บทความฟื้นวิชา

ชีววิทยาของไวรัสตับอักเสบบี: ทบทวนวรรณกรรม

The biology of hepatitis B virus: a review

ดวงนภา อินทรสงเคราะห์[1] อุมาพร ลิโมทัย[2] วชิรญาย์ อธิมัง[3] และ ต้องใจ แสวงทรัพย์[1]

[1]ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย [2]คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย [3]คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

บทนำ

โรคตับอักเสบที่มีสาเหตุเกิดจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบพบอัตราการเสียชีวิตสูงขึ้นเมื่อเทียบกับอัตราการเสียชีวิตจากการติดเชื้อเอชไอวี (human Immunodeficiency virus, HIV) วัณโรค (tuberculosis, TB) และมาลาเรีย (malaria) ที่มีอัตราการเสียชีวิตลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี (hepatitis B virus, HBV) และไวรัสตับอักเสบ ซี (hepatitis C virus, HCV) เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดอัตราการตาย (mortality rate) มากกว่า 90% ในกลุ่มที่พบการติดเชื้อ ในปี ค.ศ. 2015 องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้รายงานถึงความชุกของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี เรื้อรัง (chronic infection) ในประชากรทั่วโลก พบว่ามีประมาณ 257 ล้านคน และมีอัตราเสียชีวิตสูงถึง 9 แสนรายต่อปี จากโรคตับแข็ง (cirrhosis) และมะเร็งตับ (liver cancer) ที่มีสาเหตุจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี โดยในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (South East Asia Region, SEAR) มีรายงานพบผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ชนิดเรื้อรังสูงถึง 40 ล้านคน และมีผู้เสียชีวิตประมาณ 285,000 ราย[1] ดังนั้น องค์การอนามัยโลกจึงกำหนดให้โรคตับอักเสบจากการติดเชื้อไวรัสไวรัสตับอักเสบ บี เป็นปัญหาด้านสาธารณสุขที่สำคัญลำดับต้นๆ ที่ต้องแก้ไขอย่างเร่งด่วน อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี อย่างกว้างขวางทั้งด้านการรักษาและการป้องกัน เช่น การพัฒนายาต้านไวรัส (antiviral drug) และการฉีดวัคซีนป้องกันไวรัสตับอักเสบ บี ในกลุ่มทารกแรกเกิด แต่ก็พบว่าอัตราการติดเชื้อยังคงสูงเช่นเดิม โดยเฉพาะในประเทศทางแถบทวีปเอเชีย ทวีปแอฟริกาและทวีปอเมริกาใต้ ผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี นั้น มีทั้งกลุ่มที่ไม่แสดงอาการ และมีอาการทางคลินิกจนถึงขั้นร้ายแรงคือการเกิดโรคมะเร็งตับ โดยพบว่ากลุ่มผู้ป่วยเรื้อรังนั้นมีหลายปัจจัยที่ทำให้การดำเนินของโรคนำไปสู่การเกิดมะเร็งตับได้ ดังนั้น จึงทำให้นักวิจัยด้านวิทยาศาสตร์ทางการแพทย์มีความสนใจที่จะทำการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี มากขึ้น ได้แก่ ลักษณะพันธุกรรมของเชื้อไวรัส การดำเนินของโรค ระบบภูมิคุ้มกันและการตอบสนองภายหลังการติดเชื้อของผู้ป่วย อาการทางคลินิกที่มีความสัมพันธ์กับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี และอาจจะรวมถึงปัจจัยทางด้านสภาวะแวดล้อมหรือปัจจัยอื่นด้วย[2,3] บทความฟื้นวิชานี้จึงมีวัตถุประสงค์ คือ เพื่อทบทวนองค์ความรู้และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี สำหรับใช้เป็นแนวทางในการศึกษาวิจัยและประยุกต์ใช้ในงานประจำวัน อีกทั้งยังสามารถนำความรู้นี้นำไปต่อยอดงานวิจัยเพื่อลดอัตราการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี โดยเฉพาะการศึกษาในกลุ่มประชากรไทยให้มากขึ้น

สัณฐานวิทยา

เชื้อไวรัสตับอักเสบ บี (hepatitis B virus, HBV) เป็นที่รู้จักกันดีตั้งแต่ปี ค.ศ. 1940 โดยพบเป็นสาเหตุของการเกิดตับอักเสบ (hepatitis) และมักพบมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ภายหลังจากการได้รับเลือด (transfusion-transmitted hepatitis B infection) จึงถูกตั้งชื่อให้เป็น ไวรัสตับอักเสบ บี เพื่อแยกออกจากเชื้อไวรัสตับอักเสบ เอ ซึ่งติดต่อได้โดยการรับประทานอาหารและน้ำดื่มที่ปนเปื้อนเชื้อจากอุจจาระคนและสัตว์ (fecal oral route) และไม่พบการติดเชื้อแบบเรื้อรัง[4] ต่อมาในช่วงปี ค.ศ. 1960 Blumberg และคณะ ได้ค้นพบโปรตีนในน้ำเหลืองของผู้ป่วยลิวคีเมียชาวอะบอริจิ้น (aborigine) ในทวีปออสเตรเลีย[5] ที่รักษาโดยการให้เลือด และเลือดที่นำมาให้กับผู้ป่วยนั้นมีการปนเปื้อนของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี จึงตั้งชื่อโปรตีนที่ค้นพบนี้ว่า Australia antigen โปรตีนที่ถูกค้นพบสามารถมองเห็นได้โดยการส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเป็นอนุภาคอิสระขนาดเล็กมีทั้งลักษณะเป็นแท่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 22 นาโนเมตร และลักษณะกลมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 25 นาโนเมตร ปัจจุบันโปรตีนนี้รู้จักในชื่อ hepatitis B surface antigen (HBsAg) สำหรับตัวเชื้อหรืออนุภาคที่สมบูรณ์ของไวรัสเรียกว่า dane particle มีรูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 42 นาโนเมตร ประกอบด้วย ผิวเปลือกนอก (outer envelope) มี glycoprotein ที่เรียกว่า HBsAg แทรกอยู่ใน lipid bilayer โดยจะพันรอบ Icosahedral nucleocapsid หรือ Core ซึ่งมีขนาด 27 นาโนเมตร core หรือ แคปซิดของไวรัสประกอบด้วย Hepatitis B core antigen (HBcAg) ซึ่งเป็น phosphoprotein ที่ห่อหุ้มจีโนมของไวรัสไว้ โดยจีโนมของไวรัสมีลักษณะเป็นวงกลมสายคู่และมี endogenous

DNA polymerase สำหรับการเพิ่มจำนวนจีโนมของไวรัส[6] dane particle สามารถพบได้ในน้ำเหลืองในปริมาณที่น้อยกว่า HBsAg ที่มีความสามารถในการแพร่เชื้อให้กับผู้อื่นได้

Hepatitis B virus ถูกจัดอยู่ใน genus *Orthohepadnavirus,* family *Hepadnaviridae*[7] ซึ่งมีลักษณะสารพันธุกรรมเป็นแบบ partially double-stranded, relax circular DNA (rcDNA) มีขนาดความยาวของจีโนมประมาณ 3,200 นิวคลีโอไทด์ (3.2 kb) ถือว่าเป็น DNA virus ที่มีขนาดเล็กที่สุด ประกอบด้วย 4 open reading frames (ORFs) ที่ซ้อนทับกันอยู่ ได้แก่ surface (S), core (C) polymerase (P) และ X region[8] ซึ่งแต่ละ ORFs สามารถถอดรหัสเป็นโปรตีนต่างๆ (Figure 1)[9] ดังนี้

Pre-S-S และ S gene อยู่บริเวณส่วนที่ถอดรหัสเป็นโปรตีนส่วนเปลือก ได้แก่ large (L-), middle (M-) และ small (S-) surface antigen หรือ HBsAg ซึ่งเป็นโปรตีนที่พบได้ค่อนข้างมาก โปรตีน L (Pre-S1) จะทำหน้าที่จับกับ receptor ของไวรัสเพื่อเข้าสู่เซลล์เป้าหมาย ส่วนโปรตีน M (Pre-S2) ยังไม่พบหน้าที่ชัดเจน โปรตีนที่สร้างจาก S ORF นี้จะมีส่วนของ antigenic determinant ซึ่งสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ดีมากในปัจจุบันจึงนิยมนำมาผลิตเป็นวัคซีน

Pre-C-C region จะมีส่วนของ precore และ core regions ทำหน้าที่ในการถอดรหัสเป็น viral nucleocapsid HBcAg และ non-structurally secreted protein หรือ hepatitis B e antigen (HBeAg) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการถอดรหัสที่เริ่มจากส่วน core หรือส่วน precore ตามลำดับ

Polymerase gene จะถอดรหัสเป็นส่วนของเอนไซม์ โดยมีส่วนที่ซ้อนทับกับ ORF อื่นๆ ทำให้สามารถสร้างกรดอะมิโนได้หลายชนิด และทำหน้าที่ได้หลากหลาย ซึ่งส่วนปลายด้าน amino terminus จะมี domain ที่ทำหน้าที่เป็น primer ในการสร้าง DNA สายใหม่จาก RNA pre-genomic genome intermediate และยังมี domain ที่ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ reverse transcriptase เพื่อสร้างเชื้อไวรัสตัวใหม่อีกด้วย

X gene จะถูกถอดรหัสเป็น small regulatory X protein ปัจจุบันยังไม่ทราบหน้าที่ที่ชัดเจนซึ่งคาดว่าอาจจะเป็นโปรตีนที่มีบทบาทสำคัญในการเพิ่มจำนวนของเชื้อ (viral replication) และการแพร่กระจายของเชื้อ นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็งตับหลังการติดเชื้อแบบเรื้อรังอีกด้วย

นอกจากนี้ จีโนมของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี มีตำแหน่งเริ่มของการสร้างโปรตีนหลายตำแหน่งจึงมีการสร้างโปรตีนที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ enhancer (Enh1 และ Enh2), polyadenylation, encapsidation และ direct repeating (หรือ replication) regions (DR1 และ DR2) โดยโปรตีนเหล่านี้จะทำหน้าที่ในกระบวนการเพิ่มจำนวนของเชื้อและการแสดงออกของยีนในเซลล์ตับ[9,10,11]

วงจรชีวิตของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี

กระบวนการเข้าสู่เซลล์ตับ (hepatocyte) ของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี เริ่มจากเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี จะจับกับ human sodium taurocholate co-transporting polypeptide receptor (hNTCP/SLC10A1) ซึ่งเป็น receptor จำเพาะที่อยู่บนผิวเซลล์ตับ โดยทั่วไป hNTCP จะทำหน้าที่ในการขนส่งเกลือน้ำดีเข้าออกเซลล์ตับ (bile salt transportation) และพบอยู่บนผิวของเซลล์ตับเท่านั้น[12] จากนั้นเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี จะเข้าสู่เซลล์ตับผ่านกระบวนการ endocytosis[13-15] เมื่อเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี สามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ตับแล้ว จีโนมของเชื้อ (double stranded rcDNA) จะส่งเข้าสู่นิวเคลียสผ่าน nuclear pore complex และ

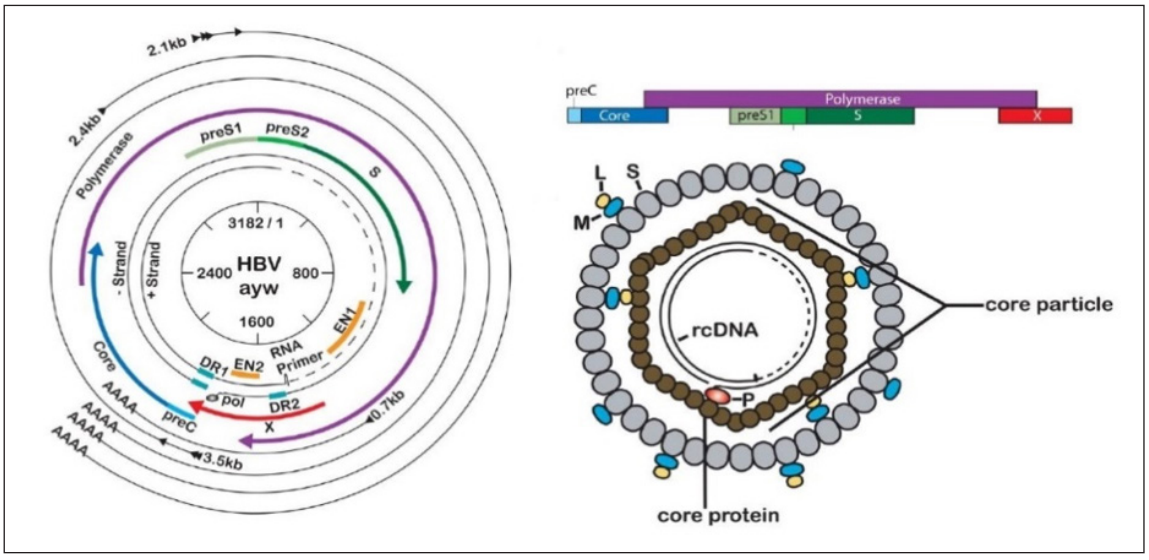


Figure 1 Molecular biology of hepatitis B virus

จะถูกเปลี่ยนเป็น covalently closed circular DNA (cccDNA) โดยใช้เอนไซม์และ factor ต่างๆ ในกระบวนการซ่อมแซม DNA ของเซลล์โฮสต์[16] cccDNA ที่สร้างขึ้นจะทำหน้าที่เป็น DNA แม่แบบ (template) ในการสร้างสาย RNA ด้วยเอนไซม์ RNA polymerase II ซึ่งจะเริ่มการถอดรหัสตามตำแหน่งการเริ่มต้นของ promoter สาย RNA ที่สร้างขึ้นประกอบด้วย PreC RNA, pgRNA, PreS1 RNA, PreS2/S RNA และ X RNA[17] โดยแต่ละสายจะทำหน้าที่ในการถอดรหัสเป็นโปรตีนโครงสร้างที่สำคัญของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี เช่น HBsAg, HBeAg, HBcAg, และ HBx เป็นต้น ส่วน pre-genomic RNA (pgRNA) จะถูกส่งออกไปภายนอกนิวเคลียสเพื่อทำหน้าที่เป็นแม่แบบสำหรับการสร้าง DNA สายคู่ โดยใช้ viral polymerase และ core protein เกิดเป็น replication complex ที่มี HBV DNA ที่ห่อหุ้มด้วย capsid จากนั้นจะเคลื่อนเข้าสู่ endoplasmic reticulum (ER) เพื่อรวมกับโปรตีนโครงสร้างส่วนเปลือก (HBV surface protein) ประกอบขึ้นเป็นเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ที่สมบูรณ์ (HBV virion) พร้อมออกสู่นอกเซลล์[18-20] (Figure 2) สำหรับ cccDNA ที่สร้างขึ้นระหว่างการเพิ่มจำนวนของเชื้อไวรัสสามารถคงอยู่ในนิวเคลียสของเซลล์ตับได้ยาวนาน และจากการศึกษาการคงอยู่ของ cccDNA ในเซลล์ HepG2 ที่ติดเชื้อตับอักเสบ บี พบว่าปริมาณของ cccDNA ในเซลล์ตับมีประมาณ 1-9 copies ต่อเซลล์ และพบครึ่งชีวิต (half-life) ประมาณ 40 วัน[21] แต่สำหรับผู้ป่วยที่ติดเชื้อตับอักเสบ บี นั้น จะอยู่ได้นานถึง 9 เดือน[22] นอกจากนี้ในระหว่างขั้นตอนการเพิ่มจำนวนไวรัสในเซลล์ rcDNA ที่ถูกสร้างขึ้นมานั้นยังสามารถกลับเข้าสู่นิวเคลียสอีกครั้งเพื่อเพิ่มจำนวนของ cccDNA ภายในนิวเคลียสอีกด้วย

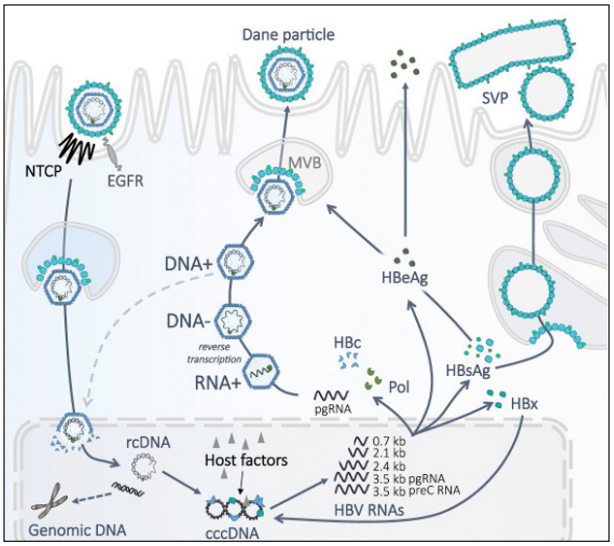


Figure 2 The life cycle of Hepatitis B virus in liver cell

การจำแนกสายพันธุ์และระบาดวิทยาของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี

ไวรัสตับอักเสบ บี จัดอยู่ในตระกูล *Hepadnaviridae* และ genus Orthohepadnavirus เนื่องจากเป็นเชื้อก่อโรคตับอักเสบ เริ่มแรกการจำแนกของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ตาม antigenic determinant ของ HBsAg ซึ่งเป็น group-specific determinant โดยการกำหนด subtype นั้นจะพิจารณาตำแหน่งของกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 122 และ 160 ซึ่งหากพบว่ากรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 122 เป็น Lysine จะเป็น subtype ชนิด d และหากเป็น Arginine จะเป็น subtype ชนิด y ส่วนกรดอะมิโนที่ตำแหน่ง 160 หากพบเป็น Lysine จะเป็น subtype ชนิด w และหากเป็น Arginine จะเป็น subtype ชนิด r ดังนั้น serological subtype ที่พบหลักๆ มีดังนี้ adrv (adrq+, adrq-), adw (adw2), ayr และ ayw (ayw1-4)[23] ในปัจจุบัน ยังสามารถจำแนกจีโนไทป์ของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ได้โดยอาศัยการลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวเชื้อทั้งหมด (whole genome) หรือจะจำแนกโดยใช้โปรตีนในส่วนของ pre-S1 gene ซึ่งแต่ละจีโนไทป์จะต้องมีความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อทั้งหมดมากกว่าหรือเท่ากับ 8% หรือมีความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ pre-S1 gene มากกว่าหรือเท่ากับ 4-8%[24] อัตราการกลายพันธุ์ของเชื้อนั้นขึ้นอยู่กับพื้นที่ โดยเฉลี่ยแล้วพบประมาณ 2 x 10^{-5}- 10^{-6} nucleotide substitutions/site/year[25] ปัจจุบันสามารถแบ่งออกเป็น 10 จีโนไทป์ ได้แก่ จีโนไทป์ A ถึง J[26,27] โดยจีโนไทป์ I และจีโนไทป์ J นั้นเป็นจีโนไทป์ใหม่ที่เพิ่งค้นพบจากการแยกเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี จากผู้ติดเชื้อในประเทศเวียดนามและญี่ปุ่นตามลำดับ[28,29] ระบาดวิทยาของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี มีการกระจายตัวแตกต่างกันในแต่ละภูมิภาคของโลก ซึ่งจีโนไทป์และซีโรไทป์มีความสอดคล้องกัน[30] (Figure 3) โดยพบว่าประเทศในยุโรปส่วนใหญ่จะพบการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี จีโนไทป์ A และ D ในทวีปเอเชียส่วนใหญ่พบการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี เป็น จีโนไทป์ C โดยเฉพาะประเทศในแถบตะวันออกและตะวันออกเฉียงใต้ ส่วนประเทศจีน ประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และออสเตรเลีย พบเป็นจีโนไทป์ B และ C ยกเว้นประเทศฟิลิปปินส์ที่พบการติดเชื้อจีโนไทป์ D เป็นส่วนใหญ่ การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี จีโนไทป์ E จะพบเฉพาะในแอฟริกาใต้ ขณะที่ทางตะวันออกของแอฟริกาจะพบการติดเชื้อจีโนไทป์ A ส่วนละตินอเมริกาพบการติดเชื้อ จีโนไทป์ F และ H ซึ่งแตกต่างจากทางตอนเหนือของอเมริกาที่พบการติดเชื้อจีโนไทป์ A B C และ D[31-33] ส่วนไวรัสตับอักเสบ บี จีโนไทป์ G นั้นไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กับพื้นที่โดยจะพบมากในประเทศสหรัฐอเมริกาและประเทศฝรั่งเศส[26]

Genotypes	Serotypes	Subtypes	Geographic location
A	adw	A1	Sub-Saharan Africa and India
		A2	Northern Europe and India
		A3	Western Africa
B	adw, ayw	B1	Japan
		B2–5	East Asia, Taiwan, China, Indonesia, Vietnam, and the Philippines
		B6	Alaska, Northern Canada, and Greenland
C	adw, ayr, adr	C1–3	Taiwan, China, Korea, and Southeast Asia
		C4	Australia
		C5	The Philippines and Vietnam
		C6–11	Indonesia
D	ayw	D1–6	Africa, Europe, Mediterranean countries, India, and Indonesia
E	ayw		Restricted to West Africa
F	adw	F1–4	Central and South America
G	adw		France, Germany, and the United States
H	adw		Central America
I	adw		Vietnam and Laos
J			Japan

Figure 3 The geographic distribution of Hepatitis B virus genotypes

ในปี ค.ศ. 2015 พบความชุกของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ทั่วโลกประมาณ 3.5% สำหรับในกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนแรกเกิดและพบว่าอัตราการติดเชื้อแบบเรื้อรังในกลุ่มนี้ยังคงมีสัดส่วนที่สูง พื้นที่ที่พบการติดเชื้อสูงที่สุดคือประเทศในแถบแอฟริกาซึ่งพบประมาณ 6.1% และประเทศแถบมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันตกที่พบประมาณ 6.2%[33] นอกจากนี้ยังมีการใช้ความชุกทางด้านซีโรโลยี (HBsAg) เป็นเกณฑ์ในจัดกลุ่มของการติดเชื้อตามพื้นที่ต่างๆ ประกอบด้วย กลุ่มที่มีการติดเชื้อระดับสูง (high prevalence) จะต้องพบความชุกของ HBsAg มากกว่า 8% กลุ่มที่มีการติดเชื้อระดับปานกลาง (intermediate prevalence) จะต้องพบความชุกประมาณ 2-7% และกลุ่มที่มีการติดเชื้อระดับต่ำ (low prevalence) ต้องพบความชุกน้อยกว่า 2%[34,35] โดยในกลุ่มที่มีความชุกระดับสูงมักพบเป็นการติดเชื้อตั้งแต่แรกเกิดแบบติดจากแม่สู่ลูก (vertical transmission) ซึ่งจะพบอัตราการติดเชื้อแบบเรื้อรังค่อนข้างสูง แต่ภายหลังมีนโยบายการฉีดวัคซีนป้องกันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ให้กับเด็กแรกเกิด ทำให้พบว่าอัตราการติดเชื้อลดลง[36] สำหรับพื้นที่ความเสี่ยงปานกลางพบได้ทางตอนเหนือของแอฟริกา ทางตอนใต้ของยุโรป ละตินอเมริกา และเอเชียใต้ ซึ่งมีสาเหตุการติดเชื้อจากการติดเชื้อตั้งแต่กำเนิดและการติดเชื้อจากการสัมผัสผู้ติดเชื้อหรือการใช้ของร่วมกับผู้ติดเชื้อ (horizontal transmission) สำหรับพื้นที่ความเสี่ยงต่ำ ได้แก่ ประเทศออสเตรเลีย เอเชีย ทางตอนเหนือและตอนใต้ของประเทศแถบยุโรป ญี่ปุ่น อเมริกาเหนือ และอเมริกาใต้บางประเทศ โดยพบการติดเชื้อในผู้ใหญ่มากกว่าในเด็กผ่านทางการมีเพศสัมพันธ์ที่ไม่ป้องกัน การใช้เข็มฉีดยาร่วมกันและการสัมผัสสารคัดหลั่งจากผู้ติดเชื้อ เป็นต้น นอกจากนี้การย้ายถิ่นฐานของประชากรก็มีผลต่อการรายงานความชุกของการติดเชื้อของประชากรในประเทศนั้นๆ ด้วย เนื่องจากไม่ได้สะท้อนความชุกของการติดเชื้อของประชากรในประเทศนั้นอย่างแท้จริง[37,38]

ความชุกของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ในประเทศไทย ก่อนการดำเนินนโยบายการฉีดวัคซีนเพื่อเสริมสร้างภูมิคุ้มกันโรคไวรัสตับอักเสบ บี (expanded program on immunization; EPI) ในทารกแรกเกิดมีความชุกของการติดเชื้อ 5-10%[39] แต่หลังจากดำเนินนโยบายดังกล่าวแล้วพบว่ากลุ่มประชากรที่เกิดหลังปี ค.ศ. 1992 มีอัตราการติดเชื้อที่ต่ำลง โดยในปี ค.ศ. 2014 ผลการสำรวจอัตราการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี (sero-survey) ในกลุ่มประชากรที่ได้รับการฉีดวัคซีนตั้งแต่แรกเกิดมีอัตราการติดเชื้อเพียง 0.6% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรที่เกิดก่อนการดำเนินการนโยบายพบอัตราการติดเชื้อและเป็นพาหะ (HBV carrier) สูงถึง 4.5% และ 3.48% ของประชากรทั้งหมด[40] สำหรับซับจีโนไทป์อื่นๆ ที่พบในประเทศไทย จะพบเฉพาะในกลุ่มประชากรที่ย้ายถิ่นหรือกลุ่มต่างด้าว โดยจะพบการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งของ antigenic determinant ซึ่งทำให้นำไปสู่การกลายพันธุ์เพื่อหลบเลี่ยงวัคซีน (vaccine-induced mutation) ในกลุ่มประชากรนี้อีกด้วย[41]

การแพร่เชื้อไวรัสตับอักเสบ บี

เชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ที่พบในเลือดและสารคัดหลั่งต่างๆ ของผู้ติดเชื้อ จะสามารถติดต่อสู่บุคคลอื่นผ่านการสัมผัสบริเวณผิวหนังที่เกิดบาดแผล เยื่อบุผิวหนัง สารคัดหลั่ง การมีเพศสัมพันธ์และการใช้ของมีคมร่วมกับผู้ที่ติดเชื้อ รวมถึงการรับเลือดที่มีการปนเปื้อนเชื้อจากผู้ป่วยหรือผู้ที่เป็นพาหะ[42] โดยทั่วไปอนุภาคสมบูรณ์ของเชื้อ ไวรัสตับอักเสบ บี จะตรวจพบมากที่สุดเลือดในปริมาณ 10^7 - 10^9 virion/mL ทำให้มีโอกาสติดเชื้อได้ค่อนข้างสูงจากการ

รับเลือดหรือการสัมผัสบาดแผลและเลือดของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ ในสารคัดหลั่งอื่นๆ ของผู้ป่วย เช่น น้ำอสุจิ น้ำหลั่งจากช่องคลอด น้ำลาย น้ำตา และน้ำดี ก็สามารถตรวจพบเชื้อและแพร่สู่บุคคลอื่นได้เช่นกัน ส่วนในปัสสาวะ อุจจาระ น้ำล้างปอด เสมหะ และเหงื่อ มีปริมาณเชื้อค่อนข้างต่ำยังไม่พบว่าทำให้เกิดการติดเชื้อ สำหรับผู้ป่วยที่ตรวจพบ HBsAg ในตัวอย่างเลือดทำให้สามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ไปสู่ผู้อื่นได้ และหากมีการตรวจพบ HBeAg ร่วมด้วย ก็จะทำให้เพิ่มโอกาสหรือสามารถถ่ายทอดเชื้อสู่ผู้อื่นได้มากยิ่งขึ้น[43-45] นอกจากนี้เชื้อยังสามารถมีชีวิตอยู่บนพื้นผิวในอุณหภูมิห้องได้อย่างน้อย 7 วัน แม้ว่าจะไม่พบคราบเลือดบนพื้นผิวนั้นก็ตาม[46]

การติดเชื้อไวรัสตับ อักเสบ บี ในทารกและเด็กเล็กสามารถติดต่อได้ 2 ทาง คือ การติดต่อจากมารดาสู่ทารก (perinatal transmission) ผ่านเนื้อเยื่อมดลูก (intrauterine tissue) และเลือดของมารดาขณะตั้งครรภ์ และการติดต่อผ่านทางการสัมผัสเชื้อที่ปนเปื้อนบนพื้นผิวของเครื่องใช้ภายในบ้าน โดยพบว่าการติดเชื้อจากมารดาขณะตั้งครรภ์จะทำให้ทารกที่ติดเชื้อตั้งแต่กำเนิดมีโอกาสที่การดำเนินโรคจะกลายไปเป็นการติดเชื้อแบบเรื้อรังสูงถึง 90% และมีโอกาสการเสียชีวิตจากภาวะตับวายและมะเร็งตับได้ประมาณ 25%[47] กลุ่มเด็กที่ติดเชื้อเมื่ออายุ 1-5 ปี พบว่ามีโอกาสติดเชื้อแบบเรื้อรังประมาณ 25-30% ส่วนในกลุ่มวัยรุ่นจนถึงวัยผู้ใหญ่จะมีความเสี่ยงต่ำกว่าซึ่งพบเพียง 5% เท่านั้น[48] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับกรณี ทารกติดเชื้อจากมารดาผ่านทางการให้นม เนื่องจากเคยมีการตรวจพบ HBsAg และ HBV DNA ในน้ำนมมารดา โดยเป็นการศึกษาเปรียบเทียบความเสี่ยงของการติดเชื้อในกลุ่มมารดาที่ติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการ (carrier) และให้นมบุตรกับไม่ให้นมบุตร พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน[49] แต่ถึงอย่างไรการติดเชื้ออาจจะเกิดขึ้นได้หากมีการสัมผัสกับบาดแผลที่ผิวหนังหรือบริเวณเต้านมของมารดาที่เป็น HBV carrier[50] ดังนั้นจึงมีการนำ hepatitis B immune globulin หรือ HBIG ซึ่งเป็น Immunoglobulin ที่แยกได้จากพลาสมาของผู้บริจาคโลหิตที่มีระดับของภูมิต้านทานต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี (anti-HBs) สูงมาใช้ร่วมกับการใช้วัคซีน (combination immunoprophylaxis) ในเด็กทารกแรกคลอดที่มารดามีผลการตรวจ HBsAg เป็นบวก เพื่อป้องกันการติดเชื้อจากแม่สู่ลูก จากการศึกษาผลของการให้ combination immunoprophylaxis พบว่าอัตราการติดเชื้อในทารกกลุ่มนี้ลดลงเหลือเพียง 6% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับ combination immunoprophylaxis ซึ่งพบอัตราการติดเชื้อสูงถึง 88%[51]

กลุ่มเด็กเล็กมักพบว่าอัตราการติดเชื้อที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับปริมาณเชื้อที่ปนเปื้อนจากการอาศัยร่วมกับมารดาที่ติดเชื้อหรือผู้ป่วยที่ติดเชื้อเรื้อรัง โดยมีการสัมผัสกับสารคัดหลั่งหรือเลือดที่ปนเปื้อนบนอุปกรณ์หรือเครื่องใช้ภายในบ้าน[52] สำหรับกลุ่มผู้ใหญ่มักพบการติดเชื้อจากการใช้เข็มฉีดยาหรือการใช้ของมีคมร่วมกัน เช่น มีดโกนหนวด แปรงสีฟัน เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบความเสี่ยงของการติดเชื้อสูงในกลุ่มที่มีเพศสัมพันธ์ที่ไม่ได้ป้องกันโดยเฉพาะในกลุ่มที่มีคู่นอนหลายคน กลุ่มชายรักชาย และกลุ่มที่มีเพศสัมพันธ์ทางทวารหนัก (MSM)[53] การรับเลือดถือเป็นอีกหนึ่งปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อ แต่ในปัจจุบันพบว่าอัตราการติดเชื้อภายหลังการได้รับเลือดลดน้อยลงอย่างมาก เนื่องจากกระบวนการตรวจคัดกรองโลหิตที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น รวมถึงการนำเทคโนโลยีการฆ่าเชื้อในถุงเลือด (pathogen inactivation) มาใช้ในงานบริการโลหิตอีกด้วย[54]

Transfusion-transmitted hepatitis B virus infection

สาเหตุที่เชื้อไวรัสตับอักเสบ บี สามารถติดต่อผ่านทางเลือดและสารคัดหลั่งเป็นหลักเนื่องจากภายหลังได้รับเชื้อไวรัสแล้ว เชื้อจะมีการเพิ่มจำนวนจนมีปริมาณสูงและคงอยู่ในกระแสเลือด (viremic phase) นาน โดยสามารถตรวจพบเชื้อได้ประมาณ 30-60 วัน หลังการรับเชื้อ ในช่วงก่อนปี ค.ศ. 1970 พบมีรายงานการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ในกลุ่มผู้ป่วยที่รับเลือดประจำสูงถึง 6% ทำให้ในงานบริการโลหิตจำเป็นต้องตรวจคัดกรองเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ก่อนนำเลือดไปให้กับผู้ป่วย[55] การตรวจคัดกรองเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ในผู้บริจาคโลหิตจึงเริ่มมีขึ้นตั้งแต่ปี ค.ศ. 1969 ในสหรัฐอเมริกา และถูกกำหนดให้เป็นหนึ่งในกลุ่มเชื้อที่ติดต่อจากการรับเลือด (transfusion-transmitted infections, TTIs) ที่ต้องตรวจคัดกรอง (mandatory testing) ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1972 เป็นต้นมา[56] แม้ว่าในปัจจุบันความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี จากการรับเลือดจะลดลงอย่างมาก เนื่องจากมีขั้นตอนการคัดกรองผู้บริจาคโลหิตที่มีมาตรฐาน ได้แก่ การคัดกรองผู้บริจาคโลหิตจากประวัติและความเสี่ยงด้านพฤติกรรมร่วมกับการนำเทคโนโลยีการตรวจคัดกรองที่มีประสิทธิภาพสูงมาใช้ในการตรวจคัดกรองเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ทางห้องปฏิบัติการที่มีการตรวจทางน้ำเหลืองวิทยา (serological methods) และการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี (nucleic acid test for HBV DNA, HBV NAT) ทำให้อัตราการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี จากการรับเลือดลดลงอย่างเห็นได้ชัดเนื่องจากสามารถลดระยะเวลาการตรวจพบการติดเชื้อลงได้

แต่ถึงอย่างไร การศึกษาที่ผ่านมาก็ยังพบว่าแม้ผู้ป่วยจะได้รับเลือดที่มีผลการตรวจ HBsAg เป็นลบแล้ว แต่ก็ยังสามารถพบการติดเชื้อจากการรับเลือดได้สูงถึง 14.6%[57-59] ปัจจุบันได้มีการวิเคราะห์ค่า residual risk เพื่อประมาณความเสี่ยงในการรับผลิตภัณฑ์โลหิตแล้วติดเชื้อแม้ว่าผลิตภัณฑ์โลหิตนั้นจะให้ผลการตรวจเป็นลบแล้ว พบว่าค่า residual risk ในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี สูง จะพบประมาณ 16-100 ครั้งต่อการบริจาค 1 ล้านครั้ง และพื้นที่ความเสี่ยงต่ำพบค่า residual risk ประมาณ 1-1.4 ครั้งต่อการบริจาค 1 ล้านครั้ง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความชุกของการติดเชื้อ จำนวนประชากรและวิธีการตรวจคัดกรองของแต่ละพื้นที่[60,61] นอกจากนี้ จากการศึกษาความสามารถทำให้เกิดการติดเชื้อ (infectivity) ในหนูทดลอง (chimeric mice) โดยการนำ serum ของลิงชิมแพนซีที่ถูกทำให้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ในระยะต่างๆ ฉีดในหนูทดลอง แล้วศึกษาว่า serum ของลิงชิมแพนซีที่ติดเชื้อในระยะต่างๆ ส่งผลให้หนูทดลองติดเชื้อหรือไม่ ซึ่งพบว่าหลังจากหนูทดลองได้รับเชื้อในซีรัมแล้วสามารถตรวจพบเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ในหนูทดลองประมาณ 3-20 ตัว (virions) หรือ 0.6-2 IU/mL ที่ 50% ของปริมาณการติดเชื้ออย่างต่ำ (minimum infectious dose, ID_{50}) และลดลงในช่วง late acute phase[62] สำหรับระยะการติดเชื้อแบบเรื้อรังพบว่าสามารถตรวจพบปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้ออย่างต่ำ 0.6-33.8 IU/mL[63,64] และในระยะการฟักตัวพบว่าปริมาณเชื้อไวรัสเพิ่มจำนวนสูงขึ้นประมาณ 10^3-10^5 copies/mL และสามารถคำนวนระยะเวลาที่มีจำนวนเพิ่มขึ้นสองเท่า (doubling time) คือ 2.5 วัน ในขณะที่ยังไม่สามารถตรวจพบ HBsAg ได้เลย และหากมีการเพิ่มจำนวนสูงขึ้นประมาณ 3,000 copies/mL ก็จะสามารถตรวจพบ HBsAg ได้[65] ส่วนการศึกษาปริมาณเชื้อในผลิตภัณฑ์โลหิตพบว่ามีความแตกต่างกันในแต่ละผลิตภัณฑ์พบว่าใน fresh frozen plasma (FFP) มีปริมาณของเชื้อสูงที่สุด รองลงมาคือ platelet concentrates (PC) และ red cell concentrates (RBC) ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม มีความเป็นไปได้ว่าการพบเชื้อในผลิตภัณฑ์ที่ให้ผลการตรวจทางซีโรโลยี (anti-HBs และ anti-HBc) เป็นบวกนั้น มีความสามารถที่จะทำให้เกิดการติดเชื้อต่ำกว่าแต่ยังไม่พบรายงานที่ชัดเจน[54]

ปัจจุบันจึงนำการตรวจหาเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ด้วยวิธี NAT (HBV NAT) มาใช้อย่างแพร่หลายเพื่อช่วยลดความเสี่ยงการติดเชื้อ ในบางประเทศใช้วิธีการตรวจหาแอนติบอดีต่อส่วน core protein ของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี (anti-HBc) เพื่อคัดกรองกลุ่มที่เคยมีประวัติติดเชื้อมาก่อน โดย anti-HBc จะสามารถพบได้ภายหลังการติดเชื้อและตรวจพบได้ในระยะเวลามากกว่าหรือเท่ากับ 6 เดือน[66] อย่างไรก็ตาม การเลือกวิธีการตรวจคัดกรองนอกจากจะขึ้นอยู่กับความชุกของการติดเชื้อในแต่ละพื้นที่แล้ว ต้องคำนึงถึงความสามารถในการจัดหาเทคโนโลยีและเครื่องมือ ตามความเหมาะสมในการดำเนินงานและข้อกำหนดต่างๆ ตามนโยบาย เศรษฐกิจของแต่ละประเทศ[67]

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี และทิศทางในประเทศไทย

สำหรับประเทศไทย ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยได้เริ่มตรวจคัดกรองเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ด้วยวิธีการคัดเลือกผู้บริจาคโลหิตจากการซักประวัติ และพัฒนาการตรวจทางห้องปฏิบัติการในการตรวจหา HBsAg ในผู้บริจาคโลหิต ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2515 โดยเริ่มจาการตรวจทางด้านซีโรโลยีด้วยวิธี counter immuno electrophoresis (CIEP) และเปลี่ยนเป็นการตรวจด้วยวิธี reverse passive hemagglutination (RPHA) ในปี พ.ศ. 2527 ต่อมาในปี พ.ศ. 2537 ได้เปลี่ยนเป็นการตรวจด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) และในปี พ.ศ. 2539 ได้นำการตรวจด้วยวิธี chemiluminescent immunoassay (ChLIA) ซึ่งเป็นการตรวจโดยใช้เครื่องตรวจอัตโนมัติมาประยุกต์ใช้ในงานการคัดกรองโลหิตเพื่อลดความผิดพลาดจากการตรวจด้วยวิธี manual จนถึงปี พ.ศ. 2554 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติได้เปลี่ยนวิธีการตรวจคัดกรองเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี เป็นการตรวจด้วยวิธี chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) ซึ่งเป็นการตรวจที่มีความไวและความจำเพาะสูงทำให้การตรวจหาเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นและใช้วิธีการตรวจนี้เรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน นอกจากนี้ ในปี พ.ศ. 2549 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติได้นำการตรวจคัดกรองเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ด้วยวิธีอณูชีวโมเลกุลมาใช้ในการตรวจคัดกรองโลหิตบริจาคควบคู่กับการตรวจทางซีโรโลยีเพื่อเพิ่มความสามารถในการตรวจพบเชื้อโดยเฉพาะในระยะเวลาฟักตัว (window period) โดยวิธีนี้สามารถตรวจพบการติดเชื้อไวรัสไวรัสตับอักเสบ บี หลังจากได้รับเชื้อมาแล้ว 10-18 วัน ซึ่งเร็วกว่าการตรวจด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาประมาณ 30-38 วัน ทำให้ในปัจจุบันศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติสามารถลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อจากการรับเลือดและมีรายงานการรับเลือดที่ติดเชื้อลดลง[59-61]

จากรายงานการพบการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ในผู้บริจาคโลหิตของไทย พบว่าในปี พ.ศ. 2521 พบความชุกการติดเชื้อประมาณ 7.14% และลดลงอย่างต่อเนื่องจนในปี พ.ศ. 2552 พบว่ามีความชุกเหลือเพียง 2.63% เนื่องจากประเทศไทยได้เริ่มโครงการการให้วัคซีนในทารกแรกเกิดครั้งแรกในปี พ.ศ. 2531 ในจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดชลบุรี ต่อมาขยายให้ครอบคลุมทั้งประเทศในปี พ.ศ. 2535 ดังนั้นจึงทำให้จำนวนผู้ติดเชื้อรายใหม่

ลดลง[68] ในปี พ.ศ. 2558 มีการรวบรวมผลการศึกษาความชุกของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ในผู้บริจาคโลหิตไทยพบว่ามีอัตราความชุกในภาพรวมประมาณ 2.8% ซึ่งถือว่าต่ำเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกลุ่มประชากรทั่วไป และเมื่อแยกศึกษาเฉพาะในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตพบว่ากลุ่มผู้บริจาคโลหิตรายใหม่มีอัตราความชุกของการติดเชื้อใกล้เคียงกับกลุ่มประชากรทั่วไปประมาณ 5.8%[69] ดังนั้น ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติแห่งชาติจึงมีการพัฒนาระบบขั้นตอนและวิธีการตรวจคัดกรองโลหิตให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น โดยการนำเทคโนโลยีและน้ำยาสำหรับตรวจที่มีประสิทธิภาพสูงมาใช้ในการตรวจคัดกรองโลหิต นอกจากนี้ ยังมีระบบการติดตามผู้บริจาคโลหิตที่พบผลการตรวจเป็นบวก และถูกวินิจฉัยว่าเป็นผู้ติดเชื้อหรือผู้ที่พบร่องรอยการติดเชื้อจากผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการให้เข้าสู่กระบวนการการให้คำปรึกษาจากผู้เชี่ยวชาญทางด้านการติดเชื้อและการรักษา และต้องงดการบริจาคโลหิตตลอดชีวิต (permanent deferral) เพื่อลดความเสี่ยงที่ผู้ป่วยจะได้รับเลือดที่ติดเชื้อจากผู้ที่ติดเชื้อแบบแฝง (occult hepatitis B virus infection) ซึ่งจะพบอัตราความชุกสูงโดยเฉพาะพื้นที่ที่เคยพบการระบาดค่อนข้างสูงเช่นประเทศไทย

Transfusion-transmitted occult hepatitis B virus infection

ปัจจุบันมีการศึกษาการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี จากการรับเลือดของกลุ่มผู้บริจาคโลหิตที่มีการติดเชื้อแบบแฝง หรือ occult HBV infection (OBI) มากขึ้น ซึ่งมีข้อโต้แย้งกันหลายประเด็นทั้งการให้คำจำกัดความของ OBI วิธีการตรวจและความไวในการทดสอบ ในปี พ.ศ. 2561 มีข้อสรุปจากการประชุมระดับนานาชาติเกี่ยวกับคำจำกัดความของ OBI ณ ประเทศอิตาลี กล่าวคือ OBI หมายถึงการตรวจพบ replication-competent HBV DNA เช่น episomal HBV covalently closed circular DNA (cccDNA) ในตับ และ/หรือการตรวจพบ HBV DNA ในกระแสเลือดแต่ไม่สามารถตรวจพบ hepatitis B surface antigen (HBsAg) นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่ม OBI สามารถตรวจพบ HBV DNA ในพลาสมาหรือซีรัมได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกลุ่มประชากรที่ศึกษาและความไวของวิธีการตรวจ ซึ่งสามารถตรวจพบ HBV DNA ได้เป็นระยะๆ (intermittently) และพบได้ในปริมาณที่ต่ำกว่า 200 IU/mL หรือประมาณ 1,000 copies/mL[70,71] เมื่อพิจารณาผลการตรวจข้างต้นร่วมกับการตรวจ hepatitis B profile จะสามารถแบ่งกลุ่ม OBI ได้เป็น 2 กลุ่มคือ seropositive OBI ประมาณ 80% และ seronegative OBI 20% โดย seropositive OBI หมายถึง กลุ่มที่สามารถตรวจพบ hepatitis B core antibody (anti-HBc) ร่วมกับการตรวจพบ hepatitis B surface antibody (anti-HBs) หรือไม่ก็ได้ โดยในกลุ่มนี้จะพบ anti-HBc เป็นบวกประมาณ 50% และ anti-HBs เป็นบวก ประมาณ 35% และในกรณีที่ตรวจพบพบเฉพาะ anti-HBc นั้น จะตรวจพบปริมาณ HBV DNA สูงกว่ากลุ่มที่ตรวจพบ anti-HBs ร่วมด้วย ส่วน seronegative OBI หมายถึง กลุ่มที่มีผลการตรวจ anti-HBc และ anti-HBs เป็นลบ[72] จะพบว่ากลุ่มนี้มีปริมาณ HBV DNA ต่ำที่สุด สำหรับสาเหตุที่ทำให้การตรวจทางซีโรโลยีพบผลการตรวจได้ทั้งผลบวกและลบนั้น จากการศึกษาพบว่าเกิดจากการตอบสนองของ HBV-specific T-cell หลังการรับเชื้อเข้าสู่ร่างกาย โดยทั่วไปร่างกายจะตอบสนองด้วยการสร้างภูมิต้านทานเพื่อทำลายเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ทำให้สามารถตรวจพบ anti-HBc หรือ anti-HBs ได้ แต่ในบางครั้งร่างกายได้รับเชื้อในปริมาณที่น้อยจนไม่สามารถกระตุ้นการตอบสนองของ HBV-specific T-cell ได้ ก็จะทำให้ตรวจไม่พบ anti-HBc หรือ anti-HBs[73] นอกจากนี้ ยังพบว่ามี OBI บางกลุ่มที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี กลายพันธุ์ (OBI-associated HBV variants) ซึ่งโดยส่วนใหญ่พบการกลายพันธุ์ในตำแหน่ง S genes (HBV S variants) ทำให้ไม่สามารถตรวจพบการติดเชื้อและส่งผลต่อการตอบสนองของภูมิต้านทานร่างกายของผู้ติดเชื้อได้อีกด้วย[74-76]

ความไวของวิธีหรือหลักการที่ใช้ตรวจหาเชื้อ มีความสำคัญอย่างยิ่งเนื่องจากพบการติดเชื้อจากการรับเลือดของผู้บริจาคโลหิตที่อยู่ในกลุ่ม OBI และมักพบปัญหาในประเทศที่ยังไม่มีการตรวจคัดกรองโลหิตบริจาคด้วยวิธี NAT และตรวจหา anti-HBc นอกจากนี้ ในกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้วก็ยังคงพบ residual risk จากกลุ่ม OBI[77] เนื่องจากความไวของน้ำยาที่ใช้ตรวจในปัจจุบันยังไม่เพียงพอต่อการตรวจพบเชื้อได้ ซึ่งพบว่าค่า limit of Detection (LoD) ของน้ำยาที่ใช้ในการตรวจสูงกว่าระดับของเชื้อที่สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อได้ โดยค่า LoD ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจคัดกรองโลหิตจะต้องต่ำกว่า 0.15 IU/mL หรือ 0.8 copies/mL[78] สำหรับผลการศึกษาเกี่ยวกับการติดเชื้อจากการรับเลือดที่ผ่านมาโดยการนำผลิตภัณฑ์โลหิตที่ให้ผลบวกต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ไปให้กับหนูทดลอง จากนั้นทำการศึกษา look back ในผู้ป่วยพบว่าสามารถตรวจพบ HBV DNA ในซีรัมของหนูหลังจากได้รับเลือด 5-7 วัน และตรวจพบ HBV DNA, cccDNA (HBV replication template) และ HBcAg ในเซลล์ตับของหนู จึงสรุปได้ว่าการรับเลือดจากผู้บริจาคโลหิตกลุ่ม OBI มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี จากเลือดนั้นทั้งในหนูทดลองและในผู้ป่วย อย่างไรก็ตาม ความเสี่ยงของการติดเชื้อจะอยู่ในระดับต่ำหากมีผลการตรวจ anti-HBs เป็นบวก[79] ในประเทศอินเดียมีการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยโรคมะเร็งชนิดต่างๆ ที่ได้รับการรักษาโดยการให้เลือด พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับเลือดจากกลุ่ม OBI มีผลการตรวจ

HBsAg เป็นบวกหลังการรับเลือด โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาด้วยยากดภูมิต้านทานหรือ chemotherapy[80] การศึกษาย้อนกลับในประเทศออสเตรเลียพบผู้ป่วยมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ภายหลังการรับเลือด ประมาณ 0.2-3.0% โดยพบอัตราการติดเชื้อจากการรับพลาสมาสูงที่สุด และชี้ให้เห็นว่าถึงแม้จะใช้การตรวจที่ไม่ได้มีความไวสูงแต่ก็ยังคงพบอัตราการติดเชื้อได้อยู่[81] และมีความสอดคล้องกับการศึกษาในประเทศเนเธอร์แลนด์ที่พบอัตราการติดเชื้อประมาณ 5%[82] ดังนั้น ผู้เชี่ยวชาญด้านการตรวจคัดกรองโลหิตจึงมีข้อแนะนำในการตรวจหาการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ว่าจะต้องมีวิธีการตรวจให้ครอบคลุมการกลายพันธุ์ของเชื้อ กล่าวคือ การตรวจทางซีโรโลยีต้องใช้วิธีการตรวจที่มีความไวสูง (ค่า LoD 0.005 - 0.05 IU/mL) และมีความจำเพาะสูง สำหรับการตรวจหา HBV DNA ด้วยวิธีการตรวจ nucleic acid test แบบตัวอย่างเดี่ยว (individual NAT, ID-NAT) (ค่า LoD 2 - 4 IU/mL) จะดีกว่าการตรวจแบบรวมตัวอย่าง (pooled) และหากใช้ร่วมกับเทคโนโลยี pathogen reduction ทำให้การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี จากการรับเลือดนั้นลดลงอีกด้วย[72]

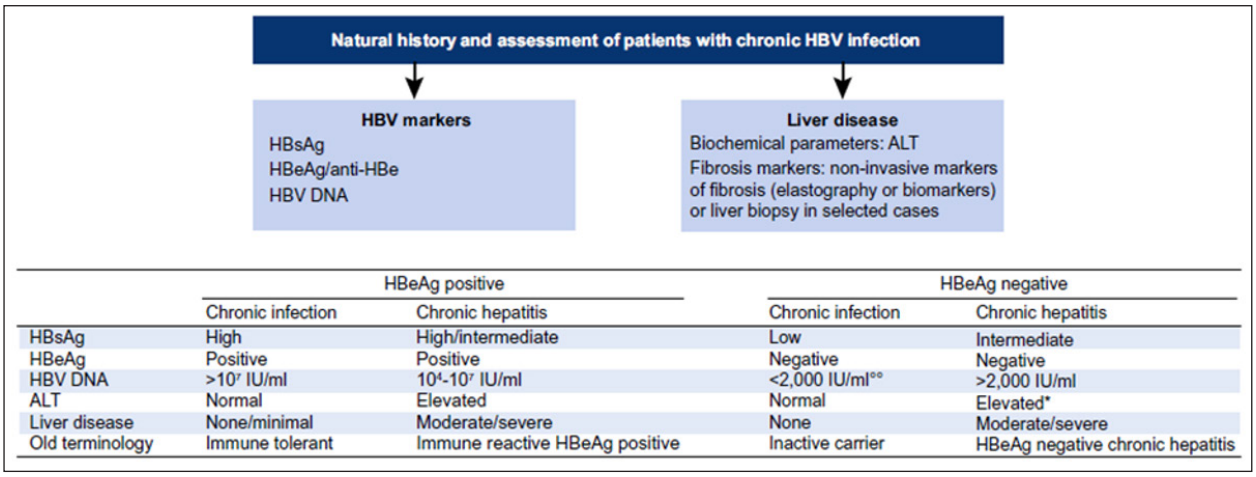
ปัจจุบันองค์กรที่เกี่ยวข้องกับงานบริการโลหิตทั่วโลก ได้ให้ความสำคัญในเรื่องการเฝ้าระวังอาการไม่พึงประสงค์จากการรับเลือด โดยการสร้างระบบ hemovigilance เพื่อการปรับปรุงให้เกิดความปลอดภัยมากที่สุดในการนำเลือดไปรักษาผู้ป่วย ระบบ hemovigilance ของประเทศไทยนั้นได้ดำเนินการต่อเนื่องมาทุกปี โดยรวบรวมข้อมูลของผู้ป่วยที่รับเลือดในโรงพยาบาลต่างๆ ที่รับบริการที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ เพื่อนำมาวิเคราะห์หาสาเหตุความถี่ และการเกิดภาวะแทรกซ้อนต่างๆ จากการรับเลือด[83] สำหรับการศึกษาหรือรายงานการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ในผู้ป่วยที่รับเลือดนั้นยังพบค่อนข้างน้อย โดยส่วนใหญ่พบเป็นรายงานจากรูปแบบของการศึกษาย้อนหลัง (look back study) หรือการศึกษาแบบสืบกลับในรายที่พบการติดเชื้อหลังการรับเลือด (Trace back study) เนื่องจากมีข้อจำกัดหลายอย่าง เช่น ต้องได้รับความยินยอมให้ทำการศึกษาทั้งในหน่วยงานบริการโลหิตและโรงพยาบาล และเหตุผลทางกฎหมายทำให้การรายงานจำนวนผู้ป่วยที่รับเลือดที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี นั้นต่ำกว่าความเป็นจริง (underestimated) อีกทั้งหากเกิดกรณีมีผู้ป่วยรับเลือดติดเชื้อเกิดขึ้น การศึกษาในลักษณะนี้มีความจำเป็นต้องใช้ตัวอย่างจากผู้บริจาคโลหิตและผู้ป่วยทั้งก่อนและหลังการรับเลือดเพื่อนำมาตรวจพิสูจน์ด้วยหลักการทางซีโรโลยีและอณูชีวโมเลกุล ซึ่งค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูงและใช้พื้นที่เก็บตัวอย่างค่อนข้างมาก นอกจากนี้ การตรวจสอบผลการตรวจทั้งก่อนและหลังการรับเลือดร่วมกับการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไวรัสในผู้บริจาคโลหิตและผู้ป่วยว่ามีความเหมือนกัน (homology) มากน้อยเพียงใด โดยผลการตรวจพิสูจน์จะต้องมีความเหมือนกันมากกว่า 99% จึงจะสรุปได้ว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อจากการรับเลือด[54]

พยาธิสภาพจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี

Acute hepatitis infection หรือการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี แบบเฉียบพลัน ในผู้ใหญ่มักไม่แสดงอาการทางคลินิก ส่วนใหญ่สามารถหายได้เองโดยธรรมชาติ และเกิด anti-HBs seroconversion มีเพียง 1-5% ของผู้ป่วย ที่จะพัฒนาไปเป็นการติดเชื้อแบบเรื้อรัง อย่างไรก็ตาม ความเสี่ยงของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังจะสูงถึงร้อยละ 90% หากได้รับเชื้อตั้งแต่แรกเกิด และร้อยละ 16-30 หากได้รับเชื้อในวัยเด็ก[51,84]

กรณีมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี แบบเฉียบพลันพบว่าระดับ HBV DNA ในเลือดจะลดลงก่อนที่จะเริ่มมีการอักเสบของตับ[85] ไม่พบการแทรกซึมของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันเข้าไปในบริเวณตับหรือพบได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งบ่งชี้ว่าการกำจัดเชื้อในระยะเริ่มแรกของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี แบบเฉียบพลัน เป็นแบบไม่มีการทำลายเซลล์ตับ (noncytolytic clearance)[86] โดยเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันที่สำคัญในระยะนี้ คือ CD8-T cells ซึ่งจะกระตุ้นการหลั่งไซโตไคน์ต่างๆ เพื่อยับยั้งเชื้อไวรัสและช่วยฟื้นฟูจากการติดเชื้อไวรัส นอกจากนี้ การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันอื่นๆ รวมถึง B-cell และภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (innate immunity) ก็มีส่วนร่วมด้วยเช่นกัน

แม้ว่าผู้ป่วยที่หายจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี แบบเฉียบพลันจะสามารถป้องกันการติดเชื้อซ้ำได้ แต่มีการศึกษาที่บ่งชี้ว่า เชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ยังคงอยู่ในตับของบุคคลเหล่านี้และสามารถตรวจพบ HBV DNA ในตับได้ในระยะเวลานานถึง 10 ปี หลังจากการติดเชื้อในครั้งแรก[87] ซึ่งสัมพันธ์กับการรายงานถึงการกลับมาเป็นซ้ำจากการตรวจพบ HBsAg อีกครั้ง (HBV reactivation) หรือ *recurrent HBV infection* ในผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน[88] และสอดคล้องกับรายงานการพบการแพร่เชื้อไวรัสตับอักเสบ บี เมื่อมีการปลูกถ่ายตับของบุคคลเหล่านี้ (donor) (จากผู้ที่เคยติดเชื้อไวรัสตับเสบบีมาก่อน และหายแล้วดีแล้ว) ให้กับผู้รับการปลูกถ่าย (recipient) ที่ไม่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ ไวรัสตับอักเสบ บี ได้[89] นอกจากนี้ การตรวจพบปริมาณแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี (anti-HBs) ที่สูงอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานหลายสิบปี ภายหลังจากการติดเชื้อครั้งแรกยังเป็นการบ่งชี้ว่าร่างกายยังคงมีการตอบสนองต่อเชื้อไวรัสที่หลงเหลืออยู่ในร่างกาย[90,91]



	HBeAg positive		HBeAg negative	
	Chronic infection	Chronic hepatitis	Chronic infection	Chronic hepatitis
HBsAg	High	High/intermediate	Low	Intermediate
HBeAg	Positive	Positive	Negative	Negative
HBV DNA	>10^7 IU/ml	10^4-10^7 IU/ml	<2,000 IU/ml**	>2,000 IU/ml
ALT	Normal	Elevated	Normal	Elevated*
Liver disease	None/minimal	Moderate/severe	None	Moderate/severe
Old terminology	Immune tolerant	Immune reactive HBeAg positive	Inactive carrier	HBeAg negative chronic hepatitis

Figure 4 Natural history and assessment of patients with chronic HBV infection

การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแบบเรื้อรังและการดำเนินโรค

Chronic hepatitis infection มีความแปรปรวนและขึ้นอยู่กับความซับซ้อนของปฏิสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยแต่ละคนกับเชื้อไวรัส ในปัจจุบันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี แบ่งเป็น 4 ระยะ (Figure 4) ตามลักษณะการตรวจพบโปรตีนอี (HBeAg) ปริมาณ HBV DNA ในเลือด และปริมาณเอนไซม์ alanine transaminase (ALT) ที่บ่งชี้การอักเสบของตับ[92,93] ดังนี้

ระยะที่ 1 HBeAg-positive chronic HBV infection เป็นระยะที่ตรวจพบ HBeAg และ HBV DNA มีปริมาณในเลือดสูง แต่ไม่พบการอักเสบของตับ (เอนไซม์ ALT อยู่ในระดับปกติ) ระยะนี้มีระยะเวลาที่ยาวนาน พบได้ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อตั้งแต่แรกเกิดและอายุน้อย ผู้ป่วยที่อยู่ในระยะนี้มีโอกาสแพร่เชื้อให้กับผู้อื่นได้สูง เนื่องจากมีปริมาณไวรัสในเลือดในระดับสูง

ระยะที่ 2 HBeAg-positive chronic hepatitis เป็นระยะที่สามารถตรวจพบ HBeAg พบ HBV DNA และเอนไซม์ ALT มีปริมาณในเลือดสูง ซึ่งถือเป็นระยะที่ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายตอบสนองเพื่อกำจัดเชื้อไวรัส ส่งผลให้เกิดการอักเสบของตับในระดับปานกลางถึงรุนแรง และเกิดการสร้างพังผืดภายในตับ ระยะนี้จะเกิดขึ้นภายหลังจากผ่านระยะ HBeAg-positive chronic HBV infection มาแล้วหลายปี สำหรับระยะนี้และจะพบได้บ่อยและเร็วขึ้นใน ผู้ติดเชื้อที่อยู่ในช่วงวัยผู้ใหญ่ ซึ่งผู้ป่วยส่วนใหญ่จะสามารถกำจัดเชื้อไวรัสได้เอง (เกิด HBeAg seroconversion และสามารถยับยั้งปริมาณ HBV DNA ให้ลดลงได้) และเข้าสู่ระยะที่ 3 สำหรับในผู้ป่วยบางรายที่ไม่สามารถควบคุมปริมาณไวรัสได้ จะมีการดำเนินโรคเข้าสู่ระยะที่ 4

ระยะที่ 3 HBeAg-negative chronic infection เป็นระยะสงบของโรคจึงตรวจไม่พบ HBeAg แต่ตรวจพบแอนติบอดี้ต่อ HBeAg (anti-HBe) ซึ่งเป็นภูมิต้านทานของร่างกายที่สามารถควบคุมไวรัสได้ ทำให้มีปริมาณไวรัสในเลือดต่ำหรืออาจตรวจไม่พบไวรัสเลย การอักเสบของตับลดลงจนเป็นปกติ ผู้ป่วยที่อยู่ในระยะนี้โดยทั่วไปจะตรวจพบไวรัสในเลือด 2,000 - 20,000 IU/mL แต่เอนไซม์ ALT อยู่ในระดับปกติ มีการอักเสบของตับเพียงเล็กน้อย เกิดพังผืดของตับในระดับต่ำ หากผู้ป่วยยังคงอยู่ในระยะนี้จะมีโอกาสเกิดตับแข็งและมะเร็งตับได้น้อย และสามารถกำจัดเชื้อไวรัสและหายเองได้ (spontaneous HBsAg clearance) แต่ผู้ป่วยบางรายอาจจะมีการดำเนินโรคไปสู่ตับอักเสบเรื้อรัง และเข้าสู่ระยะที่ 4 ต่อไป

ระยะที่ 4 HBeAg-negative chronic hepatitis ระยะนี้ตรวจไม่พบ HBeAg แต่ตรวจพบ anti-HBe และไวรัสมีการเพิ่มจำนวนขึ้นอีกครั้ง ทำให้มีระดับ HBV DNA ในเลือดเพิ่มสูงขึ้นและผันผวน และมีระดับเอนไซม์ ALT เพิ่มสูงขึ้นอีก เกิดการอักเสบและทำลายเซลล์ตับเป็นระยะอย่างต่อเนื่อง ทำให้เกิดพังผืดภายในตับ ผู้ป่วยที่มีการดำเนินโรคเข้าสู่ระยะนี้ส่วนใหญ่จะเกิดการกลายพันธุ์ของไวรัส ในบริเวณ precore หรือ basal core promoter ซึ่งส่งผลทำให้ HBeAg มีการแสดงออกลดลงหรือไม่แสดงออกเลย และโอกาสหายได้เองมีน้อยมาก หากไม่ได้รับการรักษาตับจะถูกทำลายจนทำให้เกิดภาวะตับแข็งและมะเร็งตับได้

ภาวะแทรกซ้อนจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี แบบเรื้อรัง

โรคตับแข็ง อัตราการเกิดโรคตับแข็งพบได้ในผู้ป่วยที่ตรวจพบ HBeAg ร้อยละ 2-6 ต่อปี และจะเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 8-10 ต่อปี ในผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบ HBeAg[94] โดยปัจจัยที่สัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดโรคตับแข็ง ได้แก่ อายุเพิ่มมากขึ้น เพศชาย โรคอ้วนเรื้อรัง การตรวจพบ HBeAg อย่างต่อเนื่อง ระดับ HBV DNA ที่สูงอย่างต่อเนื่อง ระดับ HBsAg สูง สายพันธ์ของไวรัส (จีโนไทป์ C มีความเสี่ยงมากกว่า จีโนไทป์ B) การติดเชื้อร่วมกับเชื้อไวรัสตัวอื่น ได้แก่ ไวรัสเอชไอวี (HIV) ไวรัสตับอักเสบ ซี (HCV) ไวรัสตับอักเสบดี (HDV) และการดื่มแอลกอฮอล์[94-96]

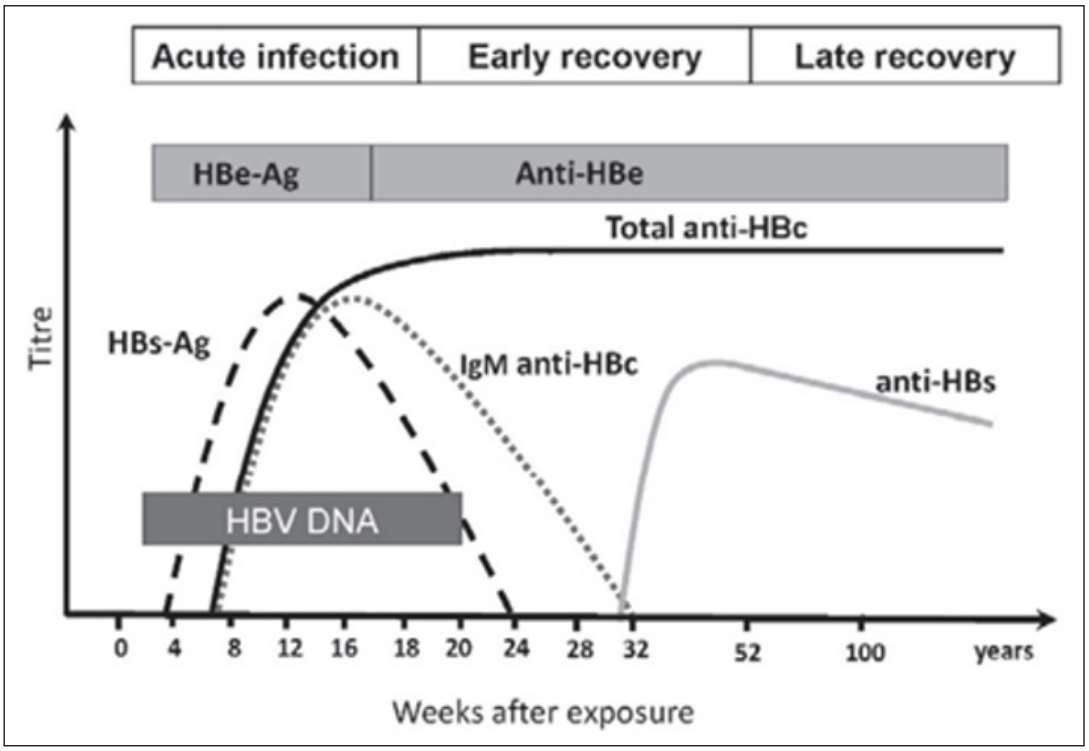


Figure 5 The description of serological and molecular HBV infectious markers

โรคมะเร็งตับ ผู้ป่วยที่ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี แบบเรื้อรัง หากไม่ได้รับการรักษามีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับและเสียชีวิตจากโรคตับสูงถึงร้อยละ 40-50 ในผู้ชาย และร้อยละ 15 ในผู้หญิง[96] โดยผู้ป่วยที่มีภาวะตับแข็งจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับร้อยละ 2-5 ต่อปี ในขณะที่ผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะตับแข็งจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับน้อยกว่าร้อยละ 1 ต่อปี โดยปัจจัยที่สัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งตับ ประกอบด้วย 3 ปัจจัยหลัก ได้แก่[97-101]

1. ตัวผู้ป่วย ได้แก่ เพศชาย อายุ เชื้อชาติเอเชียหรือแอฟริกา โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคตับแข็ง มีประวัติคนในครอบครัวเป็นมะเร็งตับ การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ ALT
2. เชื้อไวรัส ได้แก่ ระดับ HBV DNA ในเลือดสูงอย่างต่อเนื่อง การกลายพันธุ์บริเวณ core promoter สายพันธุ์ของไวรัส (จีโนไทป์ C มีความเสี่ยงมากกว่า จีโนไทป์ B) การติดเชื้อร่วมกับเชื้อไวรัสตัวอื่น
3. สิ่งแวดล้อม ได้แก่ สารก่อมะเร็งต่างๆ เช่น อะฟลาทอกซิน (จากเชื้อรา) สูบบุหรี่ และดื่มแอลกอฮอล์

การวินิจฉัยโรค

เนื่องจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี พบได้ทั้งที่ไม่แสดงอาการ การติดเชื้อแบบเฉียบพลัน การติดเชื้อแบบเรื้อรัง มีอาการแสดงทั้งตับอักเสบ ระยะตับแข็ง และระยะมะเร็งตับ ดังนั้นการวินิจฉัยโรคจึงจำเป็นต้องอาศัยหลายปัจจัย เช่น ประวัติการสัมผัสเชื้อ อาการแสดงทางคลินิกของผู้ป่วยและผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เนื่องจากในแต่ละระยะของการติดเชื้อจะพบปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี รวมถึงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกายในภายหลังจากมีการติดเชื้อที่แตกต่างกัน ดังนั้น การวินิจฉัยโรคโดยอาศัยผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ (ทั้งทางซีโรโลยีและอณูชีวโมเลกุล)[76] (Figure 5) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ในปัจจุบันการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ทางห้องปฏิบัติการสามารถทำได้ 2 วิธี ได้แก่ การตรวจหาเชื้อหรือแอนติบอดีต่อเชื้อที่ร่างกายสร้างขึ้นด้วยวิธีทางซีโรโลยีหรือน้ำเหลืองวิทยาและการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ (HBV DNA) ด้วยวิธีทางอณูชีวโมเลกุล เมื่อนำผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการมาแปลผลร่วมกันจะทำให้สามารถแยกกลุ่มหรือลักษณะการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ได้ว่าเป็นการติดเชื้อแบบเฉียบพลัน (acute infection) การติดเชื้อแบบเรื้อรัง (chronic infection) หรือการติดเชื้อแบบแฝง (OBI)

การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทั้ง 2 วิธี มีรายละเอียดดังนี้

1. การตรวจด้วยวิธีทางซีโรโลยีหรือน้ำเหลืองวิทยา (serological methods)

การตรวจเพื่อวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาประกอบด้วยการตรวจหาแอนติเจนของเชื้อ ได้แก่ hepatitis B surface antigen (HBsAg) และ hepatitis B

envelope antigen (HBeAg) และการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อที่ร่างกายสร้างขึ้น ได้แก่ hepatitis B surface antibody (anti-HBs), hepatitis B envelope antibody (anti-HBe) และ hepatitis B core antibody ชนิด IgM และ IgG (anti-HBc) การตรวจหา markers ทั้งหมดนี้เรียกรวมกันว่า hepatitis B profile โดยผลการตรวจแต่ละ marker มีความสำคัญแตกต่างกัน สามารถใช้เพื่อการวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี และอธิบายการดำเนินของโรคตามระยะเวลาใน Figure 5 นอกจากนี้ยังใช้เพื่อประเมินขั้นตอนการรักษาและติดตามผลการรักษาด้วยยาต้านไวรัส (antiviral drug) สำหรับวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน ได้แก่ การตรวจแบบ manual ด้วยชุดตรวจแบบเร็ว (rapid diagnostic test, RDT) โดยใช้หลักการ immunochromatography และการตรวจด้วยเครื่องมืออัตโนมัติ (automation system) โดยใช้หลักการ Enzyme immunoassays (EIA) และ Chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) ซึ่งความสำคัญของแต่ละ markers มีดังนี้

Hepatitis B surface antigen

Hepatitis B surface antigen หรือ HBsAg เป็น serological marker ตัวแรกที่สามารถตรวจพบได้ภายหลังการรับเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ประมาณ 38 วัน จะพบในระยะ acute phase และผู้ป่วยส่วนใหญ่จะสามารถกำจัดเชื้อออกจากร่างกายได้ เนื่องจาก HBsAg จะถูก neutralized ด้วย anti-HBs ที่ร่างกายสร้างขึ้น ทำให้ตรวจไม่พบ HBsAg ประมาณ 4-6 เดือนหลังการติดเชื้อ ลักษณะดังกล่าวนี้จะสัมพันธ์กับการติดเชื้อแบบเฉียบพลัน แต่ถ้าหากตรวจพบ HBsAg ในระยะเวลานานเกิน 6 เดือน จะบ่งชี้ถึงการติดเชื้อแบบเรื้อรัง[102] แม้ว่าปัจจุบันจะมีการพัฒนาความไวของวิธีหรือน้ำยาในการตรวจหา HBsAg เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจและการวินิจฉัยให้ดียิ่งขึ้น แต่กลับพบว่าเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี มีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นที่บริเวณ antigenic determinant (“a” determinant) ตำแหน่งที่ 145 โดยมีการเปลี่ยนจากกรดอะมิโนชนิดไกลซีน (G) เป็นอาร์จีนีน (R) (G145R) ทำให้โปรตีนโครงสร้างเปลี่ยนไปและส่งผลทำให้ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมีการสร้าง anti-HBs ลดลง[103] สำหรับสาเหตุของการกลายพันธุ์เกิดขึ้นจากการหลบเลี่ยงวัคซีน (vaccine-escape mutation) และการรักษาด้วย antiviral drug นอกจากนี้ยังพบว่า มีการเกิดการกลายพันธุ์ตำแหน่งอื่นที่เกี่ยวข้องกับการหลบเลี่ยงวัคซีนของเชื้อ เช่น sP120S, sM133L เป็นต้น[104] ทำให้ปัจจุบันการผลิตน้ำยาต้องคำนึงถึงการกลายพันธุ์ที่พบได้ในการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ด้วย

Hepatitis B envelope antigen และ Hepatitis B envelope antibody

Hepatitis B envelope antigen หรือ HBeAg เป็น serological marker ที่บ่งบอกว่าเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ยังคงมีการเพิ่มจำนวน ในร่างกายอย่างต่อเนื่องและผู้ติดเชื้อสามารถแพร่เชื้อให้กับผู้อื่นได้ นอกจากนี้ยังบ่งชี้ถึงความรุนแรงของโรคและโอกาสที่จะทำให้เกิด chronic liver disease ได้ จากการศึกษาความสัมพันธ์ของ HBsAg และ HBeAg พบว่าในผู้ที่ตรวจพบ HBeAg จะมีระดับของ HBsAg ในซีรั่มสูง เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่ผลการตรวจ HBeAg เป็นลบ[42] ระดับ HBeAg ในเลือดจะลดลงและหายไปภายในไม่กี่สัปดาห์ เนื่องจากระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายจะเริ่มสร้าง anti-HBe ขึ้น (seroconversion) หรือบ่งชี้ว่าการรักษามีแนวโน้มที่ดีขึ้น

Hepatitis B core antibody ชนิด IgM และ IgG (anti-HBc IgM และ anti-HBc IgG)

Hepatitis B core antibody เป็นแอนติบอดีต่อ HBcAg ซึ่งเป็นแอนติบอดีตัวแรกที่จะพบในซีรั่มของผู้ที่เพิ่งได้รับเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ hepatitis B core antibody ชนิด IgM และ IgG โดยแอนติบอดีชนิด IgM จะตรวจพบในระยะเฉียบพลัน (acute hepatitis B infection) หลังจากตรวจพบ HBsAg ประมาณ 1 เดือน และจะเริ่มลดลงและหายไปภายใน 6 เดือนหรือหลังจากมีการสร้าง hepatitis B core antibody ชนิด IgG เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบ anti-HBc ชนิด IgM ในกรณีผู้ป่วยเรื้อรังมีอาการกำเริบ ทำให้วินิจฉัยผิดว่าเป็นการติดเชื้อระยะเฉียบพลันได้[105] สำหรับ hepatitis B core antibody ชนิด IgG จะเป็น Marker ที่บ่งชี้ว่ามีการติดเชื้อในปัจจุบันหรือในอดีต แอนติบอดีชนิดนี้ไม่มีคุณสมบัติในการทำลายตัวเชื้อและสามารถตรวจพบได้ตลอดชีวิตของผู้ป่วย โดยจะตรวจพบหลังจากระยะเฉียบพลันและพบในกลุ่มผู้ป่วยเรื้อรัง นอกจากนี้การตรวจพบ hepatitis B core antibody ชนิด IgG แต่ไม่พบ HBsAg ในกระแสเลือดหรือพบ anti-HBc IgG เพียงตัวเดียว (isolated anti-HBc) จะสามารถบ่งชี้กลุ่ม OBI หรือ silent HBV infection ได้ด้วย เช่นเดียวกับกลุ่มที่กลับมาเป็นซ้ำ (recurrent HBV infection) ภายหลังจากหยุดการใช้ยามีรายงานว่ามักจะตรวจพบเพียง anti-HBc แต่ไม่สามารถตรวจพบ HBsAg และ HBV DNA ได้[106] ดังนั้นการตรวจพบหรือไม่พบ anti-HBc จึงสามารถใช้เป็น surrogate marker ในการวินิจฉัยกลุ่ม OBI ได้ว่าเป็น seropositive หรือ seronegative OBI[72]

Hepatitis B surface antibody (Anti-HBs)

Hepatitis B surface antibody (anti-HBs) เป็นแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นมา ซึ่งจะทำหน้าที่ในการต่อต้านหรือกำจัด HBsAg หรือเรียกว่า neutralizing antibody แอนติบอดีสามารถป้องกันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ได้ จะพบได้ภายหลังจากมีการติดเชื้อและพบได้ช้ากว่าแอนติบอดีชนิดอื่น (anti-HBe และ anti-HBc) การตรวจหา anti-HBs สามารถนำมาใช้ในการประเมินภูมิต้านทานและการตอบสนองภายหลังการฉีดวัคซีน นอกจากนี้ยังใช้ในการแปลผลร่วมกับ anti-HBc เพื่อบ่งชี้การติดเชื้อ โดยใช้ในการวินิจฉัยแยกระหว่างผู้ที่เคยติดเชื้อมาก่อนแล้วสร้างภูมิต่อต้านเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี กับผู้ที่มีการสร้างภูมิต่อต้านเชื้อจากการรับวัคซีนได้[107] สำหรับระดับของ anti-HBs สามารถนำมาใช้เพื่อการประเมินความสามารถในการป้องกันการติดเชื้อ โดยพบว่าในกลุ่มผู้ที่เคยติดเชื้อมาก่อนและตรวจพบระดับของ anti-HBs ในร่างกายมากกว่า 100 IU/mL จะสามารถป้องกันการติดเชื้อได้[76]

2. การตรวจหาสารพันธุกรรมของตัวเชื้อ (HBV DNA)

การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี (HBV DNA) จะเป็นตัวชี้วัดการเพิ่มจำนวนของเชื้อ โดยจะตรวจพบในช่วงเริ่มแรกของการติดเชื้อและพบได้ไวกว่า HBsAg การตรวจพบ HBV DNA ในกระแสเลือด (viremia) สามารถใช้เพื่อประเมินการติดเชื้อที่ตับ พยากรณ์โรค (prognosis) ถึงความเสี่ยงที่ผู้ป่วยจะมีการดำเนินโรคไปเป็น hepatocellular carcinoma (HCC) ใช้ในการติดตามการตอบสนองต่อการรักษาด้วยยาต้านไวรัส และบ่งชี้กลุ่ม OBI ได้อีกด้วย การตรวจหา HBV DNA ในเซลล์ตับถือเป็น gold standard สำหรับการวินิจฉัยยืนยันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี โดยสามารถตรวจหา replication-competence HBV DNA เช่น covalently closed circular DNA (cccDNA), relaxed circular DNA (rcDNA) และ integrated double strand linear HBV DNA (dslDNA) เพื่อบ่งชี้ว่ายังคงพบการเพิ่มจำนวนของสารพันธุกรรมของเชื้อในเซลล์ตับ อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ไม่เป็นที่นิยมในงานตรวจประจำวันเนื่องจากต้องตัดชิ้นเนื้อของตับ (liver biopsy) และวิธีการตรวจยังไม่ได้มาตรฐานเพียงพอ นอกจากนี้การเตรียมชิ้นเนื้อตับต้องอาศัยความชำนาญเพื่อลดการปนเปื้อน (cross-contamination) และต้องใช้ negative control ที่เหมาะสมจึงจะสามารถบ่งชี้ความจำเพาะของการตรวจได้[72,108]

ปัจจุบันการตรวจหา HBV DNA เป็นเทคนิคการเพิ่มจำนวนหรือการเพิ่มสัญญาณการตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อได้ถูกนำมาพัฒนาและใช้กันอย่างกว้างขวางเพื่อใช้ในการตรวจหา HBV DNA ซึ่งความไวในการตรวจพบเชื้อขึ้นอยู่กับหลักการที่นำมาใช้ตรวจ เช่น การตรวจด้วยวิธี real-time polymerase chain reaction (real-time PCR) มีความไวของการทดสอบประมาณ 5-10 copies/mL ทำให้สามารถตรวจพบการติดเชื้อในระยะฟักตัวของเชื้อได้เร็วมากยิ่งขึ้น จึงนิยมนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองและวินิจฉัยการติดเชื้อในงานประจำวัน[109] อย่างไรก็ตามการตรวจในปัจจุบันมีความหลากหลายและมีหน่วยการวัดที่แตกต่างกัน ดังนั้นองค์การอนามัยโลกจึงได้ผลิตสารมาตรฐานเพื่อใช้อ้างอิงสำหรับการตรวจหา HBV DNA (reference standard for HBV DNA) สำหรับการตรวจหา HBV DNA ด้วยวิธีทางอณูชีวโมเลกุล เนื่องจาก HBV DNA สามารถตรวจพบในระยะแรกของการติดเชื้อจากนั้นจะเริ่มลดลงและหายไป หรืออาจจะสามารถตรวจพบได้เป็นระยะๆ (intermittently) ในกลุ่มเรื้อรังเท่านั้น ดังนั้น จึงจำเป็นต้องทำการตรวจและแปลผลร่วมกับการตรวจทางซีโรโลยีเพื่อการวินิจฉัยที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ปัจจุบันมีการนำระบบ point-of-care testing (POCT) มาประยุกต์ใช้ร่วมกับการตรวจทั้งทางซีโรโลยีและการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อในด้านต่างๆ เพื่อลดความแออัดของการใช้บริการของโรงพยาบาล ลดระยะเวลาการรักษาที่โรงพยาบาลและสามารถติดตามดูแลผู้ป่วยขณะอยู่ที่บ้าน[110] แต่การใช้ระบบ POCT ในการตรวจเพื่อวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ยังมีข้อจำกัดและอยู่ระหว่างการพัฒนา นอกจากนี้ยังได้มีการนำการเก็บตัวอย่างด้วย filter paper หรือ dried blood spot (DBS) มาใช้ในการเก็บตัวอย่าง จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการเก็บตัวอย่างแบบ DBS มีประสิทธิภาพค่อนข้างสูงและง่ายต่อการขนส่งอีกด้วย[111,112]

การป้องกันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี

การป้องกันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ต้องอาศัยความรู้และความเข้าใจเกี่ยวกับการแพร่ของเชื้อ ดังนั้น การป้องกันจึงทำได้โดยหลีกเลี่ยงการสัมผัสเลือดหรือสารคัดหลั่งของผู้ติดเชื้อ เช่น ไม่ใช้ของมีคมหรือเข็มฉีดยาร่วมกัน หลีกเลี่ยงการใช้ภาชนะสำหรับรับประทานอาหารร่วมกับผู้อื่นโดยเฉพาะผู้ที่เป็นพาหะ การมีเพศสัมพันธ์แบบป้องกันการติดเชื้อ โลหิตบริจาคต้องได้รับการตรวจคัดกรองเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ก่อนนำไปให้ผู้ป่วย เป็นต้น ปัจจุบันยังมีการนำความรู้ทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยามาประยุกต์ใช้เพื่อการป้องกันการติดเชื้อ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ active immunization และ passive immunization

Active immunization เป็นการให้วัคซีนป้องกันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี โดยการผลิตโปรตีน HBsAg ด้วยวิธีทางพันธุวิศวกรรม เรียกว่า recombinant DNA vaccine ซึ่งมีประสิทธิผลสูง (high efficacy) ในการป้องกันการติดเชื้อ ในประเทศไทยได้นำวัคซีนเข้ามาใช้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2531 โดยฉีดวัคซีนเข็มแรกให้กับ

ทารกภายใน 24 ชั่วโมงหลังคลอด เข็มที่ 2, 3 และ 4 ในเดือนที่ 2, 4 และ 6 ตามลำดับ ในกรณีที่แม่มีผลการตรวจ HBsAg เป็นบวกจะฉีดเพิ่มอีก 1 เข็มเมื่อทารกอายุครบ 1 เดือน[113] โดยพบว่าภูมิคุ้มกันที่สร้างนั้นสามารถป้องกันโรคได้ร้อยละ 90-95[114] แม้ว่าการฉีดวัคซีนจะได้ผลค่อนข้างดีในกลุ่มประชากรส่วนใหญ่ แต่ยังพบว่าในกลุ่มเด็กทารกที่คลอดจากแม่ที่มีปริมาณเชื้อสูง (HBV DNA ประมาณ $2x10^5$ IU/mL) ยังคงพบผลการตรวจเป็นบวกประมาณ 7% ดังนั้น American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD) แนะนำให้ antiviral prophylaxis ได้แก่ Telbivudine, Lamivudine หรือ Tenofovir disoproxil fumarate (TDF) แก่มารดาที่ตั้งครรภ์ไตรมาสที่ 3 ซึ่งจะช่วยทำให้อัตราการติดเชื้อในทารกลดลงได้[19] สำหรับ passive immunization จะใช้ในกรณีที่มารดาเป็นพาหะโดยเฉพาะผู้ที่มีผลการตรวจ HBeAg เป็นบวก โดยการฉีด hepatitis B immune globulin (HBIG) ให้กับทารกแรกคลอดภายใน 1 ชั่วโมง เพื่อป้องกันการติดเชื้อจากมารดา โดยใช้ร่วมกับการฉีดวัคซีนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกัน จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการป้องกันได้ถึง 90%[115] สำหรับการป้องกันการติดเชื้อในกลุ่มผู้ใหญ่คือแนะนำการฉีดวัคซีนในกลุ่มที่มีความเสี่ยงต่อการสัมผัสเชื้อ ได้แก่ กลุ่มเสี่ยงต่อการติดเชื้อจากการมีเพศสัมพันธ์ เช่น ผู้ที่มีคู่นอนเป็นพาหะ ผู้ที่มีพฤติกรรมเปลี่ยนคู่นอนบ่อย ผู้ที่กำลังรักษาโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กลุ่มชายรักชาย (MSM) เป็นต้น รวมทั้งกลุ่มที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อผ่านการสัมผัสสารคัดหลั่ง เช่น ผู้ที่มีประวัติหรือกำลังใช้ยาฉีด ผู้ที่อาศัยร่วมกับผู้ที่เป็นพาหะ ผู้ที่ทำงานในโรงพยาบาลที่ต้องสัมผัสกับเลือดและสารคัดหลั่ง เป็นต้น นอกจากนี้ในกลุ่มที่ติดเชื้อแบบเรื้อรังก็สามารถฉีดวัคซีนป้องกันได้เช่นกัน[116]

การรักษาไวรัสตับอักเสบ บี

ในปัจจุบันการรักษาผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี มีจุดมุ่งหมายเพื่อควบคุมจำนวนเชื้อไวรัสให้มีปริมาณน้อยที่สุด เพื่อป้องกันการเกิดตับแข็ง มะเร็งตับ และการเสียชีวิตจากโรคตับที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต ในปัจจุบันยาต้านเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี แบ่งเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ pegylated interferon (PEG-IFN) และ oral nucleoside/nucleotide analogs (NAs) ซึ่งยาทั้ง 2 กลุ่มมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ได้ แต่ยังไม่สามารถกำจัดเชื้อไวรัสให้หมดจนหายขาดได้ (HBsAg clearance) และมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน ดังนี้[93,117]

PEG-IFN ยาที่ออกฤทธิ์โดยต้านการเพิ่มจำนวนของไวรัสและกระตุ้นการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกาย ข้อดี คือ มีระยะเวลาของการรักษาแน่นอน โดยจะใช้เวลาการรักษา 48 สัปดาห์ ไม่พบว่ามีการดื้อยา มีโอกาสหายขาดมากกว่า และมีโอกาสเกิดอาการกำเริบของตับอักเสบหลังหยุดยาน้อยกว่า แต่มีข้อจำกัด คือ ราคาสูง เป็นแบบฉีดเข้าใต้ผิวหนัง และอาจมีผลข้างเคียงจากการรักษา เช่น กลุ่มอาการคล้ายไข้หวัดใหญ่ มีไข้ อ่อนเพลีย ซึมเศร้า เป็นต้น

NAs ยากลุ่มนี้มีฤทธิ์ต้านการเพิ่มจำนวนของไวรัสโดยตรง โดยยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ HBV-DNA polymerase ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนของไวรัส ได้แก่ lamivudine adefovir dipivoxil entecavir telbivudine TDF และ tenofovir alafenamide ข้อดี คือ เป็นยาแบบรับประทาน มีผลข้างเคียงน้อย ข้อจำกัด คือ ต้องใช้ยาติดต่อกันเป็นเวลานานและมีโอกาสกำเริบของตับอักเสบหลังหยุดยา และมีโอกาสดื้อยาได้

อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีคำแนะนำในการใช้ยาต้านไวรัสในกลุ่ม OBI ปัจจุบันกลุ่มนักวิจัยได้นำเทคโนโลยีต่างๆ มาประยุกต์ใช้สำหรับการรักษาโดยมีเป้าหมายคือ cccDNA โดยเชื่อว่าเป็นกุญแจสำคัญในกระบวนการเพิ่มจำนวนของเชื้อภายในเซลล์ตับ ตัวอย่างการศึกษาโดยใช้เทคโนโลยี CRISPR/Cas 9 ซึ่งใช้เทคนิคการตัดต่อ cccDNA (gene editing) ในตับให้เปลี่ยนไปจนไม่สามารถสร้างไวรัสตัวใหม่ได้[118] หรือใช้วิธีการกระตุ้น cytokine เช่น interferon-gamma (IFN-γ) และ tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) เพื่อลดระดับของ cccDNA ในเซลล์ตับ เป็นต้น[119] นอกจากนี้ยังมีการใช้วิธีการกำจัดเซลล์ตับที่ติดเชื้ออย่างจำเพาะ เช่น การใช้ HBV-specific T cell response และ therapeutic HBV vaccines, engineered T cell therapy (CAR-T therapy) เป็นต้น[120,121] ความยากลำบากในการจัดการปัญหาที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี จึงเป็นความท้าทายของนักวิทยาศาสตร์ในการที่จะคิดค้นวิธีการรักษาผู้ป่วยซึ่งต้องอาศัยองค์ความรู้ต่างๆ ความเข้าใจวงจรชีวิตของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี และการตอบสนองต่อเชื้อของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายของผู้ติดเชื้ออีกด้วย[72]

สรุป

ไวรัสตับอักเสบ บี หรือ HBV คงพบการติดเชื้ออยู่เป็นจำนวนมากซึ่งเป็นปัญหาด้านสาธารณสุขทั่วโลกและมีการรายงานการติดเชื้อในทุกปี แม้ว่าจะมีความพยายามในทุกรูปแบบที่จะสร้างกลยุทธ์ต่างๆ เพื่อแก้ปัญหาและทำให้อัตราการติดเชื้อลดลง เช่น การนำวัคซีนมาใช้ในทารกแรกเกิด การนำเทคโนโลยีที่ทันสมัยมาประยุกต์

ใช้สำหรับการตรวจหาเชื้อ และวิธีการรักษาที่มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น ซึ่งต้องอาศัยทั้งความรู้พื้นฐานและองค์ความรู้ใหม่ในการคิดค้นและพัฒนา เช่น ด้านไวรัสวิทยา และกลไกของการทำให้เกิดโรค (virology and pathogenesis) ระบาดวิทยา (epidemiology) การวินิจฉัยโรค (diagnosis) และการป้องกัน (prevention) อย่างไรก็ตาม กลไกการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ยังมีความซับซ้อนโดยเฉพาะการติดเชื้อแบบเรื้อรัง (OBI) และการติดเชื้อซ้ำ (recurrent HBV infection) ซึ่งอาจจะเป็นสาเหตุที่ทำให้ปัญหาการติดเชื้อ HBV ยังคงมีอยู่ ซึ่งต้องอาศัยการวินิจฉัยเพิ่มเติมและการรักษาที่เหมาะสม โดยอาจจะมีความจำเป็นต้องใช้วิธีการรักษามากกว่าหนึ่งรูปแบบเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการรักษาให้ดียิ่งขึ้น สำหรับองค์ความรู้ด้านอณูชีวโมเลกุลอีกแขนงหนึ่งที่อยู่ในขั้นตอนของการศึกษาเพิ่มเติมอาจจะเป็นอีกหนึ่งความหวังที่จะสามารถทำให้การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี และโรคแทรกซ้อนที่ร้ายแรงลดลงมากกว่าที่เป็นอยู่ในปัจจุบัน

เอกสารอ้างอิง

1. *World Health Organization. Regional action plan for viral hepatitis in South-East Asia: 2016-2021; 2017.*
2. *Biswas A, Panigrahi R, Pal M, Chakraborty S, Bhattacharya P, Chakrabarti S, et al. Shift in the hepatitis B virus genotype distribution in the last decade among the HBV carriers from eastern India: possible effects on the disease status and HBV epidemiology. J Med Virol. 2013;85:1340-7.*
3. *Sunbul M. Hepatitis B virus genotypes: global distribution and clinical importance. World J Gastroenterol. 2014;20:5427-34.*
4. *MacCallum F. Homologous serum hepatitis. SAGE Publications; 1946.*
5. *Blumberg BS. Australia antigen and the biology of hepatitis B. Science. 1977;197:17-25.*
6. *Dane D, Cameron C, Briggs M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. The lancet. 1970;295:695-8.*
7. *Magnius L, Mason WS, Taylor J, Kann M, Glebe D, Dény P, et al. ICTV virus taxonomy profile: Hepadnaviridae. J Gen Virol. 2020;101:571-2.*
8. *Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences. N Engl J Med. 2004;350:1118-29.*
9. *Lamontagne RJ, Bagga S, Bouchard MJ. Hepatitis B virus molecular biology and pathogenesis. Hepatoma research. 2016;2:163.*
10. *İnan N, Tabak F. Hepatitis B virus: Biology and life cycle; 2015.*
11. *Seeger C, Mason WS. Molecular biology of hepatitis B virus infection. Virology. 2015;479:672-86.*
12. *Yan H, Zhong G, Xu G, He W, Jing Z, Gao Z, et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus. eLife. 2012;1:e00049. doi: 10.7554/eLife.00049.*
13. *Blanchet M, Sureau C. Infectivity determinants of the hepatitis B virus pre-S domain are confined to the N-terminal 75 amino acid residues. J Virol. 2007;81:5841-9.*
14. *Schulze A, Seitz S, Gripon P, Urban S. Hepatitis B Virus infection initiates with a large surface protein-dependent binding to heparan sulfate proteoglycans. Zeitschrift für Gastroenterologie. 2008;46:P4_41.*
15. *Huang H-C, Chen C-C, Chang W-C, Tao M-H, Huang C. Entry of hepatitis B virus into immortalized human primary hepatocytes by clathrin-dependent endocytosis. J Virol. 2012;86:9443-53.*
16. *Schreiner S, Nassal M. Role for the host DNA damage response in hepatitis B virus cccDNA formation-and beyond? Viruses. 2017;9:125. doi: 10.3390/v9050125.*
17. *Rall LB, Standring D, Laub O, Rutter W. Transcription of hepatitis B virus by RNA polymerase II. Mol Cell Biol. 1983;3:1766-73.*
18. *Venkatakrishnan B, Zlotnick A. The structural biology of hepatitis B virus: form and function. Annu Rev Virol. 2016;3:429-51.*
19. *Yuen M-F, Chen D-S, Dusheiko GM, Janssen HL, Lau DT, Locarnini SA, et al. Hepatitis B virus infection. Nat Rev Dis Primers. 2018;4:1-20.*
20. *Tsukuda S, Watashi K. Hepatitis B virus biology and life cycle. Antiviral Res. 2020:104925. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104925.*
21. *Ko C, Chakraborty A, Chou W-M, Hasreiter J, Wettengel JM, Stadler D, et al. Hepatitis B virus genome recycling and de novo secondary infection events maintain stable cccDNA levels. J Hepatol. 2018;69:1231-41.*
22. *Boyd A, Lacombe K, Lavocat F, Maylin S, Miailhes P, Lascoux-Combe C, et al. Decay of ccc-DNA marks persistence of intrahepatic viral DNA synthesis under tenofovir in HIV-HBV co-infected patients. J Hepatol. 2016;65:683-91.*
23. *Norder H, Couroucé AM, Magnius LO. Molecular basis of hepatitis B virus serotype variations within the four major subtypes. J Gen Virol. 1992;73:3141-5.*
24. *Norder H, Couroucé A-M, Coursaget P, Echevarria JM, Lee S-D, Mushahwar IK, et al. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. Intervirology. 2004;47:289-309.*
25. *Bouckaert R, Alvarado-Mora MV, Pinho JR. Evolutionary rates and HBV: issues of rate estimation with Bayesian molecular methods. Antivir Ther. 2013;18(3 Pt B):497-503.*
26. *Kurbanov F, Tanaka Y, Mizokami M. Geographical and genetic diversity of the human hepatitis B virus. Hepatol Res. 2010;40:14-30.*
27. *Kramvis A. Genotypes and genetic variability of hepatitis B virus. Intervirology. 2014;57:141-50.*

28. *Thuy PTB, Alestig E, Liem NT, Hannoun C, Lindh M. Genotype X/C recombinant (putative genotype I) of hepatitis B virus is rare in Hanoi, Vietnam-genotypes B4 and C1 predominate. J Med Virol. 2010;82:1327-33.*
29. *Tatematsu K, Tanaka Y, Kurbanov F, Sugauchi F, Mano S, Maeshiro T, et al. A genetic variant of hepatitis B virus divergent from known human and ape genotypes isolated from a Japanese patient and provisionally assigned to new genotype J. J Virol. 2009;83:10538-47.*
30. *Lin C-L, Kao JH. Hepatitis B virus genotypes and variants. Cold Spring Harb Perspect Med. 2015;5:a021436. doi: 10.1101/cshperspect.a021436.*
31. *Velkov S, Ott JJ, Protzer U, Michler T. The global hepatitis B virus genotype distribution approximated from available genotyping data. Genes. 2018;9:495. doi: 10.3390/genes9100495.*
32. *Alestig E. Geographic and genetic diversity of hepatitis B; 2011.*
33. *World Health Organization. Global hepatitis report 2017. Geneva: World Health Organization; 2017.*
34. *Previsani N, Lavanchy D. Hepatitis B. Department of communicable diseases surveillance and response. Geneva: World Health Organization; 2002.*
35. *Hou J, Liu Z, Gu F. Epidemiology and prevention of hepatitis B virus infection. Int J Med Sci. 2005;2:50-7.*
36. *Liang X, Bi S, Yang W, Wang L, Cui G, Cui F, et al. Reprint of: Epidemiological serosurvey of Hepatitis B in China-declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination. Vaccine. 2013;31(suppl 9):J21-8.*
37. *Marschall T, Kretzschmar M, Mangen M-JJ, Schalm S. High impact of migration on the prevalence of chronic hepatitis B in the Netherlands. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2008;20:1214-25.*
38. *MacLachlan JH, Cowie BC. Hepatitis B virus epidemiology. Cold Spring Harb Perspect Med. 2015;5:a021410. doi: 10.1101/cshperspect.a021410.*
39. *Louisirirotchanakul S, Olinger CM, Arunkaewchaemsri P, Poovorawan Y, Kanoksinsombat C, Thongme C, et al. The distribution of hepatitis B virus genotypes in Thailand. J Med Virol. 2012;84:1541-7.*
40. *Posuwan N, Wanlapakorn N, Sa-Nguanmoo P, Wasitthankasem R, Vichaiwattana P, Klinfueng S, 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. do: 10.1371/journal.pone.0150499.*
41. *Sa-nguanmoo P, Tangkijvanich P, Thawornsuk N, Vichaiwattana P, Prianantathavorn K, Theamboonlers A, et al. Molecular epidemiological study of hepatitis B virus among migrant workers from Cambodia, Laos, and Myanmar to Thailand. J Med Virol. 2010;82:1341-9.*
42. *Darpel KE, Barber J, Hope A, Wilson AJ, Gubbins S, Henstock M, et al. Using shared needles for subcutaneous inoculation can transmit bluetongue virus mechanically between ruminant hosts. Sci Rep. 2016;6:20627. Doi: 10.1038/srep20627.*
43. *Shikata T, Karasawa T, Abe K, Uzawa T, Suzuki H, Oda T, et al. Hepatitis B e antigen and infectivity of hepatitis B virus. J Infect Dis. 1977;136:571-6.*
44. *Bancroft WH, Snitbhan R, McNair Scott R, Tingpalapong M, Watson WT, Tanticharoenyos P, et al. Transmission of hepatitis B virus to gibbons by exposure to human saliva containing hepatitis B surface antigen. J Infect Dis. 1977;135:79-85.*
45. *Preboth M. PHS guidelines for management of occupational exposure to HBV, HCV and HIV: management of occupational blood exposures. Am Fam Physician. 2001;64:2012-4.*
46. *Bond W, Favero M, Petersen N, Gravelle C, Ebert J, Maynard J. Survival of hepatitis B virus after drying and storage for one week. Lancet. 1981;1:550-1.*
47. *Jonas MM, Block JM, Haber BA, Karpen SJ, London WT, Murray KF, et al. Treatment of children with chronic hepatitis B virus infection in the United States: patient selection and therapeutic options. Hepatology. 2010;52:2192-205.*
48. *McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, Heyward WL, Bender TR, Francis DP, et al. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. J Infect Dis. 1985;151:599-603.*
49. *Beasley RP, Shiao I-S, Stevens C, Meng H-C. Evidence against breast-feeding as a mechanism for vertical transmission of hepatitis B. The Lancet. 1975;306:740-1.*
50. *Wong F, Pai R, Van Schalkwyk J, Yoshida EM. Hepatitis B in pregnancy: a concise review of neonatal vertical transmission and antiviral prophylaxis. Ann Hepatol. 2014;13:187-95.*
51. *Beasley RP, George C-YL, Roan C-H, Hwang L-Y, Lan C-C, Huang F-Y, et al. Prevention of perinatally transmitted hepatitis B virus infections with hepatitis B immune globulin and hepatitis B vaccine. The Lancet. 1983;322:1099-102.*
52. *Nordenfelt E, Dahlquist E. HBsAg positive adopted children as a cause of intrafamilial spread of hepatitis B. Scand J Infect Dis. 1978;10:161-3.*
53. *Oliveira MP, Matos MA, Silva ÁM, Lopes CL, Teles SA, Matos MA, et al. Prevalence, risk behaviors, and virological characteristics of hepatitis B virus infection in a group of men who have sex with men in Brazil: results from a respondent-driven sampling survey. PLoS One. 2016;11:e0160916. doi: 10.1371/journal.pone.0160916.*
54. *Allain JP, Candotti D. Hepatitis B virus in transfusion medicine: still a problem? Biologicals. 2012;40:180-6.*
55. *World Health Organization. Screening donated blood for transfusion-transmissible infections: recommendations. Geneva: World Health Organization; 2010.*
56. *Evatt BL, Margolis MHS, Biswas R, Epstein MJS, Feinstone MSM, Finlayson JS, et al. Public Health Service inter-agency guidelines for screening donors of blood, plasma, organs, tissues, and semen for evidence of hepatitis B and hepatitis C. MMWR Recomn Rep. 1991;40:1-7.*

57. Saraswat S, Banerjee K, Chaudhury N, Mahant T, Khandekar P, Gupta RK, et al. Post-transfusion hepatitis type B following multiple transfusions of HBsAg-negative blood. Journal Hepatol. 1996;25:639-43.
58. Norder H, Hammas B, Larsen J, Skaug K, Magnius L. Detection of HBV DNA by PCR in serum from an HBsAg negative blood donor implicated in cases of post-transfusion hepatitis B. Chronically Evolving Viral Hepatitis: Springer; 1992. p. 116-8.
59. Chimparlee N, Oota S, Phikulsod S, Tangkijvanich P, Poovorawan Y. Hepatitis B and hepatitis C virus in Thai blood donors. South-east Asian J Trop Med Public Health. 2011;42:609-15.
60. Kim MJ, Park Q, Min HK, Kim HO. Residual risk of transfusion-transmitted infection with human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Korea from 2000 through 2010. BMC Infect Dis. 2012;12:160. doi: 10.1186/1471-2334-12-160.
61. Candotti D, Laperche S. Hepatitis B virus blood screening: need for reappraisal of blood safety measures? Front Med. 2018;5:29. doi: 10.1186/1471-2334-12-160.
62. Tabuchi A, Tanaka J, Katayama K, Mizui M, Matsukura H, Yugi H, et al. Titration of hepatitis B virus infectivity in the sera of pre-acute and late acute phases of HBV infection: transmission experiments to chimeric mice with human liver repopulated hepatocytes. J Med Virol. 2008;80:2064-8.
63. Hsia CC, Purcell RH, Farshid M, Lachenbruch PA, Yu MyW. Quantification of hepatitis B virus genomes and infectivity in human serum samples. Transfusion. 2006;46:1829-35.
64. Niederhauser C, Weingand T, Candotti D, Maier A, Tinguely C, Wuillemin W, et al. Fatal outcome of a hepatitis B virus transfusion-transmitted infection. Vox Sang. 2010;98:504-7.
65. Yoshikawa A, Gotanda Y, Itabashi M, Minegishi K, Kanemitsu K, Nishioka K, 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.
66. Hoofnagle J, Gerety R, Barker L. Hepatitis B core antigen and antibody. Dev Biol Stand. 1975;30:175-85.
67. Niederhauser C. Reducing the risk of hepatitis B virus transfusion-transmitted infection. J Blood Med. 2011;2:91-102.
68. Chunsuttiwat S, Biggs B-A, Maynard J, Thamapalo S, Laoboripat S, Bovornsin S, et al. Integration of hepatitis B vaccination into the expanded programme on immunization in Chonburi and Chiangmai provinces, Thailand. Vaccine. 1997;1:769-74.
69. Leroi C, Adam P, Khamduang W, Kawilapat S, Ngo-Giang-Huong N, Ongwandee S, 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.
70. Mortensen E, Kamali A, Schirmer PL, Lucero-Obusan C, Winston CA, Oda G, et al. Are current screening protocols for chronic hepatitis B virus infection adequate? Diagn Microbiol Infect Dis. 2016;85:159-67.
71. Chemin I, Guillaud O, Queyron PC, Trépo C. Close monitoring of serum HBV DNA levels and liver enzymes levels is most useful in the management of patients with occult HBV infection. J Hepatol. 2009;51:824-5.
72. Raimondo G, Locarnini S, Pollicino T, Levrero M, Zoulim F, Lok AS, et al. Update of the statements on biology and clinical impact of occult hepatitis B virus infection. J Hepatol. 2019;71:397-408.
73. Zerbini A, Pilli M, Boni C, Fisicaro P, Penna A, Di Vincenzo P, et al. The characteristics of the cell-mediated immune response identify different profiles of occult hepatitis B virus infection. Gastroenterology. 2008;134:1470-81.
74. Chaudhuri V, Tayal R, Nayak B, Acharya SK, Panda SK. Occult hepatitis B virus infection in chronic liver disease: full-length genome and analysis of mutant surface promoter. Gastroenterology. 2004;127:1356-71.
75. Huang C-H, Yuan Q, Chen P-J, Zhang Y-L, Chen C-R, Zheng Q-B, et al. Influence of mutations in hepatitis B virus surface protein on viral antigenicity and phenotype in occult HBV strains from blood donors. J Hepatol. 2012;57:720-9.
76. Esposito A, Sabia C, Iannone C, Nicoletti GF, Sommese L, Napoli C. Occult hepatitis infection in transfusion medicine: screening policy and assessment of current use of anti-HBc testing. Transfus Med Hemother. 2017;44:263-72.
77. Kupek E. Residual risk of hepatitis-B-infected blood donations: estimation methods and perspectives. Int Scholar Res Notices. 2013;2013. doi: 10.5402/2013/839896.
78. Candotti D, Assennato SM, Laperche S, Allain J-P, Levicnik-Stezinar S. Multiple HBV transfusion transmissions from undetected occult infections: revising the minimal infectious dose. Gut. 2019;68:313-21.
79. Yuen M-F, Ka-Ho Wong D, Lee C-K, Tanaka Y, Allain J-P, Fung J, et al. Transmissibility of hepatitis B virus (HBV) infection through blood transfusion from blood donors with occult HBV infection. Clin Infect Dis. 2011;52:624-32.
80. Sodhi JS, Wani N, Jeelani S, Geelani S, Akhtar F, Javid G, et al. Occult hepatitis B virus infection as a cause of posttransfusion hepatitis in patients with cancers. Indian Journal of Gastroenterology. 2013;32:291-6.
81. Seed C, Maloney R, Kiely P, Bell B, Keller A, Pink J. Blood Service Medical Services Lookback Team. Infectivity of blood components from donors with occult hepatitis B infection-Results from an Australian lookback programme. Vox Sang. 2015;108:113-22.
82. Lieshout-Krikke RW, van Kraaij MG, Danovic F, Zaaijer HL. Rare transmission of hepatitis B virus by D utch donors with occult infection. Transfusion. 2016;56:691-8.
83. Chiewsil P. Hemovigilance: Thailand: annual report 2001-2004 and 2005-2008. J Hematol Transfus Med. 2009;19:203-9.
84. McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. Hepatology. 2009;49(S5):S45-55.

85. Webster GJ, Reignat S, Maini MK, Whalley SA, Ogg GS, King A, et al. Incubation phase of acute hepatitis B in man: dynamic of cellular immune mechanisms. Hepatology. 2000;32:1117-24.
86. Xia Y, Stadler D, Lucifora J, Reisinger F, Webb D, Hösel M, et al. Interferon-γ and Tumor Necrosis Factor-α Produced by T Cells Reduce the HBV Persistence Form, cccDNA, Without Cytolysis. Gastroenterology. 2016;150:194-205.
87. Ahn SH, Park YN, Park JY, Chang HY, Lee JM, Shin JE, et al. Long-term clinical and histological outcomes in patients with spontaneous hepatitis B surface antigen seroclearance. J Hepatol. 2005;42:188-94.
88. Hsu C, Tsou HH, Lin SJ, Wang MC, Yao M, Hwang WL, et al. Chemotherapy-induced hepatitis B reactivation in lymphoma patients with resolved HBV infection: a prospective study. Hepatology. 2014;59:2092-100.
89. Seto WK, Chan TS, Hwang YY, Wong DK, Fung J, Liu KS, et al. Hepatitis B reactivation in occult viral carriers undergoing hematopoietic stem cell transplantation: A prospective study. Hepatology. 2017;65:1451-61.
90. Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. Nat Med. 1996;2:1104-8.
91. Yuki N, Nagaoka T, Yamashiro M, Mochizuki K, Kaneko A, Yamamoto K, et al. Long-term histologic and virologic outcomes of acute self-limited hepatitis B. Hepatology. 2003;37:1172-9.
92. Terrault NA, Lok ASF, McMahon BJ, Chang KM, Hwang JP, Jonas MM, et al. Update on prevention, diagnosis, and treatment of chronic hepatitis B: AASLD 2018 hepatitis B guidance. Hepatology. 2018;67:1560-99.
93. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection. J Hepatol. 2017;67(2):370-98.
94. Fattovich G, Bortolotti F, Donato F. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. J Hepatol. 2008;48:335-52.
95. Yim HJ, Lok ASF. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. Hepatology. 2006;43(S1):S173-81.
96. Beasley RP, Lin CC, Chien CS, Chen CJ, Hwang LY. Geographic distribution of HBsAg carriers in China. Hepatology. 1982;2:553-6.
97. Raffetti E, Fattovich G, Donato F. Incidence of hepatocellular carcinoma in untreated subjects with chronic hepatitis B: a systematic review and meta-analysis. Liver Int. 2016;36:1239-51.
98. Iloeje UH, Yang HI, Jen CL, Su J, Wang LY, You SL, et al. Risk and predictors of mortality associated with chronic hepatitis B infection. Clin Gastroenterol Hepatol. 2007;5:921-31.
99. Chen CJ, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Lu SN, et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. Jama. 2006;295:65-73.
100. Yuen MF, Tanaka Y, Fong DY, Fung J, Wong DK, Yuen JC, et al. Independent risk factors and predictive score for the development of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B. J Hepatol. 2009;50:80-8.
101. Wong VW, Chan SL, Mo F, Chan TC, Loong HH, Wong GL, et al. Clinical scoring system to predict hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B carriers. J Clin Oncol. 2010;28:1660-5.
102. Kao JH. Diagnosis of hepatitis B virus infection through serological and virological markers. Expert Rev Gastroenterol Hepatol. 2008;2:553-62.
103. Zanetti A, Tanzi E, Manzillo G, Maio G, Sbreglia C, Caporaso N, et al. Hepatitis B variant in Europe. Lancet. 1988;332:1132-3.
104. Aragri M, Alteri C, Battisti A, Di Carlo D, Minichini C, Sagnelli C, et al. Multiple hepatitis B virus (HBV) quasispecies and immune-escape mutations are present in HBV surface antigen and reverse transcriptase of patients with acute hepatitis B. J Infect Dis. 2016;213:1897-905.
105. Huang YW, Lin CL, Chen PJ, Lai MY, Kao JH, Chen DS. Higher cut-off index value of immunoglobulin M antibody to hepatitis B core antigen in Taiwanese patients with hepatitis B. J Gastroenterol Hepatol. 2006;21:859-62.
106. Cholongitas E, Haidich A-B, Apostolidou-Kiouti F, Chalevas P, Papatheodoridis GV. Hepatitis B virus reactivation in HBsAg-negative, anti-HBc-positive patients receiving immunosuppressive therapy: a systematic review. Ann Gastroenterol. 2018;31:480-90.
107. Jackson K, Locarnini S, Gish R. Diagnostics of hepatitis B virus: standard of care and investigational. Clin Liver Dis. 2018;12:5-11.
108. Liu Y, Zeng W, Xi J, Liu H, Liao H, Yu G, et al. Over-gap PCR amplification to identify presence of replication-competent HBV DNA from integrated HBV DNA: an updated occult HBV infection definition. J Hepatol. 2019;70:557-9.
109. Liang TJ. Hepatitis B: the virus and disease. Hepatology. 2009;49(S5):S13-21.
110. St John A. The evidence to support point-of-care testing. Clin Biochem Rev. 2010;31:111-9.
111. Lange B, Cohn J, Roberts T, Camp J, Chauffour J, Gummadi N, et al. Diagnostic accuracy of serological diagnosis of hepatitis C and B using dried blood spot samples (DBS): two systematic reviews and meta-analyses. BMC Infect dis. 2017;17(suppl 1):87-106.
112. Chevaliez S, Pawlotsky JM. New virological tools for screening, diagnosis and monitoring of hepatitis B and C in resource-limited settings. J Hepatol. 2018;69:916-26.
113. Posuwan N, Wanlapakorn N, Sintusek P, Wasitthankasem R, Poovorawan K, Vongpunsawad S, et al. Towards the elimination of viral hepatitis in Thailand by the year 2030. J Virus Erad. 2020;6:100003. doi: 10.1016/j/jve.2020.100003.

114. *Greenberg DP, Vadheim CM, Wong VK, MARCY SM, Partridge S, Greene T, et al. Comparative safety and immunogenicity of two recombinant hepatitis B vaccines given to infants at two, four and six months of age. Pediatr Infect Dis J. 1996;15:590-6.*

115. *Lo K-J, Tsai Y, Lee S-D, Yeh C, Wang J, Chiang B, et al. Combined passive and active immunization for interruption of perinatal transmission of hepatitis B virus in Taiwan. Hepato-gastroenterology. 1985;32:65-8.*

116. *Mast EE, Weinbaum CM, Fiore AE, Alter MJ, Bell BP, Finelli L, et al. A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States; recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP); Immunization of adults; Part II; 2005.*

117. *Likhitsup A, Lok AS. Understanding the natural history of hepatitis B virus infection and the new definitions of cure and the endpoints of clinical trials. Clin Liver Dis. 2019;23:401-16.*

118. *Seeger C, Sohn JA. Targeting hepatitis B virus with CRISPR/Cas9. Mol Ther Nucleic Acids. 2014;3:e216. doi: 10.1038/mtna.2014.68.*

119. *Xia Y, Stadler D, Lucifora J, Reisinger F, Webb D, Hösel M, et al. Interferon-γ and tumor necrosis factor-α produced by T cells reduce the HBV persistence form, cccDNA, without cytolysis. Gastroenterology. 2016;150:194-205.*

120. *Bertoletti A, Tan AT. HBV as a target for CAR or TCR-T cell therapy. Curr Opin Immunol. 2020;66:35-41.*

121. *Nguyen MH, Wong G, Gane E, Kao J-H, Dusheiko G. Hepatitis B virus: advances in prevention, diagnosis, and therapy. Clin Microbiol Rev. 2020;33:e00046-19. doi: 10.1128/CMR.00046-19.*