T 162319

บทคัดย่อ

การตรวจการติดเชื้อ Human herpesvirus-8 (HHV-8) ในผู้ป่วยที่แสดงรอยโรคที่ผิวหนังโดยไม่ทราบสาเหตุ ผู้ป่วยโรค Hemangioma และเด็กปกติ โดยใช้เทคนิค Real-Time PCR

วาสนา ศิริรังษี*, กมล มีฤทธิ์*, จุฬาภรณ์ พฤษชาติคุณากร***, ปราณี ลี้ชนะชัย*, Nicole Ngo-Giang-Huong**
*ภาควิชาเทคนิคการแพทย์, **The Program for HIV Prevention and Treatment (PHPT), คณะเทคนิคการแพทย์, ***คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ความสำคัญ: การติดเชื้อ HHV-8 เป็นสาเหตุของโรค Kaposi's sarcoma ที่พบบ่อยในผู้ติดเชื้อเอชไอวี และแม้ว่ามีผู้ติดเชื้อเอชไอวีจำนวนหนึ่งในประเทศไทย แต่กลับพบโรค Kaposi's sarcoma น้อยมาก รวมถึงยังไม่ทราบลักษณะอาการจากการติดเชื้อแบบปฐมภูมิในบุคคลทั่วไปหรือในเด็ก ดังนั้นจึงสมควรศึกษาการติดเชื้อนี้ในประเทศไทย

วัตถุประสงค์: เพื่อตรวจการติดเชื้อ HHV-8 ในผู้ป่วยที่แสดงรอยโรคที่ผิวหนังโดยไม่ทราบสาเหตุ และผู้ป่วยโรค Hemangioma เปรียบเทียบกับการตรวจหาเชื้อในน้ำลายของเด็กปกติ

วิธีการ: ทำการศึกษาในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ จำนวน 10 ราย โดยตรวจหา HHV-8 DNA จากเม็ดเลือดขาว และน้ำลายของผู้ป่วย และตรวจหาแอนติบอดีต่อ HHV-8 ในพลาสมาของผู้ป่วยโดยใช้วิธี Indirect immunofluorescence assay ส่วนในเด็กปกติ ตรวจหา HHV-8 DNA ในน้ำลายของเด็กอายุระหว่าง 4-12 ปี ในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 77 ราย การเก็บน้ำลายใช้ชุดเก็บน้ำลาย OraSure® แล้วสกัด DNA จากเม็ดเลือดขาว และน้ำลาย ด้วย QIAamp® DNA Blood Mini Kit (QIAGEN) หาปริมาณ DNA ที่สกัดได้ด้วยเครื่อง Hoefer DyNA Quant 200 ตรวจหา HHV-8 DNA โดยใช้เทคนิค Real-Time PCR ด้วยเครื่อง ABI PRISM 7000 (TaqMan®) และใช้ Primers / Probe ที่จำเพาะต่อ ORF-26 และ ORF-73 ของไวรัส

ผลการศึกษา: สามารถสกัด DNA จากน้ำลายของเด็ก 87 ตัวอย่าง และจากเม็ดเลือดขาวจำนวน 9 ตัวอย่าง ได้ในปริมาณ 1-174 และ 15-268 µg/ml. ตามลำดับ พบความไวในการตรวจหา HHV-8 DNA คือตั้งแต่ 1.3 copies/reaction โดยตรวจพบ HHV-8 lytic antibody ในพลาสมาของผู้ป่วยจำนวน 1 ราย ไม่พบ latent antibody และตรวจไม่พบ HHV-8 DNA ในเม็ดเลือดขาวและน้ำลายของเด็กทั้งหมด

สรุป: ยังตรวจไม่พบการติดเชื้อ HHV-8 ในเด็กที่ศึกษา การพบ HHV-8 lytic antibody เพียงอย่างเดียวยังไม่สามารถกล่าวได้แน่ชัดว่ามีการติดเชื้อ ควรศึกษาเพิ่มเติมด้วยการตรวจวิธีอื่น อย่างไรก็ตามพบว่าการเก็บน้ำลายด้วยชุด Orasure® สามารถใช้ในการตรวจหา DNA ได้ และเทคนิค Real-Time PCR เหมาะสำหรับงานสำรวจการติดเชื้อนี้ แต่จากการศึกษานี้แสดงว่าประเทศไทยมีความชุกของการติดเชื้อ HHV-8 ต่ำ ดังนั้นการศึกษาในจำนวนตัวอย่างตรวจที่มากกว่านี้จึงมีความจำเป็น

Abstract TE 162319

Detection of Human herpesvirus-8 (HHV-8) Infection in Patients with Skin Lesions of Unknown Origin, Hemangioma and in Normal Children by Real-Time PCR Technique

Wasna Sirirungsi*, Kamon Meerit*, Churaporn Pruksachatkunakorn*, Pranee Leechanachai*, Nicole Ngo-Giang-Huong****

***Division of Clinical Microbiology, **Program for HIV Prevention and Treatment (PHPT), Faculty of Associated Medical Sciences, *** Faculty of Medicine, Chiang Mai University**

Rationale: Human herpesvirus-8 (HHV-8) is a cause of Kaposi's sarcoma (KS) mainly found in HIV infected patient. Despite an existing of HIV infection in Thailand, few KS cases were found. Interestingly, clinical manifestations of HHV-8 infection in general population and children are unknown. Therefore, it is necessary to survey for HHV-8 infection in Thailand.

Objective: To detect HHV-8 infection in young patients of unknown diagnosis, in comparison with HHV-8 DNA detection in saliva of normal children in Chiang Mai.

Methods: HHV-8 infection in 10 young patients attending Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital was investigated. Detection of HHV-8 lytic and latent antibody in plasma by immunofluorescence technique and detection of HHV-8 DNA in buffy coat as well as in saliva were performed. A presence of HHV-8 DNA in 77 normal children saliva aged 4-12 years in Chiang Mai was determined. Saliva was collected by Orasure®. DNA from buffy coat and saliva were extracted by QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN) and quantified by using Hoefer DyNA Quant 200. HHV-8 DNA was detected by Real-Time PCR technique using ABI PRISM 7000 (TaqMan®) and Primers/Probe specific for HHV-8 ORF-26 and 73.

Results: Extracted DNA from 87 saliva and 9 buffy coat samples were found to be 1-174 and 15-268 µg/ml, respectively. The sensitivity of HHV-8 DNA detection by this Real-Time PCR technique was $\geq$ 1.3 copies/reaction. One plasma sample was positive for HHV-8 lytic antibody but none was positive for latent antibody. HHV-8 DNA was not found in all samples.

Conclusion: HHV-8 infection in patients and normal children could not be demonstrated. HHV-8 infection could not be confirmed by only a presence of HHV-8 lytic antibody. Confirmation with other techniques is needed. However, collection of saliva by Orasure® was proved to be suitable for further use in DNA detection. This Real-Time PCR technique is suitable for surveying of HHV-8 infection but with a low prevalence of HHV-8 in Thailand, more samples are considered to be essential.