

Laboratory Diagnosis and Monitoring Tests for Hepatitis B Virus Infection

Woottichai Khamduang^{1, 2} Natedao Kongyai^{1, 2} and Sayamon Hongjaisee^{3*}

¹*Division of Clinical Microbiology, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand*

²*Infectious Diseases Research Unit, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand*

³*Research Institute for Health Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand*

Abstract

Hepatitis B virus (HBV) infection is a major global health problem worldwide, including Thailand. HBV infection can be chronic and put infected individuals at high risk of death from cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Although effective HBV vaccines have been commercially available, a number of people still get HBV infection. Most of the cases are unaware of the infection. As HBV infection is usually asymptomatic, laboratory testing is thus needed for screening and diagnosis. Accuracy of laboratory diagnosis is beneficial for management of HBV infection. Appropriate treatment could delay a transition from HBV infected state to liver disease progression and the control of viral spreading to susceptible individuals. This review article provides natural history of HBV infection, specimen collection, laboratory diagnostic and monitoring tests which are currently used and result interpretation. The combination of diagnostic tests and clinical information helps to achieve ultimate accuracy of the diagnosis and monitoring. This benefits the HBV infected individuals for life long longevity living.

Keywords: Hepatitis B virus, HBV, Diagnosis, Monitoring, Laboratory tests

*Corresponding author E-mail address: sayamon.ho@cmu.ac.th

Received: 22 June 2019

Revised: 5 August 2019

Accepted: 9 October 2019

การตรวจวินิจฉัยและตรวจติดตามการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ทางห้องปฏิบัติการ

วุฒิชัย คำดวง^{1, 2} เนตรดาว คงใหญ่^{1,2} และ ศยามล หงษ์ใจสี*³

¹แขนงวิชาจุลชีววิทยาคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

²หน่วยวิจัยโรคติดเชื้อ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

³สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

บทคัดย่อ

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีนับเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของโลกและในประเทศไทย การติดเชื้อแบบเรื้อรังเป็นเวลานานเป็นสาเหตุทำให้เกิดภาวะตับแข็ง มะเร็งตับ และเสียชีวิต แม้ว่าปัจจุบันจะมีวัคซีนไวรัสตับอักเสบบีที่มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันการติดเชื้อทางจำแนก แต่ก็ยังมีผู้ติดเชื้อไวรัสนี้อยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งส่วนใหญ่มักไม่รู้ตัวตนเองกำลังติดเชื้ออยู่ อีกทั้งผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่ มักไม่แสดงอาการ ดังนั้น การตรวจทางห้องปฏิบัติการจึงมีความจำเป็นอย่างมากในการคัดกรอง การวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีที่ถูกต้องเป็นประโยชน์ในการบริหารจัดการผู้ติดเชื้อและการรักษาที่เหมาะสม ช่วยลดการเกิดโรคตับระยะสุดท้าย อีกทั้งยังช่วยควบคุมการแพร่เชื้อไปยังบุคคลอื่นด้วย บทความนี้ผู้เขียนได้ทบทวนธรรมชาติของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี การเก็บสิ่งส่งตรวจ การตรวจวินิจฉัยและตรวจติดตามการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีทางห้องปฏิบัติการที่มีใช้อยู่ในปัจจุบัน รวมถึงการแปลผลการตรวจ การตรวจวินิจฉัยโดยใช้ตัวบ่งชี้หลายชนิดร่วมกับการพิจารณาข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วยช่วยให้การวินิจฉัยการติดเชื้อและการติดตามการรักษาของผู้ป่วยถูกต้องยิ่งขึ้น ทั้งนี้เพื่อประโยชน์สูงสุดต่อผู้ติดเชื้อให้สามารถดำรงชีวิตได้ยาวนานอย่างเป็นปกติสุข

คำสำคัญ: ไวรัสตับอักเสบบี HBV การวินิจฉัย การตรวจติดตาม การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: sayamon.ho@cmu.ac.th

รับบทความ: 22 มิถุนายน 2562

แก้ไขบทความ: 5 สิงหาคม 2562

รับตีพิมพ์บทความ: 9 ตุลาคม 2562

บทนำ

ตับเป็นอวัยวะที่มีขนาดใหญ่เป็นอันดับสองของร่างกายรองจากผิวหนัง และมีความสำคัญต่อร่างกายเป็นอย่างมาก ตับทำหน้าที่เผาผลาญเปลี่ยนแปลงสิ่งที่เรากินดื่มเข้าไปให้เป็นพลังงานและสารอาหารที่ร่างกายสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ และทำหน้าที่กำจัดสารพิษที่ร่างกายได้รับเข้าไปหรือที่ร่างกายสร้างขึ้น ดังนั้นหากตับเกิดโรคก็จะส่งผลกระทบต่อชีวิตมนุษย์เป็นอย่างมาก โรคที่เกิดกับตับมีหลายชนิด แต่ที่ทุกคนน่าจะรู้จักและต้องนึกถึงเป็นเบื้องต้นก็คือ “โรคตับอักเสบบี” ซึ่งเป็นภาวะที่มีการอักเสบของตับจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B virus, HBV) การอักเสบนี้ทำให้ตับบวมโตขึ้นและทำงานได้ไม่เต็มที่ เมื่อบุคคลได้รับเชื้อครั้งแรกจะเรียกระยะนี้ว่า “การติดเชื้อแบบเฉียบพลัน” ผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการทางคลินิก ส่วนน้อยที่อาจมีอาการแสดง เช่น เหนื่อยง่าย มีไข้ เบื่ออาหาร คลื่นเหียน ปวดศีรษะ ปวดกล้ามเนื้อ ปวดตับ และมีภาวะดีซ่าน (ผิวหนังและตาขาวกลายเป็นสีเหลือง) ระยะนี้มักจะเกิดขึ้น 2-5 เดือนหลังจากได้รับเชื้อและคงอยู่ประมาณ 2-3 สัปดาห์ หากการติดเชื้อแบบเฉียบพลันเกิดขึ้นในวัยผู้ใหญ่ ผู้ที่ได้รับเชื้อประมาณร้อยละ 95 จะสามารถหายเองได้ภายใน 6 เดือนและร่างกายจะสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อเองตามธรรมชาติโดยไม่จำเป็นต้องรักษา แต่ในบางราย (ประมาณร้อยละ 0.5-1) อาจเกิดภาวะตับอักเสบบีเรื้อรังได้ ในผู้ใหญ่ประมาณร้อยละ 4-5 หากไม่ได้รับการรักษาที่เหมาะสมก็มีโอกาสที่จะติดเชื้อไปตลอดชีวิต ซึ่งเรียกว่า “การติดเชื้อแบบเรื้อรัง” (สามารถตรวจพบเชื้อไวรัสในกระแสเลือดได้มากกว่า 6 เดือนขึ้นไป) ส่วนใหญ่ผู้ที่ติดเชื้อ HBV แบบเรื้อรังมักไม่แสดงอาการทางคลินิก ในทางตรงกันข้าม หากการติดเชื้อเกิดขึ้นในวัยเด็ก ประมาณร้อยละ 90 ของทารกที่ได้รับเชื่อก่อนอายุ 1 ขวบและร้อยละ 30 ของเด็กที่ได้รับเชื้อ

ระหว่างช่วงอายุ 1-5 ปี มักไม่สามารถกำจัดเชื้อออกจากร่างกายได้และเกิดการติดเชื้อแบบเรื้อรัง การติดเชื้อและอักเสบบีเรื้อรังเป็นเวลานานทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรงตามมา เช่น ภาวะตับแข็ง (มีรอยแผลเป็นในตับทำให้ตับไม่สามารถทำงานได้) มะเร็งตับ และตับวาย⁽¹⁾

แม้ปัจจุบันจะมีวัคซีนต่อเชื้อ HBV ที่มีประสิทธิผลสูงในการป้องกันการติดเชื้อวางจำหน่าย แต่ก็ยังมีผู้ติดเชื้อไวรัสนี้อยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งส่วนใหญ่ไม่รู้ตัวตนเองกำลังติดเชื้ออยู่ในปี พ.ศ. 2558 องค์การอนามัยโลกได้คาดการณ์ว่ามีผู้ติดเชื้อ HBV อยู่ประมาณ 257 ล้านคนทั่วโลก และในแต่ละปีมีประชากรโลกมากกว่า 887,000 คนเสียชีวิตจากโรคนี้ ซึ่งถือได้ว่าเป็นหนึ่งในสาเหตุการตาย 10 อันดับแรกของประชากรโลก ในฝั่งแปซิฟิกตะวันตกและทวีปแอฟริกาพบอัตราการติดเชื้อสูงถึงร้อยละ 6 ส่วนในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบอัตราการติดเชื้ออยู่ที่ประมาณร้อยละ 2⁽²⁾ และจากรายงานการระบาดของ การติดเชื้อ HBV ในประเทศไทยเมื่อปี พ.ศ. 2559 พบผู้ติดเชื้อ HBV แบบเรื้อรังสูงถึง 3 ล้านคน⁽³⁾ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2535 กระทรวงสาธารณสุขของไทยได้รวมเอาการให้วัคซีนป้องกันการติดเชื้อ HBV แก่เด็กแรกคลอดเข้าไว้ในโครงการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันแห่งชาติ (National Expanded Programs on Immunization: EPI) จำนวนเด็กที่ได้รับวัคซีนเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ในแต่ละปีจนครอบคลุมได้มากกว่าร้อยละ 90 ของเด็กไทยทั้งหมด⁽⁴⁻⁶⁾ และคาดว่าในปัจจุบันเด็กแรกคลอดมากกว่าร้อยละ 99 จะได้รับวัคซีนตามโครงการดังกล่าวแล้ว ซึ่งส่งผลให้อัตราการติดเชื้อ HBV ในเด็กลดลงอย่างมาก⁽⁷⁾ อย่างไรก็ตาม แม้ว่าโครงการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันแห่งชาติจะครอบคลุมเด็กไทยส่วนใหญ่ แต่ยังมีเด็กอีกจำนวนไม่น้อยที่ยังติดเชื้อ HBV อยู่ ทั้งนี้มีหลักฐานงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่แสดงว่า การได้รับวัคซีนของเด็กในโรงเรียน

ในเขตชนบทยังมีอัตราที่ต่ำมากอยู่ที่ร้อยละ 47 และยังไม่ครอบคลุมเมื่อเปรียบเทียบกับเด็กในโรงเรียนในเขตเมือง (ร้อยละ 89)⁽⁵⁾ และจากการศึกษาของคณะผู้นิพนธ์เมื่อช่วงปีที่ผ่านมา⁽⁸⁾ ได้มีการสำรวจความชุกและสถานะของการติดเชื้อ HBV ในกลุ่มเด็กชาติพันธุ์เผ่ากะเหรี่ยงที่มีอายุระหว่าง 7-14 ปีที่อาศัยอยู่ในพื้นที่สูงแห่งหนึ่งในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 210 คน พบว่ายังคงมีเด็กติดเชื้อ HBV อยู่ถึงร้อยละ 2 และมีเด็กที่เคยได้รับเชื้อมาก่อนถึงร้อยละ 15 ส่วนเด็กที่มีภูมิคุ้มกันจากการได้รับวัคซีนมีเพียงร้อยละ 12 และมีเด็กที่ไม่เคยสัมผัสกับเชื้อหรือวัคซีนมาก่อนมากถึงร้อยละ 71 ซึ่งเด็กกลุ่มนี้มีความเสี่ยงที่จะติดเชื้อได้ในอนาคต นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาอื่น ที่ยืนยันว่ากลุ่มชาติพันธุ์ที่อาศัยอยู่ตามภูเขาทางภาคเหนือของประเทศไทย มีอัตราการติดเชื้อ HBV สูงถึงร้อยละ 10-13^(9, 10)

ไวรัสตับอักเสบบีจัดอยู่ในไวรัสตระกูล *Hepadnaviridae* ซึ่งแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยอีกอย่างน้อย 10 จีโนไทป์ ตั้งแต่ A ถึง J⁽¹¹⁾ ความรุนแรงของการติดเชื้อแต่ละจีโนไทป์ยังไม่ทราบชัดเจนและเป็นที่ถกเถียงกันอยู่ว่าจีโนไทป์ใดทำให้เกิดการติดเชื้อได้อันตรายและรุนแรงกว่ากัน⁽¹²⁻¹⁸⁾ ไวรัสตับอักเสบบีมีจีโนมหรือสายพันธุกรรมเป็นแบบดีเอ็นเอสายคู่ขนาดประมาณ 3,200 คู่เบส เชื่อมต่อกันเป็นวงกลมที่มีบางส่วนของดีเอ็นเอหนึ่งสายขาดหายไปไม่สมบูรณ์ แต่ที่น่าสนใจคือความซับซ้อนของจีโนมของไวรัสนี้มียีนบริเวณที่กำหนดการสร้างโปรตีน (open reading frames, ORFs) เหลื่อมซ้อนกัน ซึ่งหมายความว่า ยีนในตำแหน่งเดียวกันนี้สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้หลายชนิด และหากมีการเปลี่ยนแปลงในลำดับนิวคลีโอไทด์เพียงตำแหน่งเดียวก็อาจส่งผลต่อการแสดงออกของโปรตีนที่สำคัญได้หลายชนิด จีโนมทั้งหมดของ HBV สามารถสังเคราะห์โปรตีนหลักได้ 4 ชนิด คือ โปรตีนเปลือกนอก โปรตีนโครงสร้าง

เอนไซม์โพลิเมอเรส และโปรตีนเอ็กซ์⁽¹⁹⁾

ธรรมชาติของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (Natural history of HBV infection)

ไวรัสตับอักเสบบีไม่จัดว่าเป็นไวรัสที่ทำลายเซลล์ตับที่ติดเชื้อโดยตรง จึงทำให้อาการของการติดเชื้อพบได้หลากหลายตั้งแต่ไม่แสดงอาการจนถึงแสดงอาการรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิต ทั้งนี้ขึ้นกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของผู้ติดเชื้อ วัยผู้ใหญ่จะมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ดีกว่าวัยเด็กและมีความเสี่ยงน้อยกว่าในการพัฒนาจากการติดเชื้อแบบเฉียบพลันเป็นการติดเชื้อแบบเรื้อรัง แต่ก็มีโอกาสเกิดภาวะตับอักเสบนรุนแรงจากภูมิคุ้มกันที่เข้าทำลายเซลล์ตับที่ติดเชื้อได้มากกว่าเด็ก

ระยะของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแบบเรื้อรัง (Phases of chronic HBV infection) การติดเชื้อ HBV แบบเรื้อรังสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ระยะ (Fig. 1) แต่ผู้ติดเชื้อ HBV ไม่จำเป็นต้องมีการดำเนินโรคผ่านทั้ง 4 ระยะนี้เสมอไป

1) ระยะภูมิคุ้มกันทนต่อการติดเชื้อ (Immune tolerance phase) ผู้ติดเชื้อในระยะนี้จะมีผลบวกต่อ HBsAg และ HBeAg และมีปริมาณ HBV DNA สูง แต่เอนไซม์ alanine aminotransferase (ALT) อยู่ในระดับปกติ เนื่องจากไม่มีการทำลายเซลล์ตับจากการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน แต่ผู้ติดเชื้อในระยะนี้ยังคงมีความเสี่ยงสูงในการถ่ายทอดเชื้อ HBV ไปให้บุคคลอื่น เนื่องจากมีปริมาณไวรัสในกระแสเลือดสูง

2) ระยะภูมิคุ้มกันกำจัดเชื้อ (Immune active/clearance phase) ผู้ติดเชื้อในระยะนี้จะมีการลดลงของปริมาณ HBV DNA อย่างเห็นได้ชัด และมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ ALT ในซีรัมเนื่องจากการทำลายเซลล์ตับที่ติดเชื้อโดยระบบภูมิคุ้มกัน โปรตีน HBeAg จะเริ่มหายไป และร่างกายเริ่มสร้าง

anti-HBe มาแทนที่ ระยะนี้จะคงอยู่หลายเดือนหรือหลายปีขึ้นกับประสิทธิภาพของภูมิคุ้มกัน หากภูมิคุ้มกันมีประสิทธิภาพดีผู้ติดเชื้ออาจสามารถกำจัดเชื้อไวรัสออกจากร่างกายได้ภายใน 3-4 สัปดาห์ แต่ถ้าภูมิคุ้มกันไม่มีประสิทธิภาพ ระยะนี้อาจคงอยู่เป็นสิบปีหรือมากกว่า

3) ระยะที่ไวรัสไม่มีการเพิ่มจำนวนหรือเพิ่มจำนวนในปริมาณน้อย (Viral inactive/low replicative phase) ผู้ติดเชื้อในระยะนี้จะมี HBeAg เป็นลบ มีปริมาณ HBV DNA ต่ำกว่า 2,000 IU/mL หรือต่ำมากจนตรวจวัดไม่ได้ (undetectable level) และมีค่าเอนไซม์ ALT ที่ระดับปกติ อาการอักเสบหรือพังผืดในตับลดลง อย่างไรก็ตาม ยังคงตรวจพบ HBsAg ได้ในกระแสเลือด เซลล์ตับที่ติดเชื้อส่วนใหญ่จะถูกกำจัดโดยระบบภูมิคุ้มกัน ผู้ติดเชื้อในระยะนี้จึงมีการพยากรณ์โรคที่ดีมาก แต่ในผู้ติดเชื้อบางราย อาจตรวจพบดีเอ็นเอของ HBV ในเลือดหรือในเซลล์ตับ แต่ตรวจไม่พบ HBsAg ในกระแสเลือด ซึ่งเรียกว่า “การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแบบซ่อนเร้นหรือแบบแฝง (occult HBV infection)” ซึ่งส่วนใหญ่มักพบในผู้ที่ผลบวกต่อแอนติบอดีต่อเชื้อ HBV ไม่ว่าจะ anti-HBc, anti-HBs หรือ anti-HBe^(20, 21) แม้ว่าการติดเชื้อ HBV แบบซ่อนเร้นนี้อาจยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับนัยสำคัญทางคลินิกออกมามากนัก แต่ก็มีความวิจัยที่รายงานผลกระทบของการติดเชื้อลักษณะนี้ เช่น ผู้ติดเชื้อ HBV แบบซ่อนเร้นอาจเกิดการกำเริบของเชื้อที่ซ่อนอยู่ หรืออาจถ่ายทอดเชื้อไปให้ผู้อื่นผ่านทาง การบริจาคเลือดหรืออวัยวะ^(22, 23) ความชุกของการติดเชื้อ HBV แบบซ่อนเร้นทั่วโลกมีรายงานออกมาค่อนข้างหลากหลาย ทั้งนี้ขึ้นกับกลุ่มและจำนวนประชากรที่ศึกษา ประเทศหรือภูมิภาคที่ศึกษา และเทคนิควิธีการตรวจหาดีเอ็นเอของ HBV เช่น ความชุกของการติดเชื้อแบบซ่อนเร้นในผู้ที่มีผลบวกต่อ anti-HBc เพียงอย่างเดียวพบประมาณ

ร้อยละ 4-14 ความชุกของการติดเชื้อแบบซ่อนเร้นในถิ่นที่มีการระบาดของ HBV พบประมาณร้อยละ 10-20 ส่วนในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีพบได้ตั้งแต่ร้อยละ 0-89 ในประเทศไทย คณะผู้นิพนธ์ได้รายงานความชุกของการติดเชื้อ HBV แบบซ่อนเร้นในหญิงตั้งครรภ์ที่ติดเชื้อเอชไอวีและมีผลบวกต่อ anti-HBc เพียงอย่างเดียวพบได้สูงถึงร้อยละ 24⁽²⁴⁾

4) ระยะไวรัสกลับมาเพิ่มจำนวน (Reactivation phase) เนื่องจาก ดีเอ็นเอ ของไวรัสสามารถแฝงตัวอยู่ในเซลล์ตับได้ ผู้ติดเชื้อในระยะที่ไวรัสไม่มีการเพิ่มจำนวนจึงอาจมีการกลับมาเพิ่มจำนวนของไวรัสและทำให้เกิดโรคตับขึ้นได้อีกครั้ง ผู้ติดเชื้อในระยะนี้จะมี HBsAg และ anti-HBe เป็นบวก แต่ HBeAg เป็นลบ มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณ HBV DNA และเอนไซม์ ALT เป็นบางครั้งหรือตลอดเวลา และมีการอักเสบของตับ การที่ HBeAg เป็นลบและ HBV DNA สูงเกิดจากการกลายพันธุ์ของไวรัส ทำให้ไวรัสไม่มีการสร้าง HBeAg หรือสร้างได้ในปริมาณน้อย บางครั้งเรียกว่า “ผู้ติดเชื้อตับอักเสบบีแบบเรื้อรังที่มี HBeAg ลบ” ผู้ติดเชื้อในระยะนี้มีโอกาสเกิดพยาธิสภาพของตับได้มากกว่าผู้ติดเชื้อที่มี HBeAg เป็นบวก เนื่องจากติดเชื้อมาเป็นระยะเวลานานและเกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อ⁽²⁵⁾

การเก็บและการขนส่งสิ่งส่งตรวจสำหรับตรวจหาไวรัสตับอักเสบบี

การตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดีสามารถตรวจหาได้ทั้งจากซีรัมและพลาสมาซึ่งค่อนข้างจะคงตัวอยู่ได้ที่อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) และนานหลายเดือนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และหลายปีที่ -20 ถึง -70 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตาม ควรหลีกเลี่ยงการแช่แข็ง-ละลาย (freezing-thawing) ซ้ำกันหลายรอบเพราะอาจทำให้โปรตีนหรือดีเอ็นเอเสียหายได้ การตรวจหาสารพันธุกรรมใน

พลาสมาหรือซีรัมนั้น ควรแยกพลาสมาหรือซีรัมออกจากเม็ดเลือดแดงภายใน 6 ชั่วโมงหลังเจาะเลือด และเก็บไว้ที่ -20 ถึง -70 องศาเซลเซียส พลาสมาหรือซีรัมสามารถเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ได้นานถึง 5 วันโดยไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อปริมาณดีเอ็นเอของไวรัส การตรวจโดยวิธี PCR-based tests สามารถใช้ได้ทั้งซีรัมและพลาสมา แต่การตรวจโดยวิธี Hybridization-based tests แนะนำให้ใช้เฉพาะซีรัมเท่านั้น⁽²⁶⁾

การตรวจวินิจฉัยและตรวจติดตามการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีทางห้องปฏิบัติการ

ผู้ติดเชื้อ HBV ส่วนใหญ่มักไม่แสดงอาการทางคลินิก ดังนั้น การตรวจทางห้องปฏิบัติการจึงมีความจำเป็นอย่างมากในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ และเป็นประโยชน์ในการบริหารจัดการผู้ติดเชื้อ ตั้งแต่การตรวจคัดกรองผู้ติดเชื้อ การให้คำปรึกษาที่เหมาะสม การตรวจติดตามการรักษา การให้วัคซีนกับบุคคลอื่นในครอบครัว การเลือกการทดสอบนั้นควรจะอยู่บนพื้นฐานของปัจจัยเสี่ยงของผู้ป่วย ประวัติการได้รับ

วัคซีน รวมทั้งผลการตรวจที่ผ่านมา แนวปฏิบัติในการตรวจคัดกรองและวินิจฉัยการติดเชื้อ และข้อบ่งชี้ในการเริ่มการรักษาและการตรวจติดตามทางห้องปฏิบัติการสามารถดูรายละเอียดได้ที่ Guidelines on Hepatitis B and C Testing ขององค์การอนามัยโลก⁽²⁷⁾ และ AASLD 2018 Hepatitis B Guidance⁽²⁸⁾ โดยทั่วไป การตรวจวินิจฉัยและตรวจติดตามการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีทางห้องปฏิบัติการ จำแนกเป็น 3 แบบ คือ

1. การตรวจหาระดับเอนไซม์ alanine aminotransferase (ALT)

ระดับของเอนไซม์ ALT ในกระแสเลือดจะมีค่าสูงขึ้นมากกว่าปกติ (5-100 เท่า) เมื่อเกิดความเสียหายต่อตับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในโรคตับอักเสบบีหรือโรคตับแข็ง ดังนั้นระดับของเอนไซม์ ALT จึงเป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญของโรคตับ แม้ผู้ป่วยจะไม่แสดงอาการออกมาให้สังเกตได้เลยก็ตาม อีกทั้งระดับของเอนไซม์ ALT ยังสามารถช่วยบ่งบอกระยะของการติดเชื้อ HBV แบบเรื้อรังได้อีกด้วย (Fig. 1)

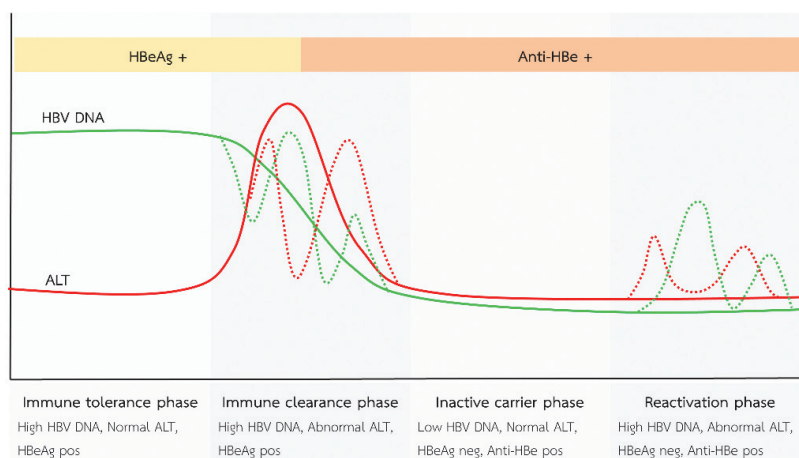


Fig. 1 Phases of chronic HBV infection

The natural chronic HBV infection is divided into four phases: the immune tolerance phase; the immune clearance phase; the inactive carrier phase; and the reactivation phase. ALT, alanine aminotransferase; HBeAg, hepatitis B e antigen; anti-HBe, hepatitis B e antibody. (Modified from Kwon H., Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2011)⁽⁴⁸⁾

2. การตรวจวินิจฉัยตัวบ่งชี้ทางซีรั่มวิทยา (Sero logical markers)

โดยใช้แอนติเจนหรือแอนติบอดีที่จำเพาะ 3 ชนิดในการวินิจฉัยและระบุสถานะการติดเชื้อ HBV คือ 1) แอนติเจนเปลือกนอกของไวรัส (HBsAg) และแอนติบอดีต่อแอนติเจนเปลือกนอก (anti-HBs) 2) แอนติบอดีต่อโปรตีนแกนกลางของไวรัส (anti-HBc) ทั้งชนิดที่เป็น anti-HBc IgM และ total anti-HBc (IgM/IgG antibodies) 3) แอนติเจน “อี” ของไวรัส (HBeAg) และแอนติบอดีต่อแอนติเจน “อี” (anti-HBe)

2.1 Hepatitis B surface antigen (HBsAg)

HBsAg เป็นโปรตีนที่อยู่บนเปลือกนอกของเชื้อไวรัส (Fig. 2) ซึ่งผู้ที่ติดเชื้อ HBV จะมีชิ้นส่วนของเชื้อไวรัสในกระแสเลือด และสามารถตรวจพบได้ด้วยวิธีการตรวจคัดกรองอย่างง่ายที่มีใช้อย่างแพร่หลายตามโรงพยาบาลและคลินิกทั่วประเทศ การตรวจหา HBsAg เป็นการทดสอบที่นิยมใช้มาก

ที่สุดในการคัดกรองการติดเชื้อ HBV โดยสามารถตรวจพบในซีรั่มได้หลังจากที่ได้รับเชื้อภายในระยะเวลาไม่กี่สัปดาห์จนถึงหลายเดือน ในกรณีที่ตรวจไม่พบ HBsAg แสดงว่าผู้ป่วยไม่มีการติดเชื้อ HBV ซึ่งอาจเป็นผู้ที่ไม่เคยได้รับเชื้อเลยหรือเคยได้รับเชื้อไวรัสมาก่อนแต่สามารถกำจัดเชื้อไวรัสออกจากกระแสเลือดได้ ในรายที่ตรวจพบ HBsAg อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลามากกว่า 6 เดือนขึ้นไป สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การติดเชื้อ HBV แบบเรื้อรังได้ การตรวจ anti-HBs และ anti-HBc เพิ่มไปพร้อมกันกับ HBsAg ช่วยเพิ่มความถูกต้องในการวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัส อีกทั้งการตรวจหาตีเอ็นเอของไวรัสจะช่วยให้ยืนยันผลการวินิจฉัยได้ โดยเฉพาะในระยะแรกเริ่มของการติดเชื้อและในผู้ติดเชื้อเรื้อรังระยะที่ 3 ซึ่งอาจตรวจไม่พบ HBsAg ได้ (occult HBV infection) ดังนั้นในงานธนาคารเลือดจึงมีการตรวจทั้ง HBsAg และ HBV DNA ในตัวอย่างเลือดบริจาคทุกยูนิตตามมาตรฐานและนโยบายการบริการโลหิตแห่งชาติ พ.ศ. 2553

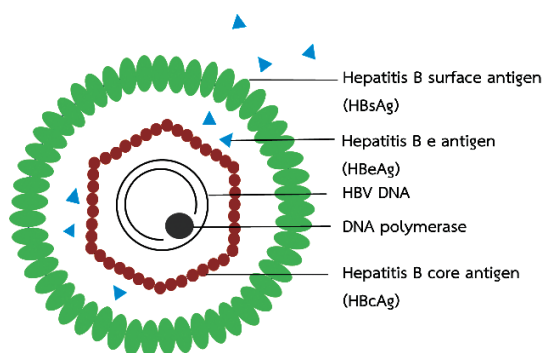


Fig. 2 Structure of hepatitis B virus

The infectious HBV virion has a spherical, double-shelled structure consisting of a lipid envelope containing hepatitis B surface antigen (HBsAg) that surrounds a nucleocapsid composed of hepatitis B core antigen (HBcAg) complexed with the viral DNA genome and polymerase. Hepatitis e antigen (HBeAg) is the soluble protein that are packed in the viral particle or secreted out of the particle. (Modified from Liang TJ, Hepatology 2009)⁽⁴⁹⁾

การวัดปริมาณของ HBsAg (quantitative HBsAg) ยังเป็นประโยชน์ในการตรวจติดตามการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสทั้งก่อนและหลังการรักษา การวัดปริมาณของ HBsAg ทำได้ง่ายและประหยัดกว่าการตรวจวัดปริมาณ HBV DNA อย่างไรก็ตาม ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ HBsAg และ HBV DNA ยังไม่ชัดเจนนัก⁽²⁹⁾ แต่กลับพบว่าปริมาณ HBsAg มีความสอดคล้องอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณ covalently closed circular DNA (cccDNA) ในเซลล์ตับ ซึ่งอาจเป็นตัวบ่งชี้สำคัญในการประเมินการตอบสนองต่อการรักษาของผู้ติดเชื้อ⁽³⁰⁾

2.2 Anti-HBs (surface antibody)

Anti-HBs คือ แอนติบอดีที่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ (protective antibody) สามารถพบได้ในผู้ที่หายจากการติดเชื้อ HBV ตามธรรมชาติหรือในผู้ที่มีการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสหลังจากได้รับวัคซีน ในผู้ที่หายจากการติดเชื้อแบบเฉียบพลันจะมีการแสดงออกของ anti-HBs ตลอดชีวิตและเป็นภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ HBV โดยระดับของ anti-HBs อาจลดลงจนตรวจไม่พบเมื่อระยะเวลาผ่านไปหลาย ๆ ปี⁽³¹⁾ หากการตรวจ anti-HBs ให้ผลลบแสดงว่าบุคคลนั้นยังไม่เคยได้รับเชื้อหรือยังไม่มีภูมิคุ้มกันต้านต่อเชื้อไวรัส หรือได้รับวัคซีนมาเป็นเวลานานแล้วและมีระดับของ anti-HBs ลดลงไปอย่างไรก็ตาม ในบางรายอาจตรวจพบผลบวกต่อทั้ง anti-HBs และ HBsAg ในเวลาเดียวกันแม้จะมีการตรวจติดตามไปนานกว่า 15 เดือน แต่ส่วนใหญ่จะมีระดับ anti-HBs, HBsAg และ HBV DNA ในปริมาณต่ำ กรณีนี้ให้ถือว่าผู้ป่วยติดเชื้อ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการกลายพันธุ์หรือการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนในตำแหน่ง major antigenic region ของ HBsAg ทำให้แอนติบอดีไม่สามารถจับแอนติเจนได้ทั้งหมด^(32, 33)

2.3 Total anti-HBc (total core antibody - IgM and IgG)

การตรวจพบแอนติบอดีแบบ total anti-HBc จะเป็นตัวบ่งชี้การที่เคยได้รับเชื้อมาก่อน หรือในขณะนั้นกำลังมีการติดเชื้อ anti-HBc เป็นแอนติบอดีตัวแรกที่ตรวจพบได้หลังการติดเชื้อครั้งแรก ในระหว่างที่มีการติดเชื้อแบบเฉียบพลัน anti-HBc ชนิด IgM จะมีปริมาณไตเตอร์ (titer) สูง และจะหายไปภายใน 6 เดือน แต่ในผู้ที่ติดเชื้อแบบเรื้อรังจะสามารถตรวจพบ anti-HBc ชนิด IgG ได้ตลอดชีวิต ในพื้นที่ที่มีความชุกของการติดเชื้อต่ำ การตรวจพบเฉพาะ anti-HBc อย่างเดียวอาจเกิดจากผลบวกปลอมได้ หาก total anti-HBc ให้ผลลบ อาจบ่งชี้ว่าในอดีตไม่เคยได้รับเชื้อ HBV แต่ถ้าให้ผลบวกแสดงว่าผู้ป่วยเคยได้รับเชื้อ HBV มาก่อน ซึ่งปัจจุบันอาจหายจากการติดเชื้อ (กรณี HBsAg ลบ) หรือกำลังติดเชื้อ (กรณี HBsAg บวก) อยู่ก็ได้ ตัวอย่างเลือดที่ให้ผลบวกต่อ total anti-HBc เพียงอย่างเดียว ควรมีการตรวจซ้ำในครั้งต่อไปเพื่อยืนยันผลบวก นอกจากนี้ การตรวจพบ anti-HBc เพียงชนิดเดียวโดยไม่สามารถตรวจพบ HBsAg และ anti-HBs อาจเป็นการติดเชื้อไวรัสแบบซ่อนเร้นหรือแบบแฝง (occult HBV) ซึ่งต้องยืนยันโดยการตรวจหา HBV DNA ต่อไป ดังนั้นในการตรวจหาการติดเชื้อ HBV นอกเหนือจากการตรวจหา HBsAg แล้ว ควรมีการตรวจคัดกรอง anti-HBc ร่วมด้วย

2.4 HBeAg (e-antigen) และ Anti-HBe (e-antibody)

การตรวจพบ HBeAg มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณไวรัสที่สูงในกระแสเลือด⁽³⁴⁾ ดังนั้น HBeAg จึงใช้เป็นตัวบ่งชี้อย่างง่ายถึงการแบ่งตัวของเชื้อไวรัสและความเสี่ยงสูงในการแพร่กระจายเชื้อสู่ผู้อื่น อย่างไรก็ตาม ไวรัสตับอักเสบบีอาจมีการ

เปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมทำให้ไม่สามารถสร้าง HBeAg ได้ซึ่งมักพบในระยะสุดท้ายของการติดเชื้อแบบเรื้อรัง

ในการติดเชื้อแบบเฉียบพลัน ร่างกายจะสร้าง anti-HBe เนื่องจากการกระตุ้นจาก HBeAg ซึ่งจะตรวจพบได้หลังจากการสร้าง anti-HBc และสอดคล้องกับปริมาณไวรัสที่ลดลง จึงอาจเป็นตัวบ่งชี้การหายจากการติดเชื้อแบบเฉียบพลัน แต่ในผู้ที่ติดเชื้อแบบเรื้อรังระยะที่ 3 การตรวจพบ anti-HBe จะบ่งชี้การแบ่งตัวและปริมาณของไวรัสในเลือดที่ลดลง รวมถึงโอกาสในการแพร่กระจายเชื้อที่ลดลงตามไปด้วย อย่างไรก็ตาม ในผู้ที่ติดเชื้อแบบเรื้อรังในระยะที่ 4 (ไวรัสกลับมาเพิ่มจำนวน) ที่มีผล anti-HBe เป็นบวกและ HBeAg เป็นลบมักมีความเสี่ยงของการเป็นโรคแทรกซ้อนรุนแรง

โดยสรุป การตรวจทั้ง HBsAg, anti-HBc IgM และ total anti-HBc (IgM และ IgG) สามารถ

ใช้วินิจฉัยการติดเชื้อ HBV ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ โดยในรายที่สามารถกำจัดเชื้อไวรัสออกจากกระแสเลือดได้ ระดับ HBsAg จะลดต่ำลงจนตรวจไม่พบและตรวจพบ anti-HBs ร่วมกับ total anti-HBc ส่วนในผู้ติดเชื้อบางรายที่ตรวจไม่พบทั้ง HBsAg และ anti-HBs ก็อาจอยู่ในระหว่างการกำจัด HBsAg และการเริ่มสร้าง anti-HBs แต่ยังไม่สามารถตรวจพบได้ ซึ่งเรียกว่า “window period” ส่วนรายที่ให้ผลลบต่อ HBsAg แต่ให้ผลบวกต่อ anti-HBs แปลผลได้ว่าการกำจัดเชื้อไวรัสออกไปได้หรือเคยได้รับวัคซีน ทั้งนี้ต้องแยกโดยใช้การตรวจหา total anti-HBc ส่วนการตรวจพบ HBeAg บ่งชี้การเพิ่มจำนวนของไวรัสที่สูง ซึ่งมักพบได้ในการติดเชื้อแบบเฉียบพลันหรือในช่วงระยะแรกของการติดเชื้อแบบเรื้อรัง เมื่อติดเชื้อแบบเรื้อรังแล้ว ร่างกายจะตอบสนองต่อการติดเชื้อไวรัสโดยการสร้าง Anti-HBe และกำจัด HBeAg ออกจากร่างกาย (Table 1)

Table 1 Result interpretation of hepatitis B serological tests

Hepatitis B serological tests involve measurement of several hepatitis B virus antigens and antibodies. The combination of serological markers is used to define phases of HBV infection and identify that the patient has acute or chronic infection, is immunized, or is susceptible to infection. Modified from Interpretation of Hepatitis B Serologic Test Results (www.cdc.gov/hepatitis).

Results of hepatitis B serologic tests						Interpretation
HBsAg	anti-HBs	HBeAg	anti-HBe	anti-HBc		
				IgM	total	
+	-	+	-	+	+	Acute HBV infection
+	-	+	-	-	+	Chronic infection, high viral replication
+	-	-	+	-	+	Chronic infection, inactive or low viral replication
-	+	-	-	-	+	Previously infected and immune due to natural infection
-	-	-	-	-	+	Acute window period, past infection
-	+	-	-	-	-	Clinical recovery, immune due to HBV vaccination
-	-	-	-	-	-	Uninfected, not immune, susceptible to HBV infection

3. การตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัส (HBV DNA)

การตรวจหาสารพันธุกรรมชนิดดีเอ็นเอของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (HBV DNA) สามารถตรวจหาโดยใช้เทคนิค polymerase chain reaction (PCR) หรือ real-time PCR ทั้งแบบวิธีเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในกระแสเลือดจะมีระดับที่แตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลาของการติดเชื้อ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HBV แบบเรื้อรัง การตรวจหาปริมาณ HBV DNA มีความสำคัญมาก

ในการใช้ประกอบการรักษาผู้ติดเชื้อ HBV ทั้งก่อนและหลังการรักษา รวมทั้งใช้ในการติดตามการดำเนินของโรคและใช้ในการประเมินการตอบสนองต่อยาด้านไวรัส การตรวจหาปริมาณ HBV DNA นี้ใช้ประเมินผลการรักษาร่วมกับระดับของเอนไซม์ ALT และตัวบ่งชี้ทางชีวเคมีอื่นๆ ด้วย นอกจากนี้ ในปัจจุบันชุดตรวจสำหรับการตรวจหาปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในกระแสเลือดยังมีความไวสูง สามารถตรวจหาดีเอ็นเอของไวรัสได้แม้มีปริมาณน้อยในกระแสเลือดของผู้ป่วยก็ตาม

การตรวจการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแบบอื่น

1. การตรวจหาระดับสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในเซลล์ตับ (Intrahepatic HBV DNA)

การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในเซลล์ตับ (หรือที่เรียกว่า intrahepatic HBV DNA) เป็นการตรวจหาดีเอ็นเอของเชื้อ HBV ทั้งหมดที่อยู่ในเซลล์ตับ ทั้งชนิด relaxed circular DNA (rcDNA) และ covalently closed circular DNA (cccDNA) ซึ่งทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถพบได้ในนิวเคลียสของเซลล์ตับ แต่มีลักษณะโครงสร้างของดีเอ็นเอ ที่ต่างกัน โดย rcDNA จะมีลักษณะเป็น double-stranded DNA แบบวงแหวนไม่เต็มวง ในขณะที่ cccDNA มีลักษณะเป็น double-stranded DNA ที่ถูกสร้างขึ้นจากการเพิ่มจำนวนและถูกเชื่อมเข้าด้วยกันเป็นวงแหวนแบบปิด การตรวจหา intrahepatic HBV DNA ทำได้โดยการเจาะชิ้นเนื้อตับ (liver biopsy) และตรวจหาระดับของ intrahepatic HBV DNA ด้วยเทคนิค real-time PCR ปัจจุบันแม้การตรวจหา intrahepatic HBV DNA ยังไม่มีวิธีการตรวจที่เป็นมาตรฐาน แต่วิธีนี้สามารถบ่งบอกถึงสถานะที่แท้จริงของการติดเชื้อ HBV ได้ รวมทั้งการประเมินประสิทธิภาพของการรักษา เพราะผู้ติดเชื้อที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสเป็นเวลานาน แม้จะตรวจไม่พบ HBV DNA ในกระแสเลือดแต่ก็ยังคงติดเชื้ออยู่ ดังนั้น การตรวจหา intrahepatic HBV DNA จะใช้เป็นตัวบ่งชี้ว่าการรักษานี้ทำให้ผู้ติดเชื้อหายขาดจากการติดเชื้อได้

2. การตรวจหาระดับสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสตับอักเสบบีชนิด covalently closed circular DNA (cccDNA) ในเซลล์ตับ

cccDNA (หรือที่เรียกว่า intrahepatic cccDNA) เป็นสารพันธุกรรมของไวรัสตับอักเสบบีที่

แฝงตัวอยู่ในนิวเคลียสของเซลล์ตับ การตรวจหาระดับ cccDNA จะเป็นตัวบ่งชี้การติดเชื้อ HBV แบบเรื้อรังได้ โดยทั่วไป ระดับ serum HBV DNA จะสัมพันธ์กับปริมาณ cccDNA ในเซลล์ตับ การตรวจหาระดับ intrahepatic cccDNA สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การหายขาดจากการติดเชื้อ HBV ในผู้ติดเชื้อที่ตรวจไม่พบ HBV DNA ในเลือด ปัจจุบันแม้ยังไม่มีวิธีมาตรฐานในการตรวจแต่สามารถทำได้โดยการเจาะชิ้นเนื้อตับและตรวจหา intrahepatic cccDNA ด้วยเทคนิค real-time PCR ทั้งแบบวิธีเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

3. การตรวจหาระดับ Hepatitis B core-related antigens (HBcrAg)

Hepatitis B core antigen (HBcAg) คือ โปรตีนแกนกลางของไวรัส (Fig. 2) ซึ่งปกติแล้วมักไม่ตรวจในกระแสเลือด เนื่องจากอยู่ภายในอนุภาคของไวรัส ซึ่งมีโปรตีนเปลือกนอก (HBsAg) ห่อหุ้มอยู่ การตรวจหา HBcAg ในปัจจุบันนิยมตรวจหา Hepatitis B core-related antigens (HBcrAg) ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนสามชนิดที่มีลำดับกรดอะมิโนเหมือนกันอยู่ 149 ตำแหน่ง ได้แก่ HBcAg, HBeAg และ precore ซึ่งถูกสร้างขึ้นจากยีนต้นกำเนิดชนิดเดียวกัน (precore/core region) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าปริมาณ HBcrAg ในซีรัมสัมพันธ์กับปริมาณ HBV DNA ทั้งในเซลล์ตับและในพลาสมา⁽³⁵⁻³⁸⁾ และยังสัมพันธ์กับปริมาณ cccDNA ในเซลล์ตับ⁽³⁷⁻³⁹⁾ หากผู้ติดเชื้ออยู่ในระหว่างการรักษาด้วยยาต้านไวรัส ซึ่งส่วนใหญ่มักตรวจไม่พบ serum HBV DNA แต่กลับพบว่ายังสามารถตรวจพบ HBcrAg ได้⁽³⁷⁾ ทั้งนี้ ปริมาณ HBcrAg ในซีรัมยังสัมพันธ์กับปริมาณ HBsAg อีกด้วย⁽⁴⁰⁾ ดังนั้น HBcrAg อาจเป็นตัวบ่งชี้ทางน้ำเหลืองวิทยาที่ดีในการตรวจวินิจฉัยและติดตามการรักษาการติดเชื้อ HBV ซึ่งอาจใช้ทดแทน

การวัดปริมาณ HBV DNA ในกระแสเลือดได้อีกด้วย ในอนาคต

นอกจากนี้ ปริมาณ HBcrAg ในกระแสเลือดยังมีระดับที่แตกต่างกันในแต่ละระยะของการติดเชื้อ HBV ผู้ติดเชื้อเรื้อรังในระยะที่ 1 และ 2 มักมีระดับ HBcrAg สูงกว่าผู้ติดเชื้อที่อยู่ในระยะที่ 3 และ 4^(40, 41) ระดับของโปรตีน HBcrAg ในกระแสเลือดที่แตกต่างกันนี้ทำให้สามารถบ่งบอกระยะของการติดเชื้อ HBV เรื้อรังได้ โดยเฉพาะผู้ป่วยที่อยู่ในระยะสุดท้ายของการติดเชื้อ HBV ที่มักตรวจไม่พบ HBeAg อย่างไรก็ตาม ชุดตรวจวัดปริมาณ HBcrAg ในปัจจุบันยังมีทางเลือกน้อยและไม่เป็นที่แพร่หลายนัก คือ Lumipulse G1200 CLEIA analyzer (Fujirebio, Tokyo, Japan) อาศัยหลักการ chemiluminescence สามารถตรวจวัดปริมาณ HBcrAg ได้ในช่วง 3.0–7.0 log units/mL

4. การตรวจหา HBV DNA ใน peripheral blood mononuclear cells (PBMCs)

การตรวจหาสารพันธุกรรมของ HBV ที่อยู่ในเซลล์ตับ หรืออนุภาค หรือโปรตีนของไวรัสที่ถูกปลดปล่อยจากเซลล์ตับออกสู่กระแสเลือด เป็นตัวบ่งชี้ในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบได้ดี อย่างไรก็ตามยังพบการติดเชื้อได้ที่เนื้อเยื่อของไต ตับอ่อน หรือไขกระดูก รวมทั้งในเซลล์เม็ดเลือดขาวได้อีกด้วย^(42–44) ซึ่งการติดเชื้อ HBV ที่เซลล์เม็ดเลือดขาวนี้ถือเป็นกระบวนการสำคัญที่ไวรัสใช้หลบหนีจากการกำจัดเชื้อของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้โดยเฉพาะกลุ่มไวรัสดื้อยา จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่าสามารถตรวจพบ HBV DNA ได้ในกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยว (peripheral blood mononuclear cells)^(44, 45) และ

พบว่าปริมาณ HBV DNA ที่อยู่ในเซลล์เม็ดเลือดขาวเหล่านี้ยังมีความสอดคล้องกับปริมาณ HBV DNA ที่อยู่ในกระแสเลือดอีกด้วย^(46, 47) การตรวจหา HBV DNA ที่อยู่ในเซลล์เม็ดเลือดขาวนี้อาจสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ในการตรวจวินิจฉัยและการตรวจติดตามการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในอนาคตได้ โดยเฉพาะกลุ่มไวรัสดื้อยาที่อาจแฝงตัวอยู่ในกลุ่มเซลล์เม็ดเลือดขาวเหล่านี้

บทสรุป

การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ HBV ทางห้องปฏิบัติการเป็นเครื่องมือที่จำเป็นในการตรวจคัดกรองและบริหารจัดการผู้ติดเชื้อ HBV ดังนั้น ความถูกต้องของผลการตรวจและการแปลผลการตรวจจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญอย่างมาก ความรู้และเทคโนโลยีที่เปลี่ยนแปลงก้าวหน้าไปในแต่ละวัน การตรวจวินิจฉัยด้วยเทคนิคใหม่ๆ และใช้ตัวบ่งชี้หลายชนิดร่วมกันช่วยให้การวินิจฉัยการติดเชื้อและการตอบสนองต่อการรักษาของผู้ป่วยถูกต้องยิ่งขึ้น ทั้งนี้รวมถึงการพิจารณาร่วมกับข้อมูลทางคลินิกด้วย เช่น อายุ เพศ พฤติกรรมเสี่ยง ประวัติทางครอบครัว อีกทั้งห้องปฏิบัติการควรเข้าร่วมโครงการทดสอบศักยภาพของห้องปฏิบัติการเพื่อประเมินความสามารถ ความน่าเชื่อถือและความถูกต้องของผลการตรวจและปรับปรุงคุณภาพอย่างต่อเนื่อง เพื่อเป็นประโยชน์สูงสุดต่อผู้ติดเชื้อให้สามารถดำรงชีวิตได้ยาวนานอย่างเป็นปกติสุข

เอกสารอ้างอิง

1. Juszczak J. Clinical course and consequences of hepatitis B infection. Vaccine 2000; 18 Suppl 1: S23–5.

2. World Health Organization (WHO). Hepatitis B: Fact sheet (Reviewed July 2017) 2017 [Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>. (cited 2019 Feb 10)]
3. Leroi C, Adam P, Khamduang W, *et al*. Prevalence of chronic hepatitis B virus infection in Thailand: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis* 2016; 51: 36-43.
4. Chongsrisawat V, Theamboonlers A, Khwanjaipanich S, *et al*. Humoral immune response following hepatitis B vaccine booster dose in children with and without prior immunization. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2000; 31: 623-6.
5. Jutavijittum P, Jiviriyawat Y, Yousukh A, *et al*. Evaluation of a hepatitis B vaccination program in Chiang Mai, Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2005; 36: 207-12.
6. Poovorawan Y, Theamboonlers A, Vimolket T, *et al*. Impact of hepatitis B immunisation as part of the EPI. *Vaccine* 2000; 19: 943-9.
7. Posuwan N, Wanlapakorn N, Sa-Nguanmoo P, *et al*. The Success of a Universal Hepatitis B Immunization Program as Part of Thailand's EPI after 22 Years' Implementation. *PLoS One* 2016; 11: e0150499.
8. Khamduang W, Yaaupala W, Puwaruengpat P, *et al*. Serologic characteristics of hepatitis B virus among hill-tribe children in Omkoi district, Chiangmai province, Thailand. *J Infect Dev Ctries* 2019; 13: 169-73.
9. Ishida T, Takao S, Settheetham-Ishida W, *et al*. Prevalence of hepatitis B and C virus infection in rural ethnic populations of Northern Thailand. *J Clin Virol* 2002; 24: 31-5.
10. Louisirirochanakul S, Myint KS, Srimee B, *et al*. The prevalence of viral hepatitis among the mong people of northern Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2002; 33: 837-44.
11. Kramvis A, Kew M, Francois G. Hepatitis B virus genotypes. *Vaccine* 2005; 23: 2409-23.
12. Kumar A, Kumar SI, Pandey R, *et al*. Hepatitis B virus genotype A is more often associated with severe liver disease in northern India than is genotype D. *Indian J Gastroenterol* 2005; 24: 19-22.
13. Mayerat C, Mantegani A, Frei PC. Does hepatitis B virus (HBV) genotype influence the clinical outcome of HBV infection? *J Viral Hepat* 1999; 6: 299-304.
14. Sanchez-Tapias JM, Costa J, Mas A, *et al*. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology* 2002; 123: 1848-56.

15. Livingston SE, Simonetti JP, McMahon BJ, *et al.* Hepatitis B virus genotypes in Alaska Native people with hepatocellular carcinoma: preponderance of genotype F. *J Infect Dis* 2007; 195: 5-11.
16. Tangkijvanich P, Mahachai V, Komolmit P, *et al.* Clinical and virological differences between hepatitis B virus genotypes B and C: a case-control study. *J Med Assoc Thai* 2004; 87 Suppl 2: S223-7.
17. Duong TN, Horiike N, Michitaka K, *et al.* Comparison of genotypes C and D of the hepatitis B virus in Japan: a clinical and molecular biological study. *J Med Virol* 2004; 72: 551-7.
18. Kao JH, Chen PJ, Lai MY, *et al.* Hepatitis B genotypes correlate with clinical outcomes in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2000; 118: 554-9.
19. Seeger C, Zoulim F, Mason WS. Hepadnaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields VIROLOGY*. 2. Fifth ed. Philadelphia: Lippincotte Williams & Wilkins; 2007. p. 2977-3030.
20. Samal J, Kandpal M, Vivekanandan P. Molecular mechanisms underlying occult hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25: 142-63.
21. Torbenson M, Thomas DL. Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 479-86.
22. Altfeld M, Rockstroh JK, Addo M, *et al.* Reactivation of hepatitis B in a long-term anti-HBs-positive patient with AIDS following lamivudine withdrawal. *J Hepatol* 1998; 29: 306-9.
23. Chazouilleres O, Mamish D, Kim M, *et al.* "Occult" hepatitis B virus as source of infection in liver transplant recipients. *Lancet* 1994; 343: 142-6.
24. Khamduang W, Ngo-Giang-Huong N, Gaudy-Graffin C, *et al.* Prevalence, risk factors, and impact of isolated antibody to hepatitis B core antigen and occult hepatitis B virus infection in HIV-1-infected pregnant women. *Clin Infect Dis* 2013; 56: 1704-12.
25. Mahtab M-A, Akbar SF. HBeAg negative chronic Hepatitis B: An overview. *Hep B Annual* 2009; 6: 131-40.
26. Krajden M, McNabb G, Petric M. The laboratory diagnosis of hepatitis B virus. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2005; 16: 65-72.
27. WHO guidelines on hepatitis B and C testing. Geneva: World Health Organization; 2017.
28. Terrault NA, Lok ASF, McMahon BJ, *et al.* Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance. *Hepatology* 2018; 67: 1560-99.
29. Lee JM, Ahn SH. Quantification of HBsAg: basic virology for clinical practice. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 283-9.
30. Chan HL, Wong VW, Tse AM, *et al.* Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1462-8.

31. Poovorawan Y, Chongsrisawat V, Theamboonlers A, *et al.* Evidence of protection against clinical and chronic hepatitis B infection 20 years after infant vaccination in a high endemicity region. *J Viral Hepat* 2010; 18: 369-75.
32. Lada O, Benhamou Y, Poynard T, *et al.* Coexistence of hepatitis B surface antigen (HBs Ag) and anti-HBs antibodies in chronic hepatitis B virus carriers: influence of “a” determinant variants. *J Virol* 2006; 80: 2968-75.
33. Liu Y, Zhang L, Zhou JY, *et al.* Clinical and virological characteristics of chronic hepatitis B patients with coexistence of HBsAg and anti-HBs. *PLoS One* 2016; 11: e0146980.
34. Khamduang W, Gaudy-Graffin C, Ngo-Giang-Huong N, *et al.* Analysis of residual perinatal transmission of hepatitis B virus (HBV) and of genetic variants in human immunodeficiency virus and HBV co-infected women and their offspring. *J Clin Virol* 2013; 58: 415-21.
35. Rokuhara A, Sun X, Tanaka E, *et al.* Hepatitis B virus core and core-related antigen quantitation in Chinese patients with chronic genotype B and C hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1726-30.
36. Rokuhara A, Tanaka E, Matsumoto A, *et al.* Clinical evaluation of a new enzyme immunoassay for hepatitis B virus core-related antigen; a marker distinct from viral DNA for monitoring lamivudine treatment. *J Viral Hepat* 2003; 10: 324-30.
37. Wong DK, Seto WK, Cheung KS, *et al.* Hepatitis B virus core-related antigen as a surrogate marker for covalently closed circular DNA. *Liver Int* 2017; 37: 995-1001.
38. Wong DK, Tanaka Y, Lai CL, *et al.* Hepatitis B virus core-related antigens as markers for monitoring chronic hepatitis B infection. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 3942-7.
39. Suzuki F, Miyakoshi H, Kobayashi M, *et al.* Correlation between serum hepatitis B virus core-related antigen and intrahepatic covalently closed circular DNA in chronic hepatitis B patients. *J Med Virol* 2009; 81: 27-33.
40. Seto WK, Wong DK, Fung J, *et al.* Linearized hepatitis B surface antigen and hepatitis B core-related antigen in the natural history of chronic hepatitis B. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20: 1173-80.
41. Maasoumy B, Wiegand SB, Jaroszewicz J, *et al.* Hepatitis B core-related antigen (HBcrAg) levels in the natural history of hepatitis B virus infection in a large European cohort predominantly infected with genotypes A and D. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21: 606.e1-10.
42. Mason A, Wick M, White H, *et al.* Hepatitis B virus replication in diverse cell types during chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1993; 18: 781-9.

43. Murakami Y, Minami M, Daimon Y, *et al.* Hepatitis B virus DNA in liver, serum, and peripheral blood mononuclear cells after the clearance of serum hepatitis B virus surface antigen. *J Med Virol* 2004; 72: 203-14.
44. Pontisso P, Morsica G, Ruvoletto MG, *et al.* Hepatitis B virus binds to peripheral blood mononuclear cells via the pre S1 protein. *J Hepatol* 1991; 12: 203-6.
45. Ke CZ, Chen Y, Gong ZJ, *et al.* Dynamic changes of HBV DNA in serum and peripheral blood mononuclear cells of chronic hepatitis patients after lamivudine treatment. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4061-3.
46. Lu L, Zhang HY, Yueng YH, *et al.* Intracellular levels of hepatitis B virus DNA and pregenomic RNA in peripheral blood mononuclear cells of chronically infected patients. *J Viral Hepat* 2009; 16: 104-12.
47. Zhang X, Liu L, Xu W, *et al.* Intracellular levels of hepatitis B virus DNA and mutational patterns of the polymerase gene of hepatitis B virus in peripheral blood mononuclear cells of patients with lamivudine or telbivudine resistance. *Exp Ther Med* 2015; 9: 885-90.
48. Kwon H, Lok AS. Hepatitis B therapy. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 8: 275-84.
49. Liang TJ. Hepatitis B: the virus and disease. *Hepatology* 2009; 49: S13-21.