู้ป่วยอาการน้อย ผู้ป่วยอาการปานกลาง และผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 1 เดือน 3 เดือน และ 6 เดือน แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 12 เดือน (p-value ที่ 1 เดือน 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือน มีค่าเท่ากับ 0.002, 0.001, 0.035, และ 0.484 ตามลำดับ) โดยเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลในแต่ละกลุ่มความรุนแรง พบว่าที่ 1 เดือน และ 3

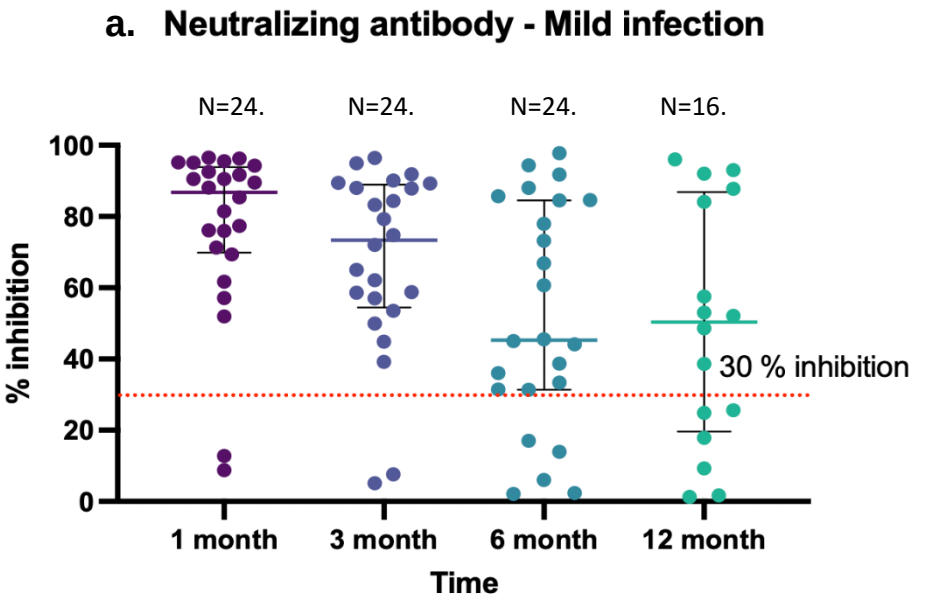
เดือน ระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในกลุ่มผู้ป่วยอาการน้อยเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยอาการปานกลาง และกลุ่มผู้ป่วยอาการน้อยเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยอาการรุนแรงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 4 และตารางที่ 5 (p-value ที่ 1 เดือนมีค่าเท่ากับ 0.009 และ 0.022 ตามลำดับ และ p-value ที่ 3 เดือนมีค่าเท่ากับ 0.001 และ 0.015 ตามลำดับ) และเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลในแต่ละกลุ่มความรุนแรงที่ 6 เดือน ระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในกลุ่มผู้ป่วยอาการน้อยเทียบกับกลุ่มผู้ป่วยอาการปานกลางมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติดังตารางที่ 6 (p-value ที่ 6 เดือนมีค่าเท่ากับ 0.043)

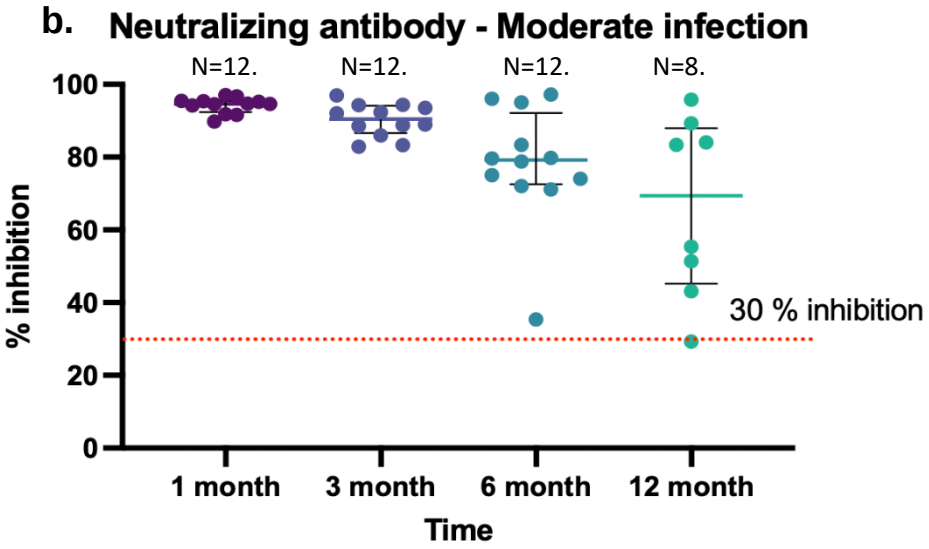
เมื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูลตัวแปรต่าง ๆโดยใช้การวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้น พบว่าความรุนแรงของโรคมีอิทธิพลต่อระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่ 1, 3 และ 6 เดือน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value < 0.05) ส่วนตัวแปรอื่น ได้แก่อายุ และ เพศไม่มีอิทธิพลต่อระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่ 1, 3, 6 และ 12 เดือน ดังตารางที่ 8-11

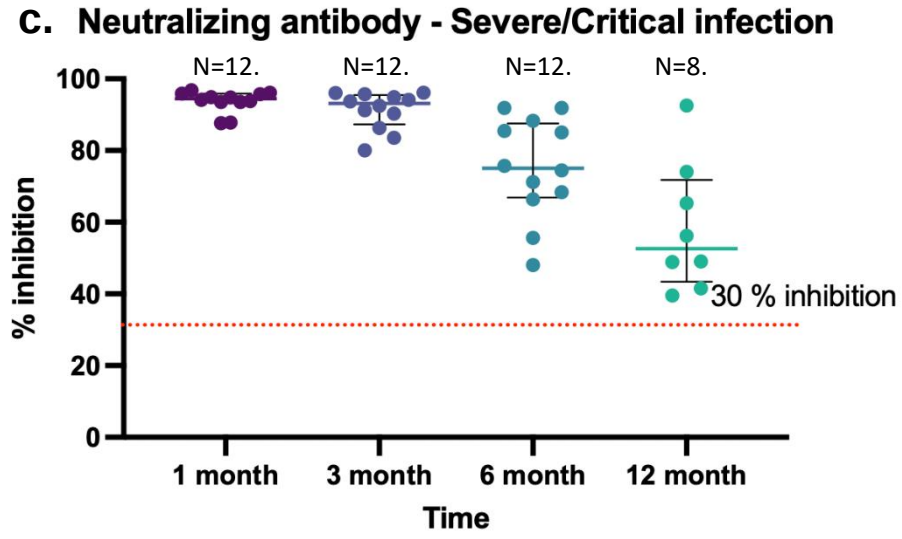
เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ sVNT และ cVNT ของผู้ป่วยหลังจากหายป่วยจากโรคโควิด-19 หลังการหายป่วยที่ระยะเวลาเท่ากัน พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของทั้ง 2 กลุ่มมีความสัมพันธ์กัน ด้วยระดับความสัมพันธ์ที่สูง ดังตารางที่ 7 (p-value 0.003, r = 0.963)

ระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ของผู้ป่วยทั้งหมดที่ไม่ได้รับวัคซีนก่อนมาตามนัดที่ 12 เดือนหลังจากหายป่วยมีค่ามัธยฐานเท่ากับ 53.00% (IQR 39.50-84.10) ในขณะที่ระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ของผู้ป่วยทั้งหมดที่ได้รับวัคซีนก่อนมาตามนัดที่ 12 เดือนหลังจากหายป่วยมีค่ามัธยฐานเท่ากับ 98.00% (IQR 95.20-98.25) โดยทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value <0.001) ข้อมูลระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์จำแนกตามกลุ่มอายุและความรุนแรงของโรค ดังแสดงในแผนภูมิที่ 4 และตารางที่ 3

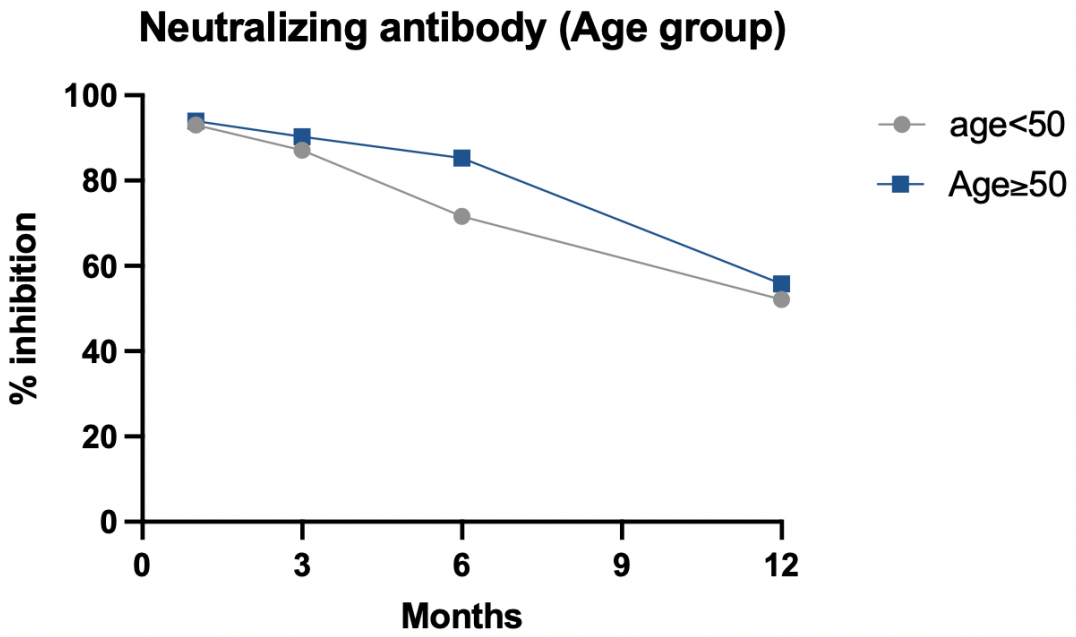
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University


a. Neutralizing antibody - Mild infection
N=24.
N=24.
N=24.
N=16.
100
80
60
40
20
0
% inhibition
30 % inhibition
1 month
3 month
6 month
12 month
Time

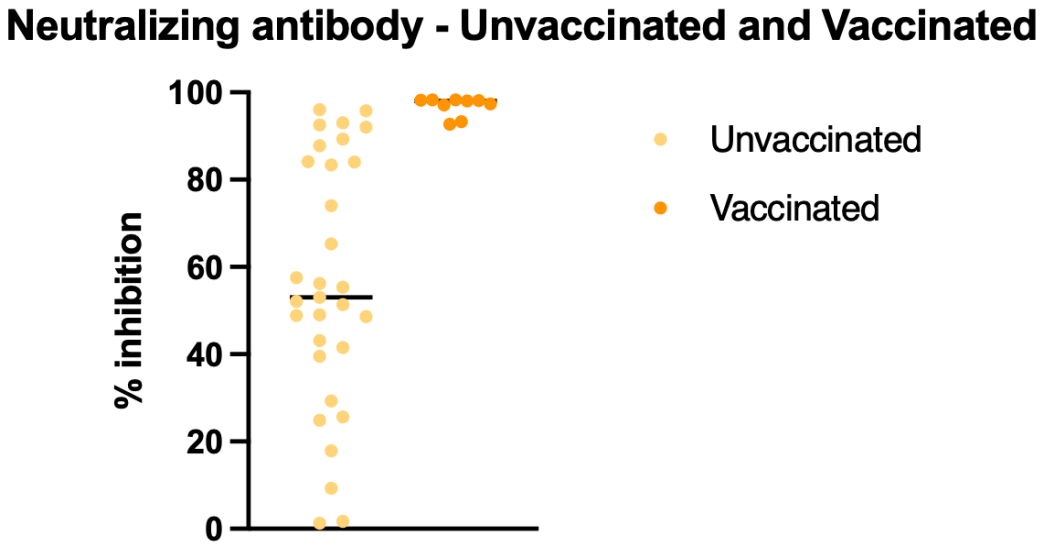

b. Neutralizing antibody - Moderate infection
N=12.
N=12.
N=12.
N=8.
100
80
60
40
20
0
% inhibition
30 % inhibition
1 month
3 month
6 month
12 month
Time


C. Neutralizing antibody - Severe/Critical infection
N=12.
N=12.
N=12.
N=8.
100
80
60
40
20
0
% inhibition
30 % inhibition
1 month
3 month
6 month
12 month
Time

แผนภูมิที่ 2 แสดงระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ของผู้ป่วยโควิด-19 หลังจากมีอาการป่วยที่ 1, 3, 6, และ 12 เดือน ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการน้อย (a, mild infection) กลุ่มอาการปานกลาง (b, moderate infection) กลุ่มอาการรุนแรง/วิกฤติ (c, severe/critical infection) รายงานค่ากลางด้วยค่ามัธยฐาน และพิสัยระหว่างควอไทล์ จุดแต่ละจุดแทนผู้ป่วยแต่รายในกลุ่มอาการต่าง ๆ เส้นประสีแดงที่ ระดับแอนติบอดีบล้างฤทธิ์ 30% เป็นจุดกำหนดการรายงานผลบวก หรือผลลบของระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์



แผนภูมิที่ 3 แสดงระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ของผู้ป่วยโควิด-19 หลังจากมีอาการป่วยที่ 1, 3, 6, และ 12 เดือน ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอายุน้อยกว่า 50 ปี และกลุ่มผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 50 ปี

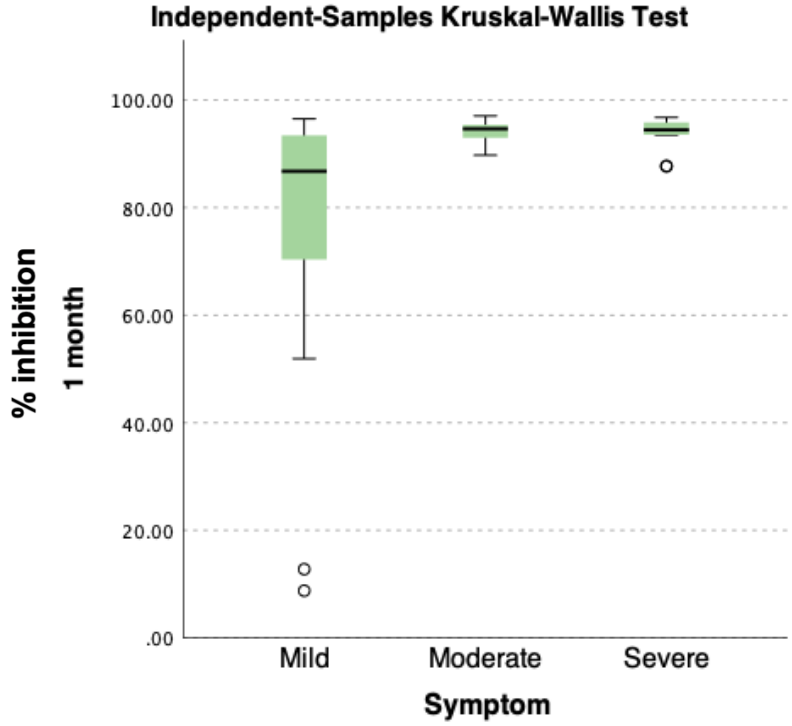


แผนภูมิที่ 4 แสดงระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ของผู้ป่วยโควิด-19 ที่ได้รับวัคซีนมามากกว่า 2 สัปดาห์ และมาเจาะเลือดหลังจากมีอาการป่วยที่ 12 เดือน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

	sVNT, % inhibition (Median, (IQR))							
	1-month	p-value	3-month	p-value	6-month	p-value	12-month	p-value
Age								
< 50	93.03	0.401	87.12	0.087	71.63	0.146	52.10	0.550
	(80.45-95.19)		(64.32-92.41)		(42.78-83.69)		(25.60-84.10)	
≥ 50	93.97		90.26		85.25		55.80	
	(89.83-96.00)		(85.37-96.06)		(45.05-91.85)		(43.38-87.88)	
Disease severity								
Mild	86.76	0.002	73.38	0.001	45.31	0.035	50.35	0.484
	(69.89-93.85)		(54.45-88.99)		(31.41-84.57)		(19.65-86.88)	
Moderate	94.66		90.48		79.23		69.40	
	(92.39-95.41)		(86.61-94.13)		(72.54-92.13)		(45.18-87.98)	
Severe/critical	94.46		93.10		75.06		52.60	
	(93.52-95.87)		(87.32-95.46)		(66.89-87.56)		(43.35-71.83)	
Vaccination								
Unvaccinated							53.00	<0.001
							(39.50-84.10)	
Vaccinated							98.00	
							(95.20-98.25)	

ตารางที่ 3 แสดงระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่ 1, 3, 6, และ 12 เดือน หลังจากเป็นโรคโควิด-19 ในกลุ่มผู้ป่วยที่อายุแตกต่างกัน (อายุน้อยกว่า 50ปี และอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 50 ปี) ในกลุ่มผู้ป่วยที่ระดับความรุนแรงของโรคต่างกัน (อาการน้อย อาการปานกลาง และอาการรุนแรง/วิกฤติ) และกลุ่มที่ได้/ไม่ได้รับวัคซีน



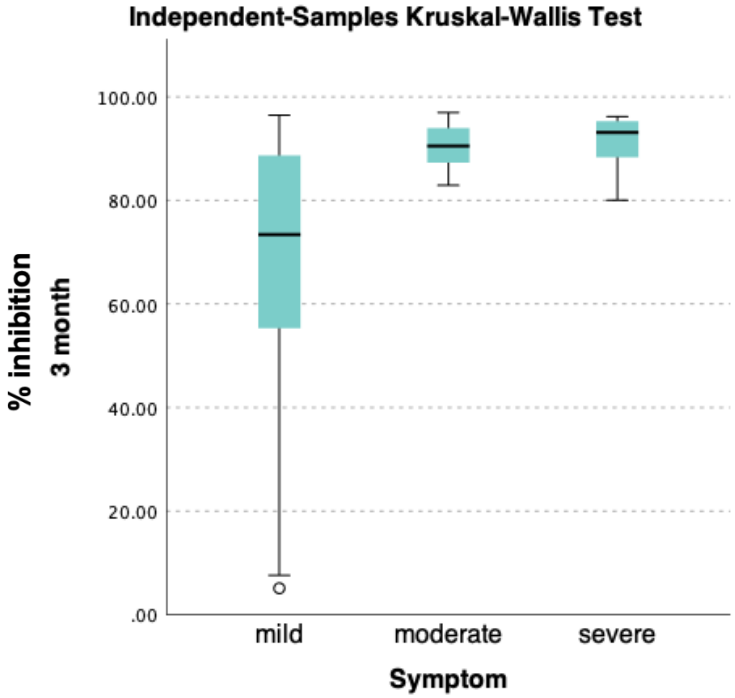
Comparison group	Test statistic	Standard error	Standard test statistic	Significance	Asymptotic significance
Mild-Severe	-13.250	4.950	-2.677	0.007	0.022
Mild-Moderate	-14.750	4.950	-2.980	0.003	0.009
Severe-Moderate	1.500	5.715	0.262	0.793	1.000

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

แผนภูมิที่ 5. การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับแอนติบอดีบล้างฤทธิ์ที่ 1 เดือนในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการน้อย อาการปานกลาง และอาการรุนแรง

ตารางที่ 4. การเปรียบเทียบ Pairwise comparison post-hoc test ของระดับแอนติบอดีบล้างฤทธิ์ที่ 1 เดือนในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความรุนแรงของโรคต่างกัน

Asymptotic significances (2-sided tests) ดังแสดง. ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.050



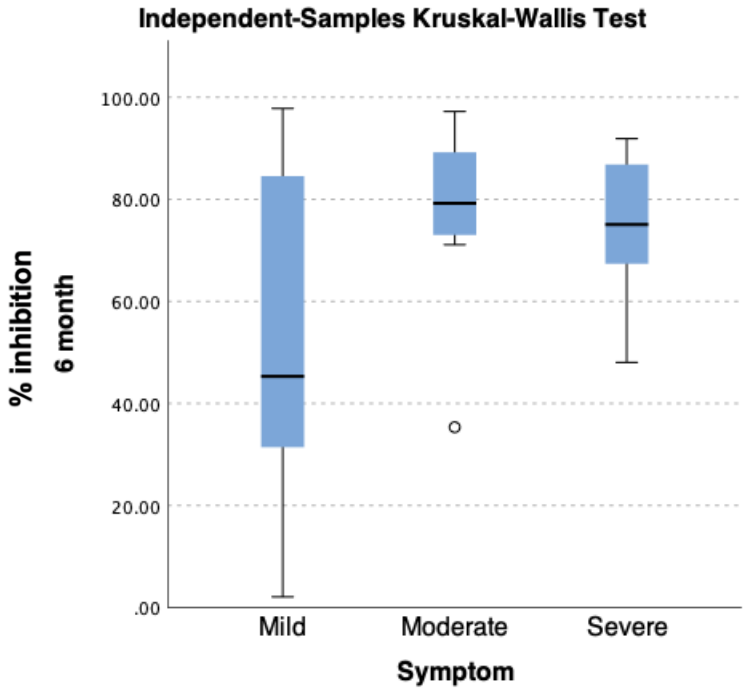
Comparison group	Test statistic	Standard error	Standard test statistic	Significance	Asymptotic significance
Mild-Severe	-13.917	4.950	-2.812	0.005	0.015
Mild-Moderate	-17.417	4.950	-3.519	<0.001	0.001
Severe-Moderate	-3.500	5.715	-0.612	0.540	1.000

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

แผนภูมิที่ 6. การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับแอนติบอดีบล้างฤทธิ์ที่ 3 เดือนในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการน้อย อาการปานกลาง และอาการรุนแรง

ตารางที่ 5. การเปรียบเทียบ Pairwise comparison post-hoc test ของระดับแอนติบอดีบล้างฤทธิ์ที่ 3 เดือนในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความรุนแรงของโรคต่างกัน

Asymptotic significances (2-sided tests) ดังแสดง ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.050



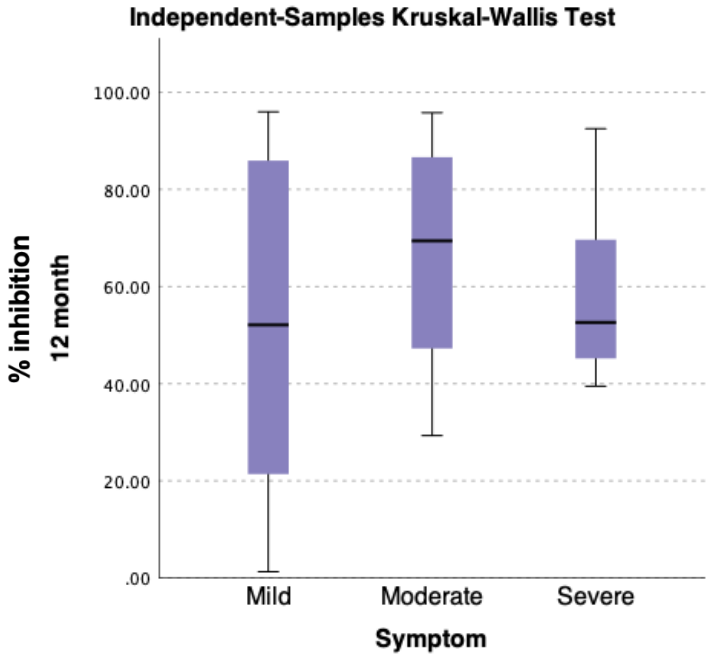
Comparison group	Test statistic	Standard error	Standard test statistic	Significance	Asymptotic significance
Mild-Severe	-13.250	4.950	-1.869	0.062	0.185
Mild-Moderate	-11.417	4.950	-2.307	0.021	0.043
Severe-Moderate	2.167	5.715	0.379	0.705	1.000

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

แผนภูมิที่ 7. การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับแอนติบอดีบล้างฤทธิ์ที่ 6 เดือนในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการน้อย อาการปานกลาง และอาการรุนแรง

ตารางที่ 6. การเปรียบเทียบ Pairwise comparison post-hoc test ของระดับแอนติบอดีบล้างฤทธิ์ที่ 6 เดือนในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความรุนแรงของโรคต่างกัน

Asymptotic significances (2-sided tests) ดังแสดง. ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.050



แผนภูมิที่ 8. การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับแอนติบอดีบล้างฤทธิ์ที่ 12 เดือนในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการน้อย อาการปานกลาง และอาการรุนแรง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

		%inhibition by sVNT	%inhibition by cVNT
%inhibition by sVNT	Pearson correlation (r)	1	0.963
	Significance(two-tailed)		0.003
	N	8	8
%inhibition by cVNT	Pearson correlation (r)	0.963	1
	Significance (two-tailed)	0.003	
	N	8	8

ตารางที่ 7. ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับ sVNT และ cVNT ของผู้ป่วยหลังจากหายป่วยจากโรคโควิด-19 หลังการหายป่วยที่ระยะเวลาเท่ากัน

Variable	Unstandardized Coeficients		Standardized Coeficients	t	Significance
	Beta	Standard error	Beta		
Constant	74.988	4.981		15.054	<0.05
Age	0.752	7.600	0.016	0.099	0.922
Sex	5.079	5.352	0.133	0.949	0.348
Disease severity	9.362	3.394	0.412	2.759	0.008

ตารางที่ 8. การวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นถึงอิทธิพลของตัวแปรต่าง ๆ ต่อระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่ 1 เดือน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Variable	Unstandardized Coeficients		Standardized Coeficients	t	Significance
	Beta	Standard error	Beta		
Constant	63.522	5.245		12.112	<0.05
Age	2.331	8.002	0.044	0.291	0.772
Sex	8.834	5.634	0.205	1.568	0.124
Disease severity	12.972	3.573	0.506	3.630	0.050

ตารางที่ 9. การวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นถึงอิทธิพลของตัวแปรต่าง ๆ ต่อระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่ 3 เดือน

Variable	Unstandardized Coeficients		Standardized Coeficients	t	Significance
	Beta	Standard error	Beta		
Constant	45.075	6.916		6.517	<0.05
Age	3.288	9.450	0.049	0.348	0.730
Sex	14.545	7.407	0.264	1.964	0.56
Disease severity	13.579	4.666	0.415	2.910	0.006

ตารางที่ 10. การวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นถึงอิทธิพลของตัวแปรต่าง ๆ ต่อระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่ 6 เดือน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Variable	Unstandardized Coeficients		Standardized Coeficients	t	Significance
	Beta	Standard error	Beta		
Constant	32.026	10.894		2.940	<0.05
Age	6.887	13.897	0.106	0.496	0.624
Sex	25.950	11.035	0.427	2.352	0.270
Disease severity	6.144	7.596	0.180	0.809	0.426

ตารางที่ 11. การวิเคราะห์ถดถอยเชิงเส้นถึงอิทธิพลของตัวแปรต่าง ๆ ต่อระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่ 12 เดือน

ตารางที่ 12. ข้อมูลตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยที่ตรวจวัดระดับแอนติบอดีบล้างฤทธิ์ด้วยวิธี sVNT และ cVNT

Sample No.	sVNT (% inhibition)	cVNT (% inhibition)
1	24.84	0.00
2	94.15	77.59
3	45.92	0.00
4	98.12	80.75
5	96.84	83.97
6	96.50	95.49
7	97.75	75.52
8	98.18	73.36

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5

อภิปรายผล สรุปงานวิจัย และข้อเสนอแนะ

อภิปรายผล

การศึกษานี้เป็นการศึกษาระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยโควิด-19 รอบการระบาดแรกในประเทศไทย โดยผู้ป่วยในการศึกษาเป็นผู้ป่วยที่รับการรักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 จนถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2563 โดยติดตามระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์หลังจากผู้ป่วยหายจากโรคโควิด-19 ไปแล้ว 1 เดือน 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือน โดยการศึกษานี้เป็นการศึกษาที่ตรวจติดตามระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยโควิด-19 ที่มีระยะการติดตามนานที่สุดการศึกษาหนึ่ง และเป็นการศึกษาแรกในประเทศไทยที่ติดตามระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยชาวไทย โดยศึกษาการลดลงของระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยที่เคยติดเชื้อแล้วเมื่อเวลาผ่านไป เพื่อใช้คาดการณ์ระยะเวลาของภูมิคุ้มกันที่คงอยู่เพื่อป้องกันการติดเชื้อซ้ำ เป็นองค์ความรู้เพื่อนำไปให้คำแนะนำแก่ผู้ป่วยหลังจากหายป่วยแล้ว นอกจากนี้ยังเป็นองค์ความรู้ต่อยอดเพื่อพิจารณาให้วัคซีนเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันในกลุ่มประชากรที่มีอายุและความรุนแรงของโรคที่แตกต่างกัน

เนื่องจากในระยะเวลาที่ทำการเก็บข้อมูล วัคซีนโควิด-19 สามารถคิดค้นและพัฒนาได้สำเร็จ มีการให้บริการวัคซีนแก่ประชาชนชาวไทยทั้งประเทศตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564 โดยเริ่มจากกลุ่มบุคลากรทางการแพทย์ และกลุ่มประชากรที่มีความเสี่ยงสูง (กลุ่มสูงอายุและมีโรคประจำตัว) ต่อมาประชาชนทั่วไปสามารถเข้าถึงวัคซีนได้ตามความสมัครใจ ให้มีผู้ป่วยถึง 17 รายในงานวิจัยนี้ที่ได้รับวัคซีน ทำให้ทราบข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยที่หายแล้วและได้รับวัคซีน เทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนหลังจากการหายป่วยที่ 12 เดือน

ผู้ป่วยในการศึกษานี้ถูกจำแนกความรุนแรงตามนิยามขององค์การอนามัยโลกดังที่กล่าวไว้ในบทที่ 2 แต่เนื่องจากกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการวิกฤติมีจำนวนน้อย จึงรวมผู้ป่วยที่มีอาการวิกฤติอยู่ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง

การตรวจวัดระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยโควิด-19 ด้วยวิธี surrogate virus neutralization test ที่ใช้ทดสอบในงานวิจัยนี้อ้างอิงจากการศึกษาของ Tan และคณะ[1] ซึ่งทำการ

คิดค้นและพัฒนาในผู้ป่วยชาวจีน และสิงคโปร์ อย่างไรก็ตาม ศูนย์ความเป็นเลิศทางการแพทย์ โรคอุบัติใหม่ทางคลินิก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ได้นำวิธีการตรวจดังกล่าวมาศึกษาวิจัยในผู้ป่วยโรคโควิด-19 ที่เข้ารับการักษาที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ พบว่าความไวและความจำเพาะของการตรวจวัดระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยโควิด-19 ด้วยวิธี surrogate virus neutralization test มีค่าเท่ากับ 99% (ช่วงความเชื่อมั่น 95% (94.4–100%)) และ 100% (ช่วงความเชื่อมั่น 95% (98.3–100%)) ตามลำดับ[40] ซึ่งได้ผลใกล้เคียงกับการศึกษาของ Tan และคณะ[1] และการศึกษานี้ได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่าง sVNT ที่ใช้ในงานวิจัย และ cVNT ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของทั้ง 2 กลุ่มมีความสัมพันธ์กัน ด้วยระดับความสัมพันธ์ที่สูงมาก สอดคล้องกับข้อมูลในการศึกษาของ Tan และคณะอีกเช่นกัน

จากองค์ความรู้ในปัจจุบัน ภูมิคุ้มกันและการตอบสนองของร่างกายต่อไวรัส SARS-CoV-2 เกิดจากการทำงานโดยใช้ทั้งการตอบสนองภูมิคุ้มกันโดยใช้สารน้ำ(humeral immune response) และการตอบสนองชนิดพึ่งเซลล์(cellular immune response) ปัจจัยที่สำคัญที่ต้องคำนึงคือถูมิคุ้มกันจะมีค่าลดลง ตามระยะเวลาผ่านไปหลังจากเป็นโรค[41, 42] ดังที่ปรากฏในผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัส SARS-CoV และ MERS-CoV [43, 44] การศึกษาของ Kai Wang และคณะ [45] ทำการวัดระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยโควิด-19 พบว่าที่ 1 สัปดาห์หลังจากเริ่มมีอาการ ระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์จะยังมีค่าต่ำ และระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์จะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และมากที่สุดที่ 33 วัน หลังจากมีอาการ จากนั้นระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์จะค่อย ๆ ลดลงตลอดระยะเวลา 3 เดือนที่ทำการติดตามผู้ป่วย นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์สามารถตรวจพบได้นานถึง 448 วัน หลังจากมีอาการในผู้ป่วยโควิด-19 ที่มีอาการรุนแรง [46]

มีการศึกษาระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยโควิด-19 พบว่าผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง จะสามารถตรวจพบแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ได้เร็วกว่า และมีระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์อยู่ยาวนานกว่าผู้ป่วยที่มีอาการไม่รุนแรง แต่ไม่พบความแตกต่างของระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในกลุ่มผู้ป่วยที่อายุ เพศ และการรักษาที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีการเก็บรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยโควิด-19 รอบการระบาดที่ 1-3 พบว่าผู้ป่วยที่ป่วยเป็นโรคโควิด-19 ในระลอกแรกมีอัตรการติดเชื้อซ้ำในระลอกที่ 2 และ 3 น้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อในระลอกที่ 2 และ 3 ที่ไม่เคยติดเชื้อมาก่อน ข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าผู้ป่วยที่ติดเชื้อโควิด-19 จะมีภูมิคุ้มกันในการป้องกันการติดเชื้ออยู่ได้นาน และยังคงป้องกันได้แม้ไวรัสจะมีการเปลี่ยนสายพันธุ์ไปแล้วก็ตาม แม้ภูมิคุ้มกันที่ใช้ในการตอบสนอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ต่อการติดเชื้อโควิด-19 จะมีอยู่หลายกลไกด้วยกัน แต่แอนติบอดีลบล้างฤทธิ์เป็นหนึ่งในภูมิคุ้มกันของร่างกายที่มีผลป้องกันการติดเชื้อ [49]

ผลของการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้า โดยแสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยที่มีอาการปานกลาง และผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง มีระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่สูงกว่าผู้ป่วยที่มีอาการน้อย และยังสามารถตรวจพบได้แม้จะหายป่วยมาแล้วมากกว่า 1 ปี [46-52]

มีการศึกษาหลายการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยอายุมากจะมีระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่สูงกว่าผู้ป่วยที่อายุน้อย[53] [54] ผลของการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยที่อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 50 ปี มีค่ามากกว่าระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ในผู้ป่วยที่อายุน้อยกว่า 50 ปี ในทุกช่วงเวลาที่ทำการเก็บข้อมูล แม้จะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผู้วิจัยมีความเห็นว่าการศึกษาในอนาคตที่รวบรวมจำนวนผู้ป่วยที่มากกว่านี้น่าจะสามารถแยกความแตกต่างได้ อย่างไรก็ตาม ข้อมูลจากการศึกษานี้สนับสนุนให้ผู้ป่วยทุกรายที่เป็นโควิด-19 มาแล้วรับวัคซีนเข็มกระตุ้นในทุกช่วงอายุ

ระยะเวลาที่ภูมิคุ้มกันตกลงจนต่ำกว่าระดับที่สามารถป้องกันโรคได้มีความสำคัญต่อการวางแผนการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อซ้ำ ยิ่งระยะเวลาผ่านไปนานขึ้น ระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์จะมีค่าลดลง การได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้นในเวลาที่เหมาะสมจึงมีบทบาทในการป้องกันการติดเชื้อซ้ำได้ [55] อย่างไรก็ตามเชื้อไวรัสสายพันธุ์ใหม่ ๆ มีการกลายพันธุ์ไปต่างจากไวรัสสายพันธุ์ก่อน และมีความสามารถในการหลบหลีกภูมิคุ้มกันของร่างกายได้มากขึ้น [56] [57] [58] การศึกษาเพิ่มเติมถึงกลไกระดับโมเลกุลจะทำให้เรามีความเข้าใจต่อไวรัสสายพันธุ์ใหม่ ๆ มากขึ้น และช่วยให้คิดค้นยาและวัคซีนมารักษาและป้องกันโรคโควิด-19 ได้ต่อไป

การศึกษานี้ ผู้จัดทำเล็งเห็นถึงข้อจำกัดอยู่หลายประการ ประการแรก ระยะเวลาตั้งแต่ผู้ป่วยเริ่มป่วยจนถึงวันที่นัดผู้ป่วยแต่ละรายมาทำการเจาะเลือด ไม่ได้มีค่าเท่ากัน เนื่องจากผู้ป่วยแต่ละรายมีอาการเริ่มต้นต่างวันกัน เป็นไปได้ยากที่จะนัดผู้ป่วยแต่ละรายมาติดตามการรักษาหลังจากหายป่วยที่ 1 เดือน 3 เดือน 6 เดือน และ 12 เดือนอย่างพอดี ประการที่สอง การติดตามผู้ป่วยที่ 6 เดือน และ 12 เดือน มีผู้ป่วยขาดนัดค่อนข้างมาก ส่วนหนึ่งเป็นเพราะมีการระบาดของโควิด-19 ระลอกที่ 2 และ 3 อย่างต่อเนื่อง ด้วยนโยบายการแยกตัวอยู่บ้านของทางรัฐ และมาตรการการลดจำนวนการตรวจผู้ป่วยนอกที่ไม่มีความเร่งด่วนของทางโรงพยาบาล และความกังวลในการติดเชื้อซ้ำของผู้ป่วย ล้วนแต่

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เป็นปัจจัยที่ประกอบกันทำให้ผู้ป่วยมาติดตามอาการตามนัดลดลง ข้อมูลที่ลดลงจึงอาจไม่สามารถแสดงความแตกต่างของข้อมูลได้ดีเท่าที่ควร ประการที่สาม การศึกษานี้ทำในผู้ป่วยโควิด-19 ระลอกแรก ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจึงเป็นข้อมูลที่อ้างสำหรับโรคโควิด-19 จากไวรัสสายพันธุ์ดั้งเดิม ความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ กับไวรัสสายพันธุ์ใหม่อาจมีค่าที่แตกต่างออกไป และในระยะแรกที่ทางศูนย์โรคอุบัติใหม่ทางคลินิก โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ได้เริ่มดูแลผู้ป่วยโรคโควิด-19 ได้เผชิญกับข้อจำกัดต่าง ๆ มากมาย ทำให้ข้อมูลพื้นฐานหลายอย่างไม่สามารถรวบรวมมาได้ เช่น น้ำหนักตัวของผู้ป่วย ณ วันที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล นอกจากนี้ เนื่องจากผู้ป่วยโควิด-19 ระลอกแรก มักเป็นผู้ป่วยอายุน้อยวัยทำงาน ไม่มีโรคประจำตัวมากนัก ไม่มีผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันผิดปกติ ซึ่งเป็นปัจจัยทำให้เกิดโรคที่มีความรุนแรงได้ การศึกษาในอนาคตที่รวบรวมข้อมูลผู้ป่วยที่มากและหลากหลายมากขึ้น น่าจะช่วยให้เข้าใจเกี่ยวกับการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อโควิด-19 ได้มากขึ้น

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ยังคงตรวจพบได้นานกว่า 12 เดือน หลังจากผู้ป่วยเป็นโรคโควิด-19 โดยผู้ป่วยที่มีความรุนแรงของโรคปานกลางและรุนแรง จะมีระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์มากกว่าผู้ป่วยที่มีอาการน้อยอย่างมีนัยสำคัญ ผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่าหรือเท่ากับ 50 มีมีแนวโน้มของระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์มากกว่าผู้ป่วยที่มีอายุน้อยกว่า 50 ปี แต่ยังไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ข้อดีของการศึกษานี้

การศึกษานี้เป็นการศึกษาในประเทศไทยที่ตรวจวัดระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ด้วยวิธี sVNT หลังจากเป็นโรคโควิด-19 โดยมีระยะเวลาการติดตามนานถึง 12 เดือนหลังจากป่วย

ข้อด้อยของการศึกษานี้

เนื่องจากเป็นการเก็บข้อมูลผู้ป่วยโควิด-19 ระลอกแรก จึงยังมีจำนวนผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาไม่มากนัก อีกทั้งผู้ป่วยส่วนมากที่ได้รับเชื้อโควิด-19 ระลอกแรกเป็นกลุ่มประชาชนอายุน้อย โรคประจำตัวค่อนข้างน้อย จึงได้จำนวนและความหลากหลายของผู้ป่วยที่ไม่มาก

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษา พบว่าข้อมูลของผู้ป่วยมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ จึงควรเพิ่มประชากรที่เข้าร่วมการศึกษา โดยประชากรที่เข้าร่วมการศึกษาควรมีจำนวนผู้ป่วยที่มีโรคประจำตัวเพิ่มขึ้นด้วย เพื่อให้เห็นข้อมูลระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ว่ามีความสัมพันธ์กับโรคประจำตัวต่าง ๆ หรือไม่อย่างไร

ระยะเวลาที่นัดผู้ป่วยมาเจาะเลือด หากเป็นไปได้ควรกำหนดวันที่ผู้ป่วยแต่ละรายมาเจาะเลือด นับจากวันแรกที่มีอาการเป็นวันที่ 1 เพื่อให้ระดับแอนติบอดีลบล้างฤทธิ์ที่มาเจาะตรงกับ 1, 3, 6 และ 12 เดือน พอดี แต่เนื่องจากความพร้อมทางด้านบุคลากรและสถานที่ ทำให้ทางทีมผู้จัดทำจะเป็นต้องนัดหมายผู้ป่วยที่มีช่วงเวลาที่ป่วยใกล้เคียงกัน มาเจาะเลือดพร้อมกัน

เนื่องจากจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับวัคซีนแต่ละชนิดมีน้อยมาก ทางผู้จัดทำจึงไม่ได้นำข้อมูลระดับแอนติบอดีหลังจากได้วัคซีนแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบหาความแตกต่างเพิ่มเติม ในการศึกษาครั้งนี้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บรรณานุกรม

1. Tan CW, Chia WN, Qin X, Liu P, Chen MI, Tiu C, et al. A SARS-CoV-2 surrogate virus neutralization test based on antibody-mediated blockage of ACE2-spike protein-protein interaction. Nat Biotechnol. 2020;38(9):1073-8.

2. Bond K, Nicholson S, Lim S, Karapanagiotidis T, Williams E, Johnston D, et al. Evaluation of serological tests for SARS-CoV-2: Implications for serology testing in a low-prevalence setting. J Infect Dis. 2020.

3. Organization WH. Country & technical guidance - coronavirus disease(COVID-19) Geneva2020 [Available from: https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance.

4. Qiu C, Huang Y, Zhang A, Tian D, Wan Y, Zhang X, et al. Safe pseudovirus-based assay for neutralization antibodies against influenza A(H7N9) virus. Emerg Infect Dis. 2013;19(10):1685-7.

5. Nie J, Li Q, Wu J, Zhao C, Hao H, Liu H, et al. Establishment and validation of a pseudovirus neutralization assay for SARS-CoV-2. Emerg Microbes Infect. 2020;9(1):680-6.

6. Lau SK, Woo PC, Li KS, Huang Y, Tsoi H-W, Wong BH, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102(39):14040-5.

7. Guan Y, Zheng B, He Y, Liu X, Zhuang Z, Cheung C, et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. Science. 2003;302(5643):276-8.

8. Forni D, Cagliani R, Clerici M, Sironi M. Molecular evolution of human coronavirus genomes. Trends Microbiol. 2017;25(1):35-48.

9. Zumla A, Hui DS, Perlman S. Middle East respiratory syndrome. Lancet. 2015;386(9997):995-1007.

10. Wang C, Horby PW, Hayden FG, Gao GF. A novel coronavirus outbreak of global health concern. Lancet. 2020;395(10223):470-3.

11. Peiris JS, Lai ST, Poon LL, Guan Y, Yam LY, Lim W, et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. Lancet. 2003;361(9366):1319-25.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

12. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. nature. 2020;579(7798):270-3.

13. of the International CSG. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. Nature Microbiology. 2020;5(4):536.

14. Setti L, Passarini F, De Gennaro G, Barbieri P, Perrone MG, Borelli M, et al. Airborne Transmission Route of COVID-19: Why 2 Meters/6 Feet of Inter-Personal Distance Could Not Be Enough. Int J Environ Res Public Health. 2020;17(8).

15. Wei WE, Li Z, Chiew CJ, Yong SE, Toh MP, Lee VJ. Presymptomatic Transmission of SARS-CoV-2—Singapore, January 23–March 16, 2020. Morbidity and Mortality Weekly Report. 2020;69(14):411.

16. [The epidemiological characteristics of an outbreak of 2019 novel coronavirus diseases (COVID-19) in China]. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 2020;41(2):145-51.

17. Alqahtani JS, Oyelade T, Aldhahir AM, Alghamdi SM, Almehmadi M, Alqahtani AS, et al. Prevalence, Severity and Mortality associated with COPD and Smoking in patients with COVID-19: A Rapid Systematic Review and Meta-Analysis. PLoS One. 2020;15(5):e0233147.

18. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020;395(10223):497-506.

19. Spinato G, Fabbris C, Polesel J, Cazzador D, Borsetto D, Hopkins C, et al. Alterations in Smell or Taste in Mildly Symptomatic Outpatients With SARS-CoV-2 Infection. Jama. 2020;323(20):2089-90.

20. Tong JY, Wong A, Zhu D, Fastenberg JH, Tham T. The Prevalence of Olfactory and Gustatory Dysfunction in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. Otolaryngol Head Neck Surg. 2020;163(1):3-11.

21. Giacomelli A, Pezzati L, Conti F, Bernacchia D, Siano M, Oreni L, et al. Self-reported Olfactory and Taste Disorders in Patients With Severe Acute Respiratory Coronavirus 2 Infection: A Cross-sectional Study. Clin Infect Dis. 2020;71(15):889-90.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

22. Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, Kimball A, James A, Jacobs JR, et al. Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. N Engl J Med. 2020;382(22):2081-90.

23. McMichael TM, Currie DW, Clark S, Pogosjans S, Kay M, Schwartz NG, et al. Epidemiology of Covid-19 in a Long-Term Care Facility in King County, Washington. N Engl J Med. 2020;382(21):2005-11.

24. Tay HS, Harwood R. Atypical presentation of COVID-19 in a frail older person. Age Ageing. 2020;49(4):523-4.

25. Chan JF, Kok KH, Zhu Z, Chu H, To KK, Yuan S, et al. Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. Emerg Microbes Infect. 2020;9(1):221-36.

26. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. J Med Virol. 2020;92(4):418-23.

27. 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.

28. Wang N, Shang J, Jiang S, Du L. Subunit Vaccines Against Emerging Pathogenic Human Coronaviruses. Front Microbiol. 2020;11:298.

29. Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo C, Aihara H, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. Nature. 2020;581(7807):221-4.

30. Gaunt ER, Hardie A, Claas EC, Simmonds P, Templeton KE. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. J Clin Microbiol. 2010;48(8):2940-7.

31. Rheem I, Park J, Kim T-H, Kim JW. Evaluation of a multiplex real-time PCR assay for the detection of respiratory viruses in clinical specimens. Ann Lab Med. 2012;32(6):399-406.

32. Van Elden LJ, Anton M AM, Van Alphen F, Hendriksen KA, Hoepelman AI, Van Kraaij MG, et al. Frequent detection of human coronaviruses in clinical specimens from patients with respiratory tract infection by use of a novel real-time reverse-transcriptase polymerase chain reaction. J Infect Dis. 2004;189(4):652-7.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

33. Tang YW, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges. J Clin Microbiol. 2020;58(6).

34. Peiris JSM, Chu C-M, Cheng VC-C, Chan K, Hung I, Poon LL, et al. Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. Lancet. 2003;361(9371):1767-72.

35. Cameron MJ, Ran L, Xu L, Danesh A, Bermejo-Martin JF, Cameron CM, et al. Interferon-mediated immunopathological events are associated with atypical innate and adaptive immune responses in patients with severe acute respiratory syndrome. J Virol. 2007;81(16):8692-706.

36. Nie J, Li Q, Wu J, Zhao C, Hao H, Liu H, et al. Establishment and validation of a pseudovirus neutralization assay for SARS-CoV-2. Emerg Microbes Infect. 2020;9(1):680-6.

37. Addetia A, Crawford KHD, Dingens A, Zhu H, Roychoudhury P, Huang ML, et al. Neutralizing Antibodies Correlate with Protection from SARS-CoV-2 in Humans during a Fishery Vessel Outbreak with a High Attack Rate. J Clin Microbiol. 2020;58(11).

38. Crawford KHD, Eguia R, Dingens AS, Loes AN, Malone KD, Wolf CR, et al. Protocol and Reagents for Pseudotyping Lentiviral Particles with SARS-CoV-2 Spike Protein for Neutralization Assays. Viruses. 2020;12(5).

39. Meyer B, Reimerink J, Torriani G, Brouwer F, Godeke GJ, Yerly S, et al. Validation and clinical evaluation of a SARS-CoV-2 surrogate virus neutralisation test (sVNT). Emerg Microbes Infect. 2020;9(1):2394-403.

40. 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.

41. Luo YR, Chakraborty I, Yun C, Wu AHB, Lynch KL. Kinetics of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Antibody Avidity Maturation and Association with Disease Severity. Clin Infect Dis. 2021;73(9):e3095-e7.

42. Marot S, Malet I, Leducq V, Zafilaza K, Sterlin D, Planas D, et al. Rapid decline of neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 among infected healthcare workers. Nat Commun. 2021;12(1):844.

43. Zhang JS, Chen JT, Liu YX, Zhang ZS, Gao H, Liu Y, et al. A serological survey on neutralizing antibody titer of SARS convalescent sera. J Med Virol. 2005;77(2):147-50.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

44. Ko JH, Seok H, Cho SY, Ha YE, Baek JY, Kim SH, et al. Challenges of convalescent plasma infusion therapy in Middle East respiratory coronavirus infection: a single centre experience. Antivir Ther. 2018;23(7):617-22.

45. Wang K, Long QX, Deng HJ, Hu J, Gao QZ, Zhang GJ, et al. Longitudinal Dynamics of the Neutralizing Antibody Response to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infection. Clin Infect Dis. 2021;73(3):e531-e9.

46. Lau EHY, Tsang OTY, Hui DSC, Kwan MYW, Chan WH, Chiu SS, et al. Neutralizing antibody titres in SARS-CoV-2 infections. Nat Commun. 2021;12(1):63.

47. Legros V, Denolly S, Vogrig M, Boson B, Siret E, Rigaill J, et al. A longitudinal study of SARS-CoV-2-infected patients reveals a high correlation between neutralizing antibodies and COVID-19 severity. Cell Mol Immunol. 2021;18(2):318-27.

48. Trinité B, Tarrés-Freixas F, Rodon J, Pradenas E, Urrea V, Marfil S, et al. SARS-CoV-2 infection elicits a rapid neutralizing antibody response that correlates with disease severity. Sci Rep. 2021;11(1):2608.

49. Gallais F, Gantner P, Bruel T, Velay A, Planas D, Wendling MJ, et al. Evolution of antibody responses up to 13 months after SARS-CoV-2 infection and risk of reinfection. EBioMedicine. 2021;71:103561.

50. Capetti AF, Borgonovo F, Mileto D, Gagliardi G, Mariani C, Lupo A, et al. One-year durability of anti-spike IgG to SARS-CoV-2: Preliminary data from the anticrown prospective observational study one year durability of COVID-19 anti-spike IgG. J Infect. 2021;83(2):237-79.

51. Choe PG, Kang CK, Kim KH, Yi J, Kim ES, Park SW, et al. Persistence of Neutralizing Antibody Response up to 1 Year After Asymptomatic or Symptomatic SARS-CoV-2 Infection. J Infect Dis. 2021;224(6):1097-9.

52. Savage HR, Santos VS, Edwards T, Giorgi E, Krishna S, Planche TD, et al. Prevalence of neutralising antibodies against SARS-CoV-2 in acute infection and convalescence: A systematic review and meta-analysis. PLoS Negl Trop Dis. 2021;15(7):e0009551.

53. Yang HS, Costa V, Racine-Brzostek SE, Acker KP, Yee J, Chen Z, et al. Association of Age With SARS-CoV-2 Antibody Response. JAMA Netw Open. 2021;4(3):e214302.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

54. Vanshylla K, Di Cristanziano V, Kleipass F, Dewald F, Schommers P, Gieselmann L, et al. Kinetics and correlates of the neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans. Cell Host Microbe. 2021;29(6):917-29.e4.

55. Ibarrondo FJ, Hofmann C, Ali A, Ayoub P, Kohn DB, Yang OO. Previous Infection Combined with Vaccination Produces Neutralizing Antibodies with Potency against SARS-CoV-2 Variants. mBio. 2021;12(6):e0265621.

56. Gu W, Gan H, Ma Y, Xu L, Cheng ZJ, Li B, et al. The molecular mechanism of SARS-CoV-2 evading host antiviral innate immunity. Virol J. 2022;19(1):49.

57. Lazarevic I, Pravica V, Miljanovic D, Cupic M. Immune Evasion of SARS-CoV-2 Emerging Variants: What Have We Learnt So Far? Viruses. 2021;13(7).

58. Araf Y, Akter F, Tang YD, Fatemi R, Parvez MSA, Zheng C, et al. Omicron variant of SARS-CoV-2: Genomics, transmissibility, and responses to current COVID-19 vaccines. J Med Virol. 2022.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ฐาปกรณ์ ศิระวัฒนชัย
วัน เดือน ปี เกิด	28 สิงหาคม 2535
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	ประวัติการศึกษาและการทำงาน พ.ศ.2554- 2559 นักศึกษาคณะแพทยศาสตร์โรงพยาบารามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล พ.ศ.2559 - 2560 แพทย์เพิ่มพูนทักษะ โรงพยาบาลสุราษฎร์ธานี พ.ศ.2561 - 2563 แพทย์ประจำบ้านสาขาอายุศาสตร์ โรงพยาบาลสุราษฎร์ธานี พ.ศ.2563 - ปัจจุบัน แพทย์ประจำบ้านต่อยอด สาขา;วิชาโรคติดเชื้อ ภาควิชาอายุศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปริญญาและประกาศนียบัตร พ.ศ.2559 แพทยศาสตร์บัณฑิต พ.ศ.2563 วุฒิบัตรผู้มีความรู้ความชำนาญประกอบวิชาชีพเวชกรรม สาขาอายุรศาสตร
ที่อยู่ปัจจุบัน	38 ถนนบางแวก แขวงบางไผ่ เขตบางแค กทม. 10160

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University