

Laboratory Tools for Diagnosis and Monitoring of Hepatitis C Virus Infection

Sunida Vandelaer*

Immunology Unit, Department of Microbiology, King Chulalongkorn Memorial Hospital, The Thai Red Cross Society, Bangkok, Thailand

Abstract

Hepatitis C virus (HCV) infection represents a major public health problem. Chronic HCV infection may lead to liver fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. HCV infection can be cured by proper antiviral drug regimens. However, many HCV-infected individuals do not know of their infective status. Understanding the immunological tests of HCV could lead to effective screening, diagnosis and treatment of infected individuals. Antibody to HCV (anti-HCV) can be determined by using high sensitivity and specificity tests currently available as third generation immunological assays. The use of point-of-care test (POCT) also increases the chance of detecting HCV infection. However, active HCV infection must be confirmed by measurement of HCV RNA and HCV genotyping prior to treatment. This article reviews laboratory tools for the diagnosis of HCV infection and also structure and epidemiology of HCV.

Keywords: Hepatitis C virus, Diagnosis, Serology, HCV-RNA, HCV genotyping

*Corresponding author E-mail address: sunida_80@hotmail.com, jibkuakarn@gmail.com

Received: December 22, 2017

Revised: July 17, 2018

Accepted: October 22, 2018

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยการติดเชื้อและติดตามการรักษาโรคไวรัสตับอักเสบชนิดซี

สุนิดา วานเดอลาร์*

หน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา ฝ่ายจุลชีววิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดซี (HCV) เป็นปัญหาด้านสาธารณสุขที่สำคัญ ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดซี แบบเรื้อรังอาจนำไปสู่การเป็นพังผืดที่ตับ ตับแข็ง และมะเร็งตับได้ ไวรัสตับอักเสบชนิดซี สามารถรักษาให้หายขาดได้ อย่างไรก็ตามผู้ติดเชื้อจำนวนมากไม่ทราบสถานภาพการติดเชื้อมาก่อน ดังนั้น ความรู้และความเข้าใจการตรวจทางวิทยาภูมิคุ้มกันของไวรัสตับอักเสบชนิดซี จะทำให้การตรวจคัดกรองการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดซีมีประสิทธิภาพ การวินิจฉัยโรคทำได้อย่างรวดเร็ว การรักษาอย่างเหมาะสมสำหรับผู้ป่วยที่ติดเชื้อจะมีส่วนช่วยในการควบคุมการแพร่เชื้อและลดการเกิดโรคตับระยะสุดท้าย ปัจจุบัน การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดซี (anti-HCV) ในซีรัม อาศัยชุดน้ำยาทดสอบรุ่นที่สามซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูง นอกจากนี้ การใช้ชุดตรวจได้ผลรวดเร็ว จุดตรวจ (point-of-care test; POCT) สามารถเพิ่มโอกาสในการตรวจคัดกรองการติดเชื้อ HCV ได้ อย่างไรก็ตาม การบ่งชี้เชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดซีในผู้ป่วย จะต้องได้รับการยืนยันโดยการตรวจหาจีโนมของเชื้อ (HCV RNA) นอกจากนี้ การตรวจจีโนไทป์ของไวรัสตับอักเสบชนิดซี (HCV genotyping) ต้องทดสอบก่อนเริ่มการรักษา บทความนี้ได้ทบทวนวรรณกรรมการติดเชื้อและการวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดซีในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งโครงสร้างและระบาดวิทยาของเชื้อ

คำสำคัญ: ไวรัสตับอักเสบชนิดซี การวินิจฉัย ซีโรโลยี ปริมาณอาร์เอ็นเอของไวรัสตับอักเสบชนิดซี จีโนไทป์ของไวรัสตับอักเสบชนิดซี

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: sunida_80@hotmail.com, jibkuakarn@gmail.com

รับบทความ: 22 ธันวาคม 2560

แก้ไขบทความ: 26 กรกฎาคม 2561

รับตีพิมพ์บทความ: 22 ตุลาคม 2561

บทนำ

ไวรัสตับอักเสบชนิดซี (HCV) จัดเป็นไวรัสชนิด RNA ที่มีลักษณะเป็นแบบเส้นตรง (linear) และสายเดี่ยว (single strand) จัดอยู่ในกลุ่ม *Flaviviridae* โดยจีโนมของ HCV มีขนาด 9.6 กิโลเบส (kb) มีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ single open

reading frame ซึ่งถอดรหัสได้เป็น polypeptide ขนาดประมาณ 3,010 กรดอะมิโน ประกอบด้วยโปรตีนส่วนโครงสร้าง (structural protein) 3 ชนิด (core, E1 และ E2) และโปรตีนส่วนที่ไม่ใช่โครงสร้าง (non-structural protein) 7 ชนิด (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A และ NS5B)⁽¹⁾ (Fig. 1)

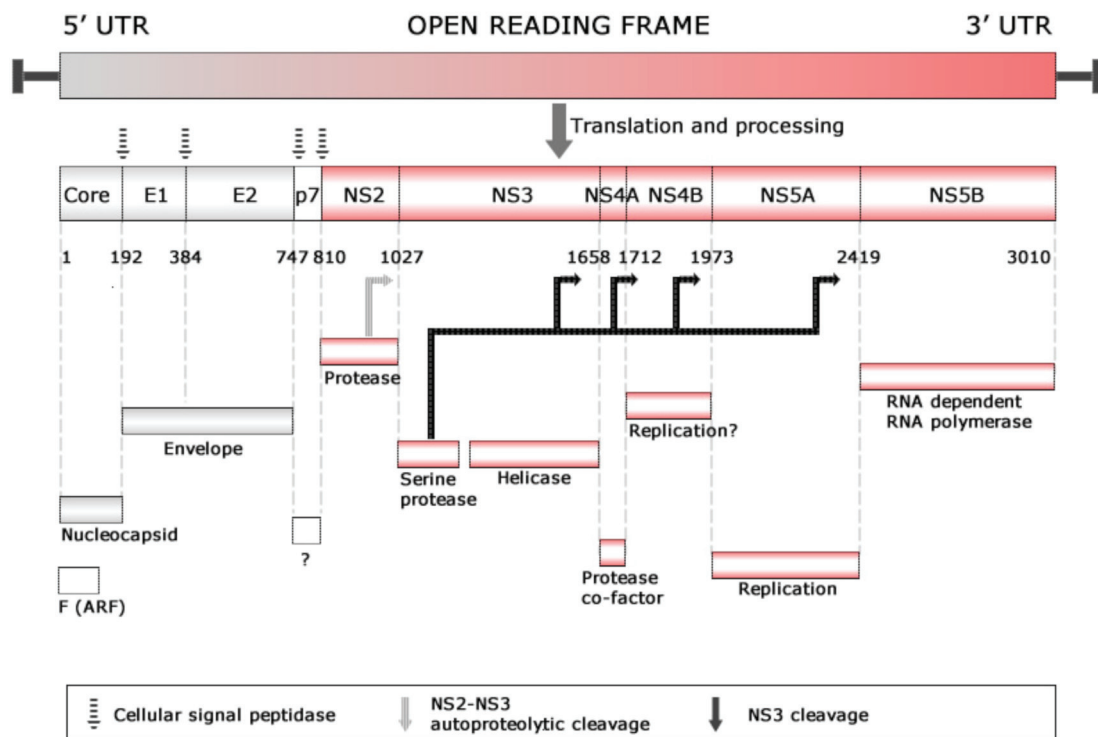


Fig. 1 Genomic structure of hepatitis C virus (HCV): E, envelope protein; NS, non-structural protein; UTR, untranslated region⁽¹²⁾

เซลล์ตับ (hepatocyte) และเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด บี ลิมโฟไซต์ เป็นเซลล์เป้าหมายของเชื้อ HCV มีการกลายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว และมีความหลากหลายของลักษณะจีโนม โดยจัดแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ได้ 7 จีโนไทป์ โดยอาศัยความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของส่วน 5'UTR ไวรัสแต่ละจีโนไทป์มีความแตกต่าง

กันประมาณร้อยละ 25-35 และในแต่ละจีโนไทป์ยังแบ่งย่อยออกเป็นชนิดย่อย (subtype) เช่น 1a, 1b โดยแต่ละชนิดย่อยมีความแตกต่างกันประมาณร้อยละ 15-25 ปัจจุบันพบมากกว่า 100 ชนิดย่อยกระจายตัวอยู่ทั่วภูมิภาคของโลก⁽²⁾ การติดเชื้อ HCV มีความหลากหลายในแต่ละประเทศ โดยจีโนไทป์ 1,

2 และ 3 สามารถพบได้ทั่วโลก⁽¹⁾ จีโนไทป์ 1 พบประมาณร้อยละ 40-80 ของทั้งหมด จีโนไทป์ 4 พบที่ประเทศแถบตะวันออกกลางและอียิปต์ จีโนไทป์ 5 พบที่เขตแอฟริกาใต้ และจีโนไทป์ 6 พบในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้⁽³⁾ อัตราความชุกของการติดเชื้อ HCV ในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เท่ากับร้อยละ 2.15⁽⁴⁾

ความชุกของจีโนไทป์ ที่พบในประเทศไทย ได้แก่ จีโนไทป์ 3a (ร้อยละ 38), 1a (ร้อยละ 21), 1b (ร้อยละ 18), 6a (ร้อยละ 17) และ 3b (ร้อยละ 6) เรียงตามลำดับ⁽⁵⁾ และมีรายงานความชุกของ HCV จีโนไทป์ ในภาคเหนือของประเทศไทย โดยพบว่า ความชุกของ HCV จีโนไทป์ 3 มีถึงร้อยละ 39.6 ส่วน จีโนไทป์ 6 มีถึงร้อยละ 31 และจีโนไทป์ 1 พบร้อยละ 27.8⁽⁶⁾ HCV จีโนไทป์ 2, 3 และ 5 จะตอบสนองต่อการรักษาโรคได้ดีกว่า HCV จีโนไทป์ 1 และ 4 และที่สำคัญ จีโนไทป์ 1 ยังทำให้เกิดโรคตับที่รุนแรง มีโอกาสเกิดเป็นมะเร็งสูง⁽⁷⁻⁹⁾ มีการศึกษาพบว่า การรักษาผู้ป่วยด้วย pegylated interferon α ร่วมกับ ribavirin พบการตอบสนองต่อการรักษา (sustained virologic response: SVR) ในผู้ติดเชื้อ HCV ได้ดี⁽¹⁰⁾

โดยทั่วไปการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนชนิดซี ผู้ป่วยส่วนใหญ่จะได้รับเชื้อจากการได้รับเลือด หรือ ส่วนประกอบของเลือดที่มีการปนเปื้อนเชื้อ การใช้เข็มฉีดยาร่วมกันในผู้ใช้สารเสพติดชนิดฉีด การถ่ายทอดจากแม่สู่ลูก การติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อจะเกิดอาการของโรคตับอักเสบ อัตราของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนชนิดซี เรื้อรังสูงกว่าการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนชนิดอื่น ซึ่งเป็นผลมาจากอายุ เพศ เชื้อชาติและการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของเชื้อไวรัส⁽¹¹⁾ หลังจากติดเชื้อ HCV RNA ในเลือดจะสูงสุดภายใน 1 สัปดาห์ ส่วนการตอบสนองของภูมิคุ้มกันทางเซลล์ (adaptive immune response)

จะช้าอย่างน้อย 1 เดือนและมีการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันน้ำเหลือง (humoral immune responses) ภายใน 2 เดือน ดังนั้น หลังการติดเชื้อแบบเฉียบพลัน อาการตัวเหลืองตาเหลืองจะยังตรวจไม่พบในช่วงสัปดาห์แรก หลังจากการติดเชื้อประมาณ 8-12 สัปดาห์ ระดับ ALT จะขึ้นสูงสุด และ HCV RNA เริ่มลดลง จากนั้นจึงตรวจพบ HCV specific antibody (anti-HCV) ในช่วงเวลาในผู้ป่วยร้อยละ 15-25 สามารถกำจัดเชื้อเองได้ (spontaneous recovery) และตรวจไม่พบตัวเชื้อ (HCV-RNA) ในกระแสเลือด แต่อาจตรวจพบแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบนชนิดซี (anti-HCV) ได้ ซึ่งอาจพบได้นานตลอดชีวิต อย่างไรก็ตามผู้ป่วยบางรายอาจตรวจไม่พบ anti-HCV เลย์หลังหายจากการติดเชื้อประมาณ 10-20 ปี (Fig. 2)⁽¹²⁾ ส่วนอีกร้อยละ 75 - 85 จะมีการดำเนินโรคกลายเป็นติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนชนิดซีเรื้อรัง⁽¹¹⁾ ผู้ป่วยกลุ่มนี้ตรวจพบตัวเชื้อได้ในกระแสเลือด โดยพบทั้ง anti-HCV และ HCV RNA ได้มากกว่าร้อยละ 90 (Fig. 3) ถ้าติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนชนิดซี แบบเรื้อรังโดยไม่ได้รับการรักษา ประมาณร้อยละ 15-30 ของผู้ป่วยมีโอกาสเป็นโรคตับแข็ง (cirrhosis) ภายในระยะเวลา 20 ปี⁽¹³⁾ และเกิดมะเร็งตับ (hepatocellular carcinoma; HCC) ซึ่งพบได้ประมาณร้อยละ 1-3 ต่อปี⁽¹⁴⁾

การวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนชนิดซี ในห้องปฏิบัติการ

การวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบนชนิดซี ทางห้องปฏิบัติการ แบ่งเป็น 2 รูปแบบ คือ 1) ตรวจหาเชื้อไวรัสโดยตรง (direct method) โดยตรวจหาส่วนประกอบของเชื้อ (HCV antigen) และตรวจหาจีโนมเชื้อ (HCV RNA) เพื่อช่วยวินิจัยการติดเชื้อ HCV ในผู้ป่วยที่ยังคงมีการติดเชื้อดำเนินอยู่ (active infection) และเพื่อติดตามผลการรักษา

Acute Hepatitis C infection

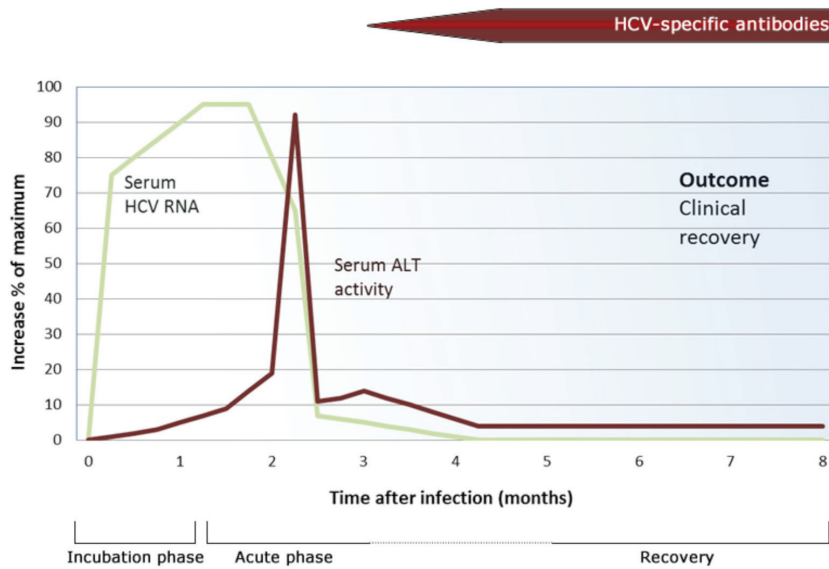


Fig. 2 Serologic pattern of acute hepatitis C virus infection⁽¹²⁾

Hepatitis C (chronically evolving)

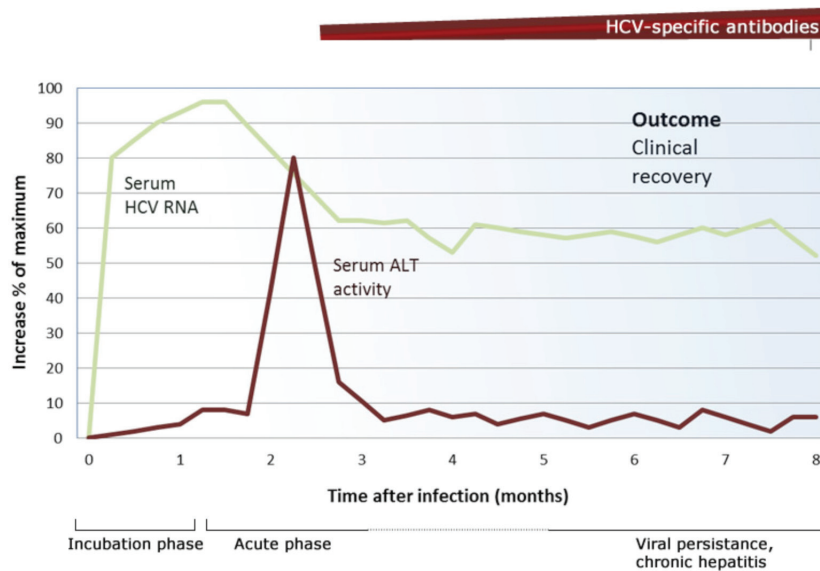


Fig. 3 Serologic pattern of chronic hepatitis C virus infection⁽¹²⁾

และ 2) ตรวจหาการติดเชื้อทางอ้อม (indirect method) ซึ่งเป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อ HCV (anti-HCV) ดังรายละเอียดการทดสอบต่อไปนี้⁽¹⁾

1. การตรวจหา HCV antigen (HCV Ag) สามารถตรวจได้ในซีรัมของผู้ป่วยที่ยังคงมีการติดเชื้อดำเนินอยู่และระดับของ HCV Ag มีความสัมพันธ์กับระดับของ HCV RNA รวมทั้งมีราคาถูกกว่าการตรวจ HCV RNA และสามารถใช้เครื่องมือเดียวกันกับการตรวจ anti-HCV หลักการที่ใช้คือ sandwich CMIA (chemiluminescent microparticles immunoassay) โดยใช้ monoclonal anti-HCV ตรึงอยู่กับ solid phases (paramagnetic microparticles) และใช้ murine anti-HCV ที่ติดฉลากด้วย acridinium เป็นคอนจูเกต การตรวจหา HCV Ag นี้สามารถใช้แทนการตรวจ HCV RNA ได้ สามารถใช้แยกระหว่างผู้ป่วยที่ยังคงมีการติดเชื้อดำเนินอยู่ (active infection) ออกจากผู้ที่หายจากโรคแล้ว

(resolved infection) นอกจากนี้ ยังสามารถนำมาใช้วินิจฉัยการติดเชื้อ HCV ในช่วง window period ในผู้ที่มี seronegative และในกลุ่มที่มีความเสี่ยงในการติดเชื้อสูง เช่น ผู้ป่วยที่ต้องล้างไต อย่างไรก็ตามการตรวจ HCV Ag มักมีความไวไม่เพียงพอที่จะใช้ทดแทนการตรวจ HCV RNA ในการใช้ติดตามผลการรักษาผู้ป่วย⁽¹⁵⁾ นอกจากนี้ชุดตรวจ combination ระหว่าง HCV Ag และ anti-HCV ยังอยู่ในช่วงพัฒนาชุดน้ำยาในขณะนี้

2. การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสตับอักเสบนิดซี (HCV genome) เป็นการทดสอบหากรดนิวคลีอิก ซึ่งความไวของชุดน้ำยาอยู่ที่ระดับ 15 IU/mL สำหรับการตรวจหา HCV RNA เพื่อแสดงถึงการมีเชื้อไวรัสในกระแสเลือด ปัจจุบันชุดน้ำยา HCV RNA สามารถตรวจได้ทั้งในเชิงคุณภาพ (qualitative HCV-RNA test) (Table 1) ซึ่งใช้วิธี reverse transcriptase polymerase chain reaction

Table 1 Hepatitis C virus RNA qualitative for *in vitro* diagnostics⁽¹⁾

Assay	Manufacturer	Method*	Lower limit of detection (IU/mL)
COBAS® AMPLICOR HCV Test v2.0	Roche Molecular Systems	RT-PCR	50 (plasma) 60 (serum)
COBAS® AmpliPrep/COBAS® AMPLICOR HCV Test v2.0	Roche Molecular Systems	RT-PCR	50 (plasma) 60 (serum)
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test v2.0	Roche Molecular Systems	Real-time RT-PCR	15
APTIMA HCV RNA Qualitative Assay	Hologic - Gen-Probe	TMA	5.3
VERSANT® HCV RNA Qualitative Assay	Siemens	TMA	5.3

*RT-PCR: reverse transcriptase polymerase chain reaction, TMA : transcription-mediated amplification

(RT-PCR) เป็นวิธีมาตรฐานในการบ่งบอกถึงการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดซี และตรวจได้ในเชิงปริมาณ (quantitative HCV-RNA test) (Table 2) ซึ่งใช้วิธี real-time RT-PCR ถือเป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิง

Table 2 Hepatitis C virus RNA quantitative for *in vitro* diagnostics⁽¹⁾

Assay	Manufacturer	Method*	Lower limit of detection (IU/mL)	Linear range of quantification (IU/mL)
Abbott RealTime HCV	Abbott Molecular	real-time RT-PCR	12	12-100,000,000
artus HCV RG RT-PCR Kit	Qiagen	real-time RT-PCR	34	65-1,000,000
artus HCV QS-RGQ Kit	Qiagen	real-time RT-PCR	21	35-17,700,000
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Test	Roche Molecular Systems	real-time RT-PCR	15	43-69,000,000
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test v2.0	Roche Molecular Systems	real-time RT-PCR	15	15-100,000,000
COBAS® TaqMan® HCV Test v2.0 for use with the High Pure System	Roche Molecular Systems	real-time RT-PCR	10	25-390,000,000 (CE) 25-300,000,000 (FDA)
VERSANT® HCV RNA 1.0 Assay (kPCR)	Siemens	real-time RT-PCR	15	15-100,000,000
VERSANT® HCV RNA 3.0 Assay	Siemens	bDNA	615	615-7,700,000

*Real-time RT-PCR, bDNA: branched DNA

ใช้ตรวจหาปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดซี เพื่อติดตามผลการรักษา เพราะ RT-PCR มีความไวสูง มีช่วงกว้างในการวัดปริมาณ มีการทำในเครื่องอัตโนมัติในระบบปิด ทำให้ลดการปนเปื้อนในขั้นตอนการทดสอบ

3. การตรวจหาชนิดสายพันธุ์ของไวรัสตับอักเสบชนิดซี (HCV-genotyping) (Table 3) ใช้บอกแนวโน้มการตอบสนองต่อการรักษาโรคไวรัสตับอักเสบชนิดซี ด้วยยาด้านไวรัส เนื่องจากสายพันธุ์ของ HCV มีการตอบสนองต่อการรักษาที่ต่างกัน

Table 3 Hepatitis C virus genotyping assays for *in vitro* diagnostics⁽¹⁾

Assay	Manufacturer	Method*	Lower limit of detection (IU/mL)	Target
Abbott HCV Genotype II	Abbott Molecular	real-time RT-PCR	500	5'UTR NS5B
LINEAR ARRAY Hepatitis C Virus Genotyping Test	Roche Molecular Systems	RT-PCR and hybridization	500	5'UTR
VERSANT HCV Genotype 2.0 Assay Line Probe Assay (LiPA)	Siemens	RT-PCR and hybridization	2000	5'UTR Core

*RT-PCR: reverse transcriptase-polymerase chain reaction

วิธีการทำ genome sequencing ตรงบริเวณ core/E1 หรือ NS5B เป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิงของ HCV-genotyping ปัจจุบันมีชุดตรวจ HCV genotypes ใช้หลักการ real time RT-PCR หรือ RT-PCR ร่วมกับ hybridization

การตรวจหาแอนติบอดีต่อ HCV (anti-HCV)

การทดสอบทาง serology เป็นการตรวจคัดกรองเบื้องต้นเพื่อวินิจฉัยการติดเชื้อ HCV ทางปฏิบัติการ โดยตรวจหา HCV-specific antibodies (IgM และ IgG) อย่างไรก็ตาม การตรวจ anti-HCV มีข้อจำกัด คือ 1) ไม่สามารถแยกผู้ที่ยังคงมีการติดเชื้อดำเนินอยู่ (active infection) ออกจากผู้ที่หายจากโรคแล้ว (resolved infection) 2) ไม่สามารถตรวจวินิจฉัยในระยะ window period ของ HCV ได้ (ระยะเวลาที่ได้รับเชื้อจนตรวจพบ anti-HCV) ซึ่งนานประมาณ 45-68 วัน และ 3) อาจพบผลลบปลอม (false negative) ในกลุ่มคนไข้ภาวะภูมิคุ้มกันไม่สมบูรณ์ (immune-compromised host) เทคนิคการตรวจ anti-HCV ได้แก่

1. Immunoassay เป็นเทคนิคที่ใช้ในการตรวจคัดกรองเบื้องต้น ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1989 หลังจากค้นพบเชื้อ การตรวจหา anti-HCV ในซีรัมโดยใช้หลักการ enzyme immunoassays (EIA) ได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน มีการใช้น้ำยารุ่นที่สาม (third generation) ซึ่งใช้แอนติเจนของไวรัสตับอักเสบชนิดซี หลายชนิด (multiple recombinant HCV antigens) จากส่วน core protein, NS3, NS4 และ NS5 เคลือบไว้ที่ solid phase วิธีนี้มีความไวและความจำเพาะสูงมากกว่าร้อยละ 99 ปัจจุบันได้มีการปรับเปลี่ยนเทคนิค EIA ให้กลายเป็น CMIA โดยใช้เครื่องอัตโนมัติ สามารถใช้กับการส่งตรวจปริมาณมาก ชุดทดสอบของการตรวจทาง immunoassay ที่ใช้ตรวจหา anti-HCV แสดงใน Table 4

2. เทคนิค recombinant immunoblot assay (RIBA) เคยเป็นวิธีตรวจยืนยัน (confirmatory test) สำหรับผลบวก anti-HCV โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรณีตรวจคัดกรองในประชากรที่มีความชุกของการติดเชื้อ HCV ต่ำ เทคนิค RIBA ดัดแปลงมาจากวิธี Western blot วิธีนี้มีความจำเพาะสูง

Table 4 Commercial immunoassays for detection of anti-Hepatitis C antibody for *in vitro* diagnostics⁽¹⁾

Analyzer	Manufacturer	Assay principle	Solid phase	HCV antigens
Architect i2000SR	Abbott Laboratories	CMIA	paramagnetic particles	HCr43 (Core and NS3), c100-3 (NS4A)
AxSYM	Abbott Laboratories	MEIA	paramagnetic particles	HCr43 (Core), c200 (NS3), c100-3 (NS4A)
LiaisonXL	DiaSorin	CLIA	paramagnetic particles	Core, NS3, NS4
VITROS ECi, VITROS 3600	Ortho-Clinical Diagnostics	CLIA	microwell	c22-3 (Core), c200 (NS3 and NS4), NS5
Elecsys	Roche Diagnostics	ECLIA	paramagnetic particles	Core, NS3, NS4
ADVIA Centaur	Siemens	CLIA	magnetic particles	c22-3 (Core), NS3, c200, NS5

ECLIA: electrochemiluminescence immunoassay; CMIA: chemiluminescent microparticle immunoassay;

CLIA: chemiluminescence immunoassay; HCV: hepatitis C virus; MEIA: microparticle capture enzyme immunoassay

โดยเป็นการดูแลปฏิบัติกริยาของแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนชนิดต่าง ๆ [E2 hypervariable region, helicase (NS3), NS4A, NS4B และ NS5A regions] ที่เคลือบอยู่บนแผ่นเมมเบรน แต่วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ การทดสอบมีหลายขั้นตอน ใช้เวลานาน และ RIBA จะให้ผล indeterminate ในรายที่ anti-HCV มีผล gray zone หรือผลบวกค่าต่ำ ปัจจุบันจึงนิยมใช้เทคนิคการตรวจหาสารพันธุกรรม (molecular technique) เป็นการตรวจยืนยัน นอกจากนี้ การตรวจ HCV RNA ยังสามารถช่วยแยกแยะระหว่างผู้ป่วยที่ยังคงมีการติดเชื้อดำเนินอยู่ ออกจากผู้ป่วยที่หายจากโรคแล้ว

3. เทคนิคการตรวจแบบรวดเร็ว (rapid assay) เป็นการตรวจหา anti-HCV ที่ได้ผลรวดเร็ว

(point-of-care screening tests) เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ แต่มีข้อจำกัดคือ ไม่เหมาะกับงานปริมาณมาก ควรอ่านผลและแปลผลอย่างระวังและการใช้สารมาตรฐานอ้างอิงที่แตกต่างกันอาจมีผลต่อผลการทดสอบ ตัวอย่างของชุดตรวจ OraQuick HCV Rapid assay (OraSure) สามารถตรวจได้ทั้งในเลือดที่เจาะจากปลายนิ้ว ชีรุม พลาสมา และน้ำลาย ใช้หลักการ indirect lateral flow immunoassay โดยแอนติเจนที่ใช้ คือ Core, NS3 และ NS4 เคลือบไว้ที่ nitrocellulose membrane การอ่านผลโดยดูจากแถบสีม่วงแดงที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง anti-HCV ในชีรุมกับ HCV antigens และ protein A ที่ติดฉลากด้วย colloidal gold วิธีนี้มีความไวร้อยละ 97.8-99.3 และความ

จำเพาะร้อยละ 99.5-99.6 ในตัวอย่างตรวจที่เป็นซีรัม ส่วนในน้ำลายมีความไวร้อยละ 83.3 และความจำเพาะร้อยละ 99.6

การแปลผลตรวจ HCV markers ในเลือดที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี (Table 5) มีรายละเอียดดังนี้

1) ตรวจพบ HCV RNA เพียงอย่างเดียวพบได้ในช่วงแรกของการติดเชื้อ (window period) ซึ่งยังตรวจไม่พบ anti HCV อย่างไรก็ตาม อาจพบ HCV RNA เพียงอย่างเดียวได้ในหลายกรณี เช่น มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังในกลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง (immunodeficiency)

ผู้ป่วยกลุ่ม hemodialysis หรือผู้ป่วย agammaglobulinemia เป็นต้น⁽¹⁶⁾

2) ตรวจพบ anti HCV ร่วมกับ HCV RNA ยังไม่สามารถแยกการติดเชื้อแบบเฉียบพลันออกจากติดเชื้อเรื้อรัง ต้องตรวจ HCV RNA ซ้ำในเวลา 6 เดือนต่อมา ถ้าหลังจาก 6 เดือนแล้วยังตรวจพบ HCV RNA แสดงว่าติดเชื้อเรื้อรัง

3) ตรวจพบ anti HCV แต่ไม่พบ HCV RNA เป็นการบ่งชี้การหายจากการติดเชื้อ หรือการติดเชื้อแบบเฉียบพลันแต่ มี HCV RNA อยู่ในระดับต่ำจนตรวจไม่พบ ถ้า HCV RNA ยังตรวจไม่พบเป็นระยะเวลานานกว่า 6 เดือนขึ้นไป แสดงว่าพ้นโรคหรือหายจากการติดเชื้อแล้ว

Table 5 Virological markers in hepatitis C infected patients⁽²⁾

Interpretation	Anti HCV	HCV RNA
• Acute HCV infection	-	+
• Current HCV infection**	+	+
• Recovery from HCV infection or No current HCV infection	+	-
• No HCV infection	-	*

Note * Not recommended for HCV RNA testing

**To determine an acute or chronic infection, HCV RNA must be tested over a six-month period.

If HCV RNA is positive for longer than six months, it means the patient has chronic hepatitis C infection.

บทสรุป

ความรู้ความเข้าใจในธรรมชาติของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดซี และการตรวจทางวิทยาภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดซี ได้แก่ การตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดีที่จำเพาะ รวมทั้งการตรวจจีโนมของเชื้อในเลือด

สามารถใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง วิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการมีหลากหลายวิธี ซึ่งได้พัฒนาการตรวจให้มีความไวและความจำเพาะสูง ช่วยสนับสนุนการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการให้ประโยชน์ในทางการแพทย์และป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อ

เอกสารอ้างอิง

- Saludes V, González V, Planas R, *et al.* Tools for the diagnosis of hepatitis C virus infection and hepatic fibrosis staging. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 3431-42.
- Louisirirothanakul S. Hepatitis viruses. In: Puthavathana P, editor. Ubon S, Louisirirothanakul S, Boonnak K, Lerdsamran H, Tassaneetrithep B, co-editors. *Virology*. 2nd ed. Bangkok: Akson Samai Printing House; 2016. p. 29-37.
- Modi AA, Liang TJ. Hepatitis C: a clinical review. *Oral Dis* 2008; 14: 10-4.
- Karoney MJ, Siika AM. Hepatitis C virus (HCV) infection in Africa: a review. *Pan Afr Med J* 2013; 14: 44-51
- Piratvisuth T. Hepatitis C Virus. *J Hematol Transfus Med* 2003; 13: 153-66.
- Jutavijittum P, Jiviriyawat Y, Yousukh A, *et al.* Genotypic distribution of hepatitis C virus in voluntary blood donors of northern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2009; 40: 471-9.
- Zein NN. Clinical significance of hepatitis C virus genotypes. *Clin Microbiol Rev* 2000; 13: 223-35.
- Cenci M, Massi M, Alderisio M, *et al.* Prevalence of hepatitis C virus (HCV) genotypes and increase of type 4 in central Italy: an update and report of a new method of HCV genotyping. *Anticancer Res* 2007; 27: 1219-22.
- Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2001; 345: 41-52.
- Pol S. [Hepatitis C virus: 25 years-old, the end?]. *Med Sci (Paris)* 2013; 29: 998-1003.
- Chen SL, Morgan TR. The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int J Med Sci* 2006; 3: 47-52.
- Rehermann B, Nascimbeni M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 215-29.
- World Health Organization. Hepatitis C [Internet]. 2017 [cited 2017 Jul 15]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>.
- Thrift AP, El-Serag HB, Kanwal F. Global epidemiology and burden of HCV infection and HCV-related disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 14: 122-32.
- Wasitthanasem R, Vichaiwattana P, Auphimai C, *et al.* HCV core antigen is an alternative marker to HCV RNA for evaluating active HCV infection: implications for improved diagnostic option in an era of affordable DAAs. *PeerJ* 2017; 5: e4008.
- Li HC, Lo SY. Hepatitis C virus: Virology, diagnosis and treatment. *World J Hepatol* 2015; 7: 1377-89.