

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ รูปแบบการกลายพันธุ์และแบบชนิดย่อยเชิงพันธุกรรมของเชื้อเอชไอวี 1 ในผู้ป่วยเขตภาคเหนือของประเทศไทย

ผู้เขียน นางสาวจุฑารัตน์ ประภารัตนะพันธุ์

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (จุลชีววิทยาประยุกต์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยິงมณี ตระกูลพั่ว	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
ศาสตราจารย์นายแพทย์ ขวัญชัย ศุภรัตน์ภิญโญ	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
อาจารย์ ดร. วสุ ปฐมอารีย์	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

ปัจจุบันการรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีตามวิธีมาตรฐานคือการรักษาด้วยการใช้ยาต้านไวรัสมากกว่าหนึ่งชนิดร่วมกัน และการที่มีการใช้ยาต้านไวรัสอย่างแพร่หลายก็ส่งผลให้เกิดมีการดื้อยาเพิ่มมากขึ้น การตรวจหาการเพิ่มของปริมาณเชื้อไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือดและการตรวจหาการดื้อยาด้านไวรัสที่ล่าช้าอาจส่งผลทำให้เกิดมีการดื้อยาสะสมเพิ่มมากขึ้น จนส่งผลให้มีการลดลงของปริมาณ CD4 เนื่องจากชุดตรวจสำเร็จรูปสำหรับการตรวจวินิจฉัยเชื้อดื้อยาที่มีขายในท้องตลาดมีราคาที่สูงมาก การศึกษาครั้งนี้จึงมีการประเมินผลการตรวจดื้อยาด้านไวรัสจากชุดตรวจ HIV-1 genotyping ที่พัฒนาขึ้นมาเองเทียบกับผลการตรวจจากชุดตรวจสำเร็จรูปของ TRUGENE HIV-1 genotyping และศึกษารูปแบบการกลายพันธุ์ของเชื้อในผู้ติดเชื้อเอชไอวี ผลการเปรียบเทียบระหว่างการดื้อยาด้านไวรัสด้วยชุดตรวจที่พัฒนาขึ้นมาเองกับชุดตรวจสำเร็จรูปของ TRUGENE HIV-1 genotyping ได้ค่าความสอดคล้องกันมากกว่าร้อยละ 99.0 และชุดตรวจที่พัฒนาขึ้นมาเองยังสามารถตรวจในตัวอย่างที่มีปริมาณไวรัสในกระแสเลือดเพียง 100 copies/ml ได้ ผลการศึกษารูปแบบการกลายพันธุ์ในผู้ป่วยที่รักษาด้วยยาต้านไวรัสไม่ได้ผล พบว่าความถี่ของการกลายพันธุ์ที่

สัมพันธ์กับการดื้อยาในกลุ่ม NRTI และ NNRTI ที่พบตั้งแต่ 1 ตำแหน่งขึ้นไปเท่ากับร้อยละ 91.5 และ 93.2 ตามลำดับ การกลายพันธุ์ที่สัมพันธ์กับการดื้อยาในกลุ่ม NRTI ที่พบมากที่สุดคือ ตำแหน่ง M184V ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการกินยาที่ประกอบด้วยยาลามิวูดีนในช่วงที่ทำการศึกษานี้ กลุ่มตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้อ HIV-1 $\geq 4 \log_{10}$ พบการสะสมของเชื้อที่มีการกลายพันธุ์ที่สัมพันธ์กับการดื้อยาและพบการลดลงของระดับเซลล์ CD4 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในการศึกษาถึงความถี่ของการพบเชื้อดื้อยาในผู้ติดเชื้อที่ยังไม่เคยกินยาต้านไวรัสมาก่อนเท่ากับร้อยละ 20.1 นอกจากนี้ได้ศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อ HIV-1 ในผู้ติดเชื้อในเขตภาคเหนือของประเทศไทย โดยศึกษาในตัวอย่างจำนวน 420 รายด้วยการตรวจ genotype ของเชื้อ HIV-1 ที่พัฒนาขึ้นมาและตรวจหาแบบชนิดย่อยเชิงพันธุกรรมของเชื้อด้วยวิธี phylogenetic ซึ่งผลการศึกษาพบว่าเชื้อ HIV-1 CRF01_AE ยังคงเป็นแบบชนิดย่อยเชิงพันธุกรรมของเชื้อที่พบมากที่สุด นอกจากนี้การวิเคราะห์ด้วยวิธี Bootscan พบว่ามีตัวอย่างร้อยละ 1.9 ที่เกิดการผสมสายพันธุ์ระหว่างเชื้อเอชไอวี CRF01_AE กับแบบชนิดย่อยเชิงพันธุกรรม B หรือ C ดังนั้นการตรวจหาเชื้อดื้อยาด้านไวรัสโดยวิธีการตรวจ genotype ของเชื้อเอชไอวีที่พัฒนาขึ้นมาสามารถใช้แทนชุดตรวจสำเร็จรูปได้ เนื่องจากผลที่ได้จากการเปรียบเทียบระหว่างการตรวจด้วยวิธีที่พัฒนาเองมีความสอดคล้องกันสูงกับชุดตรวจดื้อยาสำเร็จรูป การตรวจหาเชื้อดื้อยาด้านไวรัสตั้งแต่เริ่มแรกจะช่วยในเรื่องการดูแลและรักษาผู้ป่วยได้มีประสิทธิภาพมากขึ้น และการที่ตรวจพบเชื้อดื้อยาในผู้ป่วยที่ยังไม่เคยได้รับยาด้านไวรัสมาก่อนก็เป็นข้อมูลที่แสดงให้เห็นว่าควรต้องมีการตรวจหาการดื้อยาด้านไวรัสก่อนเริ่มให้การรักษาด้วยการใช้ยาด้านไวรัสมากกว่าหนึ่งชนิดร่วมกัน และผลการศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อเอชไอวีน่าจะมีประโยชน์ต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อเอชไอวี แต่อย่างไรก็ตามการทำ full genome ใน CRF01_AE/B และ CRF01_AE/C ที่เกิดการผสมระหว่างสายพันธุ์ รวมถึงแบบชนิดย่อยเชิงพันธุกรรม C ต้องมีการศึกษาเพื่อยืนยันผลการแพร่กระจายของเชื้อเอชไอวี

Thesis Title	Mutation Patterns and Genetic Subtypes of HIV-1 Among Patients in Northern Thailand	
Author	Miss Jutarat Praparattanapan	
Degree	Doctor of Philosophy (Applied Microbiology)	
Thesis Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Yingmanee Tragoolpua	Advisor
	Prof. Khuanchai Supparatpinyo, M.D.	Co-advisor
	Dr. Wasu Pathom-aree	Co-advisor

ABSTRACT

The use of combination antiretroviral therapy (cART) has become a standard of care in the treatment of HIV infection. The widespread use of antiretroviral drugs has significantly increased drug resistance. Delayed detection of increased HIV-1 viral load and antiretroviral drug resistance may lead to the accumulation of drug resistant mutations and decrease CD4 cell count. Commercial available kits for the detection of genotypic resistant HIV-1 are still costly in resource-limited settings. Thus, in this study the in-house HIV-1 genotypic drug resistance assay was evaluated by comparing the results to a commercial test technique, TRUGENE *HIV-1* genotyping kit, and the genotypic drug resistance mutation patterns in HIV-infected patients were investigated. The results from the in-house assay were comparable to those obtained from the TRUGENE *HIV-1* genotyping kit with >99.0% codon-to-codon agreement. The in-house assay has a lower detection limit of approximately

100 HIV-1 RNA copies/ml. The study of mutation patterns in cART-treated patients showed the prevalence of patients with ≥ 1 major mutation conferring drug resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) were 91.5% and 93.2%, respectively. M184V was the most common NRTI-resistance mutation due to a high exposure to lamivudine during the period of study. Patients with an HIV-1 RNA load of $\geq 4 \log_{10}$ copies/ml at the time of treatment failure showed significant accumulation of drug resistant mutations and decreased CD4 cell count ($p < 0.05$). The overall prevalence of primary antiretroviral resistance showed in 20.1% of antiretroviral drug-naïve HIV-1-infected patients. The current HIV-1 molecular epidemiology in northern Thailand was also investigated with a total 420 samples using an in-house HIV-1 genotypic assay. HIV-1 subtyping was determined by phylogenetic analysis. The overall results suggested that HIV-1 CRF01_AE was still largely predominant. Bootscan analysis showed 1.9% recombinant forms consistent with the recombination of CRF01_AE with subtype B or subtype C. Thus, the in-house HIV-1 genotypic drug resistance assay could be used instead of commercial kit as the results from the in-house assay were comparable to those obtained from the commercial test kit. Early monitoring of HIV-1 genotypic resistance was recommended for better treatment and care of HIV-infected patients. The detection of primary drug resistance supported the need for routine resistance testing before the initiation of cART. The information from this study was useful for prevention programs to halt onward transmission of a particular HIV outbreak. However, characterization of the full genome of these CRF01_AE/B and CRF01_AE/C intersubtype recombinants, and also subtype C, were required for the confirmation and elucidation of HIV transmission.