เชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุหลักของโรคตับอักเสบ คือ ไวรัสตับอักเสบ บี ผู้ที่ติดเชื้อประมาณ 90% สามารถหายจากโรคได้เอง และ 5-10% ของผู้ที่ติดเชื้อจะมีการดำเนินโรคไปเป็นแบบเรื้อรังซึ่งจะนำไปสู่โรคตับแข็งและมะเร็งตับ การตรวจวินิจฉัยผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิด บี สามารถทำได้หลายวิธี ในปัจจุบันวิธีการตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยานิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย แต่อย่างไรก็ตามวิธีเหล่านี้ยังไม่สามารถจำแนกจีโนทัยป์ของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ได้ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้พัฒนาวิธี Multiplex-nested PCR เพื่อตรวจวินิจฉัยและจำแนกจีโนทัยป์ของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี 3 จีโนทัยป์ที่พบบ่อยในประเทศไทยในครั้งเดียวกัน โดยทำการศึกษาในส่วนของยีน PreS1-S ในการทำ PCR รอบแรกจะใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ส่วนใน nested PCR จะใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อจีโนทัยป์ A, B และ C โดยที่แต่ละจีโนทัยป์สามารถแยกออกจากกันตามขนาดของชิ้นดีเอ็นเอ โดยวิธี Agarose gel electrophoresis

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่างตรวจซีรัมหรือพลาสมาที่ให้ผลบวกและลบต่อ HBsAg โดยวิธี ELISA จำนวน 100 และ 40 ตัวอย่าง ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าให้ผลบวกตรงกันทั้งสองวิธีจำนวน 89 ตัวอย่าง ส่วนผลลบได้ตรงกันทั้งหมดทั้งสองวิธี วิธี Multiplex nested PCR สามารถจำแนกจีโนทัยป์ได้เป็นจีโนทัยป์ B จำนวน 7 ตัวอย่าง (7.8%), จีโนทัยป์ C 67 ตัวอย่าง (75.3%), ติดเชื้อร่วมกันสองจีโนทัยป์ 3 ตัวอย่าง (3.4%) นอกจากนี้ยังมี 12 ตัวอย่าง (13.5%) ที่ไม่สามารถจัดอยู่ในจีโนทัยป์ A, B และ C วิธี Multiplex-nested PCR จัดเป็นวิธีที่มีความไว ความจำเพาะและสะดวก สำหรับนำมาใช้วินิจฉัยการติดเชื้อและจำแนกจีโนทัยป์ของไวรัสตับอักเสบ บี นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ในการศึกษาทางด้านระบาดวิทยาของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี อีกด้วย

TE 147489

Hepatitis is the great medical problem caused by many factors. Viruses are the main cause of disease in all ethnic groups. About 90% of acute Hepatitis B virus (HBV) infection in adult are usually cleared, and about 5-10% become carrier. The previous studies have been reported that chronic infection of HBV was strongly involved in the development of hepatocellular carcinoma and cirrhosis. The HBV detection is made through a series of tests. The serological methods have been widely used in the diagnosis of HBV infection. However, these assays are mostly monospecific without HBV genotype separation. In this study, we developed a multiplex nested Polymerase Chain Reaction (PCR) for simultaneous detection and identify of three genotypes of HBV in sera or plasma specimens. The target sequence of primers were located in the *pre-S1* to *S* gene. The primer set for first-round PCR were designed for specific in all genotype and the second-step PCR was multiplexed. HBV could be discriminated among genotype A, B and C on the basis of the molecular weight of the amplicon.

A hundred HBsAg positive and forty HBsAg negative specimens from ELISA detection were included in this study. Multiplex-nested PCR was performed to analyze these samples. The result showed that eighty-nine positive samples were correctly identified by both assays and all negative samples were identical in both methods. Of these positives, seven (7.8 %) and sixty-seven (75.3%) were identified in genotype B and C, respectively. Three of these (3.4%) were mixed infection of HBV genotype B and C. And twelve (13.5%) were unclassified. Apart from its role in epidemiological studies on HBV, multiplex nested PCR method provide a sensitive, specific, and simplified tools for diagnosis of HBV infection and genotype analysis.