

บทความพิเศษ

New Circulating Recombinant Forms of HIV-1 in Thailand

ปิยนท วิรัชศิลป์, รวงผึ้ง สุทเธนทร์ และ จันทพงษ์ วะลี

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

เชื้อเอชไอวี (human immunodeficiency virus, HIV) เป็นเชื้อที่พบใหม่ในคน หลังจากรายงานพบผู้ป่วยโรคเอดส์ในสหรัฐอเมริกา และยุโรปในปี พ.ศ. 2524 แยกเชื้อเอชไอวีที่เป็นสาเหตุโรคเอดส์ได้เมื่อปี พ.ศ. 2526 จากการศึกษาทางระบาดวิทยา เชื่อว่า โรคเอดส์น่าจะเริ่มระบาดในทวีปแอฟริกาประมาณปี พ.ศ. 2523^{1,2} เมื่อศึกษาระบาดวิทยาระดับโมเลกุล (molecular epidemiology) พบว่า เชื้อเอชไอวีในแอฟริกามีความแตกต่างหลากหลาย (genetic diversity) มากกว่าเชื้อในภูมิภาคอื่น แสดงว่าน่าจะมีการแพร่ระบาดมานานกว่าที่อื่น สันนิษฐานว่าเชื้อ HIV น่าจะอุบัติขึ้นเมื่อ 40 ปีก่อน³

เชื้อเอชไอวีที่พบในขณะนี้ แบ่งตามลักษณะการเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ (nucleotide sequencing) เป็น 2 ทยัพ คือ HIV-1 และ HIV-2, เชื้อ HIV-1 พะระบาดทั่วโลก ส่วน HIV-2 พะระบาดในแอฟริกาตะวันตกเป็นส่วนใหญ่^{4,5} ผู้ติดเชื้อ HIV-2 ที่พบในประเทศอื่นมักมีประวัติสัมผัสได้รับเชื้อ HIV-2 จากผู้ที่มาจากแอฟริกาตะวันตก เชื้อ HIV-2 มีความรุนแรงในการติดต่อและการดำเนินโรคน้อยกว่า HIV-1⁶

เชื้อ HIV เป็นเชื้อที่พบการกลายพันธุ์ (mutation) เกิดขึ้นตลอดเวลา เชื้อที่พบมีการผันแปร (variation) เชื้อที่แยกได้จากผู้ติดเชื้อรายเดียวกันเวลาเดียวกันจะมีการเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ต่างกัน เรียกว่า quasispecies⁷ และจะยิ่งต่างกันมากขึ้นเมื่อต่างเวลา^{8,9} นอกจากนี้ถ้าติดเชื้อ HIV-1 ที่ต่างสายพันธุ์ในเซลล์เดียวกัน จะมีโอกาสเกิดการผสมพันธุ์มากขึ้น ได้เชื้อใหม่ที่มียีนจากเชื้อ

HIV-1 ต่างสายพันธุ์ เชื้อลูกผสมนี้เรียกว่า recombinant form ถ้าเป็นการผสมระหว่าง HIV-1 ต่าง subtype จะบอกได้ชัดเจน ถ้าเชื้อใหม่พันธุ์ลูกผสมนี้พบระบาดแพร่กระจายจะตั้งชื่อเป็น circulating recombinant form (CRF)¹⁰⁻¹²

ความแตกต่างในการเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์อาจส่งผลต่อการแสดงออกของยีน^{13,14} ทำให้เชื้อ HIV-1 ต่างสายพันธุ์มีความแตกต่างทางชีววิทยา การติดต่อ ความรุนแรงในการก่อโรค การกระตุ้นภูมิคุ้มกัน มีผลต่อการพัฒนายาทดสอบ ยารักษาและป้องกันโรค รวมถึงการสร้างวัคซีนป้องกันและรักษาโรค จึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาคุณสมบัติของเชื้อที่ระบาดใหม่อย่างต่อเนื่อง

การจำแนกและการเรียกชื่อเชื้อเอชไอวี

การจำแนกชนิด (classification) ของเชื้อเอชไอวีเป็นผลเนื่องจากการศึกษาวิเคราะห์ความแตกต่างในการเรียงลำดับ (sequence) ของนิวคลีโอไทด์ ในระยะแรกเป็นการวิเคราะห์บางส่วนของยีน ต่อมาจึงวิเคราะห์เปรียบเทียบยีนทั้งหมด^{12,14,15} ยีนที่พบความแตกต่างมากที่สุด คือ envelope (*env*) รองลงมา คือ group antigen (*gag*) สำหรับ polymerase (*pol*) แตกต่างน้อยกว่า¹⁶⁻¹⁸

เชื้อ HIV-1 และ HIV-2 มี sequence ส่วน *env* ต่างกันร้อยละ 62 ถ้าวิเคราะห์ยีนอื่นต่างกันร้อยละ 42¹⁷ เชื้อมีคุณสมบัติต่างกันทั้งการติดต่อ ความรุนแรงในการเกิดโรค ลักษณะแอนติเจน และการตอบสนองต่อยาต้าน

ไวรัส

เชื้อ HIV-2 มีการเรียงลำดับของยีนใกล้เคียงกับเชื้อ simian immunodeficiency virus (SIV) ที่พบในลิงแอฟริกาพันธุ์ sooty mangabey (SIVsmn)¹⁹

เชื้อ HIV-1 แบ่งแยกเป็น 3 กลุ่ม คือ group M (main หรือ major), group O (outlier หรือ out-group) และ group N (non M, non O หรือ new) ความแตกต่างระหว่างกลุ่มเมื่อเปรียบเทียบ sequence ส่วน env ร้อยละ 50 ยีน env ร้อยละ 32

เชื้อกลุ่ม M พบสมาชิกก่อโรคเอดส์ระบาดทั่วโลก กลุ่ม O พบระบาดส่วนใหญ่ในประเทศคาเมอรูนและบางประเทศในแอฟริกากลางและแอฟริกาตะวันตก^{20,21} กลุ่ม N พบจากผู้ติดเชื้อในประเทศคาเมอรูนรายงานเมื่อปี พ.ศ. 2541²²

เชื้อ HIV-1 กลุ่ม O มีลักษณะการเรียงลำดับคล้ายกับเชื้อไวรัสก่อโรคเอดส์ในลิงชิมแปนซี²³ (simian immunodeficiency virus in chimpanzee, SIVcpz) เชื้อ HIV-1 กลุ่ม N มียีนเป็นลูกผสมระหว่างเชื้อไวรัสก่อโรคเอดส์ในลิงชิมแปนซี (SIVcpz)²⁴ กับเชื้อ HIV-1 จึงมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเชื้อ HIV-2 และ SIVcpz มากกว่า HIV-1 group M และ group O

เมื่อนำ sequence ของเชื้อ group M ที่ระบาดทั่วโลก²⁵ มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์และสร้างรูปต้นไม้วิวัฒนาการ (phylogenetic tree) สามารถแยกได้เป็น 9 กิ่ง (clades) หรือ subtypes คือ A, B, C, D, F, G, H และ J, K และเชื้อที่จัดเป็น recombinants เชื้อแต่ละ subtype จะมีการเรียงลำดับของยีนเหมือนกันและไม่มีส่วนใดส่วนหนึ่งที่เหมือนกับ subtype อื่น

Subtype F แยกต่อไปเป็น sub-subtype F1, F2 และ F3 ต่อมาจัด sub-subtype F3 เป็น subtype K, subtype A แยกเป็น sub-subtype A1 และ A2 สำหรับ subtype B และ D มีความใกล้ชิดอยู่ในกิ่งถัดไปคล้ายกับ sub-subtype F1 และ F2 อาจกล่าวได้ว่า subtype B และ D น่าจะเป็น subtype เดียวกัน แต่

เนื่องจากได้จำแนกมาแต่เดิมจึงยังคงไว้

Subtype L จัดเป็น subtype ใหม่ แยกได้จากผู้ติดเชื้อในประเทศเซเนกัล

เชื้อ HIV-1 ที่จัดเป็นเชื้อประวัติศาสตร์แยกได้จากซีรัมหรือพลาสมาของผู้ติดเชื้อในแอฟริกาตั้งแต่ก่อนโรคเอดส์ระบาด คือ Z321 จากซีรัมผู้ติดเชื้อในประเทศซาร์อีที่เก็บไว้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2519²⁶ เป็นเชื้อ subtype A ชนิด recombinant form และเชื้อ ZR 59²⁷ ซึ่งแยกได้จากพลาสมาผู้ติดเชื้อเมื่อปี พ.ศ. 2502 ในประเทศซาร์อี (ปัจจุบันเปลี่ยนชื่อเป็นประเทศสาธารณรัฐคองโก) มีการเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกับ subtype B และ D

การพบเชื้อตั้งแต่ปี พ.ศ. 2502²⁸ และ 2519²⁶ เป็นร่องรอยที่ทำให้เชื่อว่า การระบาดของ HIV-1 น่าจะเริ่มในแอฟริกากลาง ปีที่พบ HIV-1 subtypes ต่างๆ และภูมิภาคที่พบดังแสดงในตารางที่ 1

เชื้อ HIV-1 group M นอกจากประกอบด้วยเชื้อทั้ง 9 subtypes แล้ว ในปัจจุบันยังพบเชื้อที่มีลักษณะเป็นลูกผสม (recombinant forms) คือ มีการเรียงลำดับยีนเหมือนกับ HIV-1 มากกว่า 1 subtype ถ้าพบเชื้อมีการระบาดแพร่หลายโดยแยกเชื้อได้จากผู้ติดเชื้ออย่างน้อย 3 รายที่ไม่มีความเกี่ยวข้องกัน จะเรียกชื่อว่า circulating recombinant form (CRF)²⁹ ไวรัสที่จัดอยู่ในกลุ่ม CRF เดียวกันจะมีลักษณะยีนที่เหมือนกัน รวมถึงจุดต่อระหว่างภาคส่วนที่มาจากแต่ละ subtype³⁰ การเรียกชื่อ CRF ตั้งเป็นตัวเลขตามลำดับที่พบตามด้วยอักษร subtype ที่ประกอบกันเป็นยีนนั้น ดังเช่น HIV-1 subtype E เดิม เปลี่ยนชื่อเป็น CRF 01_AE^{31,32} ถ้ายีนของ CRF นั้นประกอบด้วยภาคส่วนที่มาจากเชื้อมากกว่า 2 subtypes จะใส่ complex (cpx) แทนตัวอักษรที่แสดง subtype เช่น CRF 04_cpx³³ รายการ CRFs ที่มีรายงานดังตารางที่ 2

ปัจจุบันมีรายงาน CRF 34 ชนิด และยังมีรายงาน CRF ที่พบใหม่แจ้งศูนย์ข้อมูล Los Alamos National Laboratory, New Mexico, สหรัฐอเมริกา³⁴ โดยผู้

ตารางที่ 1 HIV-1 subtypes by year of sampling and country of sampling (origin)²⁹

Subtype	Sequence of strains	Year of sampling	Country of sampling	Subtype	Sequence of strains	Year of sampling	Country of sampling
A1	92UGO37.1	1992	Uganda	F1	93BR020-1	1993	Brazil
A1	Q23	1994	Kenya	F1	VI850	1993	Belgium (DRC)
A1	SE7253	1994	Sweden (Somalia)	F1	FIN9363	1993	Finland
A1	UG57136	1998	Uganda	F1	MP411	1996	France
A2	CDKTB48	1997	DRC	F2	MP255	1995	Cameroon
A2	CY017	1994	Cyprus	F2	MP257	1995	Cameroon
B	HXB2	1983	France	F2	0016BBY	2002	Cameroon
B	BK132	1990	Thailand	F2	CM53657	1997	Cameroon
B	671	2000	Netherlands	G	SE6165	1993	Sweden (DRC)
B	1058	1998	USA	G	HH8793.1.1	1993	Finland (Kenya)
C	ETH2220	1986	Ethiopia	G	DRCBL	1996	Belgium (DRC)
C	92BR025.8	1992	Brazil	G	NGO83	1992	Nigeria
C	IN21068	1995	India	H	056.1	1990	Cent. Afr. Rep
C	SK164B1	2004	South Africa	H	VI991	1994	Belgium (?DRC)
D	ELI	1983	DRC	H	VI997	1993	Belgium (?DRC)
D	94UG114.1	1994	Uganda	J	SE9280.9	1994	Sweden (DRC)
D	4412HAL	2001	Cameroon	J	SE9173.3	1993	Sweden (DRC)
D	A280	2001	Tanzania	K	EQT B11C	1997	DRC
				K	MP535	1996	Cameroon

รายงานต้องแจ้งข้อมูล คือ

1. การเรียงลำดับ (sequence) จากยีนของเชื้อที่น่าจะเป็น CRF ใหม่
2. subtypes ที่มีภาคส่วนของยีนประกอบเป็น CRF ใหม่และจุดเชื่อมต่อ (breakpoint) ถ้าเป็นส่วนที่ไม่ปรากฏใน subtype เดิมให้เขียนว่า U (unclassified)
3. แผนผังของการเรียงลำดับยีนที่ผสมกัน (map of mosaic pattern)

ในปี พ.ศ. 2547 องค์การอนามัยโลกรายงานการศึกษายาพันธุ์ HIV-1 ทั่วโลก²⁵ พบว่าเป็น HIV-1 subtype A ร้อยละ 12, B ร้อยละ 10, C ร้อยละ 50, D ร้อยละ 3, G ร้อยละ 6 ที่เหลือเป็น F, H, J, K รวมกันร้อยละ 0.94 เป็นเชื้อลูกผสม (CRF) ร้อยละ 18 โดยพบ

CRF01_AE ร้อยละ 5, CRF02_AG ร้อยละ 5, CRF03_AB ร้อยละ 0.1 และ CRFs อื่นๆ อีกร้อยละ 8 แสดงถึงการเพิ่มขึ้นของเชื้อเอชไอวีลูกผสมที่เกิดจากเชื้อ subtype เดียวกัน (intratypic) และต่าง subtypes (intersubtype) รวมถึงการพบการเรียงลำดับของยีนที่ยังไม่เคยพบมาก่อน (unclassified, U)

HIV-1 subtypes และ CRFs ที่พบในประเทศไทย

ผู้ป่วยโรคเอดส์รายแรกๆ ในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2527 ถึง 2530 เป็นผู้รับเชื้อ HIV-1 จากต่างประเทศ ส่วนใหญ่ติดต่อทางเพศสัมพันธ์ชายกับชาย ในปี พ.ศ. 2531 พบการระบาดอย่างรุนแรง แพร่กระจายอย่างรวดเร็วทั้งประเทศในกลุ่มผู้ฉีดสารเสพติดเข้าเส้นเลือด และเริ่มพบผู้ป่วยโรคเอดส์ในเด็ก การติดต่อทาง

ตารางที่ 2 CRFs ที่พบและ subtypes ที่ประกอบกันในอีโนเม³⁴

Name	Reference strain	Subtypes	Year of sampling	Country of sampling
CRF01_AE	CM 240	A, E	1990	ไทย, อัฟริกา
CRF02_AG	IbNG	A, G	(1996)	ไนจีเรีย
CRF03_AB	Kal53	A, B	(1998)	รัสเซีย
CRF04_cpx	94CY032	A, G, H, K, U	1994	ไซปรัส (กรีซ)
CRF05_DF	VI1310	D, F	(2000)	เบลเยียม (คองโก)
CRF06_cpx	BFP90	A, G, J, K	1996	ออสเตรเลีย (เบอกินาฟาโซ)
CRF07_BC	CN54	B', C	1997	จีน
CRF08_BC	GX-6F	B', C	1997	จีน
CRF09_cpx	96GH2911	CRF02, A, U	1996	กานา
CRF10_CD	TZBF061	C, D	1996	แทนซาเนีย
CRF11_cpx	GR17	A, CRF01, G, J	(2000)	กรีซ (?คองโก)
CRF12_BF	ARMA159	B, F	1991	อาร์เจนตินา
CRF13_cpx	96CM-1849	A, CRF01, G, J, U	1996	คาเมอรูน
CRF14_BG	X397	B, G	1999	สเปน
CRF15_01B	99TH.MU2079	CRF01, B	1999	ไทย
CRF16_A2D	KISII5009	A2, D	(2002)	เคนยา, เกาหลีใต้
CRF17_BF	ARMA038	B, F	NA	อาร์เจนตินา, อุรุกวัย
CRF18_cpx	CU76	A1, F, G, H, K, U	(2005)	คิวบา
CRF19_cpx	CU7	A1, D, G	1999	คิวบา
CRF20_BG	CB228	B, G	NA	NA
CRF21_A2D	99KE_KER2003	A2, D	NA	NA
CRF22_01A1	CM53122	CRF01, A1	NA	NA
CRF23_BG	CB118	B, G	NA	NA
CRF24_BG	CB378	B, G	NA	NA
CRF25_cpx	02CM_1918LE	A, G, U	NA	NA
CRF26_AU	Pending	A, U	NA	NA
CRF27	Pending	Pending	NA	NA
CRF28_BF	BREPM12609	B, F	(2006)	NA
CRF29_BF	BREPM16704	B, F	(2006)	NA
CRF30	Pending	Pending	(2003)	NA
CRF31_BC	Pending	B, C	(2006)	NA
CRF32_06A1	EE0369	CRF06, A1	(2005)	NA
CRF33_01B	Pending	CRF01, B	(2006)	มาเลเซีย
CRF34_01B	Pending	CRF01, B	NA	NA

() year reported, NA = not available

เพศสัมพันธ์จากผู้ให้บริการทางเพศระหว่างหญิงชายพบมากขึ้น³⁵ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 โลหิตบริจาตทุกหน่วยได้รับการตรวจคัดกรองการติดเชื้อ HIV การติดต่อทางการได้รับเลือดในประเทศไทยจึงพบได้น้อย

ในปี พ.ศ. 2535 รายงานการศึกษาทางระบาดวิทยาโมเลกุล (molecular epidemiology) โดยวิเคราะห์ sequence บางส่วนของยีนสามารถแยกเชื้อได้เป็น 2 กลุ่ม (cluster) ชัดเจน^{15,36} คือกลุ่มผู้ติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์กับกลุ่มผู้ฉีดสารเสพติดเข้าเส้นเลือด ชื่อของ subtypes ที่เรียกกันทั่วไปในเวลาต่อมา คือ subtype E หรือ CRF 01_AE กับ subtype B

การศึกษาในปี พ.ศ. 2536 และ 2537 ยืนยันการพบเชื้อ subtype E และ subtype B ในประชากร 2 กลุ่มดังกล่าว^{37,39} การวิเคราะห์ sequence ของ *env* และ *gag* genes พบว่า subtype E เป็นเชื้อ HIV-1 subtype ใหม่ที่ยังไม่เคยพบมาก่อน เชื้อที่เป็นต้นแบบของ subtype E ในประเทศไทย คือ CM240 และ CM241 เป็นเชื้อที่แยกได้จากชายที่ติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์จากจังหวัดเชียงใหม่ เชื้อนี้มี sequence ของ *gag* เหมือน subtype A แต่ sequence ที่ส่วน *env* ไม่เหมือน subtype อื่นใดที่เคยพบมาก่อน ดังนั้นตามระบบของการเรียกชื่อในปี พ.ศ. 2543 เชื้อ HIV-1 subtype E น่าจะเรียกว่า CRF 01_AU แต่เนื่องจากไม่ต้องการให้สับสนยุ่งยาก จึงยังคงเรียกว่า CRF01_AE หรือ subtype E ที่น่าสนใจคือไม่เคยพบว่ามี sequence ของ subtype E ใน *gag* gene เชื้อนี้มีลักษณะเป็นลูกผสมในหลายบริเวณของยีนม เรียกว่า mosaic pattern^{31,40} เชื้อ CRF 01_AE นี้พบได้ในแอฟริกากลาง เข้าใจว่า น่าจะมีต้นกำเนิดในแอฟริกา⁴² ก่อนจะแพร่กระจายมาสู่ประเทศไทยและประเทศอื่นๆ ในเอเชีย

เชื้อ HIV-1 subtype B ที่พบในกลุ่มผู้ฉีดสารเสพติดในประเทศไทย มีลักษณะการเรียงลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ V3 loop ของ *env* gene ต่างจาก subtype B ที่พบในยุโรปและอเมริกา จึงเรียกว่า subtype B' (B

prime)

เชื้อที่แยกได้ระหว่างปี พ.ศ. 2530 ถึง 2537 สามารถแยกได้เป็น 2 subtypes โดยพบ subtype B' ในผู้ฉีดสารเสพติดในกรุงเทพฯ ร้อยละ 90 - 97 และพบ subtype E หรือ CRF 01_AE ในชายที่ติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์ต่างเพศร้อยละ 86 - 95 ลักษณะการระบาดที่น่าจะเชื้อ HIV-1 ติดต่อมาสู่ประเทศไทย 2 เส้นทาง³⁹ คือ HIV-1 subtype B' ที่พบมากในกลุ่มผู้ฉีดสารเสพติดน่าจะจะมีเส้นทางจากยุโรปและอเมริกา และ HIV-1 CRF 01_AE ที่พบมากในกลุ่มผู้ติดต่อทางเพศสัมพันธ์ต่างเพศน่าจะจะมีเส้นทางจากแอฟริกา

ระหว่างปี พ.ศ. 2531 ถึง พ.ศ. 2533 พบผู้ติดเชื้อรายใหม่ในกลุ่มผู้ฉีดสารเสพติด 10 - 12 ราย ต่อ 100 person year เชื้อ CRF 01_AE ติดเชื้อรายใหม่มากขึ้น^{41,42} ในกลุ่มผู้ฉีดสารเสพติด พบสัดส่วนการติดเชื้อ subtype B' กับ CRF 01_AE เปลี่ยนไป คือ พ.ศ. 2531 - 2532 พบร้อยละ 97.4 กับ 2.6, ปี พ.ศ. 2533 - 2534 พบร้อยละ 74.4 กับ 25.6, พ.ศ. 2535 - 2536 พบร้อยละ 56.2 กับ 43.8 ในการศึกษาติดตามกลุ่ม cohort ผู้ฉีดสารเสพติดปี พ.ศ. 2538^{43,44} พบความชุกชุม (prevalence) ร้อยละ 29.3 ติดเชื้อ subtype B' ร้อยละ 65, CRF 01_AE ร้อยละ 35 ผู้ติดเชื้อรายใหม่ติดเชื้อ CRF 01_AE ร้อยละ 79.7, subtype B' ร้อยละ 21.3 สำหรับผู้ติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์ปี พ.ศ. 2538 - 2539 ติดเชื้อ CRF 01_AE ร้อยละ 98

ในปี พ.ศ. 2544 ได้จัดตั้งศูนย์รวบรวมและวิเคราะห์เชื้อเอชไอวีแห่งประเทศไทย (National HIV Repository and Bioinformatic Center, NHRBC) เป็นศูนย์ความร่วมมือระหว่างคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล และสำนักเอดส์ วัณโรคและโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ทำการศึกษาสำรวจสายพันธุ์เชื้อเอชไอวีจากผู้ติดเชื้อรายใหม่ในประเทศไทยประมาณ 200 รายต่อปีอย่างต่อเนื่อง โดยได้รับการสนับสนุนจากกรมควบคุม

โรค กระหวงสาธาณสุข ผ่านคณะกรรมการควบคุม การทดลองวัคซีนเอดส์ ผลการวิเคราะห์ลักษณะการเรียง ลำดับนิวคลีโอไทด์ บริเวณ C2 ถึง V4 ของ *env* แยก เป็น subtypes และ CRFs ดังนี้ พ.ศ. 2542 พบ subtype B' ร้อยละ 9, CRF01_AE ร้อยละ 91 ปี พ.ศ. 2544 พบ subtype B ที่มีลักษณะเหมือนที่พบในยุโรป และอเมริกา ซึ่งมีสายพันธุ์ MN เป็นเชื้อต้นแบบร้อยละ 4 ไม่พบ subtype B', พบ CRF 01_AE ร้อยละ 96 ในปีถัดมา พ.ศ. 2545 พบ HIV subtype B ร้อยละ 2.5, CRF 01_AE ร้อยละ 97 และ CRF_01B 1 ราย (ร้อยละ 0.5), ปี พ.ศ. 2546 พบ subtype B ร้อยละ 2.2, CRF 01_AE ร้อยละ 96, CRF_01B ร้อยละ 1.8, ปี พ.ศ. 2547 พบ subtype B ร้อยละ 1.7, CRF 01_AE ร้อยละ 97, CRF_01B ร้อยละ 1.3 สำหรับปี พ.ศ. 2548 พบ subtype B ร้อยละ 1.5, CRF 01_AE ร้อยละ 97, CRF_01B ร้อยละ 1 และสายพันธุ์ที่เพิ่งพบใหม่ คือ CRF_01C 1 ราย (ร้อยละ 0.5)

การศึกษาวិเคราะห์ผู้ติดเชื้อรายใหม่ระหว่างปี พ.ศ. 2542 ถึง 2548 ดังแสดงในตารางที่ 3

HIV-1 subtype variants และ CRFs ใหม่ที่พบในประเทศไทย

ผลการศึกษาลำรวจของ NHRBC ในระยะ 5 ปีที่ผ่านมา พบว่ามากกว่าร้อยละ 90 ยังเป็น CRF 01_AE ที่น่าสนใจ คือ ในปี พ.ศ. 2542 เชื้อ subtype B ยังคง

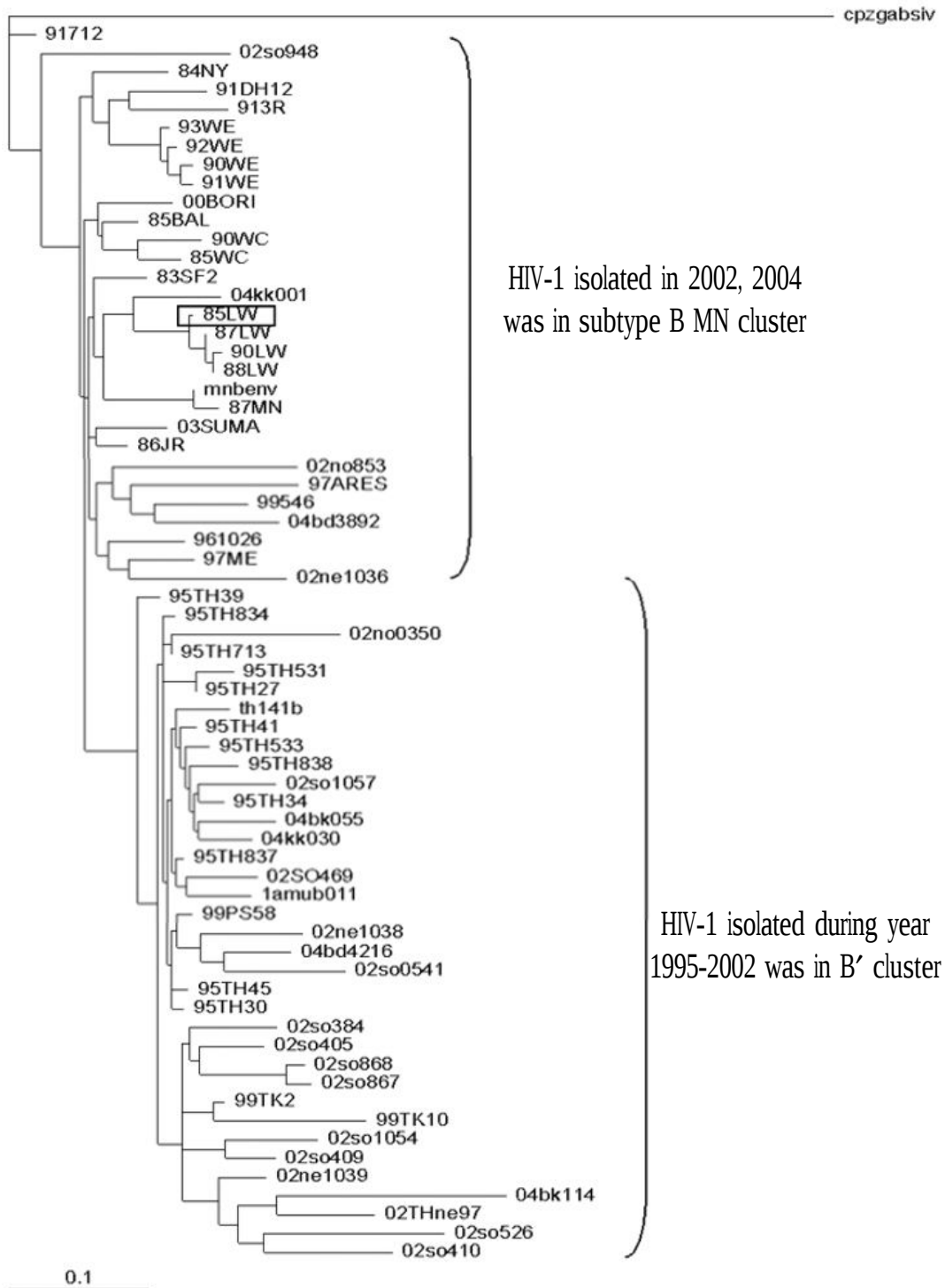
เป็น B' แต่ในปี พ.ศ. 2544 เป็นต้นมาไม่พบ subtype B' แต่กลับพบ subtype B ที่เหมือนสายพันธุ์ MN ต้นแบบ ดังแสดงในต้นไม้วิวัฒนาการ (phylogenetic tree) รูปที่ 1 การกลับมาของ HIV-1 subtype B (MN) อาจเกิดจากการติดเชื้อรายใหม่ในชายที่มีเพศสัมพันธ์กับชายมากขึ้น⁴⁵ โดยในปี พ.ศ. 2546 พบ seroprevalence ในกลุ่ม MSM ร้อยละ 17.3 และเพิ่มเป็นร้อยละ 28.3 ในปี พ.ศ. 2548 หรือเชื้อ subtype B (MN) ที่เคยพบตั้งแต่ก่อนปี พ.ศ. 2531 กลับมาใหม่⁴⁶

เชื้อสายพันธุ์ลูกผสม (recombinant forms) พบมากขึ้นเป็นลำดับ เนื่องจากในประเทศไทยมีการติดเชื้อทั้ง CRF 01_AE และ B อยู่ด้วยกันนานกว่า 10 ปี การติดเชื้อ CRF_01B จึงมีโอกาสพบได้ ดังที่เคยมีรายงานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2544⁴⁷ และพบได้ในผู้ติดเชื้อรายใหม่⁴⁸ การติดเชื้อ CRF_01C เคยมีรายงานในปี พ.ศ. 2546⁴⁹ และพบในการศึกษาของ NHRBC ในปี พ.ศ. 2548 ซึ่งอาจเกิดจากการเดินทางของ subtype C เข้ามายังกลุ่มประชากรไทย และผสมกับ CRF 01_AE

การศึกษาของ Abbott Diagnostic ในตัวอย่างเลือดผู้บริจาคจากประเทศไทย พบ subtypes และ CRFs หลากรูปแบบ⁵⁰ คือ A, C, D, Unclassified, CRF01_AE, CRF07_BC, CRF15_01B, CRF_BC, CRF_01B, CRF_01C และการติดเชื้อ 2 subtypes คือ B ร่วมกับ CRF 01_AE

ตารางที่ 3 การสำรวจ subtypes และ CRFs ของ HIV-1 จากผู้ติดเชื้อรายใหม่ในประเทศไทย จำนวนประมาณ 200 รายต่อปี พ.ศ. 2542, 2544 - 2548

ปี พ.ศ.	Subtype B'	Subtype B (MN)	CRF 01_AE	CRF_01B	CRF_01C
2542	9%	0	91%	0	0
2544	0	4%	96%	0	0
2545	0	2.5%	97%	0.5%	0
2546	0	2.2%	96%	1.8%	0
2547	0	1.7%	97%	1.3%	0
2548	0	1.5%	97%	1%	0.5%



รูปที่ 1 ต้นไม้วิวัฒนาการของเชื้อเอชไอวีสายพันธุ์ subtype B ที่แยกได้จากประเทศไทยปี พ.ศ. 2538 - 2547 HIV-1 subtype B ที่พบใน พ.ศ.2538-2545 เป็น B', แต่ที่พบ พ.ศ. 2545, 2547 กลับเป็น B คล้ายกับสายพันธุ์ MN

สรุป

ณ เดือนธันวาคม พ.ศ. 2549 องค์การอนามัยโลก ประมาณผู้ติดเชื้อเอชไอวีทั่วโลก 39.5 ล้านคน ผู้ติดเชื้อรายใหม่ปี 2549 ประมาณ 4.3 ล้านคน ส่วนใหญ่พบในแอฟริกาและเอเชีย ประมาณผู้ติดเชื้อทั้งหมดในประเทศไทย 580,000 คน รายงานผู้ป่วยเอดส์ตั้งแต่ พ.ศ. 2527 ถึง 31 มีนาคม 2550 รวม 311,816 ราย การติดเชื้อส่วนใหญ่พบทางเพศสัมพันธ์

เชื้อ HIV เป็น RNA virus ที่มีลักษณะเป็น diploid ในการเพิ่มจำนวนต้องสร้าง provirus DNA ก่อน พบการกลายพันธุ์ (mutation) และการผสมพันธุ์ (recombination) เกิดขึ้นในอัตราสูง⁵¹ ยีนทุกยีนมีการเปลี่ยนแปลงผันแปร ส่วนที่มีความหลากหลายมากที่สุด คือ *env*⁵² การศึกษาความหลากหลายจึงเริ่มจากส่วน *env* ก่อน และศึกษาเปรียบเทียบยีนทั้งหมด (full length genome) ตามมา ความแตกต่างระหว่าง subtype ใน sequence ส่วน *env* พบได้ถึงร้อยละ 30 ในขณะที่ full length genome พบเพียงร้อยละ 14 เมื่อเปรียบเทียบกับ RNA virus อื่น⁵³ เช่น influenza virus พบความแตกต่างของ hemagglutinin gene ร้อยละ 4 ส่วน capsid gene ของ poliovirus แต่ละยัปีต่างกันร้อยละ 9

เชื้อ HIV-1 มีความแตกต่างหลากหลาย ขณะนี้พบ 9 subtypes และ 34 CRFs ในผู้ติดเชื้อบางรายพบติดเชื้อมากกว่า subtype เดียว^{54,55} และบางรายได้รับเชื้อสายพันธุ์ใหม่ที่ต่างจากที่ติดเชื้ออยู่เดิม การเพิ่มจำนวนของเชื้อ HIV ต่างสายพันธุ์ในเซลล์เดียวกันจะเกิดเชื้อพันธุ์ลูกผสมชนิดใหม่^{56,57} การระบาดของ HIV-1 subtype ใหม่ในแต่ละภูมิภาครวมถึง CRFs ใหม่ ๆ มีโอกาสพบได้ตลอดเวลาเนื่องจากการเดินทางที่สะดวกและรวดเร็วของประชากรทั่วโลก⁵⁸

เชื้อ HIV-1 ที่พบระบาดในผู้ติดเชื้อรายใหม่จากหลายประเทศ เป็น HIV-1 พันธุ์ลูกผสมมากขึ้น ดังที่พบในจีน⁵⁹ พม่า⁶⁰ มาเลเซีย⁶¹ และไทย⁴⁸

การเกิด CRFs ใหม่ ๆ จะเกิดขึ้นได้ตลอดเวลา และอาจมีผลต่อความแม่นยำของชุดน้ำยาทดสอบที่ตรวจหา nucleic acid, antigen และ antibody ตลอดจน viral load ทำให้ความไว (sensitivity) ลดลง เชื้อ CRFs บางตัวอาจก่อโรครุนแรงรวดเร็วหรืออาจเชื่อมโยงไม่ก่อโรค วัคซีนที่กำลังศึกษาทดสอบในประเทศไทยซึ่งประกอบด้วย subtype B และ CRF 01_AE อาจต้องเพิ่ม subtype C และ subtype อื่นๆ ที่อาจพบได้ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Essex ME. Origin of Acquired Immuno-deficiency Syndrome. In: DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA, et al, eds. AIDS: Etiology, Diagnosis, Treatment and Prevention. 4th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven. 1997:3-14.
2. Smith TF, Srinivasan A, Schochetman G, Marcus M, Myers G. The phylogenetic history of immunodeficiency viruses. *Nature* 1988;333:573-5.
3. Korber B, Muldoon M, Theiler J, et al. Timing the ancestor of the HIV-1 pandemic strains. *Science* 2000; 288:1789-96.
4. Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F, et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* 1985;223:343-6.
5. Kanki PJ, Barin F, M Boup, et al. New human T-lymphotropic retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* 1986;232:238-42.
6. Kong LI, Lee SW, Kappes JC, et al. West African HIV-2 related human retrovirus with attenuated cytopathicity. *Science* 1988;240:1525-9.
7. Delwart E, Magierowska M, Royz M, et al. Homogeneous quasispecies in 16 out of 17 individuals during very early HIV-1 primary infection. *AIDS* 2002; 16:189-95.
8. Mansky LM. Retrovirus mutation rates and their role in genetic variation. *J Gen Virol* 1998;79:1337-45.
9. Hahn BH, Shaw GM, Taylor ME, et al. Genetic variation in HTLV III/LAV over time in patients with AIDS or at risk for AIDS. *Science* 1986;232:1548-53.

10. Robertson DL, Sharp P, McCutchan FE, Hahn BH. Recombination in HIV-1. *Nature* 1995;374:124-6.
11. Robertson DL, Hahn BH, Sharp PM. Recombination in AIDS viruses. *J Mol Evol* 1995;40:249-59.
12. Robertson DL, Anderson JP, Bradec J, et al. HIV-1 nomenclature proposal: a reference guide to HIV-1 classification. In: Korber B, et al, ed. *Human retroviruses and AIDS 1999: a compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences*. Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico 2000;492-506.
13. Geretti AM. HIV-1 subtypes: epidemiology and significance for HIV management. *Curr Opin Infect Dis.* 2006;19:1-7.
14. Gaschen B, Taylor J, Yusim K, et al. Diversity considerations in HIV-1 vaccine selection. *Science* 2002;296:2354-60.
15. Ou CY, Takabe Y, Luo CC, et al. Wide distribution of two subtypes of HIV-1 in Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1992;8:1471-2.
16. Lowagie J, McCutchan F, Peeters M, et al. Phylogenetic analysis of gag genes from 70 international HIV-1 isolates provide evidence for multiple genotypes. *AIDS* 1993;7:769-80.
17. Korber B, Allen E, Farmer A, Myers G. Heterogeneity of HIV-1 and HIV-2. *AIDS* 1995;9:S5-18.
18. Myers G, Korber B, Smith R, Berzofsky J, Pavlakis G. *Human retroviruses and AIDS 1992*. Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico.
19. Hirsch VM, Olmsted RA, Murphy-Corb M, et al. An African primate lentivirus (SIV) closely related to HIV-2. *Nature* 1989;339:389-92.
20. Gurtler LG, Hauser PH, Eberle J, et al. A new subtype of human immunodeficiency virus type 1 (MVP-5180) from Cameroon. *J Virol* 1994;68:1581-5.
21. Chameau P, Borman AM, Quillent C, et al. Isolation and envelope sequencing of a highly divergent HIV-1 isolate: definition of a new HIV-1 group. *Virology* 1994;205:247-53.
22. Simon F, Mauciere P, Roques P, et al. Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. *Nat Med* 1998;4:1032-7.
23. Huet T, Cheynier R, Meyerhaus A, et al. Genetic organization of a chimpanzee lentivirus related to HIV-1. *Nature* 1990;345:356-9.
24. Gao F, Bailes E, Robertson DL, et al. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. *Nature* 1999;397:436-41.
25. Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, Osmanov S. Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. *AIDS* 2006;20:13-23.
26. Srinivasan A, York D, Butler D, et al. Molecular characterization of HIV-1 isolated from a serum collected in 1976: nucleotide sequence comparison to recent isolates and generation of hybrid HIV. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1989;5:121.
27. Zhu T, Korber B, Nahmias AJ, Hooper E, Sharp P, Ho D. An African HIV sequence from 1959 and implications for the origin of the epidemic. *Nature* 1998;391:594-7.
28. Nahmias AJ, Weiss J, Yao X, et al. Evidence for human infection with an HTLV III/ LAV like virus in Central Africa, 1959. *Lancet* 1986;i:1279-80.
29. Leitner T, Korber B, Daniels M, Calef C, Foley B. HIV-subtype and circulating reference sequences, 2005. Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, NM. <http://www.hiv.lanl.gov>. Access 19 Mar. 2007.
30. Salminen M, Carr J, Burke D, McCutchan F. Identification of breakpoints in intergenotypic recombinants of HIV-1 by bootscanning. *AIDS Res and Hum Retroviruses* 1995;11:1423-5.
31. Carr J, Salminen M, Koch C, et al. Full length sequence and mosaic structure of a human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) isolate from Thailand. *J Virol* 1996;70:5935-43.
32. Gao F, Robertson D, Morrison S, et al. The heterosexual HIV-1 epidemic in Thailand is caused by an intersubtype (A/E) recombinant of African origin. *J Virol* 1996;70:1013-29.
33. Gao F, Robertson D, Carruthers S, et al. An isolate of human immunodeficiency virus type I originally classified as subtype I represent a complex mosaic comprising three different group M subtypes (A, G and I). *J Virol* 1998;72:10234-41.

34. Anonymous. The circulating recombinant forms (CRFs). <http://www.hiv.lanl.gov/hiv-db/CRFs/CRFs.html>. Access 23 Feb 2007.
35. Wasi C, Sutthent R, Osmanov S. Molecular epidemiology of HIV in Thailand. In: Pitisuttithum P, Francis DP, Esparza J, Thongcharoen P, eds. HIV vaccine research and development in Thailand. Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University 2006:31-50.
36. Ou CY, Takebe Y, Weniger BG, et al. Independent introduction of two major HIV-1 genotypes into distinct high-risk populations in Thailand. *Lancet* 1993;341:1171-4.
37. McCutchan FE, Hegerich PA, Brennan TP, et al. Genetic variants of HIV-1 in Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1992;8:1887-95.
38. Kalish ML, Luo CC, Weniger BG, et al. Early HIV-1 type 1 strains in Thailand were not responsible for the current epidemic. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994;10:1573-5.
39. Weniger BG, Takebe Y, Ou C, et al. The molecular epidemiology of HIV in Asia. *AIDS* 1994;8(suppl 2): 513-28.
40. Carr J, Foley B, Leitner T, Salminen M, Korber B, McCutchan F. Reference sequences representing the principal genetic diversity of HIV-1 in the pandemic. *Human retroviruses and AIDS; a compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences*, 1998. Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico.
41. Wasi C, Herring B, Raktham S, et al. Determination of HIV-1 subtypes in injecting drug users in Bangkok, Thailand, using peptide-binding enzyme immunoassay and heteroduplex mobility assay: evidence of increasing infection with HIV-1 subtype E. *AIDS* 1995;9:843-9.
42. Kalish M, Baldwin A, Raktham S, et al. The evolving molecular epidemiology of HIV-1 envelope subtypes in injecting drug users in Bangkok, Thailand: implication for HIV vaccine trials. *AIDS* 1995;9:851-7.
43. Sabbarao S, Vanichseni S, Hu DJ, et al. Genetic characterization of incident HIV type 1 subtype E and B strains from a prospective cohort of injecting drug users in Bangkok, Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2000;16:699-707.
44. Vanichseni S, Kitayaporn D, Mastro TD, et al. Continued high HIV-1 incidence in a vaccine trial preparatory cohort of injecting drug users in Bangkok, Thailand. *AIDS* 2001;15:397-405.
45. Center for Disease Control and Prevention. HIV prevalence among populations of men who have sex with men - Thailand, 2003 and 2005. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2006;55:844-8.
46. Herbeck JT, Nickle DC, Learn GH, et al. Human immunodeficiency virus type 1 env evolves toward ancestral states upon transmission to a new host. *J Virol* 2006:1637-44.
47. Tavanabutra S, Polonis V, De Souza M, et al. First CRF 01_AE/B recombinants of HIV-1 is found in Thailand. *AIDS* 2001;15:1063-5.
48. Ramos A, Nguyen L, Hu D, et al. New HIV type 1 CRF 01_AE/B recombinants displaying unique distribution of breakpoints from incident infections among injecting drug users in Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2003;19:561-7.
49. Watanaveeradej V, De Souza M, Benenson M, et al. Subtype C/CRF01_AE recombinant HIV-1 found in Thailand. *AIDS* 2003;17:2138-40.
50. Devare SG. HIV genetic diversity: implications on diagnosis of HIV infection. Present at the Inter-continental Hotel, Bangkok, 23 Jan, 2007.
51. Hu WS, Temin HM. Genetic consequences of packaging two RNA genomes in one retroviral particle: pseudodiploidy and high rate of genetic recombination. *Proc Nat Acad Sci USA* 1990;87:1556-60.
52. Gao F, Morrison SG, Robertson DL, et al. Molecular cloning and analysis of functional envelope genes from human immunodeficiency virus type 1 sequence subtypes A through G. *J Virol* 1996;70:1651-7.
53. Holland J. Replication error, quasispecies populations, and extreme evolution rates of RNA viruses. In: Morse S, ed. *Emerging viruses*. Oxford University Press, Oxford. 1993:203.
54. Pieniazek D, Janini LM, Ramos A, et al. HIV-1 patients may harbor viruses of different phylogenetic

- subtypes: implications for the evolution of the HIV/AIDS pandemic. *Emerging Infect Dis* 1995;1:86-8.
55. Hu D, Subbarao S, Vanichseni S, et al. Frequency of HIV-1 dual subtype infections, including intersubtype superinfections among injecting drug users in Bangkok, Thailand. *AIDS* 2005;19:303-8.
56. Jetzt AE, Yu H, Klarmann GJ, Ron Y, Preston BD, Dougherty JP. High rate of recombination throughout the human immunodeficiency virus type 1 genome. *J Virol* 2000;74:1234-40.
57. Fultz PN, Yue L, Wei Q, Girard M. Human immunodeficiency virus type 1 intersubtype (B/E) recombination in a superinfected chimpanzee. *J Virol* 1997;71:7990-5.
58. Perrin L, Kaiser L, Yerly S. Travel and the spread of HIV-1 genetic variants. *Lancet Infect Dis* 2003;3:22-7.
59. Piyasirisilp S, McCutchan F, Carr JK, et al. A recent outbreak of human immunodeficiency virus type 1 infection in southern China was initiated by two highly homogenous, geographically separated strains, circulating recombinant form AE and a novel BC recombinant. *J Virol* 2000;74:11286-95.
60. Takebe Y, Motomura K, Tatsumi M, Levin HH, Zaw M, Kusagawa S. High prevalence of diverse forms of HIV-1 intersubtype recombinants in Central Myanmar: geographic hot spot of extensive recombination. *AIDS* 2003;17:2077-87.
61. Tee KK, Pon CK, Kamarulzaman A, Ng KP. Emergence of HIV-1 CRF 01_AE/B unique recombinant forms in Kuala Lumpur, Malaysia. *AIDS* 2005;19:119-26.

