

การสร้างแอนติบอดีตอบสนองต่อวัคซีนไข้หวัดใหญ่ชนิดเชื้อตายสามสายพันธุ์ในผู้มีอายุมากกว่า 65 ปี

เกรียงไกร ประเสริฐ พ.บ.*,**, ไพไลพันธ์ พุรวัณน= Pr.ด.***, มาลินี จิตตกานต์พิชัย วท.ม.****, สุกธินันท์ ชวาลชิติพร วท.บ., ศศ.ม.*****, บุกรชัย ตรีสกุล พ.บ.*, ศุภกิจ ศิริลักษณ์ พ.บ., สม.*****, ชบัณฑิตธร ปทุมานนท์ พ.บ., Pr.ด.**

* โรงพยาบาลนครพนม ถนนอภิบาลบัญชา อำเภอเมืองนครพนม จังหวัดนครพนม 48000

** คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

*** คณะเทคโนโลยีการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม 73170

**** สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

***** โรงพยาบาลบางบัวทอง อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี 11110

***** สำนักวิชาการสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

Antibody Response to Trivalent Inactivated Influenza Vaccine in the Elderly

Prasert K**, Puthavathana P***, Chittaganpitch M****, Chawalchitiporn S*****, Yrisakul Y*, Sirirak S*****, Patumanond J**

* Nakhon Phanom Hospital, Apibanbuncha Rd., Mueang Nakhon Phanom, Nakhon Phanom, 48000

** Faculty of Medicine, Thammasat University, Klongluang, Pathumthani, 12120

*** Faculty of Medical Technology, Mahidol University, Phutthamonthon, Nakhon Pathom, 73170

**** National Institute of Health of Thailand, Department of Medical Science, Ministry of Public Health, Mueang Nonthaburi, Nonthaburi, 11000

***** Bang Bua Thong Hospital, Bang Bua Thong, Nonthaburi, 11110

***** Health Technical Office, Ministry of Public Health, Mueang Nonthaburi, Nonthaburi, 11000

(E-mail: gpsiam28@gmail.com)

บทนำ

ไข้หวัดใหญ่เป็นโรคติดเชื้อไวรัสในระบบทางเดินหายใจแบบเฉียบพลัน ซึ่งทำให้เกิดการเจ็บป่วยและเสียชีวิตทั่วโลก โดยเฉพาะในผู้สูงอายุ¹⁻² การฉีดวัคซีนไข้หวัดใหญ่เป็นวิธีการป้องกันโรคที่ดีในเบื้องต้น แต่พบว่าผู้สูงอายุมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนได้ไม่ดีเท่าผู้ที่อายุน้อยกว่าหรือผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพแข็งแรง³

การศึกษาความสามารถของผู้รับวัคซีนในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อวัคซีนไข้หวัดใหญ่ จะทำโดยการตรวจวัดปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ที่เพิ่มสูงขึ้นภายหลังจากการรับวัคซีน การวัดปริมาณแอนติบอดีนิยมใช้วิธี hemagglutination-inhibition (HI) assay หลักการของวิธีนี้อาศัยคุณสมบัติของฮีแมกกลูตินิน (hemagglutinin) ซึ่งเป็น

ไกลโคโปรตีนอยู่บนผิวนอกสุด (envelope) ของไวรัสไข้หวัดใหญ่ ในการทำให้เม็ดเลือดแดงของสัตว์บางชนิดเกิดการเกาะกลุ่ม (hemagglutination)⁴ ในการทดสอบ HI assay นั้น ขั้นตอนแรกจะเป็นการทำปฏิกิริยากันระหว่างซีรัมที่ต้องการทดสอบหาแอนติบอดีกับแอนติเจนหรือฮีแมกกลูตินินของไวรัส หลังจากนั้นช่วงเวลาหนึ่งจึงเติมเม็ดเลือดแดงลงไปเป็นขั้นตอนที่สอง ถ้าซีรัมทดสอบมีแอนติบอดีก็จะทำให้ฮีแมกกลูตินินถูกจับเอาไว้หมดตั้งแต่ขั้นตอนแรก ไม่เหลือไปทำปฏิกิริยากับเม็ดเลือดแดงในขั้นตอนที่สอง ดังนั้นเม็ดเลือดแดงจะไม่เกิด hemagglutination จึงเรียกแอนติบอดีชนิดนี้เป็นแอนติบอดีที่มีความสามารถในการยับยั้งการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (hemagglutination-inhibiting antibody) และถ้าซีรัมทดสอบ

ถูกเจือจางเป็นความเจือจางต่างๆ (dilutions) ก็จะไปถึงจุดที่ไม่มีแอนติบอดีเหลืออยู่ ดังนั้นวิธีแมกกลูตินินจะไม่ถูกใช้ไปในขั้นตอนแรก และจะไปจับกับเม็ดเลือดแดงที่เติมลงไปในช่วงตอนที่สองทำให้เกิด hemagglutination ซึ่งวิธีที่ dilution สุดท้ายซึ่งสามารถยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดได้อย่างสมบูรณ์ ก็จะเป็นค่าของ reciprocal antibody titer หรือเรียกง่ายๆ ว่า “แอนติบอดีไตเตอร์” เช่น ถ้าวิธีที่ dilution 1:80 สามารถยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดได้อย่างสมบูรณ์ ค่าแอนติบอดีไตเตอร์จะเป็นส่วนกลับ (reciprocal) ของค่า dilution คือ 80

ในผู้รับวัคซีนที่มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ที่จะต้องมีการ seroconversion เกิดขึ้น “seroconversion” หมายถึงมีระดับแอนติบอดีเพิ่มขึ้นอย่างสำคัญเมื่อเทียบกับระดับที่มีอยู่ก่อนได้รับวัคซีน ในกรณีนี้วิธีที่รับวัคซีนมีค่า แอนติบอดีไตเตอร์ <10 การมี seroconversion คือมีแอนติบอดีไตเตอร์หลังรับวัคซีนเพิ่มขึ้นเป็น ≥ 40 แต่ถ้าก่อนรับวัคซีนมีแอนติบอดีอยู่ก่อนแล้ว เช่น มีแอนติบอดีไตเตอร์เท่ากับ 20 การมี seroconversion คือมีค่าแอนติบอดีไตเตอร์ภายหลังฉีดวัคซีน ≥ 80 คือการมีแอนติบอดีไตเตอร์เพิ่มขึ้นมากกว่าหรือเท่ากับสี่เท่านั่นเอง การตรวจวัดการสร้างแอนติบอดีตอบสนองต่อวัคซีนจะเจาะเลือดสองครั้ง ครั้งแรกก่อนรับวัคซีน และครั้งที่สองคือช่วงเวลา 21-28 วัน ภายหลังได้รับวัคซีน ศัพท์อีกคำหนึ่งคือคำว่า seroprotection หมายถึงวิธีที่มีแอนติบอดีในระดับสูงพอที่จะคุ้มกันโรคได้ ซึ่งอนุมาณาคือแอนติบอดีไตเตอร์ ≥ 40

องค์ประกอบของวัคซีนไข้หวัดใหญ่⁵

วัคซีนไข้หวัดใหญ่ที่ใช้กันในปัจจุบัน ในแต่ละโดสประกอบด้วยไวรัสไข้หวัดใหญ่ 3 หรือ 4 สายพันธุ์โดยในระยะแรกเริ่มนั้นมีเพียง 3 สายพันธุ์ คือ A/H3N2, A/H1N1 และ B เรียกว่า trivalent vaccine และสายพันธุ์ในวัคซีนจะถูกเปลี่ยนแปลงไปในแต่ละปีเพื่อให้สอดคล้องกับเชื้อไวรัสที่ระบาดอยู่ในช่วงเวลานั้น ต่อมาได้พบว่าไวรัสไข้หวัดใหญ่ใหญ่ปี แม้จะไม่มี ความผันแปรทางพันธุกรรมมากพอที่จะแบ่งเป็น subtype เช่น ไวรัสไข้หวัดใหญ่ใหญ่ เอ แต่ก็มี ความผันแปรทางพันธุกรรม เช่นกัน โดยแบ่งออกเป็น Yamagata lineage และ Victoria lineage ซึ่งทั้ง 2 lineages นี้ไม่คุ้มกันโรคข้ามกัน วัคซีนที่มีใช้ในปัจจุบันจึงอาจประกอบด้วย 3 สายพันธุ์แบบเดิม โดยสายพันธุ์ของไวรัสไข้หวัดใหญ่ใหญ่ปี อาจเป็น Yamagata หรือ Victoria lineage ขึ้นอยู่กับว่าเชื้อที่ระบาดอยู่ในปีนั้นเป็น lineage ไດ และวัคซีนของบางบริษัทอาจเป็น Quadrivalent vaccine ประกอบด้วยเชื้อ 4 สายพันธุ์ คือ A/H1N1, A/H3N2 และ ไวรัสไข้หวัดใหญ่ใหญ่ปี ทั้ง Yamagata และ Victoria lineages ผสมกัน

วัคซีนไข้หวัดใหญ่อาจอยู่ในรูปของวัคซีนเชื้อตาย (inactivated vaccine) ซึ่งมีทั้งแบบเชื้อตายทั้งตัว (whole virus vaccine), วัคซีนชิ้นส่วนของอนุภาคไวรัส (subunit vaccine)

หรือเป็นอนุภาคไวรัสที่ถูกทำให้แตก (split vaccine) และ วัคซีนเชื้อมีชีวิตอ่อนฤทธิ์ (live attenuated vaccine) และวัคซีนที่เพิ่งผลิตออกมาเมื่อไม่นานนี้ คือ วัคซีนยี่แมกกลูตินินที่ผลิตขึ้นจากวิธีพันธุวิศวกรรม แต่วัคซีนที่นิยมใช้กันแพร่หลายในปัจจุบันคือ split vaccine และ subunit vaccine

มาตรฐานของวัคซีนไข้หวัดใหญ่⁶

คณะกรรมการสิทธิบัตรผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ (Committee for Proprietary Medicinal Products - CPMP) ซึ่งอยู่ภายใต้องค์กรที่ทำหน้าที่ประเมินผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ของยุโรป (European Medicines Evaluation Agency) ได้วางเกณฑ์การประเมินความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunogenicity) ของวัคซีนไข้หวัดใหญ่โดยอาศัยระดับของแอนติบอดีที่ผู้รับวัคซีนสร้างขึ้นภายหลังการได้รับวัคซีนไปแล้ว นาน 3 สัปดาห์ ดังนี้ คือ ในกลุ่มผู้รับวัคซีนซึ่งมีอายุระหว่าง 18-60 ปี ควรมี HI antibody titer ในระดับที่คุ้มกันโรคได้ (seroprotection rate) $>70\%$, มี seroconversion rate $>40\%$ และมีค่า GMT เพิ่มขึ้น >2.5 เท่า แต่เกณฑ์จะลดต่ำลงในกลุ่มผู้รับวัคซีนที่มีอายุมากกว่า 60 ปี คือ มี seroprotection rate $>60\%$, seroconversion rate $>30\%$ และมีค่า GMT เพิ่มขึ้น >2.0 เท่า⁶ เกณฑ์นี้ถูกดัดแปลงไปสร้างเป็นมาตรฐานของวัคซีนไข้หวัดใหญ่ในหลายประเทศ และในหลายการศึกษาที่ต้องการวิเคราะห์ประสิทธิผลของวัคซีนด้วย เช่น นอกจากใช้มาตรฐานของ CPMP ดังเดิมแล้วยังมีการเพิ่มเติมโดยกำหนดให้ผู้รับวัคซีนมี HI antibody titer ที่ระดับซึ่งคุ้มกันโรคได้เป็นเวลานานเกิน 4 เดือน ภายหลังการได้รับวัคซีน⁷ ดังนั้นมาตรฐานของวัคซีนไข้หวัดใหญ่โดยทั่วไปจะอิงอยู่กับอัตราการเกิด seroconversion, seroprotection และ ค่าของระดับ HI antibody titer (geometric mean titer, GMT) และค่านี้จะปรับเปลี่ยนตามกลุ่มอายุด้วย เนื่องจากได้พบว่าผู้สูงอายุที่มีอายุเกินกว่า 65 ปี มักสร้างแอนติบอดีตอบสนองได้ในระดับต่ำกว่า และภูมิคุ้มกันอาจอยู่ได้ไม่นานเท่าผู้อายุน้อยกว่า นอกจากนี้ วัคซีนแต่ละสายพันธุ์ยังมีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ไม่เท่ากัน

มาตรฐานของวัคซีนไข้หวัดใหญ่ตามเกณฑ์ของสหรัฐฯ กำหนดไว้ว่า วัคซีนที่ผลิตออกจำหน่ายนั้นจะต้องกระตุ้นกลุ่มผู้ที่มีอายุ <65 ปี ให้เกิด seroconversion ของ HI antibody ได้ $\geq 40\%$ (2-sided 95% CI) และกลุ่มผู้รับวัคซีนที่มี HI antibody titer ≥ 40 จะต้องมีจำนวน $\geq 70\%$ และมาตรฐานจะลดลงในกลุ่มผู้รับวัคซีนที่มีอายุมากกว่า 65 ปี โดยกำหนดให้มี seroconversion rate เพียง $\geq 30\%$ และผู้ที่มี HI antibody titer ≥ 40 จะต้องมีจำนวน $\geq 60\%$

มาตรฐานของวัคซีนไข้หวัดใหญ่ตามเกณฑ์ของยุโรปจะแบ่งผู้รับวัคซีนออกเป็น 2 กลุ่มเช่นกัน โดยกลุ่มผู้รับวัคซีนที่

มีอายุระหว่าง 18-60 ปีจะต้องมี seroconversion rate >40% และมี seroprotection rate >70% และในกลุ่มผู้รับวัคซีนที่มีอายุมากกว่า 60 ปี จะต้องมีการ seroconversion rate >30% และมี seroprotection rate >60% โดย seroprotection ของยุโรปจะหมายถึงมี HI titer >40

การสร้างแอนติบอดีตอบสนองต่อวัคซีนไขหวัดใหญ่ในผู้สูงอายุ

ในอดีตที่ผ่านมาการศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพและประสิทธิผลของวัคซีนไขหวัดใหญ่นับพันเรื่อง การศึกษาเหล่านี้ใช้วัคซีนต่างชนิดกัน มีตัวแปร เช่น สถานะสุขภาพ และโรคประจำตัวต่างกัน และแม้แต่คำจำกัดความของคำว่ากลุ่มอายุก็ยิ่งแตกต่างกัน เช่น CPMP ใช้เกณฑ์ว่า “young adults” หมายถึงผู้มีอายุระหว่าง 18-60 ปี และ “elderly” หมายถึงผู้มีอายุมากกว่า 60 ปี⁷ แต่ตามมาตรฐานของสหรัฐอเมริกาว่า “elderly” หมายถึงผู้มีอายุมากกว่า 65 ปี⁸ นักวิจัยบางกลุ่มได้พยายามที่จะวิเคราะห์ความน่าเชื่อถือของการศึกษาเหล่านั้นโดยใช้ adjusted multivariate regression analysis และได้ผลสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกันคือ อัตราการเกิด seroprotection และ seroconversion ใน “young adults” จะมีระดับสูงกว่าผู้สูงอายุ 2-4 เท่า⁹ และผู้สูงอายุมักมีแอนติบอดีในระดับที่คุ้มกันโรคได้ลดลงภายใน 4 เดือนหลังจากได้รับวัคซีน รายงานการทบทวนเชิงอภิมานล่าสุดในปี พ.ศ. 2560¹⁰ โดยใช้ Bayesian Model เพื่อประเมินระดับแอนติบอดีต่อวัคซีนไขหวัดใหญ่ชนิดเชื้อตาย 3 สายพันธุ์ในผู้สูงอายุตั้งแต่ 65 ปีขึ้นไปพบว่าผู้สูงอายุจำนวน 41-51% มีแอนติบอดีในระดับที่ป้องกันโรคได้ (HI titer $\geq 1:40$) ตั้งแต่ก่อนฉีดวัคซีน และเพิ่มขึ้นเป็น 75-78% หลังฉีดวัคซีนได้ 21-42 วัน และเมื่อครบ 360 วัน ผู้มีแอนติบอดีในระดับที่ป้องกันโรคได้จะลดลงต่ำกว่า 60% (A/H1 42% [95%CI 38-46], A/H3 59% [54-63], B 47% [42-53]) การศึกษานี้สรุปว่า ผู้สูงอายุสร้าง HI antibody ในระดับที่คุ้มกันโรคได้ไม่ครอบคลุมทั้งปีหลังการได้รับวัคซีน มีรายงานว่าผู้สูงอายุมักมีแอนติบอดีในระดับที่คุ้มกันโรคได้ลดลงภายใน 4 เดือนหลังจากได้รับวัคซีน¹¹ ระยะเวลาของการคงอยู่ของภูมิคุ้มกันหลังจากที่ได้รับวัคซีนเป็นประเด็นที่สำคัญทางด้านสาธารณสุขสำหรับประเทศที่มีฤดูกาลของไขหวัดใหญ่มากกว่าหนึ่งฤดูกาล¹⁰ เช่นเดียวกับประเทศไทยที่มีฤดูกาลของไขหวัดใหญ่ปีละสองครั้ง คือ ช่วงฤดูฝน (ระหว่างเดือนมิถุนายนถึงสิงหาคม) และช่วงฤดูหนาว (ระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์)¹²

การให้วัคซีนไขหวัดใหญ่ในประเทศไทย

ในปี พ.ศ. 2542 ประเทศไทยมีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันไขหวัดใหญ่ในอาสาสมัครที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไป จำนวน 282 คน พบว่าหลังฉีดวัคซีน 1 เดือน

อาสาสมัคร ร้อยละ 98.6 มีภูมิคุ้มกันในระดับที่ป้องกันโรคได้ต่อเชื้อ A/H1N1 และลดลงเหลือ ร้อยละ 88.1 เมื่อระยะเวลาผ่านไป 12 เดือน ในขณะที่อาสาสมัคร ร้อยละ 96.4 มีภูมิคุ้มกันในระดับที่ป้องกันโรคได้ต่อเชื้อ A/H3N2 ภายหลังจากฉีดวัคซีนได้ 1 เดือนและลดลงเหลือ ร้อยละ 80.6 ในเวลา 12 เดือนต่อมา และจำนวนของผู้มีระดับภูมิคุ้มกันที่ป้องกันโรคได้ต่อเชื้อ B พบได้ ร้อยละ 48.4 และ ร้อยละ 15.5 เมื่อเวลา 1 และ 12 เดือนตามลำดับ

กระทรวงสาธารณสุข ประเทศไทยเริ่มนโยบายให้วัคซีนไขหวัดใหญ่มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2547 โดยเริ่มให้ในกลุ่มบุคลากรทางการแพทย์ก่อน ต่อมาในปี พ.ศ. 2551 จึงเริ่มให้ในกลุ่มเสี่ยง ได้แก่ ผู้สูงอายุ ผู้มีโรคประจำตัวเรื้อรังและในปี พ.ศ. 2553 ได้เริ่มให้วัคซีนในกลุ่มหญิงตั้งครรภ์และเด็กเล็กอายุ 6-35 เดือน¹³ การศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิผลและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันหลังได้รับวัคซีนในกลุ่มผู้สูงอายุในประเทศไทยมีอยู่หลายรายงาน แต่ก็ยังขาดข้อมูลในอีกหลายแง่มุมซึ่งมีความจำเป็นต่อการพิจารณาการให้วัคซีนของประเทศ

การศึกษาประสิทธิผลของวัคซีนไขหวัดใหญ่โดยศูนย์ความร่วมมือไทย-สหรัฐฯ ด้านสาธารณสุข

ในปี พ.ศ. 2558 ศูนย์ความร่วมมือไทย-สหรัฐฯ ด้านสาธารณสุข ได้ดำเนินการโครงการศึกษาเชิงสังเกต ถึงประสิทธิผลของวัคซีนไขหวัดใหญ่ชนิดเชื้อตายสามสายพันธุ์ (trivalent inactivated influenza vaccine: IIV3) ในผู้ที่มีอายุตั้งแต่ 65 ปีขึ้นไปในจังหวัดนครพนม โดยทำการเฝ้าติดตามอาสาสมัครจำนวน 3,220 คน ทุกสัปดาห์ เป็นเวลาสองปี ในจำนวนนี้มีผู้สูงอายุฉีดวัคซีนไขหวัดใหญ่ 1,499 คน และมี 177 คน ที่ถูกเจาะเลือดเป็นระยะเพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของระดับแอนติบอดี และเพื่อประเมินประสิทธิผลของวัคซีนด้วยการวิเคราะห์ข้อมูลของอาสาสมัครกลุ่มนี้ทำโดยการเจาะเลือดครั้งแรกเพื่อเก็บไว้เป็นตัวเปรียบเทียบ (prevaccination blood) ก่อนที่จะฉีดวัคซีนประจำปี พ.ศ. 2558 ซึ่งประกอบด้วยไวรัสสามสายพันธุ์ คือ A/California/7/2009 (H1N1), A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) และ B/Phuket/3073/2013 และอาสาสมัครจะถูกเจาะเลือดครั้งที่สอง ในวันที่ 28 (หรือหนึ่งเดือนหลังได้รับวัคซีน) ครั้งที่สามในวันที่ 180 (6 เดือนหลังได้รับวัคซีน) และครั้งที่สี่ วันที่ 360 (1 ปีหลังได้รับวัคซีน) และในครั้งนี้อาสาสมัครจะได้รับวัคซีนป้องกันไขหวัดใหญ่เป็นครั้งที่ 2 ประจำปี พ.ศ. 2559 ซึ่งประกอบด้วยไวรัสสามสายพันธุ์คือ A/California/7/2009 (H1N1), A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) และ B/Brisbane/60/2008 และเก็บเลือดครั้งที่ 5 ในวันที่ 28 หลังได้รับวัคซีนเข็มที่สอง ตัวอย่างเลือดจะถูกนำส่งไปยังสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข (สวส) เพื่อตรวจหาระดับ HI antibody ทั้งนี้สายพันธุ์ของไวรัสที่ใช้เป็น

แอนติเจนทดสอบได้ถูกเปลี่ยนให้ตรงตามสายพันธุ์ในวัคซีนที่ฉีดให้อาสาสมัครในทั้งสองปี ความเข้มข้นสุดท้ายของแอนติเจนที่ใช้ในการทดสอบคือ 4 hemagglutination units (HAU) และใช้เม็ดเลือดแดงแห้งในการทำปฏิกิริยา

การสร้างแอนติบอดีตอบสนองต่อวัคซีนไข้หวัดใหญ่

การศึกษานี้พบว่าอาสาสมัครผู้สูงอายุมีการตอบสนองต่อวัคซีนในระดับดีมาก โดยเฉพาะต่อเชื้อ A/H3N2 ซึ่งที่ 1 เดือนหลังฉีดวัคซีน พบแอนติบอดีในระดับที่คุ้มกันโรคได้สูงถึงร้อยละ 95.5 และลดลงไปอยู่ที่ ร้อยละ 86.2 และร้อยละ 80.7 เมื่อเวลาผ่านไป 6 เดือน และ 12 เดือนตามลำดับ ไวรัสสายพันธุ์ที่กระตุ้นแอนติบอดีได้สูงรองลงมา คือไวรัสไข้หวัดใหญ่ไทป์ บี โดยพบ seroprotection ร้อยละ 83.1 ในเดือนที่ 1 และลดลงมาเหลือ ร้อยละ 63.2 และ ร้อยละ 51.1 ในเดือนที่ 6 และเดือนที่ 12 ตามลำดับ เชื้อ A/H1N1 กระตุ้นแอนติบอดีในระดับที่ป้องกันโรคได้ดีที่สุด คือ พบร้อยละ 71.8 ในเดือนที่ 1 และลดลงมาเหลือร้อยละ 61.5 และร้อยละ 48.0 ในเดือนที่ 6 และเดือนที่ 12 ตามลำดับ (รูปที่ 1) จากการศึกษาวิเคราะห์พบว่าร้อยละ seroprotection ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทุก 6 เดือน และเกิดกับทุกสายพันธุ์ (McNemar's test ; $p < 0.01$) และยังพบว่าร้อยละ seroprotection ที่เกิดจากการกระตุ้นด้วยเชื้อ A/H3N2 จะสูงกว่าสายพันธุ์อื่นในทุกช่วงเวลาที่ทำการศึกษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน (McNemar's test ; $p < 0.05$)

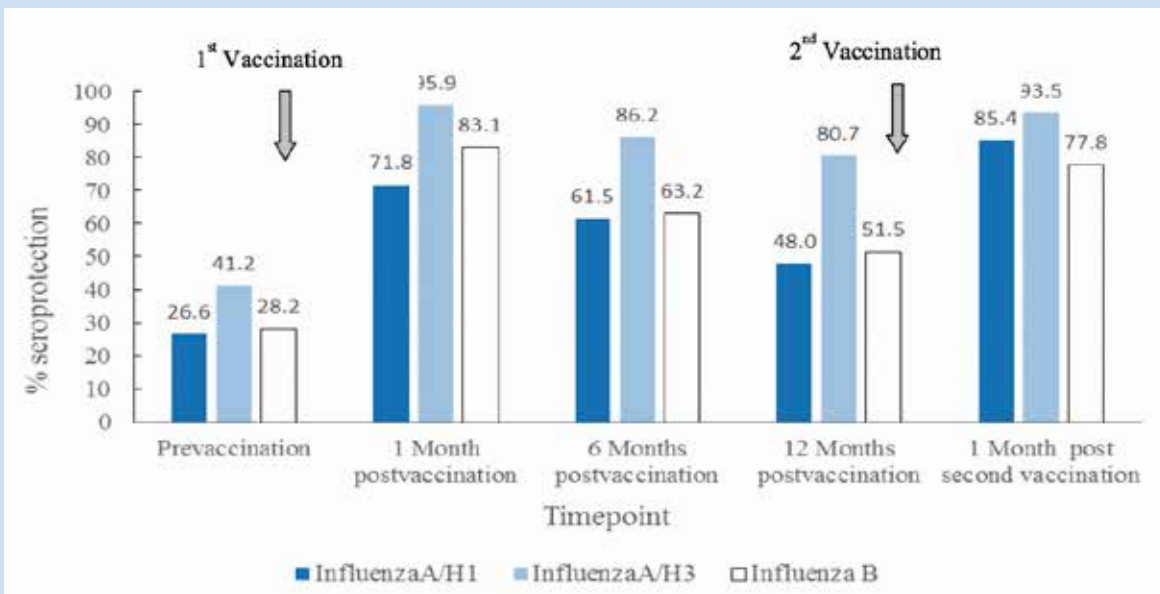
ในการศึกษาถึงความสามารถในการสร้างแอนติบอดีในระดับที่ป้องกันโรคได้ในผู้ที่เคยได้รับวัคซีนมาแล้ว พบว่าหลังฉีดวัคซีนเข็มที่สองได้ 1 เดือน อาสาสมัครมีร้อยละ seroprotection ต่อ A/H3N2 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ใหม่ในระดับสูงไม่แตกต่างจากเมื่อรับวัคซีนเข็มแรกได้ 1 เดือน คือ สูงถึง

ร้อยละ 93.5 ส่วนร้อยละ seroprotection ต่อเชื้อไข้หวัดใหญ่ไทป์ บี ซึ่งเป็นสายพันธุ์ใหม่เช่นกัน พบได้ร้อยละ 77.8 ซึ่งน้อยกว่าที่พบหลังฉีดวัคซีนเข็มแรก และต่อเชื้อ A/H1N1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์เดิม พบ seroprotection ร้อยละ 85.4 ซึ่งสูงขึ้นกว่าเดิม

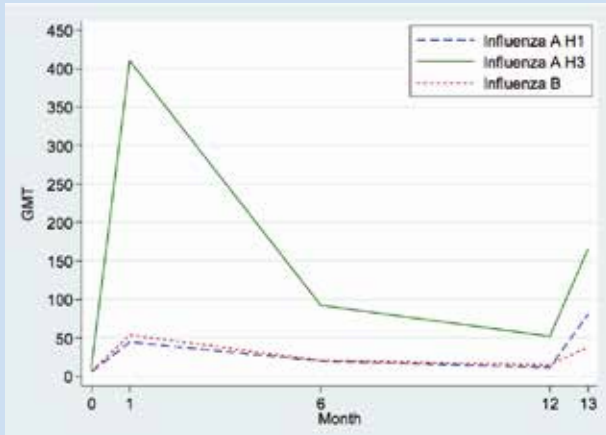
ระดับแอนติบอดีไคเตอร์ในอาสาสมัครที่ช่วงเวลาต่างๆ ภายหลังจากการฉีดวัคซีน

นอกจากการตรวจหาร้อยละ seroprotection แล้วงานศึกษานี้ยังตรวจวัดระดับแอนติบอดีไคเตอร์ที่อาสาสมัครสร้างขึ้นต่อเชื้อแต่ละสายพันธุ์ในวัคซีนด้วย โดยแสดงค่าเป็นแอนติบอดีไคเตอร์โดยเฉลี่ย (geometric mean titer- GMT) และพบว่าค่า GMT มีลักษณะไปในทางเดียวกันกับค่าของร้อยละ seroprotection คือ ระดับแอนติบอดีต่อไวรัส A/H3N2 สูงกว่าระดับแอนติบอดีต่อไวรัสไข้หวัดใหญ่ไทป์ บี และสูงกว่า A/H1N1 โดยลำดับ ตลอดทุกช่วงเวลาที่ทำการศึกษา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ANOVA ; $p < 0.01$) (รูปที่ 2) อย่างไรก็ตามก็ไม่ได้มีความแตกต่างระหว่าง GMT ของ เชื้อ A/H1N1 และไข้หวัดใหญ่ไทป์ บี ($p\text{-value} > 0.05$)

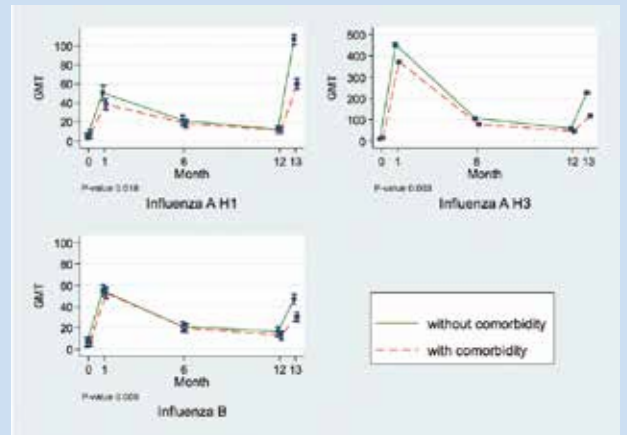
นอกจากนี้เมื่อแบ่งอาสาสมัคร 177 คนนี้ออกเป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่มีโรคประจำตัวเรื้อรัง ได้แก่ โรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคถุงลมโป่งพอง โรคหลอดเลือดสมอง โรคไตเรื้อรัง โรคตับเรื้อรัง และโรคเมะเร็ง จำนวน 87 คน กับกลุ่มที่ไม่มีโรคประจำตัว จำนวน 90 คน แล้วทำการเปรียบเทียบระดับแอนติบอดีไคเตอร์ระหว่างอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มพบว่ากลุ่มที่มีโรคประจำตัวจะมีค่าของ GMT น้อยกว่าผู้สูงอายุที่ไม่มีโรคประจำตัว ในทุกช่วงเวลาทดสอบ (multilevel regression) (รูปที่ 3)



รูปที่ 1 ร้อยละ seroprotection ที่พบในอาสาสมัครภายหลังจากการฉีดวัคซีนไข้หวัดใหญ่ชนิดเชื้อตายสามสายพันธุ์



รูปที่ 2 HI antibody titers (GMT) ต่อวัคซีนเชื้อตายสามสายพันธุ์ ในอาสาสมัครผู้สูงอายุ



รูปที่ 3 การเปรียบเทียบระดับ HI antibody (GMT) ต่อวัคซีนไขหวัดใหญ่ระหว่างกลุ่มผู้ที่มีโรคประจำตัวกับกลุ่มผู้ไม่มีโรค

การป่วยด้วยโรคติดเชื้อระบบทางเดินหายใจเฉียบพลัน ในอาสาสมัครที่ได้รับวัคซีน

อาสาสมัครกลุ่มนี้ประกอบด้วย 177 คน เป็น ชาย 65 คน (ร้อยละ 37.0) หญิง 112 คน (ร้อยละ 63.0) มีอายุเฉลี่ย 72 ปี ต่ำสุด 65 ปี สูงสุด 91 ปี มีโรคประจำตัว 87 คน (ร้อยละ 49.0) โดยโรคประจำตัวที่พบสูงสุดสามอันดับแรก คือ โรคหัวใจ (ร้อยละ 31.0) ความดันโลหิตสูง (28.0) และโรคเบาหวาน (ร้อยละ 16.0) การติดตามอาสาสมัครภายหลังฉีดวัคซีน ทุกสัปดาห์ เป็นเวลาสองปี เพื่อเฝ้าระวังการเกิดขึ้นของโรคติดเชื้อระบบทางเดินหายใจเฉียบพลัน พบว่ามีโรคเกิดขึ้น 159 ครั้ง ในจำนวนนี้เป็นโรคไขหวัดใหญ่ 5 ราย (ร้อยละ 3.1) จำแนกเป็น

A/H1 จำนวน 2 คน, A/H3 จำนวน 2 คน และ ไขหวัดใหญ่ไทรปีปี 1 คน ผู้ป่วยทุกคนมีโรคประจำตัวเรื้อรัง ได้แก่ โรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง และโรคหัวใจ (ตารางที่ 1)

เมื่อพิจารณาถึงระดับของ HI antibody ในผู้ป่วยไขหวัดใหญ่ พบว่าผู้ป่วยรายที่ 5 มี HI antibody titer ต่ำกว่าระดับที่สามารถป้องกันโรคได้ และผู้ป่วยรายที่ 3 และ 4 แม้จะไม่มีผลการทดสอบยืนยัน แต่ก็น่าจะมี HI titer ต่ำกว่าระดับที่สามารถป้องกันโรคได้เช่นกัน สำหรับผู้ป่วยรายที่ 1 และ 2 ซึ่งป่วยจากการติดเชื้อ A/H1pdm09 ทั้งสองราย คาดว่าเกิดโรคต่างๆ ที่น่าจะมีแอนติบอดีในระดับที่สามารถป้องกันโรคได้

ตาราง 1 ลักษณะของอาสาสมัครที่ป่วยเป็นโรคไขหวัดใหญ่

คนที่	เพศ	อายุ (ปี)	โรคร่วม	ระดับ HI titer หลังฉีดวัคซีน (เดือน)				วันที่ป่วย	สายพันธุ์ไขหวัด
				1 ^a	6	12	1b		
1	หญิง	67	1, 2	1:10	1:160	1:80	1:80	4 เดือนหลังฉีดวัคซีนเข็มแรก	A/H1pdm09
2	หญิง	72	3	1:320	1:40	1:20	1:160	5 เดือนหลังฉีดวัคซีนเข็มที่สอง	A/H1pdm09
3	หญิง	66	1, 2	1:20	1:20	1:20	1:40	2 เดือนหลังฉีดวัคซีนเข็มที่สอง	B/Brisbane/ 60/2008-like
4	ชาย	66	1, 3	1:10	1:10	-c	-c	2 เดือนหลังฉีดวัคซีนเข็มแรก	A/Switzerland/ 9715293/2013 (H3N2)-like
5	ชาย	70	1, 2	1:80	1:20	1:20	1:20	6 เดือนหลังฉีดวัคซีนเข็มที่สอง	A/Hong Kong/4801/ 2014 (H3N2)-like

1 = ความดันโลหิตสูง; 2 = โรคหัวใจ; 3 = โรคเบาหวาน; a = หลังฉีดวัคซีนครั้งที่ 1 (21/5/58); b = หลังฉีดวัคซีนครั้งที่ 2 (20/5/59); c = ไม่ได้ตรวจ
หมายเหตุ: วัคซีนเข็มที่ 1 ประกอบด้วย A/California/7/2009 (H1N1), A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) และ B/Phuket/3073/2013
วัคซีนเข็มที่ 2 ประกอบด้วย A/California/7/2009 (H1N1), A/Hong Kong/4801/2014(H3N2) และ B/Brisbane/60/2008

สรุป

การศึกษาเกี่ยวกับการสร้างแอนติบอดีตอบสนองต่อวัคซีนไข้หวัดใหญ่ในอาสาสมัครชาวไทยที่มีอายุตั้งแต่ 65 ปีขึ้นไปของศูนย์ความร่วมมือไทย-สหรัฐฯ ด้านสาธารณสุขแสดงให้เห็นว่า ผู้สูงอายุมีความสามารถในการสร้างแอนติบอดีได้ดีที่เวลา 1 เดือนภายหลังวัคซีนเข็มแรก พบว่าร้อยละ seroprotection เพิ่มขึ้น 2.3-2.9 เท่า เมื่อเทียบกับ baseline level (ร้อยละ 26.6 เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 71.8 สำหรับเชื้อ H1N1pdm; ร้อยละ 41.2 เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 95.9 สำหรับเชื้อ H3N2 และร้อยละ 28.2 เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 83.1 สำหรับเชื้อ ไข้หวัดใหญ่) ซึ่งเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานของ CPMP แต่ที่เวลา 1 เดือนภายหลังวัคซีนเข็มที่ 2 ไม่มีเชื้อสายพันธุ์ใดเลยที่กระตุ้นร้อยละ seroprotection ได้มากถึง 2 เท่าเมื่อเทียบกับค่าร้อยละ seroprotection ในเลือดที่เจาะในเดือนที่ 12 แสดงว่าระดับแอนติบอดีที่อาสาสมัครสามารถสร้างได้ขึ้นอยู่กับระดับแอนติบอดีที่มีอยู่ก่อนฉีดวัคซีน ระดับแอนติบอดีที่สามารถป้องกันโรคได้ทั้งร้อยละ seroprotection และค่า GMT มีค่าสูงสุดที่หนึ่งเดือนภายหลังการฉีดวัคซีนเข็มแรก และหลังจากนั้นจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทุก 6 เดือน ข้อมูลนี้น่าจะเป็นประโยชน์ต่อนโยบายการบริหารจัดการด้านเวลาที่สมควรเริ่มฉีดวัคซีนให้กลุ่มผู้สูงอายุชาวไทย ฤดูกาลการระบาดของโรคไข้หวัดใหญ่ในประเทศไทยจะเริ่มในฤดูฝน ระหว่างเดือนมิถุนายนถึงสิงหาคมเป็นช่วงที่พบผู้ป่วยมากที่สุด จึงควรรณรงค์ให้วัคซีนแก่ผู้สูงอายุตั้งแต่ต้นเดือนพฤษภาคมในแต่ละปี และการที่พบว่าผู้สูงอายุที่มีโรคประจำตัวมีโอกาสเป็นโรคไข้หวัดใหญ่มากกว่าผู้สูงอายุทั่วไป ดังนั้นหากการรณรงค์มีข้อจำกัดเรื่องจำนวนวัคซีนและผู้ปฏิบัติงาน ผู้สูงอายุที่มีโรคประจำตัวควรได้รับการพิจารณาให้วัคซีนก่อนเป็นกลุ่มแรก

เมื่อพิจารณาถึงความสามารถของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ในการกระตุ้นการสร้างแอนติบอดี การศึกษานี้พบว่า เชื้อสายพันธุ์ A/H3N2 กระตุ้นการสร้างแอนติบอดีได้ดีที่สุดตลอดเวลาที่ทำการศึกษาดูตาม แต่การศึกษาในประเทศไทยเมื่อ 18 ปี

ที่ผ่านมา¹⁴ พบว่าเชื้อ A/H1N1 กระตุ้นการสร้างแอนติบอดีได้ดีที่สุด ระดับของแอนติบอดีที่สร้างขึ้น และการคงอยู่ของแอนติบอดีหลังจากได้รับวัคซีนมีลักษณะใกล้เคียงกับที่พบในการศึกษานี้ซึ่งแสดงว่าความสามารถในการกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแต่ละปีด้วย นอกจากนี้ยังขึ้นกับปัจจัยอื่นๆ เช่น อายุ สถานะสุขภาพ และโรคประจำตัวของผู้รับวัคซีน ในการศึกษานี้มีอาสาสมัคร 5 ราย ป่วยเป็นโรคไข้หวัดใหญ่จากเชื้อสายพันธุ์เดียวกับที่อยู่ในวัคซีนที่ได้รับก่อนป่วย ได้พบว่าผู้ป่วยทุกรายมีโรคประจำตัว และบางรายไม่สามารถสร้างแอนติบอดีในระดับที่คุ้มกันโรคได้ ส่วนการป่วยจากเชื้อ A/H1pdm09-like virus ซึ่งพบในผู้ป่วยสองรายทั้งๆ ที่มีแอนติบอดีในระดับที่คุ้มกันโรคได้เมื่อทดสอบกับแอนติเจนที่เป็นเชื้อ A/H1pdm09 เช่นกัน อาจอธิบายได้จากการที่พบว่าผู้ที่มี HI titers > 40 สามารถคุ้มกันโรคได้เพียงร้อยละ 50.0 เท่านั้น¹⁵ หรือการป่วยในผู้ป่วยสองรายอาจเกิดจากเชื้อสาเหตุที่มีการกลายพันธุ์ไปจากเดิมจนวัคซีนคุ้มกันไม่ได้ ซึ่งการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อสาเหตุจะตอบคำถามนี้ได้ สายพันธุ์ A/California/7/2009 (H1N1) เป็นองค์ประกอบหนึ่งของวัคซีนมาอย่างยาวนานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2552 และเพิ่งเปลี่ยนเป็น A/Michigan/45/2015 (H1N1) pdm09-like virus ในปี พ.ศ. 2560-2561 นี้เอง ดังนั้นการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีน (vaccine effectiveness) นอกจากจะศึกษาด้านภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นในอาสาสมัครผู้รับวัคซีน และข้อมูลส่วนตัวของอาสาสมัครแล้ว หากมีผู้ป่วยเกิดขึ้นก็ควรจะศึกษาตัวเชื้อสาเหตุด้วยเพื่อให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์และความเข้าใจในกลไกการคุ้มกันโรคด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ดร.คิม ลินด์เบลด์ และ ดร.ปราบดา ประภาศิริ โครงการไข้หวัดใหญ่ ศูนย์ความร่วมมือไทย-สหรัฐฯ ที่ได้สนับสนุนงบประมาณและวิชาการ

References

1. Nair H, Brooks WA, Katz M, Roca A, Berkley JA, Madhi SA, et al. Global burden of respiratory infections due to seasonal influenza in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet (London, England)*. 2011;378:1917-30.
2. Thompson WW, Comanor L, Shay DK. Epidemiology of seasonal influenza: use of surveillance data and statistical models to estimate the burden of disease. *The Journal of infectious diseases*. 2006;194:82-91.
3. Jefferson T, Di Pietrantonj C, Al-Ansary LA, Ferroni E, Thorning S, Thomas RE. Vaccines for preventing influenza in the elderly. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2010:1-205.
4. Pedersen JC. Hemagglutination-inhibition test for avian influenza virus subtype identification and the detection and quantitation of serum antibodies to the avian influenza virus. *Methods in molecular biology (Clifton, NJ)*. 2008;436:53-66.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Key facts about seasonal flu vaccine [Internet]. 2017 [Cited 2017 June 5]. Available from: <https://www.cdc.gov/flu/protect/keyfacts.htm>
6. Committee for Proprietary Medicinal Products. Note for guidance on harmonization of requirements for influenza vaccine [Internet]. 1997 [Cited 2017 June 5]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003945.pdf
7. Skowronski DM, Tweed SA, De Serres G. Rapid decline of influenza vaccine-induced antibody in the elderly: is it real, or is it relevant? *The Journal of infectious diseases*. 2008;197:490-502.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Influenza (FLU) [Internet]. 2017 [Cited 2017 June 5]. Available from: <https://www.cdc.gov/flu/about/disease/65over.htm>
9. Goodwin K, Viboud C, Simonsen L. Antibody response to influenza vaccination in the elderly: a quantitative review. *Vaccine*. 2006;24:1159-69.
10. Young B, Zhao X, Cook AR, Parry CM, Wilder-Smith A, MC IC. Do antibody responses to the influenza vaccine persist year-round in the elderly? A systematic review and meta-analysis. *Vaccine*. 2017;35:212-21.
11. National Advisory Committee on Immunization (NACI). Statement on influenza vaccination for 2006-2007 season: An advisory Committee statement (ACS). *Canada Communicable Disease Report*. 2006;32:1-27
12. Chittaganpitch M, Supawat K, Olsen SJ, Waicharoen S, Patthamadilok S, Yingyong T, et al. Influenza viruses in Thailand: 7 years of sentinel surveillance data, 2004–2010. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 2012;6:276-83.
13. Owusu JT, Prapasiri P, Ditsungnoen D, Leetongin G, Yoocharoen P, Rattanayot J, et al. Seasonal influenza vaccine coverage among high-risk populations in Thailand, 2010-2012. *Vaccine*. 2015;33:742-7.
14. Praditsuwan R, Assantachai P, Wasi C, Puthavatana P, Kositanont U. The efficacy and effectiveness of influenza vaccination among Thai elderly persons living in the community. *Journal of the Medical Association of Thailand* 2005;88: 256-64.
15. Hobson D, Curry RL, Beare AS, Ward-Gardner A. The role of serum haemagglutination-inhibiting antibody in protection against challenge infection with influenza A2 and B virus. *The journal of hygiene*. 1972;70:767-77