

Research article

HBV profile of the occult HBV infection in blood donors at Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital

Nipapan Leetrakool^{*} Prajitr Tanan Ladda Fongsatitkul

Blood Bank Section, Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital Faculty of Medicine, Chiang Mai University 50200

^{*}Corresponding author (E-mail:nleetrak@mail.med.cmu.ac.th)

Abstract

Background: Since August 2008, NAT screening of blood donations by Procleic Ultrio test and Cobas TagScreen MPX test for detection of HIV-1 RNA, HCV RNA and HBV DNA has started at Blood Bank Section, Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital, Faculty of Medicine, Chiang Mai University. A total of 118 HBV NAT-reactive hepatitis B surface antigen (HBsAg) negative donors were detected.

Objective: To study the HBV profile of the HBV DNA reactive donors who were HBsAg negative called occult hepatitis B infection (OBI).

Study Design and Methods: A total of 116,305 HBsAg negative blood donation collected from August 2008 to July 2012 were selected and screened by NAT. All 118 positive HBV DNA was performed for HBV serological markers. There were 73 followed-up blood donors. Determination of HBV DNA and HBV profile were repeated.

Results: Occult hepatitis B infection NAT yield was 1:985 according to 118 positive HBV DNA blood samples. Thirty three (27.96%) donors were negative for all HBV serologic markers and 16 (13.56%) carried both anti-HBc and anti-HBs. Fifty (42.37 %) and 19 (16.10%) samples were reactive for anti-HBc or anti-HBs. The majority of samples (66, 55.93%) showed anti-HBc. Of 118 HBV NAT-yield donors, 73 (61.86 %) were followed-up which found more in male than female. The HBV viral load was lower than 12 IU/ml.

Conclusions: NAT testing in routine blood donor screening can detect HBV DNA in the window period and late stage of infection. It was difficult to detect HBsAg in the low level of HBV DNA blood donors. The decision making for high sensitivity and specificity of the NAT test should be considered for routine testing according to blood transfusion safety. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2013; 46(1): 72-80*

Keywords: NAT, blood donation, HBV, occult hepatitis B

นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจหา HBV profile ในระยะ: occult HBV infection ในผู้บริจาคโลหิตของโรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่

นิภาพรรณ ลีตระกูล* ไพโรจิตร ตานัน ลัดดา ฟองสถิตยกุล

งานธนาคารเลือด โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

*ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: nleetrak@mail.med.cmu.ac.th)

บทคัดย่อ

ความเป็นมา: งานธนาคารเลือด โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ นำเทคโนโลยีการตรวจกรองการติดเชื้อในโลหิตบริจาคโดยวิธี Nucleic Acid Test (NAT) ด้วย Procleic Ultrio test และ Cobas TagScreen MPX test มาใช้ในงานประจำตั้งแต่เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 เพื่อหาเชื้อไวรัส HIV-1 RNA, HCV RNA และ HBV DNA พบ HBV DNA ให้ผลบวกโดยที่ hepatitis B surface antigen (HBsAg) ได้ผลเป็นลบ จำนวน 118 ตัวอย่าง

วัตถุประสงค์: ศึกษา HBV profile ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ในผู้บริจาคโลหิตที่ให้ผล HBV DNA เป็นบวกและ HBsAg ให้ผลลบในระยะของการติดเชื้อที่เรียกว่า occult hepatitis B infection (OBI)

แผนการศึกษาและวิธีการ: โลหิตบริจาคระหว่างเดือนสิงหาคม 2551 ถึงเดือนกรกฎาคม 2555 ที่ HBsAg ให้ผลลบ จำนวนทั้งสิ้น 116,305 ตัวอย่าง มีตัวอย่างเลือดจำนวน 118 ตัวอย่างที่ให้ผลบวก HBV DNA และนำไปทดสอบหา HBV serologic markers มีตัวอย่างติดตามจำนวน 73 ตัวอย่าง นำมาตรวจ HBV DNA และ HBV profile ซ้ำ

ผลการทดสอบ: ตัวอย่างเลือดที่ให้ผลบวก HBV DNA จำนวน 118 ตัวอย่าง คิดเป็นการตรวจพบการติดเชื้อในระยะ occult hepatitis B infection (OBI) เท่ากับ 1: 985 มีผู้บริจาคโลหิตจำนวน 33 ราย (ร้อยละ 27.96) ให้ผล HBV profile เป็นลบ พบ anti-HBc ร่วมกับ anti-HBs จำนวน 16 ราย (ร้อยละ 13.56) ตรวจพบ anti-HBs อย่างเดียวจำนวน 19 ราย (ร้อยละ 16.10) และพบ anti-HBc อย่างเดียวจำนวน 50 ราย (ร้อยละ 42.37) คิดเป็นการพบ anti-HBc จำนวน 66 ราย (ร้อยละ 55.93) มีผู้บริจาคโลหิตที่กลับมาตรวจติดตามจำนวน 73 ราย (ร้อยละ 61.86) เป็นเพศชายมากกว่าเพศหญิงและพบปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบบีต่ำกว่า 12 IU/ml

สรุป: การนำ NAT มาใช้ในการตรวจกรองโลหิตบริจาคสามารถตรวจพบ HBV DNA ทั้งในระยะแรกและในระยะท้ายของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ซึ่งผู้บริจาคโลหิตบางรายมีปริมาณของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในกระแสเลือดต่ำมากทำให้ตรวจไม่พบ HBsAg จึงควรพิจารณานำน้ำยา NAT ที่มีความไวและความจำเพาะสูงมาใช้ในการตรวจกรองโลหิตเพื่อเพิ่มความปลอดภัยแก่ผู้ป่วย *วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2556; 46(1): 72-80*

คำห้ส: NAT, blood donation, HBV, occult hepatitis B

บทนำ

งานธนาคารเลือด โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้เพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจกรองการติดเชื้อในโลหิตบริจาคให้มีมาตรฐานสากล โดยนำเทคโนโลยีการตรวจด้วยวิธี Nucleic

Acid Test (NAT) มาใช้ตั้งแต่เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 โดยใช้ NAT assays ของ Procleic Ultrio test ซึ่งเป็นระบบกึ่งอัตโนมัติ eSAS (Chiron, Emeryville, CA) และ Cobas TagScreen MPX test ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Cobas s201 (Roche

Instrument Center, Rotkreuz, Switzerland) เพื่อหาเชื้อไวรัส HIV-1 RNA, HCV RNA และ HBV DNA พร้อมกันในหลอดเดียว โดย Cobas TagScreen MPX test ได้เพิ่มการตรวจหาเชื้อไวรัส HIV-1 RNA กลุ่ม O และ HIV-2 RNA ตัวอย่างเลือดจะถูกแบ่งตรวจสลับวันด้วยน้ำยาแต่ละชนิด โดยตรวจแบบตัวอย่างเดียวด้วย Procleic Ultrio test และตรวจด้วยตัวอย่างรวม 6 ตัวอย่างใน 1 หลอดด้วย Cobas TagScreen MPX test ตัวอย่างเลือดในถุงบรรจุหลอดมาที่ให้ผลบวกด้วยวิธีหนึ่งจะถูกนำไปตรวจซ้ำอีกวิธีหนึ่งสลับกันไปเพื่อยืนยันผลบวกพบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่อยู่ในระยะของการติดเชื้อที่เรียกว่า occult hepatitis B infection (OBI)¹ โดยสามารถตรวจพบ HBV DNA แต่ตรวจไม่พบ HBsAg และอาจจะตรวจพบหรือไม่พบ anti-HBc หรือ anti-HBs² การตรวจพบ HBV DNA อาจพบในระยะแรกเริ่มของการติดเชื้อ (window period) ในระยะท้ายของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรัง (tail-end of chronic HBV infection) หรืออาจตรวจพบ HBV DNA ในระดับต่ำๆ ในระยะฟื้นตัวภายหลังการตรวจพบ anti-HBs หรือการเกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี เพื่อหลีกเลี่ยงระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายหลังการติดเชื้อ หรือจากการที่เคยได้รับวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบี ในระยะต่างๆ ที่กล่าวมาจะไม่สามารถตรวจพบ HBsAg ด้วยน้ำยาที่ตรวจด้วยวิธีซีโรโลยีที่ใช้ในปัจจุบัน³ จึงน่าเป็นห่วงว่าผู้บริจาคโลหิตที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระยะ occult hepatitis ที่ไม่ได้ตรวจการติดเชื้อเพิ่มเติมด้วยวิธี NAT สามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีไปยังผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาโดยการให้เลือด ส่วนประกอบของเลือดและการได้รับอวัยวะบริจาค^{4,5} โดยเฉพาะอย่างยิ่งประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ซึ่งองค์การอนามัยโลกยังคงจัดให้อยู่ในกลุ่มที่มีการระบาดของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระดับสูง⁶ จากรายงานของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยพบว่าผู้บริจาคโลหิตติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระยะ occult hepatitis เป็นจำนวนมาก หลังจากที่มีการนำ NAT มาใช้ในการตรวจกรองโลหิตในงานประจำวันตั้งแต่ปี พ.ศ.2550^{7,8} การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษา HBV profile ของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในผู้บริจาคโลหิตของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ให้ผล HBV DNA เป็นบวกและ HBsAg ให้ผลลบในระยะของการติดเชื้อที่เรียกว่า occult hepatitis B infection (OBI)

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่าง HBV DNA ที่ให้ผลบวก

โลหิตบริจาคระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 ดำเนินการเจาะเก็บที่งาน

ธนาคารเลือดและหน่วยเคลื่อนที่ของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 122,320 ตัวอย่างและผ่านการตรวจการกรองการติดเชื้อ anti-HIV1/2, p24 antigen, anti-HCV, HBsAg และ Syphilis ด้วยวิธีซีโรโลยีโดยใช้หลักการ Chemiluminescent micro-particle immunoassay (Architect Abbott, Wies-baden, Germany) แล้วให้ผลลบจำนวน 116,305 ตัวอย่าง นำไปตรวจหาเชื้อไวรัส HIV-1 RNA, HCV RNA และ HBV DNA ด้วยวิธี NAT ทั้งสองวิธี แบบตัวอย่างเดียวด้วย Procleix Ultrio test ระบบกึ่งอัตโนมัติ eSAS และแบบรวม 6 ตัวอย่างด้วย Cobas TaqScreen MPX test ระบบอัตโนมัติ Cobas s201 มีตัวอย่างเลือดจำนวน 118 ตัวอย่างที่ให้ผลบวก HBV DNA

การทดสอบหา HBV profile ในตัวอย่างที่ให้ผลบวก HBV DNA (Index)

ตัวอย่างที่ตรวจพบ HBV DNA จำนวน 118 ตัวอย่าง นำไปทดสอบหา HBV profile ด้วย Architect anti-HBc immunoglobulin M (IgM), anti-HBc Immunoglobulin G (IgG), anti-hepatitis B e antigen (anti-HBe) และ anti-hepatitis B surface antigen (anti-HBs) (Architect, Abbott Diagnostics, Sligo, Ireland)

การศึกษาติดตาม (follow up) ผู้บริจาคโลหิตที่ให้ผลบวก HBV DNA

ผู้บริจาคโลหิตที่ให้ผลบวก HBV DNA และได้รับการตรวจยืนยันผลบวกแล้วด้วยเครื่อง Cobas AmpliScreen Test ที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย หรือที่ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล จะมีการติดตาม (follow-up) ภายใน 2 สัปดาห์ถึง 1 เดือน และติดตามเป็นระยะภายใน 6 เดือน เพื่อเจาะเก็บตัวอย่างเลือดและตรวจการกรองการติดเชื้อซีโรโลยีที่เขตรองงานประจำวันและทดสอบหา HBV DNA แบบตัวอย่างเดียวด้วย Procleix Ultrio test ระบบกึ่งอัตโนมัติ eSAS และ Cobas TaqScreen MPX test ระบบอัตโนมัติ Cobas s201 รวมทั้งทดสอบหา HBV profile เช่นเดียวกับตัวอย่างที่เป็น index

ผลการศึกษา

ตารางที่ 1 แสดงผลการทดสอบตัวอย่างเลือดบริจาคของงานธนาคารเลือดโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่ผ่านการตรวจการกรองการติดเชื้อโดยวิธีซีโรโลยีแล้ว ให้ผลเป็นลบและเป็นตัวอย่างเลือดที่ได้รับบริจาคระหว่าง

Table 1 Prevalence of HBV DNA in HBsAg-negative blood donors collected from August 2008 to July 2012 at Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital

Period	Number of donation	HBV DNA-positive	Prevalence of OBI
Aug 2008 - July 2009	27,235	30	1 : 907
Aug 2009 - July 2010	28,575	30	1 : 952
Aug 2010 - July 2011	29,491	27	1 : 1,092
Aug 2011 - July 2012	31,004	31	1 : 1,007
Total	116,305	118	1 : 985

OBI = occult hepatitis B infection

เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 จำนวนทั้งสิ้น 116,305 ตัวอย่าง พบตัวอย่างเลือดที่ให้ผลบวก HBV DNA จำนวน 118 ตัวอย่าง คิดเป็นการตรวจพบการติดเชื้อในระยะ occult hepatitis B infection (OBI) เท่ากับ 1: 985 แบ่งออกเป็นตัวอย่างเลือดที่ได้รับบริจาคระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2551 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2552 จำนวน 27,235 ตัวอย่าง พบ HBV DNA จำนวน 30 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ.2552 ถึงเดือนกรกฎาคม 2553 จำนวน 28,575 ตัวอย่าง พบ HBV DNA จำนวน 30 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ.2553 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ.2554 จำนวน 29,491 ตัวอย่าง พบ HBV DNA จำนวน 27 ตัวอย่างและระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ.2554 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 จำนวน 31,004 ตัวอย่าง พบ HBV DNA จำนวน 31 ตัวอย่าง คิดเป็นการตรวจพบการติดเชื้อในระยะ OBI เท่ากับ 1: 907, 1:952, 1:1,092 และ 1:1,007

ตามลำดับ

ตารางที่ 2 แสดงผลการตรวจ HBV profile ในตัวอย่างเลือดของผู้บริจาคโลหิตจำนวน 118 รายที่ตรวจพบ HBV DNA พบว่าตรวจพบโดยวิธี Cobas TagScreen MPX test จำนวน 74 ราย และตรวจพบโดยวิธี Procleic Ultrio test จำนวน 44 ราย มีผู้บริจาคโลหิตจำนวน 33 ราย (ร้อยละ 27.96) ให้ผล HBV profile เป็นลบ เป็นการตรวจพบโดยวิธี Procleic Ultrio test จำนวน 18 รายและวิธี Cobas TagScreen MPX test จำนวน 15 ราย ผู้บริจาคโลหิตจำนวน 16 ราย (ร้อยละ 13.56) พบ anti-HBc และ anti-HBs ซึ่งตรวจพบโดยวิธี Procleic Ultrio test จำนวน 6 ราย และวิธี Cobas TagScreen MPX test จำนวน 10 ราย พบผู้บริจาคโลหิตที่ตรวจพบ anti-HBc เพียงอย่างเดียวจำนวน 50 ราย (ร้อยละ 42.37) โดยตรวจพบด้วยวิธี Cobas TagScreen MPX test จำนวน 40 ราย ซึ่งพบมากกว่าวิธี Procleic Ultrio test พบ

Table 2 Serological HBV profile of the 118 HBV DNA-positive blood donors

HBV serology markers	Total number detected (%)	HBV DNA detected by	
		Procleic Ultrio Test: IDT	Cobas TagScreen MPX Test: pool of 6
Negative for all markers	33 (27.96)	18	15
Anti-HBc plus anti-HBs	16 (13.56)	6	10
Anti-HBc only	50 (42.37)	10	40
Anti-HBs only	19 (16.10)	10	9
Total	118 (100.00)	44	74

IDT = Individual-donation testing.

Note: Anti-HBs antibody level of 5.65-72.96 mIU/ml found in 26 donors, 116.44- 441.09 mIU/ml in 7 donors and >1,000 mIU/ml in 2 donors

เพียง 10 ราย และตรวจพบ anti-HBs เพียงอย่างเดียวจำนวน 19 ราย (ร้อยละ 16.10) ด้วยวิธี Procleic Ultrio test จำนวน 10 ราย และวิธี Cobas TagScreen MPX test จำนวน 9 ราย จากผลการศึกษาพบว่าผู้บริจาคโลหิตจำนวน 66 ราย (ร้อยละ 55.93) มีผล anti-HBc เป็นบวก พบ anti-HBs จำนวน 35 ราย ที่มีค่าระหว่าง 5.65-72.96 mIU/ml. จำนวน 26 ราย, มีค่าระหว่าง 116.44-441.09 mIU/ml. จำนวน 7 ราย และมากกว่า 1,000 mIU/ml. จำนวน 2 ราย

ตารางที่ 3 แสดงผลการตรวจ HBV profile ในตัวอย่างเลือดของผู้บริจาคโลหิตที่สามารถติดตามจำนวน 73 ราย (ร้อยละ 61.86) แบ่งเป็นเพศชายจำนวน 57 ราย เพศหญิง จำนวน 16 ราย เป็นผู้บริจาคโลหิตครั้งแรก 35 ราย และเป็นผู้ที่เคยมาบริจาคโลหิตที่โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ภายใน 3 ปี จำนวน 38 ราย มีอายุระหว่าง 17 ถึง 56 ปี (ค่ากลาง 23 ปี) มีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ต่ำกว่า 12 IU/ml ถึง 189 IU/ml พบผู้บริจาคโลหิตที่มีผล HBV profile เป็นลบ จำนวน 22 ราย เป็นเพศชายจำนวน 18 ราย เพศหญิง จำนวน 4 ราย เป็นผู้บริจาคโลหิตครั้งแรก จำนวน 9 ราย เป็นผู้ที่เคยมาบริจาคโลหิตจำนวน 13 ราย มีอายุระหว่าง 17 ถึง 40 ปี (ค่ากลาง 22 ปี) มีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ต่ำกว่า 12 IU/ml ถึง 189 IU/ml มีผู้บริจาคโลหิตจำนวน 9 ราย ที่ตรวจพบ anti-HBc และ anti-HBs เป็นเพศชาย จำนวน 6 ราย เพศหญิง จำนวน 3 ราย เป็นผู้มาบริจาคโลหิตครั้งแรก จำนวน 5 ราย เคยมาบริจาคโลหิตแล้วจำนวน 4 ราย มีอายุระหว่าง 17 ถึง 56 ปี (ค่ากลาง 29 ปี) และมี

ปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ต่ำกว่า 12 IU/ml มีผู้บริจาคโลหิตจำนวน 28 รายที่ตรวจพบ anti-HBc อย่างเดียว เป็นเพศชายจำนวน 24 ราย เพศหญิงจำนวน 4 ราย เป็นผู้บริจาคโลหิตครั้งแรกจำนวน 15 ราย เคยมาบริจาคโลหิตแล้วจำนวน 13 ราย มีอายุระหว่าง 17 ถึง 52 ปี (ค่ากลาง 26 ปี) ผู้บริจาคโลหิตทั้ง 9 รายมีปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบบีต่ำกว่า 12 IU/ml มีผู้บริจาคโลหิตที่ตรวจพบ anti-HBs เพียงอย่างเดียวจำนวน 14 ราย เป็นเพศชายจำนวน 9 ราย เพศหญิงจำนวน 5 ราย เป็นผู้บริจาคโลหิตครั้งแรก 6 ราย เคยมาบริจาคโลหิตแล้วจำนวน 8 ราย มีอายุระหว่าง 18 ถึง 28 ปี (ค่ากลาง 22 ปี) มีปริมาณไวรัสตับอักเสบบีต่ำกว่า 12 IU/ml ถึง 47.9 IU/ml จากผลการศึกษาพบว่าผู้บริจาคโลหิตส่วนใหญ่จำนวน 37 ราย จะตรวจพบ anti-HBc ซึ่งพบในเพศชายมากกว่า เพศหญิงและมีปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบบีต่ำกว่า 12 IU/ml

ตารางที่ 4 แสดงระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี จากตัวอย่างเลือดของผู้บริจาคโลหิตที่สามารถติดตามจำนวน 73 ราย พบว่ามีการติดเชื้อในระยะแรกจำนวน 17 ราย ซึ่งอยู่ในระยะ window period จำนวน 9 รายจากการตรวจพบ HBsAg, HBeAg, anti-HBc IgM, anti-HBc หรือ anti-HBs มีผู้บริจาคจำนวน 8 ราย อยู่ในระยะสุดท้ายของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี โดยตรวจพบ anti-HBc, anti-HBs, HBV DNA และ anti-HBe จากการศึกษพบว่าผู้บริจาคส่วนใหญ่ (45 ราย, ร้อยละ 61.64) ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระยะ occult HBV infection จากการตรวจพบ HBV DNA, anti-HBc หรือ anti-HBs หรือ anti-HBe โดยพบผู้บริจาคโลหิตจำนวน

Table 3 Serological HBV profile of the follow-up index donations of 73 HBV DNA-positive

HBV serology markers	Number of donors	Sex M/F	Status FD/RD	HBV	Median age of donors, years
				viral load, IU/ml	(range)
Negative for all markers	22	18/4	9/13	< 12 - 189	22 (17-40)
Anti-HBc + anti-HBs	9	6/3	5/4	< 12	29 (17-56)
Anti-HBc only	28	24/4	15/13	< 12	26 (17-52)
Anti-HBs only	14	9/5	6/8	< 12 - 47.9	22 (18-28)
Total	73	57/16	35/38	< 12 - 189	23 (17-56)

M/F=male/female

FD = first time donors

RD = repeated donors

1 รายที่อยู่ในระยะของการติดเชื้อซ้ำจากการตรวจพบ anti-HBs ในตัวอย่างเลือดครั้งแรกและพบ anti-HBc IgM, anti-HBc, HBV DNA และมีค่า anti-HBs เพิ่มสูงขึ้นในตัวอย่างติดตาม และมีผู้บริจาคโลหิตจำนวน 10 รายที่ไม่สามารถยืนยันระยะการติดเชื้อได้เพราะยังคงตรวจพบ anti-HBs เพียงอย่างเดียวเช่นเดียวกับตัวอย่างเลือดครั้งแรก

วิจารณ์ผลการศึกษา

จากการที่รัฐบาลไทยกำหนดให้ทารกแรกเกิดทุกคนต้องได้รับวัคซีนตับอักเสบบี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2535 เป็นต้นมา ทำให้สถานการณ์โรคไวรัสตับอักเสบบีในประเทศไทยค่อนข้างคงที่มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 จากรายงานการเฝ้าระวังของสำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

Table 4 Classification of HBV infection in follow-up donors

HBV infection status	Number of donors (%)	Serology of index donation	Serology and HBV DNA of follow-up donors
Primary, acute infection			
Window period	9 (12.33)	Negative	HBsAg Anti-HBc IgM Anti-HBc Anti-HBs HBeAg
Late stage	8 (10.96)	Anti-HBc	Anti-HBc Increasing anti-HBs HBV DNA Anti-HBe
Occult HBV infection			
	3 (4.11)	Negative	HBV DNA Anti-HBc
	10 (13.69)	Anti-HBc/anti-HBs	Anti-HBc Anti-HBs HBV DNA Anti-HBe
	25 (34.25)	Anti-HBc	Anti-HBs Anti-HBc HBV DNA Anti-HBe
	7 (9.59)	Anti-HBs	Anti-HBs Anti-HBc
Reinfection or breakthrough infection	1 (1.37)	Anti-HBs	Increasing anti-HBs Anti-HBc Anti-HBc IgM HBV DNA
Unconfirmed	10 (13.70)	Anti-HBs	Anti-HBs
Total	73 (100.00)		

ปี พ.ศ. 2553 แต่โรคไวรัสตับอักเสบบีที่พบส่วนใหญ่ยังคงเป็นไวรัสตับอักเสบบี โดยพบร้อยละ 57.03 เมื่อเทียบจากการติดเชื้อตับอักเสบบีทุกชนิด¹⁰ รายงานการศึกษาของวรรณข จงศรีสวัสดิ์และคณะ¹¹ พบความชุกของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในประเทศไทยหลังจากนโยบายการฉีดวัคซีนตับอักเสบบีแล้ว 12 ปี ร้อยละ 5-6 ในผู้ที่มีอายุมากกว่า 16 ปีขึ้นไปและพบเพียงร้อยละ 0.3-2.7 ในผู้ที่มีอายุต่ำกว่า 16 ปี แสดงให้เห็นว่าการได้รับวัคซีนตับอักเสบบีที่มีประสิทธิภาพทำให้อัตราการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในคนไทยลดลงอย่างเห็นได้ชัดแต่การได้รับวัคซีนอาจจะยังไม่ครอบคลุมทั้งประเทศ¹² จากรายงานการศึกษาของนิเวศน์ นันทจิตและคณะ¹³ ปี พ.ศ. 2550 ในผู้บริจาคโลหิตของโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยศรีนครินทร์เวียงใหม่พบ HBV NAT yield rate 1:800 ซึ่งเป็นอัตราที่สูงกว่าการรายงานของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยที่พบ HBV DNA 1:2,800⁷ อาจเป็นเพราะการศึกษาในครั้งก่อนหน้านี้นั้นส่วนใหญ่เป็นผู้บริจาคโลหิตทดแทนและมาบริจาคเป็นครั้งแรก แต่ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าอัตราการตรวจพบ HBV DNA ลดลงอยู่ในอัตรา 1:900 ถึง 1:1,000 เพราะมีจำนวนผู้บริจาคโลหิตประจำเพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามก็ยังคงเป็นอัตราการตรวจพบที่สูงมากเมื่อเทียบกับประเทศที่มีความชุกในระดับต่ำที่พบ HBV DNA 1:350,000 ถึง 1:610,000¹⁴ การศึกษารั้วนี้สอดคล้องกับรายงานของทัศนีย์ สกุลดำรงค์พานิชและคณะ⁸ ที่ตรวจพบ HBV ด้วย NAT สูงสุดในโลหิตที่เจาะเก็บในภาคเหนือประมาณ 1:1,000 เมื่อเทียบกับโลหิตที่เจาะเก็บในภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ของประเทศไทย

การตรวจพบ HBV DNA โดยวิธี Cobas TagScreen MPX test แบบรวม 6 ตัวอย่างพบมากกว่าวิธี Procleic Ultrio test แบบตัวอย่างเดี่ยวสอดคล้องกับการรายงานของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย^{7,15} อาจเป็นเพราะหลักการในการตรวจแตกต่างกัน การออกแบบ primer ที่ต่างกันทำให้เข้าไปจับกับสารพันธุกรรมของเชื้อในตำแหน่งเดียวกันหรือคนละตำแหน่งได้ไม่เท่ากันจึงมีความไวในการตรวจไม่เท่ากัน โดยพบว่าวิธี Procleic Ultrio test มีความไวในการตรวจ HBV DNA ที่ความเข้มข้น 10 IU/ml ในขณะที่วิธี Cobas TagScreen MPX test มีความไวในการตรวจที่ความเข้มข้น 3 IU/ml¹⁶ และจากคุณลักษณะของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี มีอัตราการเพิ่มขยายเชื้อต่ำโดยใช้เวลาประมาณ 3 ถึง 4 วัน จึงทำให้พบจำนวนเชื้อน้อย¹⁷ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับกลุ่มของผู้บริจาคโลหิตที่เข้ามาบริจาคในแต่ละวันเพราะจะใช้น้ำยาในการตรวจสลับวันกันจึงอาจทำให้จำนวนการตรวจพบแตกต่างกัน หรือขึ้นอยู่กับ HBV genotype ที่ตรวจ

พบซึ่งตัวอย่างเลือดของศูนย์บริการโลหิต สภากาชาดไทยที่ได้มีการศึกษาเพิ่มเติมพบว่าเป็น HBV genotype B และ genotype C โดยที่ร้อยละ 64 เป็น genotype C¹⁸ และจากรายงานของกมล สุวรรณการและคณะในปี 2550 พบ HBV genotype C ร้อยละ 87.1 ส่วน genotype B พบร้อยละ 11.6 ในประเทศไทย และมีรายงานว่า HBV genotype C จะเกิดการกลายพันธุ์ในตำแหน่ง pre-S สูงกว่า genotype B⁹ อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ตรวจไม่พบ HBsAg

ในการศึกษารั้วนี้ตรวจพบ anti-HBc อย่างเดียว ร้อยละ 42.37 สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยที่ตรวจพบ anti-HBc ร้อยละ 46.9¹⁵ เพราะประเทศไทยอยู่ในประเทศที่มีความชุกของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระดับสูง ผู้บริจาคโลหิตเคยสัมผัสเชื้อไวรัสตับอักเสบบีมาแล้วแต่ไม่แสดงอาการตับอักเสบบี ในขณะที่ประเทศที่มีความชุกต่ำ ตรวจพบ anti-HBc ร้อยละ 10-13 แต่ตรวจพบ anti-HBc และ anti-HBs ร่วมด้วย ร้อยละ 70-90¹⁴ ซึ่งมีความแตกต่างจากการศึกษารั้วนี้ที่พบ anti-HBc ร่วมกับ anti-HBs ร้อยละ 13.56 และมีจำนวน HBV DNA ในระดับต่ำกว่า 12 IU/ml ส่วนผู้บริจาคโลหิตที่ตรวจพบ anti-HBs อย่างเดียว ร้อยละ 16.10 ผู้บริจาคส่วนใหญ่จะมีค่า anti-HBs ต่ำกว่า 100 mIU/ml จากการศึกษาติดตามพบว่า ผู้บริจาคโลหิตร้อยละ 13.70 ยังคงตรวจพบ anti-HBs เพียงอย่างเดียวและมีเพียงรายเดียวที่พบว่ามียาระดับ anti-HBs เพิ่มขึ้นและตรวจพบ anti-HBc IgM ร่วมด้วยแสดงให้เห็นว่าแม้ว่าจะได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบีมาแล้วก็ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อซ้ำได้ เพราะอาจได้รับวัคซีนที่ด้อยคุณภาพ วัคซีนไม่ครอบคลุมทุก genotype หรือเกิดจากการกลายพันธุ์ของเชื้อเพื่อหลีกเลี่ยงระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายซึ่งขึ้นอยู่กับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของแต่ละบุคคล แต่ที่น่าสนใจคือกลุ่มที่ตรวจไม่พบ HBV sero-markers ร้อยละ 27.96 และมีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ในช่วงต่ำกว่า 12 IU/ml ถึง 189 IU/ml มีผู้บริจาคโลหิตมาตรวจติดตาม 22 ราย มี 9 รายที่ตรวจพบ HBsAg, anti-HBc และ anti-HBc IgM ที่บ่งชี้ให้เห็นว่ามีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระยะ window period อย่างชัดเจนและมีผู้บริจาคโลหิต 1 รายที่มีอาการตับอักเสบบี ตัวเหลืองตาเหลืองร่วมด้วยในวันที่กลับมาตรวจติดตาม และมีผู้บริจาคโลหิตบางรายกลับมาตรวจติดตามซ้ำมากทำให้เลยระยะเวลาที่จะตรวจพบ HBsAg หรือผู้บริจาคโลหิตรายนั้นมี HBsAg ในเลือดระดับต่ำมากจนตรวจไม่พบจึงพบเพียง anti-HBc และ anti-HBs ที่สามารถบ่งชี้ว่าเคยมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี เนื่องจากผู้บริจาคโลหิตส่วนใหญ่เป็นเพศชายจึงพบ HBV DNA ใน

เพศชายมากกว่าเพศหญิง และจำนวนผู้ที่มาบริจาคโลหิตครั้งแรกกับมาบริจาคเป็นประจำไม่แตกต่างกัน ส่วนอายุของผู้บริจาคโลหิตที่ศึกษาในครั้งนี้อยู่ระหว่าง 17 ถึง 56 ปี มีค่ากลาง 23 ปี แสดงว่ามีทั้งกลุ่มผู้บริจาคโลหิตที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีน เพราะรัฐบาลไทยบรรจุวัคซีนไวรัสตับอักเสบบีลงในแผนการสร้างเสริมภูมิคุ้มกันโรค 20 ปีก่อนหน้านี้ ผู้บริจาคโลหิตส่วนใหญ่อาจจะยังไม่ได้รับการฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบบี และเคยสัมผัสเชื้อมาก่อนซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของวรรณุช จงศรีสวัสดิ์และคณะ¹¹ ในปี พ.ศ. 2547 ที่พบความชุกของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีร้อยละ 5-6 ในผู้ที่มีอายุ 16 ปีขึ้นไป แต่ที่น่าสนใจคือกลุ่มผู้บริจาคโลหิตที่มีอายุต่ำกว่า 20 ปี ที่คาดว่าจะได้รับวัคซีนไวรัสตับอักเสบบีแล้วยังคงตรวจพบ HBV DNA ร่วมกับ anti-HBs จึงเป็นข้อควรระวังสำหรับผู้ที่เคยได้รับวัคซีนไวรัสตับอักเสบบีแล้วและมีความเสี่ยงในการสัมผัสเชื้อไวรัสตับอักเสบบี เช่น บุคลากรทางการแพทย์ จากรายงานการศึกษาในหลายแห่งพบว่าน้ำยาที่ใช้ในการตรวจหา HBsAg ที่ใช้ในปัจจุบันไม่สามารถตรวจหา HBsAg ในระดับต่ำๆ ได้^{15,19} จึงต้องมีการตรวจหา HBV DNA โดยวิธี NAT

ร่วมด้วยเพื่อเพิ่มความปลอดภัยสำหรับผู้ป่วยที่ต้องรับเลือด ส่วนประกอบของเลือดหรืออวัยวะบริจาค

สรุปผลการศึกษา

จากการที่ประเทศไทยมีความชุกของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในระดับสูง การนำ NAT มาใช้ในการตรวจกรองเลือดบริจาคสามารถตรวจพบ HBV DNA ทั้งในระยะแรกและในระยะท้ายของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี เป็นการลดความเสี่ยงของการติดเชื้อจากการรับเลือดและส่วนประกอบของเลือด ซึ่งผู้บริจาคโลหิตบางรายมีปริมาณของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในกระแสเลือดต่ำมากทำให้ตรวจไม่พบ HBsAg และควรพิจารณานำชุดตรวจ NAT ที่มีความไวและความจำเพาะสูงมาใช้ทดสอบในงานประจำวัน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้นิพนธ์ ขอขอบคุณผู้บริจาคโลหิตที่เข้าร่วมงานวิจัยนี้และเจ้าหน้าที่ธนาคารเลือดทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมืออย่างดียิ่ง และขอขอบพระคุณ รศ.วารุณี คุณาชีวะ เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำและตรวจทานต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

1. Leetrakool N, Fongsatitkul L, Tanan P, et al. Screening donated blood for infectious agents in Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital: Four-year experience of nucleic acid amplification technology (NAT). Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2012; 45: 36-44 (in Thai).
2. Allain J-P. Occult hepatitis B infection: implications in transfusion. Vox Sang 2004; 86: 83-91.
3. Reesink HW, Engelfriet P, Henn G, et al. Occult hepatitis B infection in blood donors. Vox Sang 2008; 94: 153-66.
4. Satake M, Taira R, Yuki H, et al. Infectivity of blood components with low hepatitis B virus DNA levels identified in a look back program. Transfusion 2007; 47: 1197-205.
5. Dickson RC, Everhart JE, Lake JR, et al. Transmission of hepatitis B by transplantation of livers from donors positive for antibody to hepatitis B core antigen. Gastroenterology 1997; 113: 1668-74.
6. Lui CJ, Chen DS, Chen PJ. Epidemiology of HBV infection in Asian blood donors: emphasis on occult HBV infection and the role of NAT. J Clin Virol 2006; 36: S33-44.
7. Pikulsod S, Oota S, Tirawatnpong T, et al. One-year experience of nucleic acid technology testing for human immunodeficiency virus Type 1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Thai blood donations. Transfusion 2009; 49: 1126-35.

8. Sakuldamrongpanich T, Oota S, Kramkratok P, et al. NAT screening for human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus and hepatitis B virus in blood donations at the national blood centre and regional blood centre of the Thai Red Cross. *J Hematol Transfus Med* 2012; 22: 93-100 (in Thai).
9. Suwannakarn K, Tangkijvanich P, Thawornsuk N, et al. Molecular epidemiological study of hepatitis B virus in Thailand based on the analysis of pre-S and S genes. *Hepatology Research* 2008; 38: 244-51.
10. Hinjoy S, Choomkasien P. Hepatitis E Warning before Next Rainy Season. *Weekly Epidemiological Surveillance Report* 2012; 43: 273-6 (in Thai).
11. Chongsrisawat V, Yoocharoen P, Theamboonlers A, et al. Hepatitis B seroprevalence in Thailand: 12 years after hepatitis B vaccine integration into the national expanded programme on immunization. *Trop Med Int Health* 2006; 11: 1496-502.
12. Chimparlee N, Oota S, Phikulsod S, et al. Hepatitis B and hepatitis C virus in Thai blood donors. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2011; 42: 609-15.
13. Nantachit N, Thaikruea L, Thongsawat S, et al. Evaluation of multiplex human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus and hepatitis B virus nucleic acid testing assay to detect viremic blood donors in northern Thailand. *Transfusion* 2007; 47: 1803-8.
14. Hollinger FB. Hepatitis B virus infection and transfusion medicine: science and the occult. *Transfusion* 2008; 48: 1001-26.
15. Louisirirochanakul S, Oota S, Khuponsarb K, et al. Occult hepatitis B virus infection in Thai blood donors. *Transfusion* 2011; 51: 1532-40.
16. Yang MH, Li L, Hung YS, et al. The efficacy of individual-donation and minipool testing to detect low-level hepatitis B virus DNA in Taiwan. *Transfusion* 2010; 50: 65-74.
17. Yoshikawa A, Gotanda Y, Itabashi M, et al. Hepatitis B NAT virus-positive blood donors in the early and late stages of HBV infection: analyses of the window period and kinetics of HBV DNA. *Vox Sang* 2005; 88: 77-86.
18. Candotti D, Lin CK, Belkhiri D, et al. Occult hepatitis B infection in blood donors from South East Asia: molecular characterization and potential mechanisms of occurrence. *Gut* 2012; 61: 1744-53.
19. Togashi H, Hashimoto C, Yokozawa J, et al. What can be revealed by extending the sensitivity of HBsAg detection to below the present limit? *J Hepatol* 2008; 49: 17-24.