

นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจพบอีลิตคอนโทรลเลอร์ปลอมของเชื้อเอชไอวีในผู้บริจาคโลหิตไทย

อภิสิทธิ์ ทองไทยสิน¹ ดวงนภา อินทรสงเคราะห์² ปกรัฐ หังสสุต³ เจตวรณ ศิริอักษร¹ ภาวิณี คุปตวินทุ²

และ ศศิธร เพชรจันทร์²

¹ภาควิชาเวชศาสตร์ชั้นสูง คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ²ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

³ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย

บทคัดย่อ

บทนำ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ตรวจคัดกรองตัวอย่างโลหิตจากผู้บริจาคโลหิตทุกคน ด้วยทั้งวิธีน้ำเหลืองวิทยา และการตรวจหาสารพันธุกรรม ผู้บริจาคโลหิตที่อาจเป็นอีลิตคอนโทรลเลอร์ คือผู้บริจาคที่ผลตรวจน้ำเหลืองวิทยาให้ผลบวกซ้ำ แต่การตรวจหาสารพันธุกรรมให้ผลลบ และยังไม่มีการศึกษาในประเทศไทยถึงสาเหตุของกลุ่มนี้ว่ามาจากพันธุกรรม (อีลิตคอนโทรลเลอร์จริง) หรือ การใช้ยาต้านไวรัส (อีลิตคอนโทรลเลอร์ปลอม) **วัตถุประสงค์** เพื่อหาความชุกของอีลิตคอนโทรลเลอร์ปลอมในผู้บริจาคโลหิตชาวไทย ที่ผลการตรวจด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาให้ผลบวก แต่การตรวจหาสารพันธุกรรมให้ผลลบ **วัสดุและวิธีการ** ตัวอย่างพลาสมาแช่แข็งจากผู้บริจาคโลหิต จำนวน 70 ราย ที่อาจเป็นอีลิตคอนโทรลเลอร์ที่เก็บระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2564 นำไปตรวจหายากลุ่ม nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) ตัวอย่างที่ให้ผลบวกได้รับการตรวจหายากลุ่ม non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) และ protease inhibitors (PIs) เพิ่มเติม นอกจากนี้ทุกตัวอย่างจะได้รับการตรวจเพิ่มเติมด้วย Geenius HIV-1/2 confirmatory assay ด้วย **ผลการศึกษา** พบว่ามี 1 ตัวอย่าง (1.43%) ที่ให้ผลบวกกับกลุ่มยา NRTIs (tenofovir และ emtricitabine) จากผู้บริจาคโลหิตที่อาจเป็นอีลิตคอนโทรลเลอร์ 70 คน ซึ่งเท่ากับ 0.02% ของผู้บริจาคโลหิตทั้งหมดในช่วงเวลานั้น ตรวจพบยา efavirenz จากการตรวจเพิ่มเติมกับกลุ่มยา NNRTIs และให้ผลบวกกับ HIV-1 ด้วย การตรวจ Geenius HIV-1/2 confirmatory assay ตัวอย่างอีก 69 ตัวอย่างที่ให้ผลลบกับยา NRTIs มี 1 ตัวอย่าง (1.45%) ให้ผลบวกกับ HIV-1 อีก 2 ตัวอย่าง (2.90%) ให้ผลลบไม่ได้กับ HIV-2 และ 1 ตัวอย่าง (1.45%) ให้ผลลบไม่ได้กับ HIV-1 จากการตรวจยืนยันด้วย Geenius HIV-1/2 confirmatory assay **สรุป** ความชุกของอีลิตคอนโทรลเลอร์ปลอมในผู้บริจาคโลหิตชาวไทยที่ผลการตรวจด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาให้ผลบวก แต่การตรวจหาสารพันธุกรรมให้ผลลบ คือ 1.43% และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมทางพันธุกรรมในผู้ติดเชื้อ HIV เพื่อหาสาเหตุที่แท้จริงต่อไป

คำสำคัญ : ● อีลิตคอนโทรลเลอร์ ● เอชไอวี ● ยาต้านไวรัส

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต. 2565;32:99-109.

ได้รับต้นฉบับ 4 มีนาคม 2565 แก้ไขบทความ 29 มีนาคม 2565 รับลงตีพิมพ์ 4 เมษายน 2565

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ นพ.อภิสิทธิ์ ทองไทยสิน ภาควิชาเวชศาสตร์ชั้นสูง คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย ถนนพระรามที่ 4 แขวงปทุมวัน เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 E-mail: aphisitthongthaisin@gmail.com

Original article

Detection of HIV false elite controller in Thai blood donors

Aphisit Thongthaisin¹, Duangnapa Intharasongkroh², Pokrath Hansasuta³, Jettawan Siriaksorn¹,
Pawinee Kupatawintu² and Sasitorn Bejrachandra²

¹Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University and King Chulalongkorn Memorial Hospital, Thai Red Cross Society; ²National Blood Centre, Thai Red Cross Society; ³Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University and King Chulalongkorn Memorial Hospital, Thai Red Cross Society

Abstract:

Introduction: National Blood Centre, Thai Red Cross Society screens blood samples from every donor for HIV with both serological test and nucleic acid testing (NAT). Potential elite controllers (EC) are donors who tested repeatedly reactive by serology, but non-reactive by NAT. There is no study in Thailand to date to find the cause of this group's test results whether they are due to genetics (true EC) or antiretroviral therapy (ART) drugs (false EC). **Objective:** To assess the prevalence of HIV false EC in Thai blood donors who tested reactive by serology, but non-reactive by NAT. **Materials and Methods:** Seventy stored frozen plasma samples from potential EC collected during July to December 2021 were tested for nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs). Positive samples were further tested for non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) and protease inhibitors (PIs). In addition, Geenius HIV-1/2 confirmatory assay was also performed for all samples. **Results:** Of 70 potential ECs from total of 315,170 donors (0.02%) during that period, there was one sample (1.43%) that tested positive for NRTIs (tenofovir and emtricitabine). Efavirenz was also found on further testing for NNRTIs. Geenius HIV-1/2 confirmatory assay was positive for HIV-1. Of 69 potential ECs negative for NRTIs, there was 1 sample (1.45%) tested positive for HIV-1, 2 samples (2.90%) tested indeterminate for HIV-2 and 1 sample (1.45%) that tested indeterminate for HIV-1 by Geenius HIV-1/2 confirmatory assay. **Conclusion:** The prevalence of false EC due to NRTIs treatment was only 1.43% in HIV serology reactive Thai blood donors and should be further study for the human genetics that may be involved with this group.

Keywords : ● Elite controller ● HIV ● Antiretroviral therapy

J Hematol Transfus Med. 2022;32:99-109.

บทนำ

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย มีการตรวจหาเชื้อโรคที่สามารถถ่ายทอดทางโลหิตเพื่อลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อของผู้ป่วยหลังการรับเลือดในผู้บริจาคโลหิตทุกคน ซึ่งจะทำให้การตรวจคัดกรองเชื้อโรคที่สามารถถ่ายทอดทางการให้เลือดทั้งหมด 4 เชื้อที่มีความสำคัญตามข้อกำหนดของ American Association of Blood Banks (AABB) และ World Health Organization (WHO) โดยจะทำการตรวจด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยา (serological test) ซึ่งใช้หลักการ chemiluminescence immunoassay (CMIA) ได้แก่ 1) เชื้อไวรัสตับอักเสบบี (hepatitis B virus, HBV) 2) เชื้อไวรัสตับอักเสบซี (hepatitis C virus, HCV) 3) เชื้อไวรัสเอชไอวี (human immunodeficiency virus; HIV) 4) เชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคซิฟิลิส (*Treponema pallidum*) นอกจากนี้ได้ทำการตรวจหาสารพันธุกรรม (nucleic acid) โดยใช้หลักการ real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) ในการตรวจหา HBV DNA, HCV RNA และ HIV RNA¹

ทั้งนี้ในปีงบประมาณ 2556, 2557, 2558, 2559 และ 2560 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย มีการตรวจตัวอย่างทั้งหมด 370,657, 375,234, 391,286, 373,396 และ 388,635 ราย ตามลำดับ โดยมีการตรวจพบแอนติเจนและแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อ (HIV Ag/Ab) จากการตรวจด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาในแต่ละปีเป็นจำนวน 450 ราย (0.12%) 384 ราย (0.10%) 402 ราย (0.10%) 299 ราย (0.08%) และ 297 ราย (0.08%) ตามลำดับ¹

การตรวจหาสารพันธุกรรม (nucleic acid testing; NAT) โดยใช้หลักการ RT-PCR ในการตรวจหา HIV RNA มีประโยชน์ในการตรวจหาเชื้อเอชไอวีในผู้ติดเชื้อที่อยู่ในระยะแอบแฝง (window period) ซึ่งยังตรวจไม่พบแอนติเจนและแอนติบอดีต่อเชื้อเอชไอวีด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยา ในปี พ.ศ. 2551 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ทำการตรวจหาสารพันธุกรรมในโลหิตบริจาคทุกยูนิตที่เจาะเก็บโดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ด้วยวิธีแบบรวม 6 ตัวอย่าง (minipool of 6)² และเปลี่ยนเป็นการตรวจแบบตัวอย่างเดี่ยว (individual donor nucleic acid testing; ID-NAT) ในปี พ.ศ. 2559 ซึ่งสามารถลด window period ในการตรวจพบการติดเชื้อเอชไอวีจาก 16 วันด้วยการตรวจด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาเป็น 11 วันด้วยการตรวจหาสารพันธุกรรมแบบรวมตัวอย่าง และ 9 วันด้วยการตรวจหาสารพันธุกรรมแบบตัวอย่างเดี่ยว ตามลำดับ³ ทำให้มีจำนวนการตรวจพบเชื้อเอชไอวีในโลหิตบริจาคด้วยวิธี NAT ในรายการทดสอบหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อเอชไอวีด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาให้ผลลบ (NAT yield) จำนวน 5 ราย 11 ราย 3 ราย 9 ราย และ 6 ราย ในปีงบประมาณ 2556, 2557, 2558, 2559 และ 2560 ตามลำดับ¹

อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษามากนักในประเทศไทยในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตที่ตรวจหาแอนติเจนของเชื้อเอชไอวีและแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อ (HIV Ag/Ab) ด้วยการตรวจด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาแล้วให้ผลลบ แต่การตรวจหาสารพันธุกรรมให้ผลลบ ข้อมูลจากฝ่ายสารสนเทศและเทคโนโลยี ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ พบว่าในระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2564 มีผู้บริจาคที่ได้รับการตรวจคัดกรองโลหิตที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ และมีผลการตรวจดังกล่าวจำนวนทั้งหมด 79 คน ซึ่งอาจเกิดจากการตรวจด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาให้ผลลบปลอม ผู้บริจาคโลหิตเป็นอีลิตคอนโทรลเลอร์ (elite controller) ของเชื้อเอชไอวีหรือผู้บริจาคโลหิตกำลังได้รับการรักษาการติดเชื้อเอชไอวีด้วยยาต้านไวรัส (antiretroviral therapy; ART) หรือเรียกว่ากลุ่มอีลิตคอนโทรลเลอร์ปลอม (false elite controller)

International HIV Controller Consortium ได้ให้คำนิยามของอีลิตคอนโทรลเลอร์ (elite controller) คือ ผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ 1) ผลตรวจเอชไอวีแอนติบอดีด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาให้ผลลบ 2) ไม่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสภายใน 12 เดือนที่ผ่านมา 3) มีการตรวจหาสารพันธุกรรม HIV RNA ในพลาสมาอย่างน้อย 3 ครั้งในเวลาร้อยอย่างน้อย 12 เดือนนี้ที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัส และผลทั้งหมดต้องต่ำกว่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection) ซึ่งเท่ากับ 50 RNA copies/mL⁴

การศึกษาในประเทศฝรั่งเศสพบว่าในผู้ติดเชื้อเอชไอวี 330 คนที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสในช่วงระยะ 6-24 เดือนแรกของการติดเชื้อ (early infection) มีเพียง 12 คน (4%) ที่มีปริมาณไวรัส (viral load) น้อยกว่า 200 RNA copies/mL และเพียงคนเดียว (0.3%) ที่มีปริมาณไวรัสต่ำกว่า 20 RNA copies/mL⁵ ในขณะที่อีกการศึกษาหนึ่งซึ่งติดตามผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสเป็นระยะเวลามากกว่า 10 ปีในกลุ่ม พบว่ามีผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีปริมาณไวรัสต่ำกว่า 400 RNA copies/mL จำนวน 8 คน (0.6%) จาก 1,300 คนในกลุ่มหนึ่ง และจำนวน 9 คน (0.5%) จาก 1,551 คนในอีกรายการหนึ่ง⁶ การศึกษาในประเทศกานดาพบความชุกของผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสและมีปริมาณไวรัสต่ำกว่า 20 RNA copies/mL เป็นเวลาร้อยอย่างน้อย 6 เดือน หรืออีลิตคอนโทรลเลอร์ 36 คน (0.25%) จาก 14,492 คน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ความชุกของอีลิตคอนโทรลเลอร์คือน้อยกว่า 1% ของผู้ติดเชื้อเอชไอวีทั้งหมด^{4,7}

สำหรับการศึกษาในประเทศไทย โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นายแพทย์ปกรวิธ หงษ์สุต⁸ ทำการตรวจปริมาณไวรัสในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสที่มีจำนวน CD4 T-lymphocytes มากกว่า 450 cells/mm³ จำนวน 70 คน พบอีลิตคอนโทรลเลอร์ที่มีปริมาณไวรัสต่ำกว่า 50 RNA copies/mL จำนวน 3 คน (4.29%)

สำหรับกลุ่มอีสีทคอนโทรลเลอร์ปลอมที่มีการศึกษาในประเทศแอฟริกาใต้ในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตที่ผลการตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อเอชไอวีด้วยการตรวจโดยวิธีน้ำเหลืองวิทยาแล้วให้ผลบวก แต่การตรวจหาสารพันธุกรรมให้ผลลบจำนวน 226 คน พบว่ามี 150 คน (66.4%) ผลตรวจหาต้านไวรัสในพลาสมาให้ผลบวก โดย 130 คน (87%) ให้ผลบวกต่อยา efavirenz, 13 คน (66.4%) ให้ผลบวกต่อยา nevirapine และ 7 คน (4.7%) ให้ผลบวกต่อยา lopinavir จึงจัดเป็นกลุ่มอีสีทคอนโทรลเลอร์ปลอม⁷

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความชุกของอีสีทคอนโทรลเลอร์ปลอมของเชื้อเอชไอวี ในผู้บริจาคโลหิตไทยที่ตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อเอชไอวีด้วยการตรวจโดยวิธีน้ำเหลืองวิทยาแล้วให้ผลบวก แต่การตรวจหาสารพันธุกรรมให้ผลลบ เพื่อเป็นความรู้พื้นฐานสำหรับการพิจารณานโยบายด้านการบริการโลหิตที่ปลอดภัย เพื่อพัฒนาการคัดกรองสุขภาพผู้บริจาคโลหิต และเพื่อเฝ้าระวังความเสี่ยงการติดเชื้อในผู้ป่วยจากการรับโลหิตบริจาค เนื่องจากผู้บริจาคโลหิตกลุ่มนี้อาจมีผลต่อความปลอดภัยของผู้รับโลหิตหากโลหิตนั้นได้รับการจ่ายออกไป เนื่องจากยาต้านไวรัสอาจกีดขวางการสร้างแอนติบอดีต่อเอชไอวี และสารพันธุกรรมของไวรัส และทำให้ผลการตรวจทั้งวิธีทางน้ำเหลืองวิทยาและการตรวจหาสารพันธุกรรมให้ผลลบ⁸ ซึ่งพบว่ายาต้านไวรัสจะทำให้แอนติบอดีลดลงจนตรวจไม่พบได้หากเริ่มรับประทานหลังแอนติบอดีให้ผลบวก (seroconversion) ได้ไม่นาน หรือหลังจากกดปริมาณไวรัสในกระแสเลือดได้เป็นเวลานาน (prolonged viral suppression)¹⁰

วัสดุและวิธีการ

งานวิจัยนี้เป็นแบบการวิจัยโดยการสังเกตเชิงพรรณนา ณ จุดเวลาใดเวลาหนึ่ง (observational descriptive cross-sectional study) ศึกษาความชุกเป็นสถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) และได้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย COA No. 205/2021 IRB No. 027/64 วันที่รับรอง 11 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564 วันหมดอายุ 10 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2565 และจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย COA No. NBC 3/2021 รหัสโครงการ 9/2564 วันที่รับรอง 17 มีนาคม พ.ศ. 2564 วันหมดอายุ 17 มีนาคม พ.ศ. 2565

ตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจวิเคราะห์จากงานบริการของผู้บริจาคโลหิตที่ตรวจคัดกรองโลหิตที่ฝ่ายตรวจคัดกรองโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย และเข้าเกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย (inclusion criteria) ซึ่งประกอบด้วย ผลการตรวจแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อเอชไอวีจากหลอด

ตัวอย่างเป็น reactive (ให้ผลบวก 3 ครั้ง) หรือ inconclusive (ให้ผลบวก 2 ใน 3 ครั้ง) ด้วยเครื่องตรวจอัตโนมัติ Alinity i และผลการตรวจการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอชไอวี (HIV RNA) ด้วยเครื่องตรวจอัตโนมัติ Cobas 6800/8800 ซึ่งมี limit of detection (LOD) ที่ 15 RNA copies/mL ให้ผลลบ และไม่เข้าเกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครออกจากโครงการวิจัย (exclusion criteria) ซึ่งประกอบด้วย 1) ผลการตรวจแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อเอชไอวีจากหลอดตัวอย่างครั้งแรกเป็นลบ หรือเป็นบวก 1 ใน 3 ครั้ง 2) ผลการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอชไอวี (HIV RNA) ให้ผลบวก ทำการเก็บตัวอย่าง โดยนำหลอดตัวอย่างเลือดปริมาตร 6 มิลลิลิตรที่เหลือ มาปั่นแยกพลาสมาที่ความเร็วในการปั่น 1,500 g เป็นเวลา 10 นาที ณ ฝ่ายตรวจคัดกรองโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย แล้วดูดส่วนพลาสมาที่ได้ลงในหลอดจัดเก็บที่มีฝาปิดสนิท นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรอเก็บจำนวนสิ่งส่งตรวจให้ครบตามจำนวนขนาดตัวอย่าง 93 ตัวอย่าง โดยใช้สูตรคำนวณตัวอย่าง¹¹ ดังต่อไปนี้

$$n = Z^2 P(1-P) / d^2$$

โดยที่ n = จำนวนขนาดตัวอย่าง

Z = Z score โดยการศึกษาที่กำหนดให้ค่าระดับนัยสำคัญ หรือ α อยู่ที่ 0.05 ดังนั้นค่า Z จึงมีค่าเท่ากับ 1.96

P = ความชุกที่คาดการณ์จากการศึกษาก่อนหน้านี้จากการศึกษาของ Lambotte และคณะ⁶ มีความชุกของอีสีทคอนโทรลเลอร์ที่มีปริมาณไวรัสน้อยกว่า 400 RNA copies/mL อยู่ที่ร้อยละ 0.6

d = ค่าความแม่นยำ (precision) กำหนดไว้ที่ 0.10

$$\text{จะได้ } n = [1.96^2 \times 0.6 \times (1-0.6)] / 0.10^2 = 92.20$$

อย่างไรก็ตามเนื่องจากการระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ทำให้มีจำนวนผู้บริจาคโลหิตลดลง การเก็บตัวอย่างระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2564 ได้ตัวอย่างมาทำการตรวจวิเคราะห์ทั้งสิ้น 70 ตัวอย่าง หลังจากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์ทั้ง 70 ตัวอย่างพร้อมกัน โดยนำตัวอย่างเลือดไปทำการตรวจหาต้านไวรัสกลุ่ม nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) ซึ่งประกอบด้วย tenofovir (TFV), lamivudine (3TC), abacavir (ABC) และ emtricitabine (FTC) ด้วยวิธี liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) ที่ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ทางชีวภาพ (AMS-BAT) ศูนย์บริการเทคนิคการแพทย์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งมี lower limit of

quantification (LLOQ) 20 ng/mL เนื่องจากยา tenofovir เป็นยาที่อยู่ในสูตรแรกสำหรับการรักษาการติดเชื้อเอชไอวีในประเทศไทย¹² ในส่วนของ nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NRTIs) backbone ทั้งสองสูตร คือ tenofovir/emtricitabine และ tenofovir + lamivudine ซึ่งใช้ร่วมกับ non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NNRTIs) ซึ่งยาสูตรแรกคือ efavirenz หรือ rilpivirine หรือในกรณีผู้ป่วยไม่สามารถรับประทานยา NNRTIs ได้อาจใช้ยาในกลุ่ม protease inhibitors (PIs) คือ lopinavir/ritonavir แทนได้ หากการตรวจหายากลุ่ม NRTIs ให้ผลบวกจึงทำการตรวจหายากลุ่ม NNRTIs และ PIs เพิ่มเติม ซึ่งประกอบด้วยยา atazanavir (ATV), darunavir (DRV), lopinavir (LPV), ritonavir (RTV), nevirapine (NVP) และ efavirenz (EFV) โดยมี lower limit of quantification (LLOQ) เท่ากับ 50 ng/mL ซึ่งโดยปกติเป้าหมายการรักษาในผู้ป่วยเอชไอวีคือมีความเข้มข้นของยา efavirenz เท่ากับ 1,000-4,000 ng/mL¹³ เพื่อหาสาเหตุว่าผู้บริจาคโลหิตรับประทานยาเพื่อการรักษา ซึ่งจะรับประทานยา 3 ชนิดหรือเพื่อป้องกันการติดเชื้อเอชไอวีก่อนที่จะสัมผัสเชื้อ (pre-exposure prophylaxis; PrEP) ซึ่งจะรับประทานยาในกลุ่ม NRTIs เพียงแค่ 2 ชนิด คือ tenofovir/emtricitabine¹²

หลังจากนั้นตัวอย่างที่ตรวจหายากลุ่ม NRTIs ให้ผลบวกจะทำการตรวจยืนยันแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อเอชไอวีด้วยวิธี Geenius confirmatory HIV 1/2 assay ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (RIHES) เพื่อยืนยันว่าผู้บริจาคติดเชื้อเอชไอวีจริงและเป็นกลุ่มอีลิตคอนโทรลเลอร์ปลอม โดย Table 1 แสดงแอนติเจนของเชื้อเอชไอวีที่อยู่บน band ต่างๆ ของชุดตรวจ Geenius confirmatory HIV 1/2 assay¹⁴ Table 2 และ 3 แสดงหลักการแปลผลการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี Geenius confirmatory HIV 1/2 assay สำหรับ HIV-1 และ HIV-2 ตามลำดับ¹⁴ นอกจากนั้นกลุ่มที่ให้ผลการตรวจหายากลุ่ม NRTIs เป็นลบ ได้ทำการส่งตรวจยืนยันแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อเอชไอวีด้วยวิธี Geenius confirmatory HIV 1/2 assay ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (RIHES) เช่นเดียวกัน เพื่อแยกสาเหตุระหว่างกลุ่มที่เกิดจากการตรวจโดยวิธีน้ำเหลืองวิทยา (HIV Ag/Ab) ให้ผลบวกปลอมซึ่งจะให้ผลการตรวจ Geenius confirmatory HIV 1/2 assay เป็นลบ และกลุ่มที่เป็นอีลิตคอนโทรลเลอร์ (elite controller) ของเชื้อเอชไอวี ซึ่งจะให้ผลการตรวจ Geenius confirmatory HIV 1/2 assay เป็นบวก วิธีการวิจัยดังแสดงใน Figure 1

Table 1 HIV antigens coated on the Geenius HIV 1/2 Confirmatory Assay cassette¹⁴

Band	HIV antigen	Abbreviation
1	gp36 (HIV-2, envelop peptide)	HIV-2 ENV
2	gp140 (HIV-2, envelop peptides)	HIV-2 ENV
3	p31 (HIV-1, polymerase peptide)	HIV-1 POL
4	gp160 (HIV-1, envelop recombinant protein)	HIV-1 ENV
5	p24 (HIV-1, core recombinant protein)	HIV-1 GAG
6	gp41 (Group M and O) (HIV-1, envelop peptides)	HIV-1 ENV
Control band	Protein A	

Table 2 Bio-Rad criteria for interpretation of HIV-1 in Geenius HIV 1/2 Confirmatory Assay¹⁴

Interpretation	Bio-Rad criteria
Positive	Any 2 bands of the 4 HIV-1 test lines with at least 1 ENV: gp160 (Band 4) or gp41 (Band 6)
Negative	No Band
Indeterminate	1 ENV (Band 4 or 6) 1 GAG (Band 5) 1 POL (Band 3) 1 GAG and 1 POL (Bands 5 and 3)

Table 3 Bio-Rad criteria for interpretation of HIV-2 in Geenius HIV 1/2 Confirmatory Assay¹⁴

Interpretation	Bio-Rad criteria
Positive	2 HIV-2 bands must be present: gp36 and gp140 (Band 1 and 2)
Negative	No Band
Indeterminate	1 ENV: gp36 (Band 1) or gp140 (Band 2) gp36 (Band 1) alone gp140 (Band 2) alone

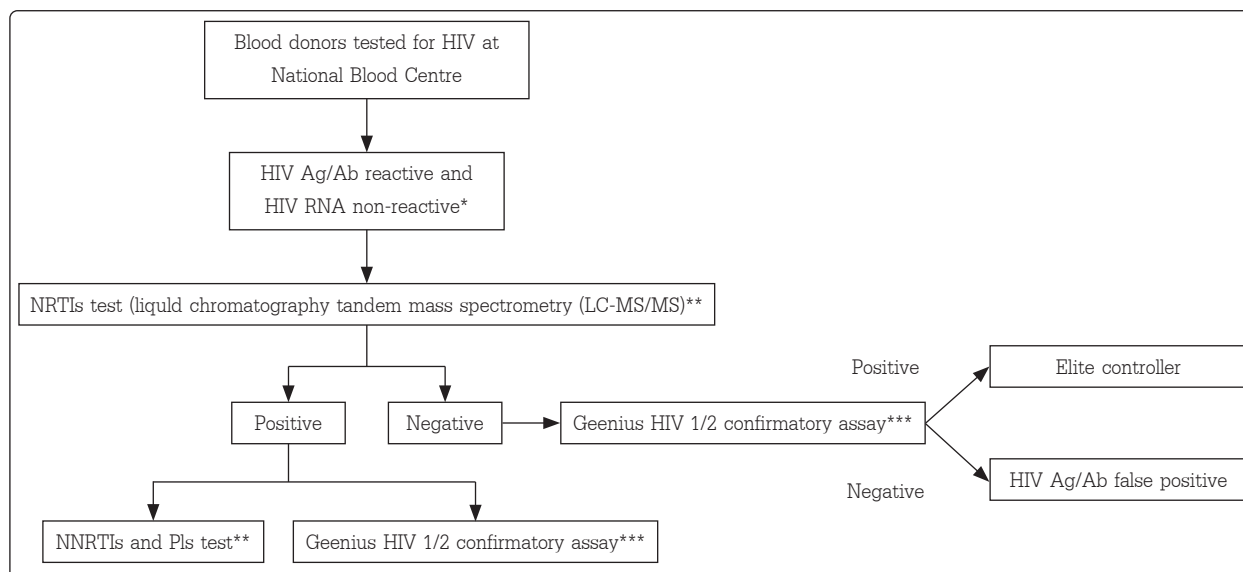


Figure 1 Experimental design of the study; *performed at the Blood Testing Section, National Blood Centre, Thai Red Cross Society; **performed at the Bio-Analytical Testing Facility at Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University (AMS-BAT); ***performed at the Research Institute for Health Sciences, Chiang Mai University (RIHES)

ผลการศึกษา

มีผู้บริจาคโลหิตที่เข้าเกณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย (inclusion criteria) ทั้งหมด 70 คน (0.02%) จากจำนวนผู้บริจาคโลหิตทั้งหมด 315,170 คน ในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2564 โดยเป็นเพศชาย 36 คน (51.43%) และเพศหญิง 34 คน (48.57%) อายุเฉลี่ย 37.21 ปี (ต่ำที่สุด 18 ปี สูงที่สุด 56 ปี) จำนวนครั้งที่บริจาคโลหิตเฉลี่ย 8.84 ครั้ง (ต่ำที่สุด 1 ครั้ง สูงที่สุด 47 ครั้ง) และไม่มีผู้บริจาคโลหิตรายใดให้ประวัติได้รับยาต้านไวรัส ดังแสดงใน Table 4

ตรวจพบ 1 ตัวอย่าง (1.43%) จาก 70 ตัวอย่างที่เป็นอีลิตคอนโทรลเลอร์ปลอม โดยให้ผลบวกกับกลุ่มยา NRTIs (tenofovir และ emtricitabine) โดยตรวจพบ tenofovir ความเข้มข้น 112 ng/mL และ emtricitabine ความเข้มข้น 297 ng/mL ในพลาสมาของผู้บริจาคโลหิตรายนี้ นอกจากนั้นยังตรวจพบยา efavirenz จากการตรวจเพิ่มเติมกับกลุ่มยา NNRTIs โดยตรวจพบความเข้มข้นของยานี้เท่ากับ 3,332 ng/mL นอกจากนั้นการตรวจ Geenius HIV-1/2 confirmatory assay เพื่อยืนยันการติดเชื้อเอชไอวีให้ผลบวกกับ HIV-1 ด้วย โดยให้ผลบวกกับ band 4 (gp160) และ band 6 (gp41) (Figure 2) โดยผู้บริจาคโลหิตรายนี้มีค่า signal to cut-off ratio (S/CO) ของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ HIV Ag/Ab เท่ากับ 137.23

จากการตรวจด้วย Geenius HIV-1/2 confirmatory assay กับตัวอย่างอีก 69 ตัวอย่างที่ให้ผลลบกับยา NRTIs มี 1 ตัวอย่าง

(1.45%) ให้ผลบวกกับ HIV-1 (Figure 3) ซึ่งมีค่า S/CO 143.28 จึงจัดเป็นอีลิตคอนโทรลเลอร์ พบว่า 2 ตัวอย่าง (2.90%) ให้ผลลบไม่ได้กับ HIV-2 (Figure 4) ซึ่งมีค่า S/CO 1.46 และ 1.00 และมี 1 ตัวอย่าง (1.45%) (Figure 5) ให้ผลลบไม่ได้กับ HIV-1 ซึ่งมีค่า S/CO 2.6 ส่วนที่เหลืออีก 65 ตัวอย่าง (94.20%) ให้ผลลบ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของ S/CO เท่ากับ 2.71 จึงจัดเป็นกลุ่มที่เกิดจากการตรวจด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาให้ผลบวกปลอม

วิจารณ์

ความซุกของอีลิตคอนโทรลเลอร์ปลอมในผู้บริจาคโลหิตชาวไทยที่ผลการตรวจด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาให้ผลบวกที่ตรวจยืนยันแล้ว แต่การตรวจหาสารพันธุกรรมให้ผลลบ คือ ร้อยละ 50 เนื่องจากการศึกษาที่พบตัวอย่างที่ให้ผลบวกจากการตรวจด้วย Geenius HIV-1/2 confirmatory assay 2 ตัวอย่าง ซึ่ง 1 ตัวอย่างตรวจพบยาต้านไวรัส และอีก 1 ตัวอย่างตรวจไม่พบยาต้านไวรัส ซึ่งต่ำกว่าการศึกษาก่อนหน้าในต่างประเทศ โดยการศึกษาในประเทศแอฟริกาใต้ 2 การศึกษา พบความซุกร้อยละ 66.4⁷ และ 85¹⁵ และการศึกษาหนึ่งในประเทศสหรัฐอเมริกา พบความซุกร้อยละ 87.3¹⁰ ทั้งๆ ที่ประเทศไทยมีการเข้าถึงยาต้านไวรัสมากกว่าประเทศแอฟริกา โดยผู้ติดเชื้อเอชไอวีในประเทศไทยได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัส ร้อยละ 79 ในขณะที่ผู้ติดเชื้อเอชไอวีในประเทศแอฟริกาได้รับการรักษาเพียงแค่อ้อยละ 72¹⁶ อาจแสดงให้เห็นว่าผู้บริจาคโลหิตชาวไทยที่มีความเสี่ยงติดเชื้อเอชไอวีสูงหรือรับประทานยาต้านไวรัสอยู่

Table 4 Baseline characteristics of blood donors included in this study

No.	Sex	Age	Number of donation	HIV Ag/Ab result	HIV NAT result
1	Male	47	17	Inconclusive	Negative
2	Male	34	24	Inconclusive	Negative
3	Female	34	2	Inconclusive	Negative
4	Male	27	5	Inconclusive	Negative
5	Male	47	9	Inconclusive	Negative
6	Male	20	1	Inconclusive	Negative
7	Female	30	7	Inconclusive	Negative
8	Female	28	21	Inconclusive	Negative
9	Male	29	4	Inconclusive	Negative
10	Male	18	1	Inconclusive	Negative
11	Female	27	19	Inconclusive	Negative
12	Female	38	5	Inconclusive	Negative
13	Male	21	6	Inconclusive	Negative
14	Male	32	1	Inconclusive	Negative
15	Male	28	1	Inconclusive	Negative
16	Female	50	14	Inconclusive	Negative
17	Male	31	1	Inconclusive	Negative
18	Female	46	1	Inconclusive	Negative
19	Male	54	1	Inconclusive	Negative
20	Male	45	4	Inconclusive	Negative
21	Female	28	24	Inconclusive	Negative
22	Female	49	34	Reactive	Negative
23	Male	41	1	Inconclusive	Negative
24	Female	42	1	Reactive	Negative
25	Male	37	5	Inconclusive	Negative
26	Male	27	1	Reactive	Negative
27	Female	30	1	Inconclusive	Negative
28	Female	36	32	Inconclusive	Negative
29	Male	55	14	Inconclusive	Negative
30	Female	30	4	Inconclusive	Negative
31	Male	46	4	Reactive	Negative
32	Male	41	7	Inconclusive	Negative
33	Female	40	6	Inconclusive	Negative
34	Female	41	1	Inconclusive	Negative
35	Female	51	13	Inconclusive	Negative
36	Female	45	12	Reactive	Negative
37	Male	21	1	Inconclusive	Negative
38	Female	50	1	Inconclusive	Negative
39	Female	27	21	Inconclusive	Negative
40	Male	33	25	Reactive	Negative
41	Female	20	2	Inconclusive	Negative
42	Male	39	7	Inconclusive	Negative
43	Male	38	24	Inconclusive	Negative
44	Male	42	28	Inconclusive	Negative
45	Female	30	1	Inconclusive	Negative
46	Female	55	1	Inconclusive	Negative
47	Female	45	1	Inconclusive	Negative

Table 4 Baseline characteristics of blood donors included in this study (continued)

No.	Sex	Age	Number of donation	HIV Ag/Ab result	HIV NAT result
48	Male	21	1	Inconclusive	Negative
49	Male	29	18	Inconclusive	Negative
50	Female	56	47	Inconclusive	Negative
51	Male	25	3	Inconclusive	Negative
52	Female	43	4	Inconclusive	Negative
53	Male	55	2	Inconclusive	Negative
54	Male	34	1	Inconclusive	Negative
55	Male	21	5	Inconclusive	Negative
56	Female	49	1	Inconclusive	Negative
57	Female	45	19	Inconclusive	Negative
58	Female	43	24	Inconclusive	Negative
59	Male	36	2	Inconclusive	Negative
60	Female	53	10	Reactive	Negative
61	Male	49	11	Inconclusive	Negative
62	Male	25	2	Inconclusive	Negative
63	Female	35	13	Inconclusive	Negative
64	Male	22	5	Reactive	Negative
65	Female	47	18	Inconclusive	Negative
66	Female	34	1	Inconclusive	Negative
67	Female	45	11	Inconclusive	Negative
68	Male	52	1	Reactive	Negative
69	Female	30	3	Inconclusive	Negative
70	Male	31	1	Inconclusive	Negative



Figure 2 Positive result for HIV-1 by Geenius HIV 1/2 confirmatory assay: gp160 (band 4) and gp41 (band 6). The Bio-Rad criterion for positive result for HIV-1 is: any 2 bands of the 4 HIV-1 test lines (bands 3-6) with at least 1 envelop peptide (ENV) - gp160 (band 4) or gp41 (band 6)



Figure 3 Positive result for HIV-1 by Geenius HIV 1/2 confirmatory assay: gp160 (band 4), p24 (band 5) and gp41 (band 6). The Bio-Rad criteria for positive result for HIV-1 is: any 2 bands of the 4 HIV-1 test lines (bands 3-6) with at least 1 envelop peptide (ENV) - gp160 (band 4) or gp41 (band 6)

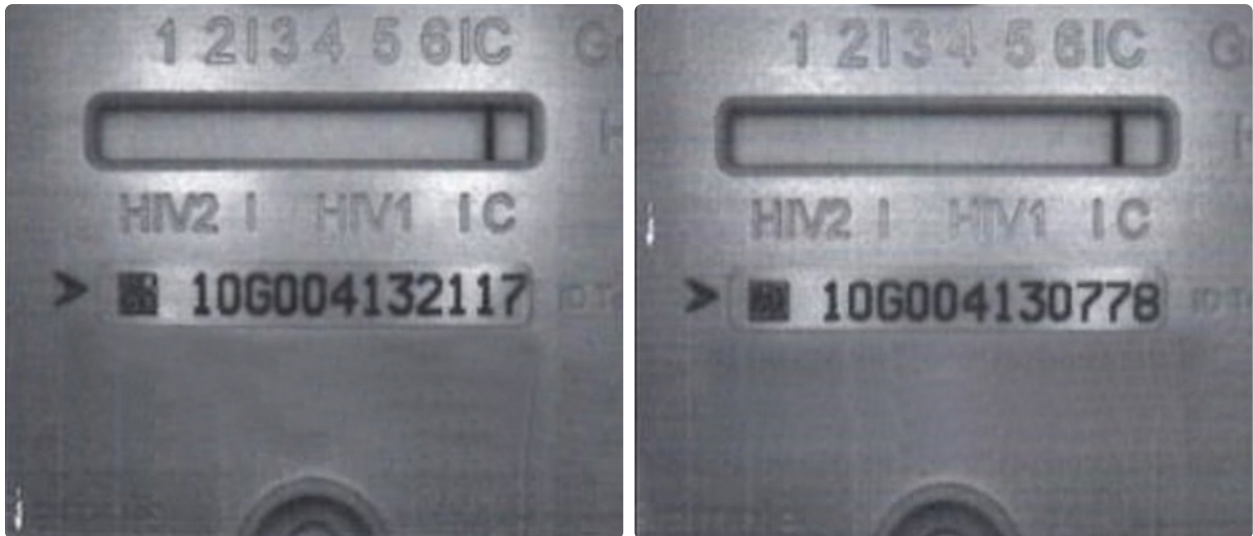


Figure 4 Indeterminate results for HIV-2 by Geenius HIV 1/2 confirmatory assay: gp140 (band 2). The Bio-Rad criteria for indeterminate result for HIV-2 is: 1 HIV-2 envelope peptide (ENV) band is present: gp36 (band 1) or gp140 (band 2)

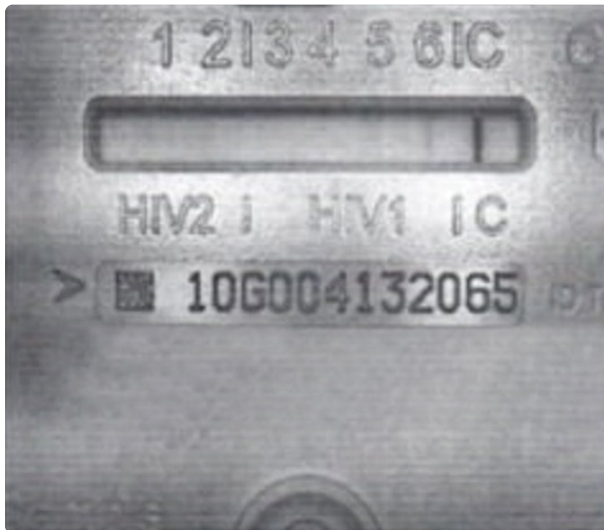


Figure 5 Indeterminate result for HIV-1 by Geenius HIV 1/2 confirmatory assay: gp41 (band 6). The Bio-Rad criteria for indeterminate result for HIV-1 is: 1 envelope peptide (ENV) (band 4 or 6), 1 core recombinant protein (GAG) (band 5), 1 polymerase peptide (POL) (band 3), or 1GAG and 1 POL (bands 5 and 3)

ตระหนักถึงความเสี่ยงของตนเองและผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นกับผู้รับโลหิตบริจาคจึงไม่มาบริจาคโลหิต (self-defer) มากกว่าผู้บริจาคโลหิตชาวแอฟริกาใต้ อย่างไรก็ตาม การตรวจพบว่าผู้บริจาคโลหิตที่รับประทานยาต้านไวรัสอยู่และสามารถบริจาคโลหิตได้ทั้งๆที่แบบสอบถามเพื่อประเมินสุขภาพผู้บริจาคโลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย มีการถามว่า “ท่านเคยใช้ยารักษาหรือป้องกันการติดเชื้อเอชไอวี” ซึ่งหากตอบว่าใช่ จะถูกงดการบริจาค

โลหิตอย่างถาวร¹⁷ แสดงให้เห็นว่าผู้บริจาคโลหิตอาจไม่ได้บอกความจริงจึงสามารถบริจาคได้ ดังนั้นจึงควรมีการกำหนดนโยบายประเมินสุขภาพผู้บริจาคโลหิตที่รัดกุมยิ่งขึ้นเพื่อป้องกันผลกระทบต่อผู้ป่วยรวมถึงแพทย์ที่รักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีควรสื่อสารให้ผู้ติดเชื้อเข้าใจว่าต้องไม่มาบริจาคเลือด แม้ว่าผลการรักษาจะได้ผลดีจนตรวจไม่พบเชื้อไวรัส (undetectable) แล้วก็ตาม เนื่องจากยังมีโอกาสถ่ายทอดเชื้อไปให้ผู้ป่วยทางการให้เลือดได้ (transmissible) อย่างไรก็ตาม โลหิตทั้งหมดในการศึกษานี้ถูกจำหน่ายทั้งตามแนวทางปฏิบัติของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ต่อโลหิตที่ให้ผลบวกซ้ำ (repeatedly reactive) ซึ่งหมายถึงผลการตรวจจากวิธีน้ำเหลืองวิทยาครั้งแรกเป็นบวก (initial reactive) และเมื่อตรวจซ้ำอีก 2 ครั้ง (duplicate) ให้ผลบวกอย่างน้อย 2 ใน 3 ครั้ง¹⁷ นอกจากนี้ ควรให้ความระมัดระวังเป็นพิเศษกับโลหิตที่มีค่า S/CO ของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ HIV Ag/Ab ที่สูงเป็นหลักร้อยละ และชุดตรวจ immunochromatographic strip (ICS, Abbott Determine) ที่ตรวจจากพลาสมาในสายปัสสาวะของถุงโลหิตให้ผลบวกว่า อาจมีการติดเชื้อเอชไอวีจริง เนื่องจากการศึกษานี้พบว่าตัวอย่างที่ผลการตรวจ Geenius HIV 1/2 confirmatory assay ให้ผลลบ มีค่า S/CO เฉลี่ยเพียงแค่ 2.71 และ ICS ส่วนใหญ่ให้ผลลบ ในขณะที่ตัวอย่างของอีพิทอปคอนโทรลเลอร์ปลอมมีค่า S/CO 137.23 ICS ให้ผล 4+ ตัวอย่างของอีพิทอปคอนโทรลเลอร์มีค่า S/CO 143.28 ICS ให้ผล 4+ และตัวอย่างที่ให้ผลสรุปไม่ได้กับ HIV-1 มีค่า S/CO 2.6 ICS ให้ผล weak และสำหรับตัวอย่างที่ให้ผลสรุปไม่ได้กับ HIV-2 มีค่า S/CO 1.46 และ 1.00 ICS ให้ผลลบทั้งสองตัวอย่าง

การศึกษานี้พบว่า ยาต้านไวรัสที่ผู้บริจาคโลหิตที่เป็นอีลิตคอนโทรลเลอร์ปลอมที่ตรวจพบ 1 ราย ใช้อยู่คือยา tenofovir, emtricitabine และ efavirenz ซึ่งยา efavirenz เป็นยาต้านไวรัสที่พบมากที่สุด (87%) ในผู้บริจาคโลหิตที่เป็นอีลิตคอนโทรลเลอร์ปลอมในการศึกษาในประเทศแอฟริกาใต้เช่นเดียวกัน⁷

จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมจากการศึกษานี้เพื่อค้นหาสาเหตุทางพันธุกรรมที่ทำให้อีลิตคอนโทรลเลอร์ 1 รายที่ตรวจพบในการศึกษานี้สามารถควบคุมการเพิ่มจำนวนของไวรัสได้เองโดยไม่ใช้ยาต้านไวรัส เช่นการตรวจ human leukocyte antigen (HLA) typing เนื่องจากมีการศึกษาก่อนหน้าที่พบว่า HLA บาง alleles เช่น HLA-B*57, HLA-B*58:01, HLA-B*27 และ HLA-B*14 มีความสัมพันธ์กับการเป็นอีลิตคอนโทรลเลอร์¹⁸

สรุป

จากตัวอย่างพลาสมาของผู้บริจาคโลหิตชาวไทยที่ผลการตรวจด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาให้ผลบวก แต่การตรวจหาสารพันธุกรรมให้ผลลบทั้งหมด 70 ตัวอย่าง ตรวจพบอีลิตคอนโทรลเลอร์ปลอม 1 ตัวอย่าง (1.43%) อีลิตคอนโทรลเลอร์ 1 ตัวอย่าง (1.43%) สรุปผลไม่ได้ 3 ตัวอย่าง (4.29%) และผลการตรวจด้วยวิธีน้ำเหลืองวิทยาให้ผลบวกปลอม 65 ตัวอย่าง (92.86%)

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงจุใจ ชัยวานิชศิริ ผู้อำนวยการศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย และศาสตราจารย์เกียรติคุณ แพทย์หญิงพิมล เชื้อวชิรศิลป์ ที่ปรึกษาศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย สำหรับคำแนะนำในการศึกษานี้

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Ratchadapisek-sompotch Fund, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, grant number GA64/34) และจากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

เอกสารอ้างอิง

1. Kupatawintu P, Oota S, Kijriengkraikul N, Limsaiprom P, Kumkrong P, Witthayawiwat P, et al. Annual report 2017 National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Bangkok: National Blood Centre, Thai Red Cross Society; 2019.
2. Sakuldamrongpanich T, Oota S, Kramkratok P, Khuenkaew R, Rattajak P, Pheakkhuntod S, et al. NAT screening for human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus and hepatitis B virus in blood donations at the National Blood Centre and Regional Blood Centres of the Thai Red Cross. *J Hematol Transfus Med.* 2012;22:93-100.
3. Costa ASL, Brasiliense DM. HIV seroconversion in blood donors from the coordinating blood bank in the State of Pará. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2011;33:342-6.
4. Deeks SG, Walker BD. Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy. *Immunity.* 2007;27:406-16.
5. Hubert JB, Burgard M, Dussaix E, Tamalet C, Deveau C, Le Chenadec J, et al. Natural history of serum HIV-1 RNA levels in 330 patients with a known date of infection. The SEROCO Study Group. *AIDS.* 2000;14:123-31.
6. Lambotte O, Boufassa F, Madec Y, Nguyen A, Goujard C, Meyer L, et al. HIV controllers: a homogeneous group of HIV-1-infected patients with spontaneous control of viral replication. *Clin Infect Dis.* 2005;41:1053-6.
7. Sykes W, Van den Berg K, Jacobs G, Jauregui A, Roubinian N, Wiesner L, et al. Discovery of false elite controllers: HIV antibody-positive RNA-negative blood donors found to be on antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2019;220:643-7.
8. Hansasuta P. Personal communication; 2020.
9. Shahar E, Shapiro A, Baskin L, Oz ZK. Antiretroviral therapy-induced negative HIV antibody test following diagnosis of HIV infection. *AIDS.* 2019;33:1804-5.
10. Custer B, Quiner C, Haaland R, Martin A, Stone M, Reik R, et al. HIV antiretroviral therapy and prevention use in US blood donors: a new blood safety concern. *Blood.* 2020;136:1351-8.
11. Pourhoseingholi MA, Vahedi M, Rahimzadeh M. Sample size calculation in medical studies. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench.* 2013;6:14-7.
12. Department of Disease Control. Thailand national guidelines on HIV/AIDS treatment and prevention 2017. Bangkok: The Agricultural Cooperative Federation of Thailand Ltd.; 2017. Available from: http://www.thaiaidsociety.org/images/PDF/hiv_thai_guideline_2560.pdf.

13. Acosta EP, Limoli KL, Trinh L, Parkin NT, King JR, Weidler JM, et al. Novel method to assess antiretroviral target trough concentrations using in vitro susceptibility data. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:5938-45.
14. Geenius™ HIV 1/2 Confirmatory Assay [package insert]. Marnes-la-Coquette, France: Bio-Rad; 2013.
15. van den Berg K, Vermeulen M, Louw VJ, Murphy EL, Maartens G. Undisclosed HIV status and antiretroviral therapy use among South African blood donors. *Transfusion.* 2021;61:2392-400.
16. UNAIDS. UNAIDS Data 2021. Geneva: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS; 2021. Available from: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/JC3032_AIDS_Data_book_2021_En.pdf.
17. National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Blood donation manual. 1st ed. Bangkok: National Blood Centre, Thai Red Cross Society; 2021.
18. Lunardi LW, Bragatte MAS, Vieira GF. The influence of HLA/HIV genetics on the occurrence of elite controllers and a need for therapeutics geotargeting view. *Braz J Infect Dis.* 2021;25:101619. doi: 10.1016/j.bjid.2021.101619.

