

การตรวจหาเชื้อเอชไอวีด้วยยาต้านไวรัสและผลต่อยาต้านไวรัสและความสำคัญของฐานข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์ผล

นिरชา อธิปัญญาศิลป์, วท.ม.

ภาควิชาจุลชีววิทยา, คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล, มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพมหานคร 10700

บทคัดย่อ

การรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีด้วยยาต้านไวรัสแบบ highly active antiretroviral therapy หรือ HAART ช่วยยับยั้งการเพิ่มปริมาณไวรัสและทำให้ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายดีขึ้น ในทางกลับกันการใช้ยาต้านไวรัสอย่างแพร่หลาย ส่งผลต่อการเพิ่มภาวะดื้อยา การตรวจภาวะดื้อยาต้านไวรัสด้วยวิธี Genotype เป็นการหาลำดับเบสที่เปลี่ยนไปบนยีน protease และ reverse transcriptase ที่ส่งผลต่อการตอบสนองต่อยาต้านไวรัส ซึ่งการแปลผลจะแตกต่างกันออกไปในแต่ละห้องปฏิบัติการ ขึ้นอยู่กับระบบฐานข้อมูลดื้อยาต้านไวรัสที่ใช้ อาทิ ฐานข้อมูล Stanford ซึ่งได้รับความนิยมมากที่สุด, ฐานข้อมูล Agence Nationale de Recherche sur le SIDA (ANRs), และ ฐานข้อมูล Rega ซึ่งทั้งสามระบบมีการใช้โปรแกรมชีวสารสนเทศ (Bioinformatic) ในการสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการทำนายผลการดื้อยาที่แตกต่างกัน จากการศึกษาเปรียบเทียบ การแปลผลด้วยระบบต่าง ๆ พบว่าในบางระบบให้ผลที่ไม่สอดคล้องกัน อีกทั้งการที่ระบบฐานข้อมูลส่วนใหญ่ใช้เชื้อเอชไอวี subtype B เป็นเชื้อสายพันธุ์อ้างอิง ซึ่งไม่สอดคล้องกับสายพันธุ์เอชไอวีที่พบในประเทศไทยซึ่งเป็น subtype CRF01_AE ทำให้มีการแปลผลที่ผิดพลาดได้ ดังนั้นการพัฒนาฐานข้อมูลสำหรับเชื้อเอชไอวี subtype CRF01_AE ร่วมกับการประเมิน อาการทางคลินิกจะส่งเสริมให้ผลการวิเคราะห์ถูกต้องแม่นยำขึ้นและเป็นประโยชน์ต่อการรักษาของแพทย์

คำสำคัญ: การตรวจเชื้อเอชไอวีด้วยยาต้านไวรัส; ฐานข้อมูลยีนดื้อยาต้านไวรัส; โปรแกรมวิเคราะห์ยีนดื้อยาต้านไวรัส

Abstract: **Detection of Antiretroviral Drug Resistance and Impact of HIV Drug Resistance Database on Result Interpretation**

Niracha Athipanyasilp, M.Sc.

Department of Microbiology, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700, Thailand.

Siriraj Med Bull 2018;11(2): 118-124

Highly active antiretroviral therapy (HAART) regimen can effectively suppress HIV replication and induce immune restoration; however, extensive use of antiretroviral agents has increased drug resistance. Genotypic assay detects nucleotide mutations in protease and reverse transcriptase genes associated with antiretroviral resistance. The interpretation of genotypic assay usually varies between laboratories depending on the systems of HIV drug resistance database, such as Stanford, Agence Nationale de Recherche sur le SIDA (ANRs), and Rega. These systems use different bioinformatics tools to construct the mathematical model for drug resistance

prediction, causing the discrepancy results. Moreover, the HIV subtype B is normally used as a reference strain, which is not correlated with the circulating strain in Thailand, CRF_01AE. Incorrect interpretation when using this reference strain for CRF_01AE samples was reported in this study. Thus, the development of HIV database using CRF_01AE as a reference strain will improve the precise interpretation of HIV drug resistance detection.

Keywords: HIV drug resistant genotype; HIV drug resistant database; HIV drug resistant software interpretation

บทนำ

กว่าทศวรรษที่ผ่านมาได้มีรายงานอัตราการตายของผู้ติดเชื้อเอชไอวีลดลงอย่างต่อเนื่องโดยผู้ติดเชื้อที่เสียชีวิตในปี พ.ศ. 2548 มีจำนวน 133,627 คน และในปี พ.ศ. 2558 ลดลงเหลือ 16,054 คนทั้งนี้เนื่องจากรัฐบาลได้จัดตั้งโครงการ National Access to Antiretroviral Programs for People who have AIDS (NAPHA) และต่อมาสำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ (สปสช) ได้เข้ามามีบทบาทในการบริหารจัดการผู้ติดเชื้อเอชไอวีในปัจจุบันจากรายงานของสำนักโรคเอดส์ วัณโรค และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ ได้รายงานผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่ได้รับยาต้านไวรัส ณ เดือนกันยายน ปี พ.ศ. 2558 มีจำนวนทั้งหมด 355,123 คน โดยมีผู้ติดเชื้อที่รับยาใหม่จำนวนเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2557 จำนวน 33,837 คน¹ ซึ่งโครงการนี้ทำให้ผู้ติดเชื้อสามารถเข้ารับการรักษามากขึ้นโดยไม่มีค่าใช้จ่ายสำหรับการรับยาต้านไวรัส แต่สิ่งที่ตามมาจากการเข้าถึงยาได้มากขึ้นคือการเกิดภาวะเชื้อไวรัสเอชไอวีดื้อต่อยาต้านไวรัสเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยการดื้อต่อยาต้านไวรัสจึงมีความสำคัญและยังเกี่ยวเนื่องกับภาวะที่ผู้ติดเชื้อเอชไอวีสามารถส่งถ่ายยีนที่ดื้อต่อยาต้านไวรัสไปยังผู้ติดเชื้อที่ไม่เคยได้รับยาต้านไวรัสมาก่อนในปัจจุบันชุดน้ำยาที่ใช้ในการตรวจการดื้อต่อยาต้านไวรัสเป็นการตรวจหาลำดับเบสของยีนในส่วนยีน polymerase (reverse transcriptase และ protease) และในชุดน้ำยาตรวจจะมีโปรแกรมสำหรับการแปลผลการดื้อต่อยาต้านไวรัสมาให้พร้อมกันชุดน้ำยา แต่ในบางชุดน้ำยาตรวจโปรแกรมสำหรับการแปลผลมีฐานข้อมูลที่ใช้ในการแปลผลไม่เป็นปัจจุบัน ทำให้การแปลผลการดื้อต่อยาอาจเกิดความ

ผิดพลาดได้ จึงได้มีการใช้โปรแกรมการวิเคราะห์และแปลผลต่างๆ เข้ามาช่วยในการแปลผล เช่น การนำผลลำดับเบสส่งเข้าไปในฐานข้อมูลของเชื้อเอชไอวีดื้อต่อยาต้านไวรัสในระดับนานาชาติ (Stanford database) หรือฐานข้อมูลอื่นๆ ซึ่งไม่คิดค่าใช้จ่ายใดๆ โดยฐานข้อมูลดังกล่าวส่วนใหญ่จะใช้เชื้อเอชไอวี subtype B เป็นหลักในการอ้างอิงต่างจาก subtype CRF01_AE ที่พบมากในประเทศไทย อาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการแปลผลได้และนอกจากนี้ยังได้มีผู้ผลิตโปรแกรมสำเร็จรูปออกมาจำหน่าย มีการแปลผลที่ครบสมบูรณ์ แต่มีราคาสูงและยังไม่ใช้ฐานข้อมูลจากกลุ่มประชากรของประเทศไทย

Antiretroviral Therapy

ปัจจุบันการรักษาโดยการให้ยาต้านไวรัส (Antiretroviral Drugs) เป็นการรักษาที่มีประสิทธิภาพสูงการให้ยาต้านไวรัสนั้นมีจุดประสงค์เพื่อให้เชื้อไวรัสมีการเพิ่มปริมาณได้น้อยที่สุด ซึ่งจะส่งผลให้ระดับภูมิคุ้มกันของผู้ติดเชื้อโดยเฉพาะเซลล์ภูมิคุ้มกันชนิด CD4+T lymphocyte ไม่ถูกทำลายไป และสามารถฟื้นตัวกลับสู่ระดับใกล้เคียงปกติ ทำให้ลดอัตราการเสียชีวิต (Mortality rate) และอัตราการเจ็บป่วย (Morbidty rate) ของผู้ติดเชื้อเอชไอวีได้ ยาต้านไวรัสที่ใช้ในการรักษาแบ่งเป็น 6 กลุ่ม แต่ละกลุ่มจะมีผลการยับยั้งที่แตกต่างกันดังนี้²⁻³

1. Nucleoside/nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors (NRTIs)

NRTIs เป็นยากลุ่มแรกที่ได้รับอนุมัติจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาให้ใช้ ยาใน

กลุ่มนี้จะอยู่ในรูปไตรฟอสเฟต ซึ่งจะแข่งกับสับสเตรทในธรรมชาติของร่างกายทำให้เกิดการยับยั้ง เอนไซม์ reverse transcriptase ในการเปลี่ยนสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอของไวรัสไปเป็นดีเอ็นเอ ยาในกลุ่มนี้มี 7 ชนิดที่ได้รับอนุมัติให้ใช้ได้แก่ abacavir (ABC), didanosine (ddI), emtricitabine (FTC), lamivudine (3TC), stavudine (d4T), tenofovir (TDF), zidovudine (AZT)²⁻³

2. Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs)

ยาในกลุ่มนี้จับกับเอนไซม์ reverse transcriptase ทำให้เกิดรูปร่างลักษณะของ เอนไซม์ reverse transcriptase เปลี่ยนแปลงผิดรูปร่างทำให้ไม่สามารถเปลี่ยนสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอ็นเอของไวรัสไปเป็นดีเอ็นเอ และการจับกับ NNRTIs นั้นสามารถลด polymerase activity ได้ยาในกลุ่มนี้มี 4 ชนิดที่ได้รับอนุมัติให้ใช้ได้แก่ efaviranz (EFV), etravirine (ETR), nevirapine (NVP), rilpivirine (RPV)²⁻³

3. Protease Inhibitors (PIs)

ยาในกลุ่มนี้จับกับเอนไซม์ protease ที่สร้างขึ้นมาจากเชื้อไวรัสเอชไอวี โดยเอนไซม์ protease ที่สร้างขึ้นมาจากเชื้อเอชไอวีทำหน้าที่ตัด gag และ gag-polyprotein precursor ในขณะการทำไวรัสให้สมบูรณ์ ดังนั้นเมื่อ เอนไซม์ protease ถูกยับยั้งจึงทำให้เชื้อไวรัสไม่สามารถพัฒนาเป็นไวรัสที่สมบูรณ์ได้ ยาในกลุ่มนี้มี 8 ชนิดที่ได้รับอนุมัติให้ใช้ได้แก่ atazanavir (ATV), darunavir (DRV), fosamprenavir (FPV), indinavir (IDV), nelfinavir (NFV), ritonavir (RTV), saquinavir (SQV), tipranavir (TPV)²⁻³

4. Integrase Inhibitors

ยาในกลุ่ม Integrase inhibitors ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ integrase ซึ่งไวรัสใช้เอนไซม์ชนิดนี้ในการพาสานสารพันธุกรรมของไวรัสเข้าสู่ดีเอ็นเอของ Host infected cells ยาในกลุ่มนี้มี 3 ชนิดที่ได้รับอนุมัติให้ใช้ได้แก่ dolutegravir (DTG), elvitegravir (EVG), raltegravir (RAL)²⁻³

5. Fusion Inhibitors

ยาในกลุ่ม Fusion inhibitors ยับยั้งการหลอมรวมเปลือกของไวรัสเข้ากับเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้ไวรัสไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ได้ ยาในกลุ่มนี้มีเพียง 1 ชนิดที่ได้รับอนุมัติให้ใช้ได้แก่ enfuvirtide (T-20)²⁻³

6. Entry Inhibitors

ยาในกลุ่ม Entry inhibitors ยับยั้งไม่ให้ไวรัสจับกับรีเซพเตอร์บนผิวเซลล์ เมื่อไวรัสไม่สามารถจับกับรีเซพเตอร์ ทำให้ไวรัสไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ได้ ยาในกลุ่มนี้มีเพียง 1 ชนิดที่ได้รับอนุมัติให้ใช้ได้แก่ maraviroc (MVC)²⁻³

Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART)

ในประเทศไทยได้เริ่มมีการใช้ยาต้านไวรัสครั้งแรกประมาณปี พ.ศ. 2535 โดยมีการใช้ในรูปแบบของยาต้านไวรัสเพียงตัวเดียว (Monotherapy) ซึ่งให้ยา Zidovudine (AZT) เพียงชนิดเดียวในระบบการบริการสุขภาพ หลังจากปี พ.ศ. 2538 จึงได้เริ่มมีการให้ยาแบบสูตรผสมโดยใช้ยาต้านไวรัส 2 ตัว (Combine therapy) ซึ่งมีการใช้ยาในกลุ่ม NRTIs 2 ตัวร่วมกัน คือ AZT ร่วมกับ Didanosine (ddI) หรือ AZT ร่วมกับ Zalcitabine (ddC) จนกระทั่งปี พ.ศ. 2540 ได้มีการเริ่มใช้ยาต้านไวรัสสูตรผสม 3 ชนิด (Triple combine therapy) ซึ่งเป็นสูตรของยาต้านไวรัสที่มีประสิทธิภาพสูงสุด (Highly Active Antiretroviral Therapy; HAART)

การตรวจวินิจฉัยเชื้อเอชไอวีที่ดื้อต่อยาต้านไวรัส

การตรวจหาการดื้อต่อยาต้านไวรัสจะช่วยในการทำนายถึงอาการทางคลินิกที่จะเกิดขึ้นได้ จึงมีการใช้การตรวจหาการดื้อต่อยาต้านไวรัสในการรักษาผู้ที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัส โดยวิธีที่ใช้ในการตรวจหาการดื้อต่อยาต้านไวรัสแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดคือ Genotype และ Phenotype

Phenotype testing

เป็นการวัดระดับของความเข้มข้นของยาที่ใช้ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อเอชไอวีในเซลล์เพาะเลี้ยง โดยมีการสร้างไวรัสเทียม (pseudovirus)

ซึ่งมีโครงสร้างหลักเป็นสายพันธุ์มาตรฐานที่มีการตัด ยีนส่วน protease หรือ reverse transcriptase ออก และใช้ยีนที่ต้องการตรวจการดื้อยา เช่น protease หรือ reverse transcriptase ของไวรัสที่แยกได้จาก ผู้ติดเชื้อใส่เข้าไปในโครงสร้างหลัก วิธีนี้จะทำให้ สามารถหาค่า IC50 (Inhibition Concentration 50) โดยการแปลผลจะเทียบกับสายพันธุ์มาตรฐานหาก พบว่าค่าของ IC50 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จะแปลผลได้ว่า ไวรัสนั้นจะมีการตอบสนองต่อยาลดลง⁴ วิธีนี้สามารถ หาระดับของยาที่ใช้ยับยั้งการเพิ่มปริมาณไวรัสได้ แต่การทดสอบโดยวิธีนี้มีขั้นตอนการทำที่ยุ่งยาก ราคาแพง (ประมาณ 25,000 บาทต่อตัวอย่าง) และมีข้อจำกัดในเรื่องการตัดต่อยีนที่ต้องการหากมียีนที่ เกี่ยวข้องกับยาเพิ่มมากขึ้นเช่น CCR5 inhibitor หรือ integrase inhibitorนอกจากนี้ใช้เวลาในการทดสอบ และแปลผลนานประมาณ 8 สัปดาห์ จึงทำให้วิธีนี้ ไม่เป็นที่นิยม ส่วนมากจะใช้ในงานวิจัยเท่านั้น

Genotype testing

เป็นการตรวจหาการดื้อยาจากการหาลำดับ เบสบนยีน protease และ reverse transcriptase โดยลำดับเบสที่เปลี่ยนไปในตำแหน่งต่างๆ จะส่ง ผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนของโปรตีน protease และ reverse transcriptase และการ

ตอบสนองต่อยาด้านไวรัส⁵ การทดสอบด้วยวิธีนี้เป็น ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เพราะสามารถทำได้ง่าย ราคาถูก และใช้เวลาในการทดสอบประมาณ 2 สัปดาห์ ในปัจจุบันมีชุดน้ำยาทดสอบสำเร็จรูปที่ได้รับ การรับรองจาก US FDA อยู่เพียงชนิดเดียวคือ ViroSeq™ (Abbott) โดยชุดน้ำยานี้มีระบบการ วิเคราะห์ผลและการแปลผลอัตโนมัติ และนอกจาก นี้ยังมีการพัฒนาชุดน้ำยาขึ้นใช้เองในห้องปฏิบัติ การ ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในยีนส่วน reverse transcriptase และ protease แต่ทั้งนี้ ระบบ การแปลผลต้องอาศัยระบบที่ห้องปฏิบัติการต่างๆ สร้างขึ้นเอง ซึ่งมีมาตรฐานการแปลผลและวิเคราะห์ ผลที่แตกต่างกันออกไปในแต่ละห้องปฏิบัติการ หรือ ใช้ฐานข้อมูลการแปลผลระดับนานาชาติ ซึ่งระบบ ที่ใช้ในการแปลผลจะถูกจัดทำขึ้นโดยใช้ลักษณะ อาการทางคลินิกร่วมกับการเปลี่ยนแปลงของกรด อะมิโน โดยจะต้องมีฐานข้อมูลที่มากพอเพื่อทำให้การ แปลผลนั้นถูกต้อง

Genotypic drug-resistance interpretation systems

ปัจจุบันมีระบบการแปลผลการดื้อต่อยา ด้านไวรัสอยู่หลากหลายระบบ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1. ระบบการแปลผลการดื้อต่อยาด้านไวรัสของเชื้อเอชไอวีที่นิยมใช้ในการแปลผลการดื้อต่อยาด้านไวรัส

ระบบการแปลผล	แหล่งข้อมูล	การประเมินผลทางคลินิก	การรายงานผล
Stanford	Expert rule based	Retrospective	S/PL/LL/IR/HR
VirtualPhenotype	Database	Retrospective	Quantitative
Geno2pheno	Database	Retrospective	S/R
RetroGramTM	Expert rule based	Retrospective	A/B/C/D/U
Rega	Expert rule based	Retrospective	S//R
ViroScore	Expert rule based	Retrospective	S//R
ANRS	Expert rule based	Retrospective	S//R
ViroSeq	Expert rule based	N/A	S/PM/P/HM/H

*A: can be used, B: consider use if no class A drug available, C: consider use if no class A or B drug available, D: consider use if no class A, B, or C drug available, U: uncertainties, S: susceptible, PL: possible low-level resistance, LL: low-level resistance, IR or I: intermediate resistance, HR: high level resistance, R: resistance, PM: possible multi-NRTI resistance, P: possible resistance, HM: high-level multi-NRTI resistance, H: high-level resistance

จากตารางมีการแปลผลอยู่ 2 ชนิดคือ ใช้เกณฑ์ที่กำหนดขึ้นโดยผู้เชี่ยวชาญในสาขานั้น โดยใช้ข้อมูลจากผลงานตีพิมพ์ของความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจแบบ genotype และ phenotype รวมถึงความสัมพันธ์ระหว่างประวัติการรักษาและการตอบสนองทางคลินิก ต่อมาได้มีการพัฒนาการแปลผลโดยใช้โปรแกรมชีวสารสนเทศ (Bioinformatic) เข้ามาช่วยและสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ในการทำนายผลการดื้อยาแบบ phenotype และการตอบสนองต่อการรักษาจากข้อมูลของ genotype ซึ่งเป็นวิธีที่ถูกพัฒนาและเป็นที่นิยมใช้กันมากคือ In silico คือการใช้ข้อมูลจากฐานข้อมูลใหญ่มีผลที่เป็น phenotype และ genotype ที่รู้จักในชื่อ Virtual phenotype ซึ่งเป็นการทำนายลักษณะทาง phenotype จาก genotype โดยเปรียบเทียบลำดับเบสกับลำดับเบสในฐานข้อมูล และต่อมาได้มีการพัฒนาขึ้นในประเทศเยอรมันโดยที่เรียกชื่อว่า Geno2Pheno ในระบบการแปลผลการดื้อยาต้านไวรัสเป็นการรวมข้อมูลทางคลินิก แพทย์ผู้รักษาและนักไวรัสวิทยาเพื่อทำการวิเคราะห์ผลและการแปลผลได้อย่างถูกต้องและเป็นประโยชน์ต่อการรักษาคนไข้มากที่สุด

Stanford database

เป็นฐานข้อมูลที่ได้รับความนิยมมากที่สุดซึ่งข้อมูลของสายนิวคลีโอไทด์จะถูกเปรียบเทียบกับ consensus ที่เป็นสายพันธุ์มาตรฐาน subtype B ซึ่งมีความแตกต่างจากสายพันธุ์มาตรฐานโดยจะใช้ข้อมูลสำหรับแปลผลการดื้อยาโดยพิจารณาจากฐานข้อมูลที่สร้างไว้ จะมีการให้ score สำหรับการเกิดการกลายพันธุ์ ซึ่ง mutation score ได้มาจากข้อมูลงานวิจัยที่ถูกตีพิมพ์โดยเชื่อมโยง mutation กับ ยาต้านไวรัสความสัมพันธ์ระหว่าง genotype และประวัติการรักษา genotype และ phenotype, genotype และอาการที่แสดงออกทางคลินิก ทั้งนี้ total score ที่ให้จะดูจากระดับความสัมพันธ์ของการเกิดการกลายพันธุ์ในแต่ละตำแหน่ง ซึ่งจะเป็นตัวบอกความแตกต่างของระดับการดื้อยาต้านเป็น susceptible, potential low-level resistance, low-level resistance, intermediate resistance และ high-level resistance ผลของ Stanford database

จะรายงาน mutation score และให้ข้อคิดเห็นต่าง ๆ รวมถึง subtype ซึ่ง score นี้จะถูกทำให้ทันสมัยอยู่เสมอจากข้อมูลของงานวิจัยต่าง ๆ ที่ออกมาและจากข้อเสนอแนะของผู้ใช้งานรวมถึงจากผู้เชี่ยวชาญในสาขานั้น

Agence Nationale de Recherche sur le SIDA (ANRs)

เป็นระบบการแปลผลของประเทศฝรั่งเศสที่อ้างอิงจากฐานข้อมูลของความสัมพันธ์ระหว่าง Drug resistant mutation กับ virologic outcome ในฐานข้อมูลคนไข้ที่ล้มเหลวจากการรักษาด้วยยาต้านไวรัส⁶ โดยการรายงานผลจะรายงานเป็น susceptible, possible resistance และ resistance รวมถึง mutations ที่ตำแหน่งต่าง ๆ

Rega

เป็น algorithm แรกที่แปลผลการดื้อยาต้านไวรัสซึ่งได้ถูกพิสูจน์ว่าเป็นตัวทำนายที่ดีสำหรับการคาดการณ์การตอบสนองต่อการรักษาจากการประเมินทางคลินิกใน cohort ที่ติดตามการรักษาหลังจากให้ยาต้านไวรัส⁷ การแปลผลจะใช้ข้อมูลที่รวบรวมผลที่ได้จากผลงานตีพิมพ์รวมถึงบทความของงานวิจัยต่าง ๆ จากงานประชุมมาวิเคราะห์และสร้างเกณฑ์สำหรับการแปลผล ซึ่งจะมีการให้ score ในการรักษาที่ใกล้เคียงไม่ตอบสนอง โดยการชั่งน้ำหนักกลุ่มใหญ่ของ minor mutation ที่เกิดขึ้นเท่า ๆ กับ major mutation ซึ่งกลุ่มใหญ่ของ minor mutation จะลดความไวของยาอย่างมากจนเกินพอแต่พบว่าจะลด genetic barrier อย่างมากเมื่อมีการดื้อยาต้านไวรัสในระดับสูง ผลที่ได้จะรายงานเป็น resistant, intermediate resistant และ susceptible

จะเห็นได้ว่าระบบการแปลผลการดื้อยาต้านไวรัสของเชื้อเอชไอวีมีหลากหลายรวมถึงได้มีการอัปเดตข้อมูลเป็นประจำทุกปี ได้มีการศึกษาเปรียบเทียบการแปลผลด้วยระบบต่าง ๆ พบว่าในบางระบบมีความสอดคล้องกันดี แต่ในบางระบบให้ผลที่ไม่สอดคล้องกันอย่างชัดเจน มีการศึกษาเปรียบเทียบการแปลผลของชุดน้ำยา stanford และ virtual phenotype พบว่ามีความสอดคล้องประมาณ 13.7%⁸

และการศึกษาของทีมนักวิจัย Snoeck ซึ่งได้ใช้ระบบการแปลผลหลายชนิดและใช้ชุดข้อมูลจากกลุ่มเอชไอวีที่ไม่ใช่ subtype B ในผู้ที่ไม่เคยได้รับยาและผู้ที่เคยได้รับยาต้านไวรัสมาก่อน โดยผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าในแต่ละระบบให้ผลที่ไม่ตรงกันขึ้นอยู่กับชนิดของ subtype ในการเกิด mutations⁹ นอกจากนี้การศึกษาของ Vergene และคณะ พบว่าการตอบสนองต่อการรักษาในกลุ่มที่ไม่เคยได้รับยาต้านไวรัส และกลุ่มที่เคยได้รับยาต้านมีความแตกต่างกันในแต่ละระบบการแปลผล¹⁰ โดยพบว่าการแปลผลไม่สอดคล้องมากที่สุดในกลุ่มที่ไม่เคยได้รับยาต้านไวรัสคือกลุ่มยา protease inhibitor ซึ่งพบ mutations ที่แปลผลว่าเป็นการดื้อยา โดยในธรรมชาติ mutation ที่พบในไวรัสกลุ่ม non subtype B ถือว่าเป็น polymorphism ของเชื้อไวรัสกลุ่มนี้ไม่ได้มีผลดื้อต่อยาเหมือนใน subtype B การศึกษาของ Ravela และคณะพบว่าในกลุ่มที่เคยใช้ยาต้านไวรัส การแปลผลจะขัดแย้งกันในกลุ่มยา NRTI มากที่สุด¹¹ และในเมืองไทยจากการศึกษาของ Poonpiriya และคณะได้ศึกษาไวรัส subtype CRF01_AE ที่พบมากในเมืองไทย พบว่าการแปลผลของ 6 ระบบ (ANR, Rega, DMC GAV, CHL และ stanford) ให้ผลไม่ตรงกันประมาณ 10% โดยเฉพาะในกลุ่มยา NRTI มีความไม่สอดคล้องกันมากที่สุด¹²

สรุป

ในประเทศไทย การใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูปในการตรวจหาการดื้อยาด้านไวรัสเอชไอวี เป็นอุปสรรคที่สำคัญเนื่องจากน้ำยาที่ใช้มีราคาแพง ดังนั้น สำนักหลักประกันสุขภาพแห่งชาติจึงได้มีนโยบาย เปิดให้มีการตรวจหาการดื้อยาด้านไวรัสเป็นแบบ in house ที่จัดทำและได้ผ่านการประเมินคุณภาพในแต่ละห้องปฏิบัติการ สามารถใช้ในการเบิกจ่ายการตรวจเทียบเท่ากับการใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป ซึ่งทำให้มีการใช้ชุดน้ำยา in house เพิ่มขึ้น ขณะที่การแปลผล การใช้ชุดน้ำยา in house ยังไม่มีโปรแกรมสำเร็จรูป จึงต้องพึ่งพาโปรแกรมที่ไม่เสียค่าใช้จ่ายผ่านระบบอินเทอร์เน็ต ซึ่งมีอยู่หลากหลาย ในหลายโปรแกรมยังพบความขัดแย้งในกลุ่ม non subtype B อยู่ การ

แปลผลอาจเกิดความผิดพลาดได้ ดังนั้นถ้าหากมีการพัฒนาฐานข้อมูลสำหรับเชื้อไวรัสเอชไอวี subtype CRF01_AE และการแปลผลที่สอดคล้องกับอาการทางคลินิก และสอดคล้องกับโปรแกรมที่ได้รับรองจาก US FDA จะเป็นการส่งเสริมให้การตรวจด้วยชุดน้ำยา in house มีเพิ่มมากขึ้น ทำให้ผู้ป่วยสามารถตรวจการดื้อยาได้มากขึ้น และทำให้ผลการวิเคราะห์และการแปลผลถูกต้องซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการรักษาของแพทย์และผู้ป่วยอีกทั้งยังเป็นการยกระดับมาตรฐานชีวิตของผู้ติดเชื้อให้ยาวนานขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. Thailand National Guidelines on HIV/AIDS Treatment and Prevention 2017 (internet) (cited 21 June 2017) Available from: <http://aidssti.ddc.moph.go.th/contents/view/1767>
2. FDA-approved HIV medicines 2017 (internet) (cited 22 June 2017) Available from: <https://aidsinfo.nih.gov/understanding-hiv-aids/fact-sheets/19/58/fda-approved-hiv-medicines>
3. Understanding HIV/AIDS Glossary Drug class 2017 (internet) (cited 22 June 2017) Available from: <https://aidsinfo.nih.gov/understanding-hiv-aids/glossary/1561/drug-class/>
4. Youree BE, D'Aquila RT. Antiretroviral resistance testing for clinical management. *AIDS Rev* 2002;4:3-12.
5. Shafer RW. Genotypic Testing for Human Immunodeficiency Virus Type 1 Drug Resistance. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:247-277.
6. Brun-Vezinet F, Descamps D, Ruffault A, Masquelier B, Calvez V, Peytavin G, et al. Clinically relevant interpretation of genotype for resistance to abacavir. *AIDS*. 2003;17(12):1795-802.
7. Van Laethem K, De Luca A, Antinori A, Cingolani A, Perna CF, Vandamme AM. A genotypic drug resistance interpretation algorithm that significantly predicts therapy response in HIV-1-infected patients. *Antivir Ther* 2002;7(2):123-9.
8. Kijak GH, Rubio AE, Pampuro SE, Zala C, Cahn P, Galli R, et al. Discrepant results in the interpretation of HIV-1 drug resistance genotypic data among widely used algorithms. *HIV Med*. 2003;1:72.
9. Snoeck J, Kantor R, Shafer RW, Van Laethem KV, Deforche K, Carvalho AP, et al. Discordances between interpretation algorithms for genotypic resistance to protease and reverse transcriptase inhibitors of human immunodeficiency virus are subtype dependent.

- Antimicrob. Agents Chemother. 2006;50(2): 694–701.
10. Vergne L, Snoeck J, Aghokeng A, Maes B, Valea D, Delaporte E, et al. Genotypic drug resistance interpretation algorithms display high levels of discordance when applied to non-B strains from HIV-1 naive and treated patients. FEMS Immunol Med Microbiol. 2006;46(1):53–62.
11. Ravela J, Betts BJ, Brun-Vezinet F, Vandamme AM, Descamps D, Van Laethem KV, et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutation patterns responsible for discordances between genotypic drug resistance interpretation algorithms. J AcqImmune Def Synd. 2003;33(1):8-14.
12. Poonpiriya V, Sungkanuparph S, Leechanachai P, Pasomsub E, Watipun C, Chuhakan S, et al. A study of seven rule-based algorithms for the interpretation of HIV-1 genotypic resistance data in Thailand. J Virol Methods. 2008;151(1):79-86.