

ฉบับแปลไทย (Thai Translations)

Neutralizing immunity in vaccine breakthrough infections from the SARS-CoV-2 Omicron and Delta variants

<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2022.01.25.22269794v1.full>

ภูมิคุ้มกันชนิดลบล้างฤทธิ์ (neutralizing immunity) ในการติดเชื้อหลังจากได้รับวัคซีน (vaccine breakthrough infections) จากไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์โอมิครอนและสายพันธุ์เดลต้า

สรุปผลการวิจัย (Summary)

การตรวจวิเคราะห์อนุภาคไวรัสเสมือน (virus-like particle) และเชื้อไวรัสที่มีชีวิต (live virus) ถูกใช้ในการศึกษาภูมิคุ้มกันชนิดลบล้างฤทธิ์ (neutralizing immunity) ต่อไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ (กลายพันธุ์) เดลต้าและโอมิครอนในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจำนวน 239 ตัวอย่างจากผู้ที่ได้รับวัคซีนอย่างครบถ้วน (fully vaccinated) จำนวน 125 คน ในผู้ที่ไม่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (non-boosted) และไม่มีอาการติดเชื้อค่าไตเตอร์ของภูมิคุ้มกันลบล้างฤทธิ์สำหรับอนุภาคไวรัสเสมือน (VLP neutralization titers) ต่อสายพันธุ์ (กลายพันธุ์) เดลต้าและโอมิครอนมีการลดลง 2.7 เท่า และ 15.4 เท่าตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ป่า (wild-type) ในขณะที่ผู้ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (n=23) มีค่าไตเตอร์ที่เพิ่มสูงขึ้น 18 เท่า การติดเชื้อสายพันธุ์ เดลต้าหลังจากที่ได้รับวัคซีน (breakthrough infections) (n=39) มีค่าไตเตอร์ 57 เท่าและ 3.1 เท่า ในขณะที่การติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากที่ได้รับวัคซีน (n=14) มีค่าไตเตอร์ 5.8 เท่าและ 0.32 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่ไม่ได้ติดเชื้อที่ไม่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (non-boosted) และผู้ที่ไม่ได้ติดเชื้อที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) ตามลำดับ ความแตกต่างของค่าไตเตอร์ (p=0.049) มีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันกับสัดส่วนที่เพิ่มสูงขึ้นของการติดเชื้อที่มีการปานกลางจนถึงอาการรุนแรงในกลุ่มที่ติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้า (p=0.014) สหสัมพันธ์ (correlation) ของค่าไตเตอร์ของภูมิคุ้มกันชนิดลบล้างฤทธิ์และค่าไตเตอร์ของภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อหนามไวรัสในเชิงปริมาณมีการลดลงสำหรับสายพันธุ์เดลต้าหรือโอมิครอนเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ป่า (wild-type) แอนติบอดีชนิดลบล้างฤทธิ์ (neutralizing antibodies) ในการติดเชื้อหลังจากที่ได้รับวัคซีนสำหรับสายพันธุ์เดลต้าและโอมิครอนมีการเพิ่มสูงขึ้นโดยรวม แต่มีขนาดหรือปริมาณของการเพิ่มขึ้นเชิงสัมพัทธ์ที่มากกว่าในการติดเชื้อที่มีความรุนแรงทางคลินิก มากกว่าและกับสายพันธุ์ (กลายพันธุ์) ที่ทำให้เกิดเชื้อโดยเฉพาะ (specific infecting variant)

บทนำ (Introduction)

สายพันธุ์ (กลายพันธุ์) ต่าง ๆ ที่เป็นที่กังวล (variants of concern) ได้มีการอุบัติขึ้นอยู่ตลอดเวลาในช่วงการแพร่ระบาดของโรคโควิด 19 ซึ่งเป็นสาเหตุของการติดเชื้อหลายระลอก (Dyson และคณะ, พ.ศ. 2564) สายพันธุ์ (กลายพันธุ์) โอมิครอน (B.1.1.529) ได้มีการแสดงให้เห็นว่าสามารถแพร่กระจายเชื้อได้ง่ายอย่างมาก และมี susceptibility ลดลงต่อแอนติบอดีชนิด therapeutic monoclonal และแอนติบอดีชนิดลบล้างฤทธิ์ที่ได้รับจากการได้รับการฉีดวัคซีนหรือจากการติดเชื้อมาก่อน (Flemming, พ.ศ. 2565; VanBlargan และคณะ, พ.ศ. 2564) มีความเป็นไปได้ว่าลักษณะพิเศษเฉพาะเหล่านี้มีสาเหตุมาจากการกลายพันธุ์เป็นจำนวนมากของโปรตีนหนามของไวรัส (n=30) (Cao และคณะ, พ.ศ. 2564) จนถึงช่วงต้นเดือนมกราคม พ.ศ. 2565 สายพันธุ์โอมิครอนได้มีการแพร่กระจายจนกลายเป็นสายพันธุ์ (lineage) ที่โดดเด่นซึ่งแพร่กระจายออกไปทั่วโลกท่ามกลางการติดเชื้อในระดับที่สูงของสายพันธุ์เดลต้า (B.1.617.2) ก่อนหน้านั้น (Gangavarapu และคณะ, พ.ศ. 2563) การอุบัติเพิ่มขึ้นอย่างฉับพลันของสายพันธุ์โอมิครอนได้นำไปสู่การนำมาตรการต่าง ๆ ของการดำเนินการทางด้านสาธารณสุขกลับคืนมาเพื่อที่จะลดการแพร่กระจายเชื้อ ตลอดจนการมุ่งความสนใจไปที่การดำเนินการด้านการฉีดวัคซีนใหม่อีกครั้ง ถึงแม้ว่าในขณะที่มีหลักฐานที่น่าเชื่อถือได้ว่าสายพันธุ์โอมิครอนทำให้เกิดโรคที่มีอาการรุนแรงน้อยกว่าสายพันธุ์ไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ (กลายพันธุ์) อื่น ๆ ก็ตาม (Wolter และคณะ พ.ศ. 2565; Davies และคณะ พ.ศ. 2565)

การพัฒนาปฏิบัติการการตอบสนองของแอนติบอดีชนิดลบล้างฤทธิ์ (neutralizing antibody responses) ในการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าและสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากได้รับวัคซีนยังคงไม่ได้รับการศึกษาวิจัยเป็นส่วนใหญ่ ในการศึกษาวิจัยนี้เราได้ทำการประเมินปฏิบัติการการตอบสนองของแอนติบอดีชนิดลบล้างฤทธิ์ในผู้ที่ได้รับวัคซีนอย่างครบถ้วน (fully vaccinated) ซึ่งบางคนได้รับการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) และ/หรือป่วยเป็นโควิด 19 จากการติดเชื้อภายหลังจากการได้รับวัคซีน (breakthrough infection) ภูมิคุ้มกันลบล้างฤทธิ์ (neutralization) ได้รับการประเมินโดยใช้เทคนิควิธีการ 2 วิธีที่เป็นอิสระต่อกัน ซึ่งรวมเอาอนุภาคที่เหมือนกับไวรัส SARS-CoV-2 ซึ่งรวมเอา (incorporate) การกลายพันธุ์ทั้งหมดของสายพันธุ์โอมิครอนในส่วนหนาม nucleocapsid เมตริกซ์ และ fusion structural proteins เข้าด้วยกัน (Syed และคณะ พ.ศ. 2564; Syed และคณะ พ.ศ. 2565) หรือเชื้อไวรัสที่ยังมีชีวิตอยู่ (live virus) ในการตรวจวิเคราะห์ นอกจากนี้เรายังได้หาความสัมพันธ์ระหว่างผลที่ได้จากภูมิคุ้มกันลบล้างฤทธิ์ (neutralization results) กับระดับของแอนติบอดีที่จำเพาะต่อหนามของไวรัสในเชิงปริมาณ (quantitative spike antibody levels) และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าไตเตอร์ของแอนติบอดีชนิดลบล้างฤทธิ์ (neutralizing antibody titers) กับสายพันธุ์ที่ทำให้ติดเชื้อ (infecting variant) หรือความรุนแรงทางคลินิก (clinical severity) ของการติดเชื้อหลังจากได้รับวัคซีนอีกด้วย

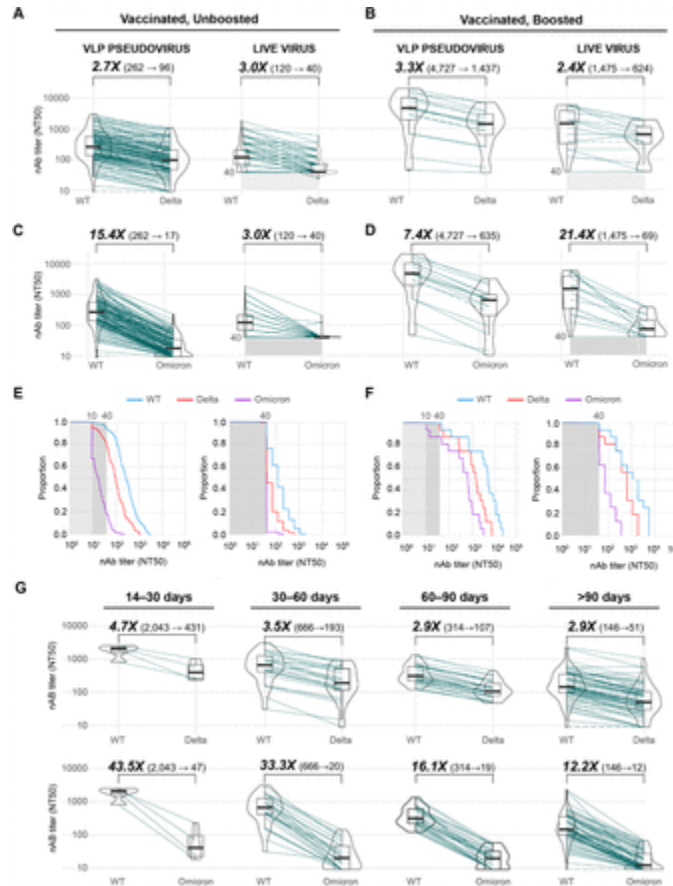
ผลที่ได้จากการศึกษาวิจัย (Results)

ระดับของแอนติบอดีชนิดลบล้างฤทธิ์ (neutralizing antibody) ในผู้ที่ได้รับวัคซีนมีการลดต่ำลงเรื่อย ๆ เมื่อเวลาผ่านไป และลดลงต่อเชื้อไวรัสสายพันธุ์ (กลายพันธุ์) เดลต้าและโอมิครอน

การตรวจวิเคราะห์ภูมิคุ้มกันลบล้างฤทธิ์สำหรับอนุภาคไวรัสเสมือน (VLP) และเชื้อไวรัสที่ยังมีชีวิต (live virus) ได้รับการดำเนินการควบคู่กันไปด้วย ตัวอย่างอาสาสมัครจำนวน 144 ตัวอย่างที่เก็บตัวอย่างจากอาสาสมัครจำนวน 81 คนในกลุ่มอาสาสมัครที่ลงทะเบียนเข้าร่วมในโครงการการศึกษาวิจัยในระยะยาว ซึ่งมีการเก็บข้อมูลแบบปีข้างหน้า (โครงการ UMPIRE หรือ “UCSF eMPLOYEE and community Immune REsponse study”) ซึ่งในจำนวนนี้มีอาสาสมัครจำนวน 18 คน (22.2%) ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (booster) และไม่มีใครในกลุ่มนี้ที่เคยมีการติดเชื้อมาก่อน เราเลือกตัวอย่างที่มีอยู่จากจุดเวลาเริ่มแรกสุดกับจุดเวลาล่าสุดซึ่งเก็บตัวอย่างจากอาสาสมัครแต่ละคนหลังจากได้รับวัคซีนเข็มหลังสุดตั้งแต่ 14 วันขึ้นไปสำหรับการทดสอบภูมิคุ้มกันลบล้างฤทธิ์ (neutralization testing) จำนวนวันที่เก็บตัวอย่าง (sample collection dates) สำหรับผู้ที่ได้รับวัคซีนครบ (fully vaccinated) และไม่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (non-boosted) (n=63) มีตั้งแต่ 14 วันจนถึง 305 วัน (ค่ากลางมัธยฐาน = 91 วัน) หลังจากเสร็จสิ้นชุดพื้นฐานของวัคซีน (primary vaccine series) จำนวน 2 เข็มสำหรับวัคซีนชนิด mRNA (BNT162b2 จากบริษัท Pfizer หรือชนิด mRNA-1273 จากบริษัท Moderna) หรือวัคซีนชนิด adenovirus vector จำนวน 1 เข็ม (Ad26.COV2.S จากบริษัท Johnson & Johnson) สำหรับผู้ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) (n=18) จำนวนวันที่เก็บตัวอย่างมีตั้งแต่ 2 วันจนถึง 74 วัน (ค่ากลางมัธยฐาน = 23 วัน) หลังจากได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (booster dose) โดยรวมแล้วค่าเฉลี่ย (มัธยฐาน) ของค่าไตเตอร์ของแอนติบอดีชนิดลบล้างฤทธิ์มีการลดลง 2.5 เท่าในการตรวจวิเคราะห์โดยใช้เชื้อไวรัสที่ยังมีชีวิต เมื่อเปรียบเทียบกับที่ใช้อนุภาคไวรัสเสมือน (VLP) (ภาพประกอบเสริม 1)

ในผู้ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (non-boosted vaccinated) ค่าเฉลี่ย (มัธยฐาน) ของค่าไตเตอร์ของแอนติบอดีชนิดลบล้างฤทธิ์ที่ใช้อนุภาคไวรัสเสมือน (VLP) ต่อสายพันธุ์เดลต้าและโอมิครอนเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ป่าซึ่งเป็นเชื้อไวรัสสายพันธุ์บรรพบุรุษ (WA-1) มีการลดลง 2.7 เท่า (262 >> 17 แสดงเป็นค่าไตเตอร์ NT50 หรือค่าไตเตอร์ที่จำเป็นในการลบล้างฤทธิ์ 50% ของปฏิบัติการของอนุภาคไวรัสเสมือน (VLP activity) และ 15.4 เท่า (262 >> 96) ตามลำดับ (ภาพประกอบ 1A และ B) ในการเปรียบเทียบค่าไตเตอร์ของภูมิคุ้มกันลบล้างฤทธิ์สำหรับเชื้อไวรัสที่ยังมีชีวิตทั้งต่อสายพันธุ์เดลต้าและต่อสายพันธุ์โอมิครอนมีการลดลง 3.0 เท่า (120 >> 40) โดยที่มีการลดลงน้อยกว่า (lower reduction) สำหรับสายพันธุ์โอมิครอน ซึ่งอธิบายได้จากขีดจำกัดในการตรวจหา (limit of detection) ที่สูงขึ้นสำหรับเชื้อไวรัสที่ยังมีชีวิต (NT50 = 40) เมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจวิเคราะห์ภูมิคุ้มกันลบล้างฤทธิ์สำหรับอนุภาคไวรัสเสมือน (NT50 = 10) จากการใช้อุณหภูมิไวรัสเสมือน (VLPs) สัดส่วนของผู้ที่มีระดับแอนติบอดีชนิดลบล้างฤทธิ์ต่อสายพันธุ์โอมิครอนเหนือค่า NT50 cutoff ที่เท่ากับ 40 มีอยู่ประมาณ 20% เปรียบเทียบกับประมาณ 80% และประมาณ 95% สำหรับสายพันธุ์เดลต้าและสายพันธุ์ป่าตามลำดับ (ภาพประกอบ 1C, ซ้าย) สัดส่วนที่สอดคล้องกันเมื่อใช้เชื้อไวรัสที่ยังมีชีวิตคือประมาณ 5% ประมาณ 45% และประมาณ 75% สำหรับสายพันธุ์โอมิครอน สายพันธุ์เดลต้า และสายพันธุ์ป่าตามลำดับ (ภาพประกอบ 1C, ขวา) ในผู้ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) ค่าไตเตอร์พื้นฐานสำหรับอนุภาคไวรัสเสมือน (baseline VLP titers) ต่อสายพันธุ์ป่าสูงกว่าในผู้ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (non-boosted) 18 เท่า (4,727 ต่อ 262) (ภาพประกอบ

1A, B, D, และ E, ซ้าย) และการลดลงของค่าไตเตอร์ต่อสายพันธุ์เดลต้าและสายพันธุ์โอมิครอนเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ปามีน้อยกว่าคืออยู่ที่ 3.3 เท่าและ 7.4 เท่าตามลำดับ (ภาพประกอบ 1D และ E, ซ้าย) การเพิ่มสูงขึ้นของค่าไตเตอร์ของภูมิคุ้มกันต้านทานลบข้างฤทธิ์สำหรับอนุภาคไวรัสเสมือน (VLP neutralization titers) สอดคล้องตรงกันมากกว่า 93% ของผู้ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) ที่มีแอนติบอดีชนิดลบข้างฤทธิ์ต่อทั้ง 3 สายพันธุ์เหนือค่า NT50 cutoff ที่ 40 (ภาพประกอบ 1F, ซ้าย) ในทางตรงกันข้ามค่าไตเตอร์ของภูมิคุ้มกันต้านทานลบข้างฤทธิ์สำหรับเชื้อไวรัสที่มีชีวิตในผู้ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) แสดงให้เห็นถึงการลดลง 21.4 เท่า ($1,475 \gg 69$) ของไตเตอร์ต่อสายพันธุ์โอมิครอนเมื่อเปรียบเทียบกับต่อสายพันธุ์ปามี (ภาพประกอบ 1E, ขวา) โดยที่มีเพียงประมาณ 62% ของผู้ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้นที่มีแอนติบอดีชนิดลบข้างฤทธิ์ต่อสายพันธุ์โอมิครอน (ภาพประกอบ 1F, ขวา) ค่าเฉลี่ย (มัธยฐาน) ของค่าไตเตอร์ของภูมิคุ้มกันต้านทานลบข้างฤทธิ์สำหรับอนุภาคไวรัสเสมือน (VLP neutralization titers) ต่อสายพันธุ์ปามีมีการลดลง 93% (14 เท่า, $2,043 \gg 146$) ในห้วงเวลามากกว่า 3 เดือนหลังจากได้รับวัคซีน โดยที่มีการลดลงของค่าไตเตอร์ต่อสายพันธุ์เดลต้าและสายพันธุ์โอมิครอนอยู่ที่ 2.9 - 4.7 เท่า และ 12.2 - 43.5 เท่าตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับต่อสายพันธุ์ปามี (ภาพประกอบ 1G)



ภาพประกอบ 1. ระดับของแอนติบอดีชนิดลบข้างฤทธิ์ในผู้ที่ได้รับวัคซีนอย่างครบถ้วน (fully vaccinated) และไม่มีการติดเชื้อ.

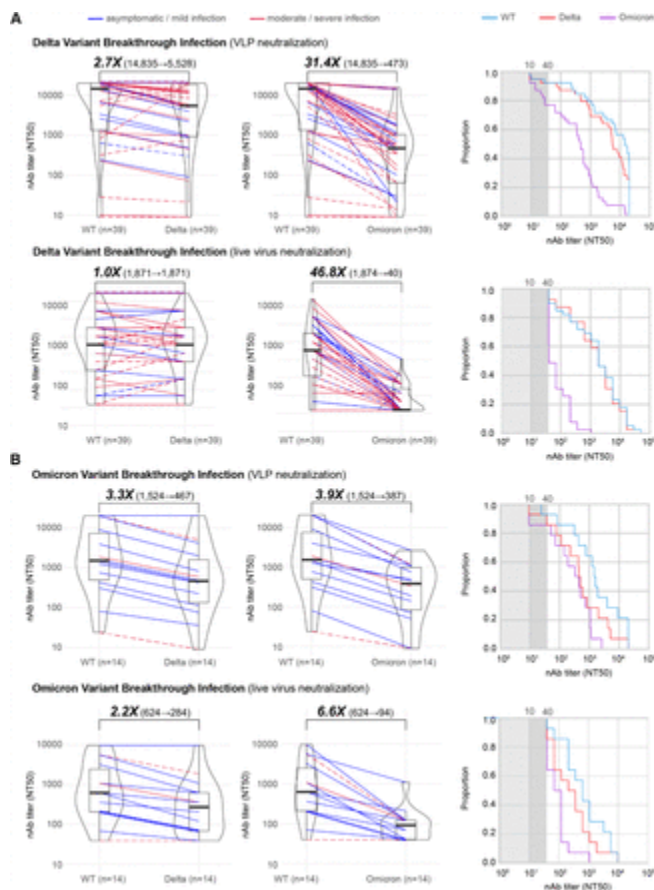
(A, B) กราฟแบบ Box-violin plots ที่แสดงถึงค่าไตเตอร์ของแอนติบอดีชนิดลบข้างฤทธิ์เฉลี่ย (ค่ากลางมัธยฐาน) เมื่อใช้การตรวจวิเคราะห์กับอนุภาคไวรัสเสมือน (ซ้าย) และกับเชื้อไวรัสที่มีชีวิต (ขวา) ที่จำเพาะต่อไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์รพบุรุษ (WA-1 หรือสายพันธุ์ปามี) และสายพันธุ์ (กลายพันธุ์) เดลต้าในผู้ที่ได้รับวัคซีน (vaccinated) แต่ไม่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (unboosted) (A) และในผู้ที่ได้รับวัคซีน (vaccinated) และได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) (B) (C, D) กราฟแบบ Box-violin plots ของค่าไตเตอร์ที่จำเพาะต่อสายพันธุ์ปามีและสายพันธุ์โอมิครอนในผู้ที่ได้รับวัคซีน (vaccinated) แต่ไม่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (unboosted) (C) และในผู้ที่ได้รับวัคซีน (vaccinated) และได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) (D) (E, F) กราฟของฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของค่าไตเตอร์ต่อสายพันธุ์ปามี สายพันธุ์เดลต้า และสายพันธุ์โอมิครอนเมื่อใช้การตรวจวิเคราะห์กับอนุภาคไวรัสเสมือน (ซ้าย) และกับเชื้อไวรัสที่มีชีวิต (ขวา) ในผู้ที่ได้รับวัคซีน (vaccinated) แต่ไม่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (unboosted) (E) และในผู้ที่ได้รับวัคซีน (vaccinated) และได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) (F) ซึ่งแสดงสัดส่วนของตัวอย่าง ณ ระดับค่าไตเตอร์นั้น ๆ หรือเหนือระดับค่าไตเตอร์นั้น ๆ (G) กราฟแบบ Longitudinal box-violin ของค่าไตเตอร์อนุภาคไวรัสเสมือน (VLP titers) ต่อสายพันธุ์เดลต้า (บน) และต่อสายพันธุ์โอมิครอน (ล่าง) ซึ่งแยกชั้น (stratified) โดยช่วงเวลา (time ranges) หลังจากเสร็จสิ้นชุดพื้นฐานของวัคซีน (primary vaccine series).

การติดเชื้อภายหลังการได้รับวัคซีน (breakthrough infection) ทำให้ระดับของแอนติบอดีชนิดลบล้างฤทธิ์พื้นฐาน (baseline neutralizing antibody levels) และภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อสายพันธุ์กลายพันธุ์ (variant-specific immunity) เพิ่มขึ้น

เพื่อที่จะศึกษาปฏิกิริยาการตอบสนองของแอนติบอดีชนิดลบล้างฤทธิ์และขอบเขต หรือปริมาณของภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ (cross-variant immunity) เราจึงได้ทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างพลาสมาจากผู้ป่วยจำนวน 53 คนที่ได้รับการยืนยันว่าติดเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ภายหลังการได้รับวัคซีน ในจำนวน 53 คนนี้ 28 คน และ 14 คนได้รับการระบุจากการตรวจวิเคราะห์ลำดับเบสของ DNA เชื้อไวรัสที่ได้มาทั้งจีโนม (whole-genome sequencing) ว่าติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าและโอมิครอนตามลำดับ สำหรับ 11 รายที่เหลือเราไม่สามารถระบุตัวสายพันธุ์ได้ เนื่องจากขาดตัวอย่าง swab จากทางเดินหายใจ หรือการครอบคลุมของจีโนม (genome coverage) ไม่เพียงพอสำหรับการระบุพันธุ์ที่ชัดเจน ผู้ป่วย 11 รายนี้ได้รับการสันนิษฐานว่าน่าจะติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้า เพราะได้รับการเก็บตัวอย่างในช่วงระหว่างวันที่ 30 กรกฎาคม ถึงวันที่ 1 ธันวาคม พ.ศ. 2564 ซึ่งเป็นช่วงที่สายพันธุ์เดลต้ามีสัดส่วนถึง 97.1 – 99.6% ของสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่กำลังระบาดในแคลิฟอร์เนีย (CDPH พ.ศ. 2565) ช่วงระยะห่าง (จำนวนวัน) ระหว่างการเก็บตัวอย่างไปจนถึงเริ่มแสดงอาการ (symptom onset) หรือมีผลการตรวจโดยวิธี PCR เป็นบวก (แล้วแต่ตัวอย่างไหนจะถึงก่อน) มีตั้งแต่ 1 วัน – 55 วัน (ค่ากลางมัธยฐาน = 15 วัน) ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อภายหลังการได้รับวัคซีนจำนวน 53 คนนี้มีอยู่ 28 ราย (52.8%) ที่ได้รับการเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลโดยที่มีอาการโควิด 19 ในระดับปานกลางจนถึงระดับร้ายแรง และมีอยู่ 13 ราย (24.5%) ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันอ่อนแอ (immunocompromised)

จากการใช้การตรวจวิเคราะห์กับอนุภาคไวรัสเสมือน (VLP) เราพบว่าการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าหลังจากที่ได้รับวัคซีน (n=39) ซึ่งมีอยู่ 5 รายที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น มีค่าไตเตอร์ของภูมิต้านทานลบล้างฤทธิ์พื้นฐานต่อสายพันธุ์ป่า (baseline WT neutralization titers) เฉลี่ย (ค่ากลางมัธยฐาน) เพิ่มขึ้น 57 เท่า (14,835 กับ 262) และ 3.1 เท่า (14,835 กับ 4,727) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าไตเตอร์ที่มาจากผู้ที่ไม่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (non-boosted) และจากผู้ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) ตามลำดับ (ภาพประกอบ 1A, บน และ 2A, บน) นอกจากนี้ค่าไตเตอร์ของภูมิต้านทานลบล้างฤทธิ์ต่อสายพันธุ์เดลต้าก็มีการเพิ่มสูงขึ้นในระดับเดียวกันกับค่าไตเตอร์ของภูมิต้านทานลบล้างฤทธิ์ต่อสายพันธุ์ป่าในการตรวจวิเคราะห์กับเชื้อไวรัสที่ยังมีชีวิต (ภาพประกอบ 2A, ล่าง) เราสังเกตพบภูมิต้านทานลบล้างฤทธิ์เป็นบางส่วน (partial neutralization) ต่อสายพันธุ์โอมิครอน ซึ่งส่วนใหญ่เนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของค่าไตเตอร์พื้นฐาน (baseline titers) ในขณะที่ปรากฏว่าภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ (cross-variant immunity) มีอยู่จำกัด โดยที่มีการลดลง 31.1 เท่าและ 46.8 เท่าของภูมิต้านทานลบล้างฤทธิ์ต่อสายพันธุ์โอมิครอนเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ป่าสำหรับการตรวจวิเคราะห์กับอนุภาคไวรัสเสมือน (VLP) และการตรวจวิเคราะห์กับเชื้อไวรัสที่ยังมีชีวิต (live virus) ตามลำดับ (ภาพประกอบ 2A) สัดส่วนของผู้ที่มีระดับของแอนติบอดีชนิดลบล้างฤทธิ์ต่อสายพันธุ์โอมิครอนเหนือค่า NT50 cutoff ที่ 40 ได้รับการคำนวณว่าอยู่ที่ประมาณ 75% (ภาพประกอบ 2A, ขา

บน) และอยู่ที่ประมาณ 43% (ภาพประกอบ 2A, ขวาล่าง) สำหรับการตรวจวิเคราะห์กับอนุภาคไวรัสเสมือน (VLP) และการตรวจวิเคราะห์กับเชื้อไวรัสที่ยังมีชีวิตตามลำดับ



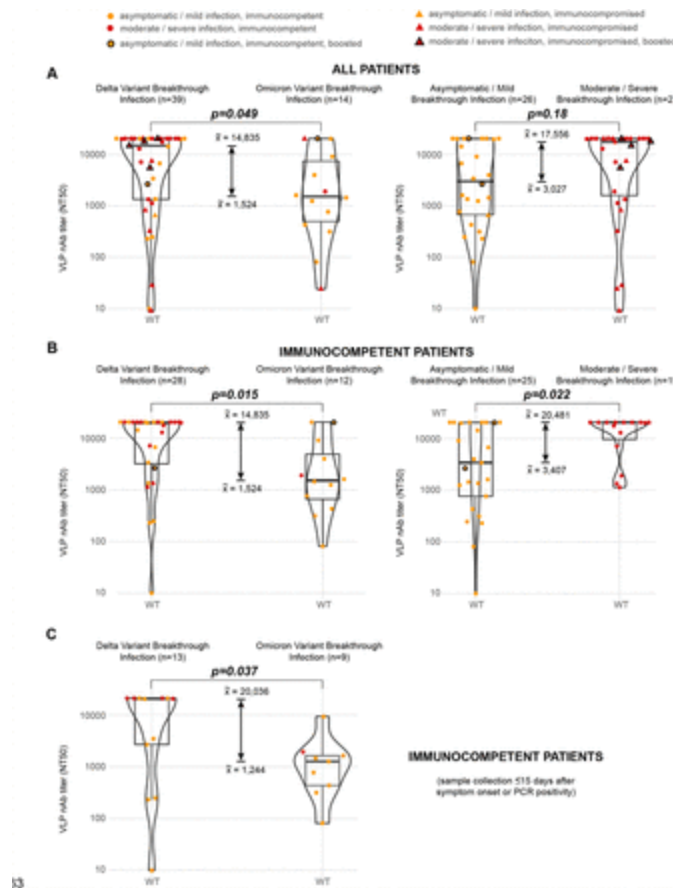
ภาพประกอบ 2. ระดับของแอนติบอดีชนิดลบส้างฤทธิ์ในการติดเชื้อหลังจากได้รับวัคซีนสำหรับสายพันธุ์เดลต้าและสายพันธุ์โอมิครอน.

(A) กราฟแบบ Box-violin plots ของค่าไตเตอร์ของแอนติบอดีชนิดลบส้างฤทธิ์เฉลี่ย (ค่ากลางมัธยฐาน) ต่อสายพันธุ์เดลต้า (ซ้าย) และต่อสายพันธุ์โอมิครอน (กลาง) เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ป่า (WT) พร้อมด้วยกราฟของฟังก์ชันการแจกแจงสะสมของค่าไตเตอร์ต่อสายพันธุ์ป่า สายพันธุ์เดลต้า และสายพันธุ์โอมิครอน (ขวา) ซึ่งแสดงสัดส่วนของตัวอย่าง ณ ระดับค่าไตเตอร์นั้น ๆ หรือเหนือระดับค่าไตเตอร์นั้น ๆ ในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าหลังจากที่ได้รับวัคซีน เมื่อใช้การตรวจวิเคราะห์กับอนุภาคไวรัสเสมือน (แถวบน) และเมื่อใช้การตรวจวิเคราะห์กับเชื้อไวรัสที่มีชีวิต (แถวล่าง) (B) กราฟแบบ box-violin และกราฟของฟังก์ชันการแจกแจงสะสมที่สอดคล้องกัน (cumulative distribution plots) ของผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากที่ได้รับวัคซีน. สำหรับกราฟแบบ box-violin plots ค่ากลางมัธยฐานแสดงเป็นเส้นทแยงมุมภายในกล่อง (box). เส้นที่เชื่อมระหว่างจุดที่จับคู่ (paired points) แสดงเป็นรหัสสี (color-coded) ซึ่งอ้างอิงตามระดับความรุนแรงของการติดเชื้อ (สีน้ำเงิน = ไม่มีอาการหรือมีอาการเล็กน้อย สีแดง = การติดเชื้อปานกลางหรือรุนแรง). เส้นทึบแสดงถึงผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันปกติ (immunocompetent) และเส้นประแสดงถึงผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunocompromised).

ตรงกันข้ามกับสายพันธุ์เดลต้า การติดเชื้อโอมิครอนหลังจากที่ได้รับวัคซีน (n=14) ซึ่งมีแค่เพียง 1 รายเท่านั้นที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) มีการแสดงออกของการเพิ่มขึ้นที่น้อยกว่าเป็นอย่างมากของค่าไตเตอร์พื้นฐานสำหรับสายพันธุ์ป่า (baseline WT titers) คือ 5.8 เท่าของค่าไตเตอร์จากผู้ที่ไม่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (non-boosted) และแค่เพียงประมาณหนึ่งในสามของค่าไตเตอร์จากผู้ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) (ภาพประกอบ 1A และ 2B, บนซ้าย) อย่างไรก็ตามเราสังเกตเห็นการเพิ่มขึ้นเชิงสัมพัทธ์ของค่าไตเตอร์ของภูมิคุ้มกันต้านลบส้างฤทธิ์ (neutralization titers) ต่อสายพันธุ์โอมิครอน โดยที่ค่าไตเตอร์ที่จำเพาะต่อสายพันธุ์โอมิครอนในการติดเชื้อ

หลังจากที่ได้รับวัคซีนมีระดับต่ำกว่าต่อสายพันธุ์ป่าแค่เพียง 3.9 เท่าเท่านั้น (ภาพประกอบ 2B, บนซ้าย) ในทางตรงกันข้าม เราสังเกตไม่พบการเพิ่มขึ้นที่สอดคล้องกันของค่าไตเตอร์ที่จำเพาะต่อสายพันธุ์เดลต้า โดยที่มีการลดลง 3.3 เท่าของค่าไตเตอร์ซึ่งสามารถเปรียบเทียบกันได้กับค่าไตเตอร์ที่สังเกตพบก่อนหน้านี้ในผู้ที่ได้รับวัคซีนและไม่มีการติดเชื้อ (ภาพประกอบ 1A และ 2B, บนซ้าย) ดังนั้นการติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากที่ได้รับวัคซีนจึงส่งผลต่อประมาณ 90% ของผู้ที่มีแอนติบอดีชนิดกลางฤทธิ์ต่อสายพันธุ์โอมิครอนเหนือค่า NT50 cutoff ที่ 40 ซึ่งสามารถเปรียบเทียบกันได้ในรูปสัดส่วนกับ ผู้ที่มีแอนติบอดีชนิดกลางฤทธิ์ต่อสายพันธุ์เดลต้า (ภาพประกอบ 2B, ล่างซ้าย)

มีการเปรียบเทียบกันโดยตรง (head-to-head comparison) ระหว่างการติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอนกับสายพันธุ์เดลต้าหลังจากได้รับวัคซีน ภายหลังจากมีการรวมเอาตัวอย่างที่เก็บตัวอย่างระหว่างช่วงวันที่ 0 ถึงวันที่ 30 หลังเริ่มแสดงอาการ (symptom onset) (ภาพประกอบ 2B, ข้ายและขวา) การเปรียบเทียบนี้แสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าหลังจากได้รับวัคซีนส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นที่เด่นชัดมากขึ้นของค่าไตเตอร์พื้นฐานต่อสายพันธุ์ป่า (baseline WT titers) เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่ได้รับวัคซีนแต่ไม่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (non-boosted vaccinated) คือ 61.8 เท่า (16,195 กับ 262) เปรียบเทียบกับ 5.8 เท่า (1,524 กับ 262) (ภาพประกอบ 1A และ 2B) ความแตกต่างกันของค่าไตเตอร์ของภูมิคุ้มกันต้านกลางฤทธิ์เฉลี่ย (ค่ากลางมัชฐาน) ระหว่างสายพันธุ์เดลต้ากับสายพันธุ์โอมิครอนมีนัยสำคัญเมื่อรวมเอาผู้ป่วยทั้งหมดที่ติดเชื้อหลังจากได้รับวัคซีน (9.7 เท่า, 14,835 » 1,524, p=0.049) และเมื่อพิจารณาเฉพาะผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันปกติ (immunocompetent) (13.1 เท่า, 19,921 » 1,524, p=0.015) (ภาพประกอบ 3A และ 3B, ข้าย) ในขณะที่การติดเชื้อหลังจากได้รับวัคซีนได้มอบภูมิคุ้มกันชนิดกลางฤทธิ์เป็นการเพิ่มเติมต่อสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อ (infecting variant) (ภาพประกอบ 1A, ล่าง และ ภาพประกอบ 1B, ข้าย) แต่ขอบเขตหรือปริมาณของภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ (cross-variant immunity) ที่นอกเหนือจากการเพิ่มขึ้นของค่าไตเตอร์พื้นฐานต่อสายพันธุ์ป่า (baseline WT titers) มีอยู่จำกัด โดยที่ค่าไตเตอร์สำหรับสายพันธุ์เดลต้ามีการลดลง 3.3 เท่าในการติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากได้รับวัคซีน และค่าไตเตอร์สำหรับสายพันธุ์โอมิครอนลดลง 36.1 เท่าในการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าหลังจากได้รับวัคซีน (ภาพประกอบ 2A และ B) ซึ่งสามารถเปรียบเทียบได้กับการลดลงที่สังเกตพบในผู้ที่ได้รับวัคซีนที่ไม่มีการติดเชื้อ (ภาพประกอบ 1A)



ภาพประกอบ 3. การเปรียบเทียบค่าไตเตอร์ของแอนติบอดีชนิดกลางฤทธิ์ (neutralizing antibody titers) ต่อสายพันธุ์ป่า (WT lineage) ในการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้า และสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากได้รับวัคซีน.

(A) กราฟแบบ Box-violin plots ซึ่งเปรียบเทียบค่าไตเตอร์ของแอนติบอดีชนิดกลางฤทธิ์ (neutralizing antibody titers) ต่อสายพันธุ์ป่า (WT lineage) ระหว่างการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้ากับสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากได้รับวัคซีน (ซ้าย) และระหว่างการติดเชื้อหลังจากได้รับวัคซีนที่ไม่มีอาการหรืออาการเล็กน้อย (asymptomatic or mild) กับมีอาการปานกลางหรือรุนแรง (moderate or severe) (ขวา) สำหรับผู้ป่วยทั้งหมดในการศึกษาวิจัยนี้. (B) กราฟแบบ box-violin plots ที่สอดคล้องกันเฉพาะสำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันปกติ (immunocompetent patients) เท่านั้น. (C) กราฟแบบ Box-violin plots ระหว่างการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้ากับสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากได้รับวัคซีน สำหรับตัวอย่างที่ไม่ได้รับการเก็บตัวอย่าง ≤ 15 วันหลังจากเริ่มแสดงอาการ (symptom onset) หรือมีผลการตรวจโดยวิธี PCR เป็นบวก. ค่า P-values สำหรับนัยสำคัญทางสถิติวัดโดยใช้การทดสอบชนิด Mann-Whitney U test.

ความรุนแรงทางคลินิก (clinical severity) เป็นตัวกำหนดที่มีศักยภาพ (potential determinant) ของภูมิคุ้มกันชนิดกลางฤทธิ์ (neutralizing immunity)

เราต้องการบ่งชี้ปัจจัยทางคลินิก (clinical factors) ต่าง ๆ ซึ่งอาจจะสามารถอธิบายถึงความแตกต่างระหว่างระดับของแอนติบอดีชนิดกลางฤทธิ์ (neutralizing antibody) ระหว่างการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้ากับสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากได้รับวัคซีน การวิเคราะห์ที่มีตัวแปรเพียงตัวเดียว (univariate analysis) เปิดเผยว่าในบรรดาปัจจัยต่าง ๆ ที่เราทดสอบ เฉพาะความรุนแรงทางคลินิก (clinical severity) การเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลเนื่องจากโควิด 19 (hospitalization for COVID-19) และจำนวนวันเฉลี่ย (ค่ากลางมัธยฐาน) ระหว่างเริ่มแสดงอาการ (symptom onset) หรือมีผลการตรวจโดยวิธี PCR เป็นบวกจนถึงการเก็บตัวอย่างเท่านั้นที่มีนัยสำคัญ

(ตารางที่ 1) ที่น่าสนใจก็คือว่ามีสัดส่วนที่สูงกว่าของการติดเชื้อระดับปานกลางจนถึงระดับรุนแรงจากสายพันธุ์เซลล์ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับติดเชื้อสายพันธุ์โอไมครอนหลังจากได้รับวัคซีน (ตารางที่ 1, $p=0.014$) เราพบว่าในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันปกติ (immunocompetent) การติดเชื้อระดับปานกลางจนถึงระดับรุนแรงจากสายพันธุ์เซลล์ต่ำและสายพันธุ์โอไมครอนหลังจากได้รับวัคซีนจะช่วยกระตุ้นให้มีการสร้างแอนติบอดีชนิดลบข้างฤทธิ์ในระดับเฉลี่ย (ค่ากลางมัธยฐาน) ที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับติดเชื้อเล็กน้อยหรือไม่มีอาการ (ภาพประกอบ 3B, ขวา, 20,481 เปรียบเทียบกับ 3,407, $p=0.022$) การเปรียบเทียบที่สอดคล้องกัน (corresponding comparison) ไม่มีนัยสำคัญสำหรับผู้ป่วยทั้งหมด (ภาพประกอบ 3A, ขวา, 17,556 เปรียบเทียบกับ 3,027, $p=0.18$) ด้วยเหตุว่ามีผู้ป่วยที่ได้รับวัคซีนบางคนในการศึกษาวิจัยนี้ที่เข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลเนื่องจากการติดเชื้อโควิด 19 ปานกลางจนถึงรุนแรงหลังจากได้รับวัคซีน แต่ก็ไม่ได้มีการสร้างปฏิกิริยาการตอบสนองของแอนติบอดีที่แข็งแกร่ง (robust antibody response) เนื่องจากมีภาวะภูมิคุ้มกันอ่อนแอ (immunocompromised state) (ภาพประกอบ 3A, สามเหลี่ยมสีแดง) ด้วยเหตุที่ว่าจำนวนวันเฉลี่ย (ค่ากลางมัธยฐาน) ระหว่างเริ่มแสดงอาการ (symptom onset) หรือมีผลการตรวจโดยวิธี PCR เป็นบวกไปจนถึงการเก็บตัวอย่างสำหรับการติดเชื้อสายพันธุ์เซลล์ต่ำและสายพันธุ์โอไมครอนก็มีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 1, 17 วันเปรียบเทียบกับ 8.5 วัน, $p=0.008$) เราจึงได้ทำการวิเคราะห์ในกลุ่มย่อย (sub-analysis) ของค่าไตเตอร์ของภูมิต้านทานลบข้างฤทธิ์ (neutralization titers) ระหว่างการติดเชื้อสายพันธุ์เซลล์ต่ำกับสายพันธุ์โอไมครอนหลังจากได้รับวัคซีนสำหรับตัวอย่างที่เก็บในเวลาน้อยกว่าหรือเท่ากับ 15 วันนับจากเริ่มแสดงอาการ (symptom onset) หรือมีผลการตรวจโดยวิธี PCR เป็นบวก ความแตกต่างของระดับแอนติบอดีชนิดลบข้างฤทธิ์จากการติดเชื้อสายพันธุ์เซลล์ต่ำหรือสายพันธุ์โอไมครอนหลังจากได้รับวัคซีนก็ยังคงมีนัยสำคัญอยู่ดี (ภาพประกอบ 3C, ขวา, $p=0.037$) แม้แต่ในช่วงระยะเวลาที่สามารถเปรียบเทียบกันได้ (at comparable time intervals) ระหว่างเริ่มแสดงอาการ (symptom onset) หรือมีผลการตรวจโดยวิธี PCR เป็นบวกกับการเก็บตัวอย่าง (ตารางที่ 1, 9 วันเปรียบเทียบกับ 6 วัน, $p=0.12$)

ตารางที่ 1. ลักษณะเด่นเฉพาะทางคลินิกและทางประชากรของการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าและสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากได้รับวัคซีน.

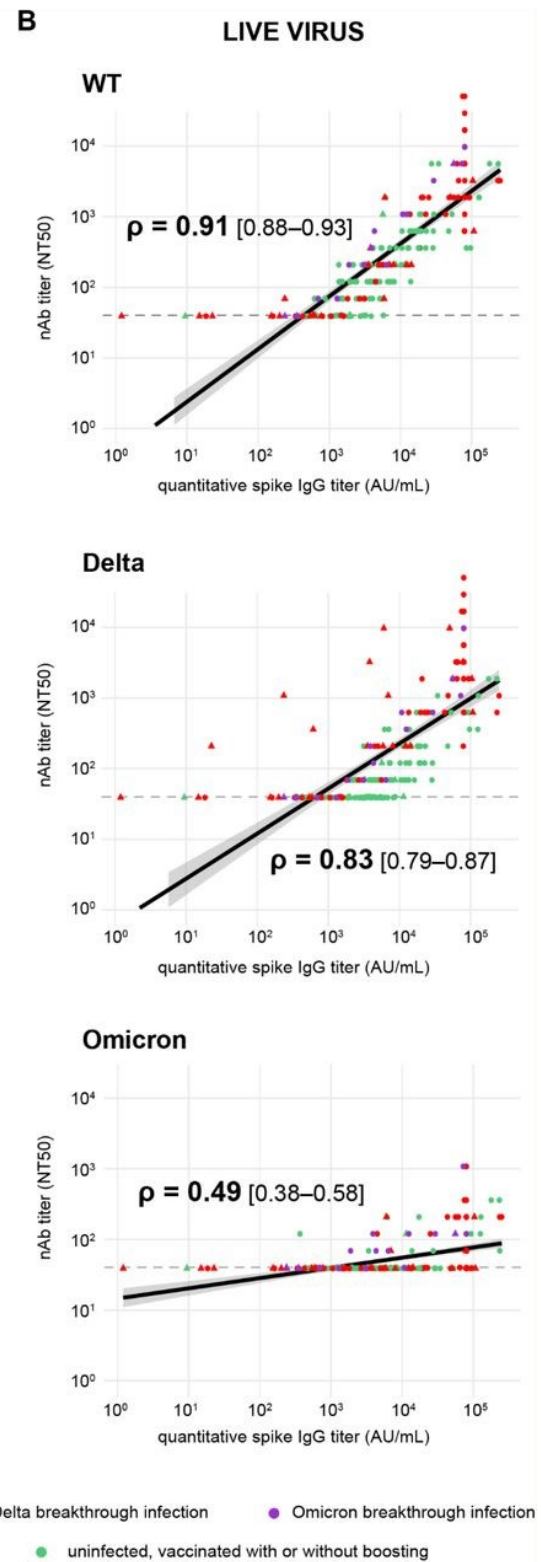
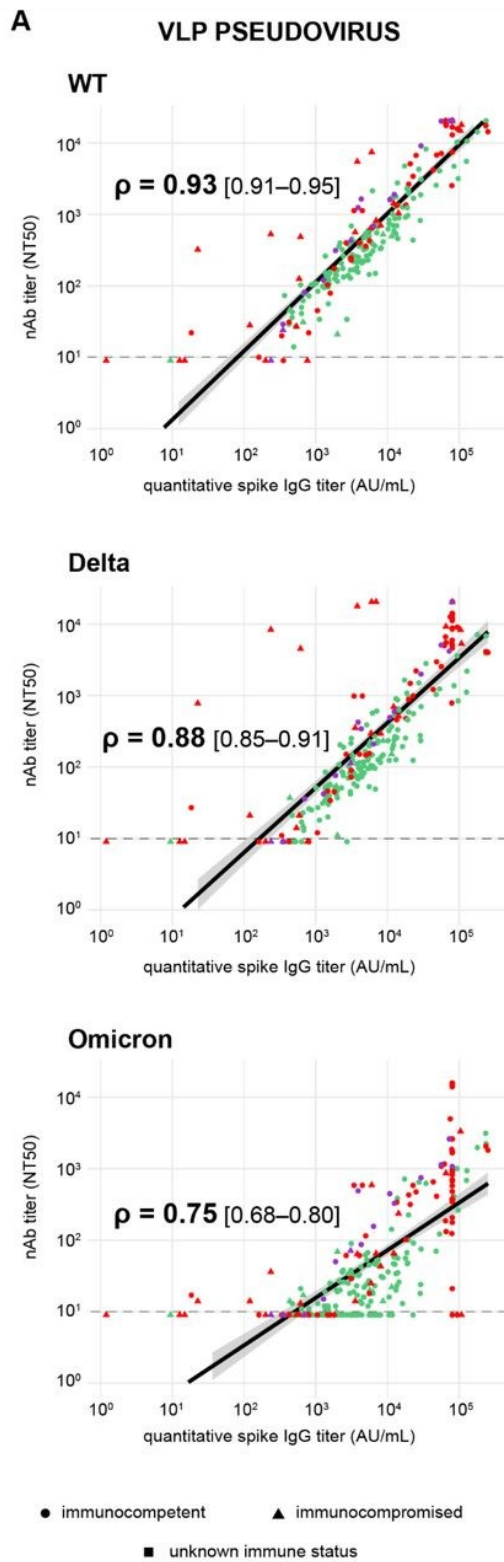
ค่า P-values สำหรับนัยสำคัญทางสถิติวัดโดยใช้การทดสอบแบบ two-tailed Fisher's Exact Test สำหรับตัวแปรจัดกลุ่ม (categorical variables) และการทดสอบแบบ Mann-Whitney U test สำหรับจำนวนวันระหว่างการเก็บตัวอย่างกับเมื่อเริ่มต้นมีอาการ (symptom onset) หรือมีผลการตรวจโดยวิธี PCR เป็นบวก.

Characteristic		Delta variant	Delta variant (%)	Omicron variant	Omicron variant (%)	p-value	Lower 95% CI	Upper 95% CI	Odds ratio
gender	female	17	43.59%	8	57.14%	0.5343	0.14	2.35	0.59
	male	22	56.41%	6	42.86%				
age	>65	19	48.72%	6	42.86%	0.7632	0.31	5.32	1.26
	18-65	20	51.28%	8	57.14%				
Received booster	yes	5	12.82%	1	7.14%	1	0.18	97.23	1.89
	no	34	87.18%	13	92.86%				
severity	Moderate to severe	24	61.54%	3	21.43%	0.01351	1.23	36.82	5.67

Characteristic		Delta variant	Delta variant (%)	Omicron variant	Omicron variant (%)	p-value	Lower 95% CI	Upper 95% CI	Odds ratio
	Asymptomatic to mild	15	38.46%	11	78.57%				
Hospitalized for covid	yes	25	64.10%	3	21.43%	0.01116	1.36	41.17	6.31
	no	14	35.90%	11	78.57%				
Immune status	Immunocompromised	11	28.21%	2	14.29%	0.4729	0.41	24.74	2.32
	Immunocompetent	28	71.79%	12	85.71%				
Median collection interval from symptom onset									
All samples		17 days		8.5 days		0.008			
≤ 15 days		9 days		6 days		0.1231			

การตรวจวิเคราะห์แอนติบอดีที่จำเพาะต่อหนามไวรัสในเชิงปริมาณแสดงให้เห็นถึงสหสัมพันธ์ที่ลดลงและคาดการณ์ล่วงหน้าได้น้อยลง (**less predictive**) ของปฏิกิริยาอาการการกล้างฤทธิ์ต่อสายพันธุ์เดลต้าและสายพันธุ์โอมิครอน

เราได้เปรียบเทียบภูมิคุ้มกันต้านทานกล้างฤทธิ์ (**neutralization**) ต่ออนุภาคไวรัสเสมือน (VLP) และเชื้อไวรัสที่มีชีวิต (**live virus**) กับผลที่ได้ของแอนติบอดีที่จำเพาะต่อหนามไวรัสเชิงปริมาณ (**quantitative spike antibody results**) จากการใช้ชุดตรวจวิเคราะห์สำเร็จรูปที่มีจำหน่าย ซึ่งได้รับอนุญาตให้ใช้ได้ในการฉีกรักษาฉุกเฉินจากองค์การอาหารและยาสหรัฐฯ (FDA Emergency Use Authorization) (**ภาพประกอบ 4**) ผลที่ได้แสดงให้เห็นถึงสหสัมพันธ์ที่ลดลงของภูมิคุ้มกันต้านทานกล้างฤทธิ์ (**neutralization**) และค่าไตเตอร์แอนติบอดีเชิงปริมาณ (**quantitative antibody titers**) สำหรับสายพันธุ์โอมิครอน (Spearman's $\rho=0.49-0.75$) และสายพันธุ์เดลต้า ($\rho=0.83-0.88$) เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ป่า ($\rho=0.91-0.93$) เป็นที่น่าสังเกตว่ามีการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าหลังได้รับวัคซีนมากมายหลายรายด้วยกันที่มีแอนติบอดีชนิด IgG ที่จำเพาะต่อหนามไวรัสในระดับต่ำจนถึงระดับปานกลางที่ไม่มีการกล้างฤทธิ์ (**neutralize**) ของสายพันธุ์โอมิครอนในการตรวจวิเคราะห์เชื้อไวรัสที่ยังมีชีวิต (**ภาพประกอบ 4B, ล่าง**) ค่าไตเตอร์ NT50 เชิงปริมาณที่ $10^3 - 10^4$ และ $> 10^5$ ทำนายอย่างน่าเชื่อถือได้ถึงภูมิคุ้มกันต้านทานกล้างฤทธิ์ของสายพันธุ์เดลต้าและสายพันธุ์โอมิครอนตามลำดับ



ภาพประกอบ 4. สหสัมพันธ์ระหว่างค่าไตเตอร์ของแอนติบอดีชนิด IgG เจาะปริมาณที่จำเพาะต่อหนามไวรัส กับค่าไตเตอร์ของแอนติบอดีชนิดลบข้างฤทธิ์.

(A) กราฟแสดงสหสัมพันธ์ระหว่างค่าไตเตอร์ของแอนติบอดีชนิด IgG ที่จำเพาะต่อหนามไวรัส (spike IgG titers) กับแอนติบอดีชนิดลบข้างฤทธิ์ (neutralizing antibodies) ต่อสายพันธุ์ป้า (บน), สายพันธุ์เดลต้า (กลาง) และสายพันธุ์โอมิครอน (ล่าง) โดยใช้การตรวจวิเคราะห์กับอนุภาคไวรัสเสมือน (VLP-based assay). (B) กราฟแสดงสหสัมพันธ์ระหว่างค่าไตเตอร์ของแอนติบอดีชนิด IgG ที่จำเพาะต่อหนามไวรัส (spike IgG titers) กับแอนติบอดีชนิดลบข้างฤทธิ์ (neutralizing antibodies) ต่อสายพันธุ์ป้า (บน), สายพันธุ์เดลต้า (กลาง) และสายพันธุ์โอมิครอน (ล่าง) โดยใช้การตรวจวิเคราะห์กับเชื้อไวรัสที่มีชีวิต (live virus-based assay). สัมประสิทธิ์ Spearman's rank coefficient (ρ) ถูกใช้ในการประเมินความแข็งแกร่ง (strength) ของสหสัมพันธ์.

การอภิปราย (Discussion)

ในการศึกษาวิจัยนี้เราใช้การตรวจวิเคราะห์ภูมิคุ้มกันต้านทานลบข้างฤทธิ์สำหรับอนุภาคไวรัสเสมือน (VLP) และเชื้อไวรัสที่มีชีวิต (live virus) เพื่อที่จะศึกษาปฏิกิริยาการตอบสนองของแอนติบอดีชนิดลบข้างฤทธิ์ (neutralizing antibody responses) ในอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีนแล้วจำนวนทั้งสิ้น 125 คน ซึ่งมีทั้งผู้ที่ไม่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (non-boosted) และผู้ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) หลังจากที่มีการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าและสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากที่ได้รับวัคซีนแล้ว ผลที่ได้จากการศึกษาวิจัยของเราทำให้เราเชื่อได้ว่าการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น (vaccine boosting) และการติดเชื้อหลังจากที่ได้รับวัคซีนแล้ว (breakthrough infections) สามารถฟื้นฟูภูมิคุ้มกันชนิดลบข้างฤทธิ์ลูกผสม (broad neutralizing hybrid immunity) โดยการเพิ่มค่าไตเตอร์พื้นฐาน (baseline titers) โดยที่มีค่าไตเตอร์สัมพัทธ์ (relative titers) ต่อสายพันธุ์ที่ทำให้ติดเชื้อ (infecting variant) เพิ่มสูงขึ้น เป็นที่น่าสังเกตว่าค่าไตเตอร์ที่จำเพาะต่อสายพันธุ์เดลต้า (Delta-specific titers) ในการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าหลังจากที่ได้รับวัคซีนมีการเพิ่มสูงขึ้นจนถึงระดับที่สามารถเปรียบเทียบกันได้ดีกับระดับที่ต่อต้านสายพันธุ์ป้า (WT) ในขณะที่ค่าไตเตอร์ที่จำเพาะต่อสายพันธุ์โอมิครอน (Omicron-specific titers) ในการติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากที่ได้รับวัคซีนมีการเพิ่มสูงขึ้นจนถึงระดับที่สามารถเปรียบเทียบกันได้ดีกับระดับที่ต่อต้านสายพันธุ์เดลต้า อย่างไรก็ตามเรายังพบอีกว่าขนาดหรือปริมาณของการเพิ่มขึ้นของค่าไตเตอร์พื้นฐานเป็นอิสระจากระดับความรุนแรงทางคลินิก (clinical severity) ของการติดเชื้อหลังจากที่ได้รับวัคซีน (breakthrough infection) ระดับของแอนติบอดีชนิดลบข้างฤทธิ์ (neutralizing antibody) ที่สูงกว่าในการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าหลังจากที่ได้รับวัคซีนเมื่อเปรียบเทียบกับ การติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากที่ได้รับวัคซีน ($p=0.049$) มีความเป็นไปได้ว่าเนื่องมาจากสัดส่วนที่สูงกว่าของการติดเชื้อระดับปานกลางจนถึงระดับรุนแรงในการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอน ($p=0.014$, 61.5% เปรียบเทียบกับ 21.4%) จริง ๆ ที่เดียวการติดเชื้อที่มีอาการทางคลินิกปานกลางจนถึงรุนแรงทั้งในกลุ่มที่ติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าและกลุ่มที่ติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากที่ได้รับวัคซีนมีความสัมพันธ์กับค่าไตเตอร์ของภูมิคุ้มกันต้านทานลบข้างฤทธิ์ (neutralization titers) ที่สูงกว่าในการติดเชื้อที่มีอาการเล็กน้อยหรือการติดเชื้อที่ไม่มีอาการ (mild or asymptomatic infections) อย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันปกติ (immunocompetent patients) ($p=0.022$)

ข้อจำกัดอย่างหนึ่งของการศึกษาวิจัยนี้คือการที่ขาดทั้งตัวอย่างจากผู้ป่วยเฉียบพลัน (acute samples) และตัวอย่างจากผู้ป่วยที่กำลังฟื้นตัว (convalescent samples) ที่ติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าหรือสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากที่ได้รับวัคซีน จริง ๆ ที่เดียวเราพบที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของจำนวนวันเฉลี่ย (ค่ากลางมัชฌิมาน) ระหว่างเริ่มแสดงอาการ (symptom onset) หรือมีผลการตรวจโดยวิธี PCR เป็นบวกจนถึงการเก็บตัวอย่าง (ตารางที่ 1, 17 วันเปรียบเทียบกับ 8.5 วัน, $p=0.008$) อย่างไรก็ตามเมื่อเราทำการวิเคราะห์กลุ่มย่อย (subset) ที่สามารถเปรียบเทียบกันได้มากขึ้นของตัวอย่างที่เก็บตัวอย่างในช่วงเวลาไม่เกิน 15 วันหลังจากมีผลการตรวจโดยวิธี PCR เป็นบวก ความแตกต่างของค่าไตเตอร์ของภูมิต้านทานลบล้างฤทธิ์ (neutralization titers) ระหว่างสายพันธุ์โอมิครอนกับสายพันธุ์เดลต้าก็ยังคงมีนัยสำคัญ ($p=0.037$) เพื่อที่จะยืนยันสิ่งที่เราพบนี้การเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอนในจุดเวลาต่อมาหลังจากที่ได้รับวัคซีนและการตรวจวิเคราะห์ก็ยังคงมีการดำเนินการอย่างต่อเนื่อง มีการศึกษาวิจัยอื่น ๆ ที่ได้มองไปที่ผลกระทบของการฉีดวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosting) ที่มีต่อภูมิต้านทานลบล้างฤทธิ์ (neutralization) สำหรับสายพันธุ์โอมิครอนและบทบาทของภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ (cross-variant immunity) ในการติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากที่ได้รับวัคซีน การศึกษาวิจัยของ [Laurie และคณะ. \(พ.ศ. 2565\)](#) ได้รายงานการลดลง 4 ถึง 8 เท่าของค่าไตเตอร์ของภูมิต้านทานลบล้างฤทธิ์ (neutralization titer) ในซีรัมจากผู้ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้นโดยใช้การตรวจวิเคราะห์ห่อนุภาคไวรัสเทียม (pseudovirus assay) ซึ่งสามารถเปรียบเทียบกันได้กับการลดลง 7.4 เท่าที่เราสังเกตพบเมื่อใช้การตรวจวิเคราะห์ห่อนุภาคไวรัสเสมือน (VLP assay) และคล้ายคลึงกับสิ่งที่เราพบในการศึกษาวิจัยนี้ การศึกษาวิจัยของ [Khan และคณะ. \(พ.ศ. 2564\)](#) ก็มีการพบว่าซีรัมจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอนหลังจากที่ได้รับวัคซีนสามารถเพิ่มภูมิต้านทานลบล้างฤทธิ์ต่อไวรัสสายพันธุ์เดลต้าจนถึงขอบเขตจำกัด (4.4 เท่า) แต่ว่าภูมิต้านทานที่ได้รับการกระตุ้นซึ่งจำเพาะต่อสายพันธุ์ที่ทำให้ติดเชื้อ (infecting variant) นั้น (คือสายพันธุ์โอมิครอน) มีระดับสูงขึ้นถึง (17.4 เท่า) สิ่งที่เราพบนี้มีนัยสำคัญ (implications) เกี่ยวกับความเป็นไปได้ของการติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอนในการทำให้เกิดการสร้างภูมิคุ้มกันหมู่ (mass immunization) ในระดับประชากรต่อไวรัส SARS-CoV-2 มีการรายงานการติดเชื้อที่แพร่กระจายไปทั่วโลกจากสายพันธุ์โอมิครอนทั้งในผู้ที่ได้รับวัคซีนและผู้ที่ไม่ได้รับวัคซีน และสายพันธุ์โอมิครอนได้แสดงให้เห็นแล้วว่าทำให้เกิดโรคที่มีอาการเล็กน้อยและมีความเสี่ยงน้อยลงในการที่จะต้องเข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาลหรือเสียชีวิตเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่น ๆ ก่อนหน้านี้ ([Wolter และคณะ. พ.ศ. 2565](#)) นอกจากนี้ข้อมูลทางด้านระบาดวิทยาที่มีอยู่ในขณะนี้ก็ยังทำให้น่าเชื่อได้ว่าสายพันธุ์โอมิครอนอาจจะเอาชนะ (outcompeting) สายพันธุ์อื่นที่ก่อโรคได้รุนแรงมากกว่าอย่างเช่นสายพันธุ์เดลต้า ([Outbreak.info, พ.ศ. 2565](#)) ข้อมูลจากการสังเกตเหล่านี้ทำให้เกิดความหวังหรือโอกาสในการที่สายพันธุ์โอมิครอนจะเป็นสัญญาณบ่งบอก (harbinger) ถึงการสิ้นสุดการแพร่ระบาด ในขณะที่ไวรัส SARS-CoV-2 ได้กลายเป็นไวรัสประจำถิ่น (endemic virus) และประชากรส่วนใหญ่ได้รับภูมิคุ้มกันจากการกระตุ้นด้วยวัคซีนและ/หรือภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติ อย่างไรก็ตามเราพบว่าสำหรับในผู้ที่ได้รับวัคซีนมีการเพิ่มขึ้นที่น้อยลงอย่างมีนัยสำคัญของค่าไตเตอร์ของภูมิต้านทานลบล้างฤทธิ์ (neutralization titers) ที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อของสายพันธุ์โอมิครอนที่มีอาการเล็กน้อย (milder infection) หลังจากได้รับวัคซีน คือแค่เพียงประมาณหนึ่งในสามของการเพิ่มขึ้นที่สัมพันธ์กับการได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosting) เท่านั้น นอกจากนี้เรายังได้บ่งชี้ภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ต่อสายพันธุ์เดลต้าซึ่งมีอยู่จำกัด ดังนั้นการติดเชื้อจาก

สายพันธุ์โอมิครอนหลังจากที่ได้รับวัคซีนแล้วจึงอาจจะไปเพิ่มภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ต่อสายพันธุ์เดลต้า และในทำนองกลับกัน การติดเชื้อจากสายพันธุ์เดลต้าหลังจากที่ได้รับวัคซีนแล้วก็อาจจะไปเพิ่มภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ต่อสายพันธุ์โอมิครอนได้มากเท่าที่มีการเพิ่มขึ้นที่มากเพียงพอของภูมิคุ้มกันชนิดลบล้างฤทธิ์พื้นฐาน (**baseline neutralizing immunity**) ซึ่งปรากฏว่ามีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กันกับความรุนแรงทางคลินิกของการติดเชื้อ สิ่งที่เราพบนี้เทียบเท่า (**parallel**) กับข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยอีกชิ้นหนึ่งจากคณะผู้วิจัยของเรา ที่แสดงให้เห็นถึงภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ที่มีอยู่จำกัด (**limited cross-variant immunity**) หลังจากมีการติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอนที่มีอาการเล็กน้อยกว่าสำหรับผู้ที่ไม่ได้รับวัคซีนในโมเดลหนูทดลอง (**mouse model**) และในผู้ป่วยมนุษย์ (**Suryawanshi และคณะ, พ.ศ. 2565**) เมื่อนำมาเชื่อมโยงกันแล้ว ผลที่ได้จากการศึกษาของเราทำให้น่าเชื่อถือได้ว่าภูมิคุ้มกันที่ได้รับการกระตุ้นจากสายพันธุ์โอมิครอน (**Omicron-induced immunity**) อาจจะไม่เพียงพอในการป้องกันการติดเชื้อจากสายพันธุ์อื่นที่สามารถก่อโรคได้รุนแรงมากกว่าถ้าหากว่ามันอุบัติขึ้นมาในอนาคต ผลที่ได้จากการศึกษาของเรายังได้เน้นย้ำถึงความสำคัญที่มีต่อเนื่องของวัคซีนเข็มกระตุ้น (**vaccine boosters**) ในการเพิ่มระดับภูมิคุ้มกัน เพราะว่าลำพังแค่เพียงการติดเชื้อหลังจากได้รับวัคซีนอาจจะไม่สามารถไว้วางใจได้ในการกระตุ้นค่าไตเตอร์ภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อซ้ำ (**re-infection**) หรือการติดเชื้อในอนาคตจากสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นในเชิงสัมพัทธ์ของระดับภูมิคุ้มกันต่อสายพันธุ์ที่ทำให้ติดเชื้อ (**infecting variant**) ในการติดเชื้อหลังจากได้รับวัคซีนก็ยังบ่งชี้ว่าการใช้ภูมิโนเจนที่จำเพาะต่อสายพันธุ์ (**variant-specific immunogens**) ในการพัฒนาวัคซีนยังคงเป็นกลยุทธ์วิธีการที่สามารถเป็นไปได้สำหรับการจัดการกับสายพันธุ์ที่เป็นที่กังวล (**VOCs**) ซึ่งยังคงแพร่ระบาดในประชากร

ผลที่ได้จากการศึกษาวิจัยภูมิคุ้มกันต้านทานลบล้างฤทธิ์กับเชื้อไวรัสที่ยังมีชีวิตแสดงให้เห็นอย่างสม่ำเสมอถึงค่าไตเตอร์ที่ต่ำกว่าค่าไตเตอร์จากการศึกษาวิจัยภูมิคุ้มกันต้านทานลบล้างฤทธิ์ที่ใช้อนุภาคไวรัสเสมือน (**VLPs**) ซึ่งคล้ายคลึงกับไวรัสหนามเทียม (**spike-pseudotyped viruses**) ส่วนใหญ่ของการศึกษาวิจัยภูมิคุ้มกันต้านทานลบล้างฤทธิ์ไวรัส SARS-CoV-2 ที่มีการรายงานจนถึงขณะนี้ได้ใช้ไวรัสเทียม (**pseudoviruses**) เพราะว่าโปรโตคอลต่าง ๆ สำหรับการตรวจวิเคราะห์เหล่านี้สามารถเชื่อถือได้ มีความปลอดภัย และมีความสะดวก เป็นที่น่าสังเกตว่าอนุภาคไวรัสเสมือน (**VLPs**) ที่ใช้ในการศึกษาวิจัยนี้ได้รวมเอาการกลายพันธุ์ทั้งหมดที่จำเพาะต่อสายพันธุ์โอมิครอนที่พบในหนามไวรัส (**structural spike**) ใน **nucleocapsid** ใน **matrix** และใน **fusion proteins** (**Syed และคณะ, พ.ศ. 2565**) และไม่เพียงแต่ในโปรตีนส่วนหนาม (**spike protein**) เหมือนอย่างในกรณีของการตรวจวิเคราะห์กับไวรัสเทียม (**pseudovirus assays**) ส่วนใหญ่ ความเป็นไปได้ของหนึ่งสำหรับผลที่ได้ของภูมิคุ้มกันต้านทานลบล้างฤทธิ์ที่ไม่ตรงกันหรือขัดแย้งกันอาจจะเป็นเพราะว่ามีการใช้ **cell lines** ที่แตกต่างกันสำหรับการตรวจวิเคราะห์ที่ใช้อนุภาคไวรัสเสมือน (**293T**) และที่ใช้เชื้อไวรัสที่ยังมีชีวิต (**Vero**) ถึงแม้ว่า **cell lines** ทั้งสองนี้ต่างก็มีความอ่อนแอเป็นอย่างสูง (**highly susceptible**) และยอมให้ (**permissive**) แก่ไวรัส SARS-CoV-2 จากการที่มีการแสดงออกที่คงที่ของ **ACE2** และ **TMPRSS2 receptors** (**Hoffmann และคณะ, พ.ศ. 2563**; **Case และคณะ, พ.ศ. 2563**) คำอธิบายที่เป็นไปได้มากกว่าก็คือว่าโดยปกติแล้วการตรวจวิเคราะห์กับไวรัสเทียม (**pseudoviruses**) และกับอนุภาคไวรัสเสมือน (**VLPs**) วัดแค่เพียงขีดความสามารถของไวรัสในการเข้าสู่เซลล์ในระหว่างการติดเชื้อรอบเดียว

(single round of infection) ในขณะที่การตรวจวิเคราะห์กับเชื้อไวรัสที่มีชีวิตวัดการติดเชื้อไวรัสตลอดการติดเชื้อหลายรอบ (several rounds of infection) เนื่องจากว่า reporting endpoints ขึ้นอยู่กับลักษณะปรากฏ (appearance) ของการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในเซลล์หลังจากที่ติดเชื้อไวรัสแล้ว (cytopathic effect) ซึ่งในระหว่างนั้นเชื้อไวรัสได้มีการแพร่กระจายจากเซลล์สู่เซลล์เป็นที่เรียบร้อยแล้ว ดังนั้นขอบเขตของการหลีกเลี่ยงภูมิคุ้มกัน (immune evasion) ที่รายงานซึ่งสัมพันธ์กันกับการติดเชื้อสายพันธุ์โอมิครอน จึงอาจจะได้รับการประมาณการต่ำกว่าในความเป็นจริง (underestimated) ในการใช้การตรวจวิเคราะห์กับไวรัสเทียม (pseudovirus assays) แต่เพียงอย่างเดียว ตัวอย่างเช่นในการศึกษาวิจัยนี้เราพบว่าการลดลง 7.4 เท่า ของค่าไตเตอร์ของภูมิคุ้มกันต้านทานไวรัส (ค่ามัธยฐาน) ($4,727 \gg 635$) ต่อสายพันธุ์โอมิครอนในผู้ที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้น (boosted) ในการตรวจวิเคราะห์กับอนุภาคไวรัสเสมือน (VLP assay) แต่พบว่าการลดลง 21.4 เท่า ($1,475 \gg 69$) ของค่าไตเตอร์ในการตรวจวิเคราะห์กับเชื้อไวรัสที่มีชีวิต (live virus assay) ซึ่งตรงกันกับ 93% และ 62% ของที่ได้รับวัคซีนเข็มกระตุ้นตามลำดับ ซึ่งเป็นผู้ที่มียะดับของแอนติบอดีชนิดลบกลางฤทธิ์ (neutralizing antibody) เหนือค่า NT50 cutoff ที่ 40 การใช้ประโยชน์จากผลที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ทางเซรัมวิทยาซึ่งได้รับอนุญาตจากองค์การอาหารและยา สหรัฐฯ เป็นตัว correlates ของภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อจากสายพันธุ์ต่างกันยังคงอยู่ระหว่างการศึกษาวิจัย (Gilbert และคณะ พ.ศ. 2564) ในการศึกษาวิจัยนี้เราพบว่าผลที่ได้ของแอนติบอดี IgG ชนิดลบกลางฤทธิ์เชิงปริมาณต่อหนามไวรัสมีสหสัมพันธ์ที่น้อยลง (less correlated) กับการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าและสายพันธุ์โอมิครอน และดังนั้นจึงคาดการณ์ได้น้อยกว่า (less predictive) สำหรับภูมิคุ้มกันชนิดลบกลางฤทธิ์ และอย่างที่เรากล่าวไว้ระดับของสหสัมพันธ์มีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์ในเชิงผกผันกันกับขอบเขตหรือปริมาณของการหลบเลี่ยงแอนติบอดีชนิดลบกลางฤทธิ์ (neutralizing antibody evasion) ซึ่งสัมพันธ์กับสายพันธุ์นั้น ถึงแม้ว่ามีการกลายพันธุ์ของหนามไวรัสมากมาย แต่ระดับของแอนติบอดีที่วัดได้ซึ่งอยู่ระหว่าง $10^3 - 10^4$ สำหรับสายพันธุ์เดลต้าและสูงกว่า 10^5 สำหรับสายพันธุ์โอมิครอนก็ยังคงคาดการณ์การลบกลางฤทธิ์ได้อย่างเชื่อถือได้ แต่ถึงอย่างไรก็เป็นที่น่าจำเป็นจะต้องมีการตรวจวิเคราะห์ทางเซรัมวิทยาที่จัดทำสำหรับแต่ละสายพันธุ์เป็นการเฉพาะ หรือการตรวจวิเคราะห์ที่วัดปริมาณภูมิคุ้มกันต้านทานลบกลางฤทธิ์โดยตรงเพื่อการประเมินภูมิคุ้มกันชนิดลบกลางฤทธิ์ที่ถูกต้องแม่นยำมากขึ้น