วารสารวิชาการสาธารณสุข
ปีที่ 4 ฉบับที่ 4 ต.ค.-ธ.ค. 2538

Journal of Health Science
Vol. 4 No.4 Oct.-Dec. 1995

นิพนธ์ต้นฉบับ

Original Article

การศึกษาชนิดของ Subtype ของเชื้อ HIV-1 ในกลุ่มมารดาที่ติดเชื้อและกลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้น ระหว่างพ.ศ. 2537-2538

Subtyping of HIV-1 in Infected Mothers and Injecting Drug Users During 1994 - 1995

สุธน วงษ์ชีรี วท.บ., วท.ม.*
สุรางค์ สงวนวงศ์ วท.บ., Dip in Bact (Major in Virology)*
นวลจันทร์ ฤชุศาศวัต วท. บ., วท.ม.*
ไพจิตร์ วราชิต พ.บ., ส.ม., ว.ว. (กุมารเวชศาสตร์)**
* *สถาบันวิจัยไวรัส กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*
** *กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*

Suthon Vongsheree B.Sc., M.Sc.*
Suranga Sagungwongse B.Sc., Dip in Bact (major in Virology)*
Nuanjun Ruchusatsawat B.Sc., M.Sc.*
Paijit Warachit M.D., M.P.H., Board of Pediatrics**
* *Virus Research Institute, Department of Medical Sciences*
** *Department of Medical Sciences*

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาอัตราร้อยละของ subtype E และ subtype B ในกลุ่มมารดาที่ติดเชื้อ HIV-1 ซึ่งคลอดบุตร ณ โรงพยาบาลศูนย์เชียงรายประชานุเคราะห์ และกลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้นซึ่งรวบรวมจากโรงพยาบาลธัญญารักษ์ จังหวัดปทุมธานี ระหว่าง พ.ศ. 2537-2538 โดยวิธี peptide binding enzymeimmunoassay (PEIA) ซึ่งใช้เปปไทด์สังเคราะห์ที่จำเพาะต่อชนิด subtype มีขนาดยาว 14 กรดอะมิโน โดยมีลำดับกรดอะมิโนเลียนแบบจากบริเวณ V3-loop บางส่วนของไกลโคโปรตีนชนิด gp120

ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างมารดาติดเชื้อ 111 ราย พบติดเชื้อ subtype E 109 ราย (98.2%) โดยพบติดเชื้อ subtype B จำนวน 2 ราย (1.8%) ส่วนกลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้น จากการศึกษา 141 ราย พบติดเชื้อ subtype E 67 ราย (47.5%) และติดเชื้อ subtype B 74 ราย (52.5%) ผลการศึกษาครั้งนี้สรุปว่า พบ HIV-1 subtype E เป็นส่วนใหญ่ในกลุ่มมารดาซึ่งติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์แบบต่างเพศ แต่ในกลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้นที่สำรวจได้ครั้งนี้พบว่าติดเชื้อ HIV-1 ทั้งสองชนิดเท่ากัน นอกจากนี้การเพิ่มเปอร์เซนต์ของ subtype E ในกลุ่มนี้น้อยกว่าที่คาดการณ์ไว้ จึงเป็นไปได้ว่าการกระจายของชนิด subtype ในกลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้นในปัจจุบันอาจเข้าใกล้สมดุลของการเปลี่ยนแปลง สมมติฐานนี้สมควรจะได้เฝ้าระวังและตรวจสอบในปีต่อๆไป

ABSTRACT

The percentage of HIV-1 subtype E and subtype B were studied in HIV-1 infected mothers who delivered at Chiang Rai Regional Hospital Center and injecting drug users (IDU) from Thanyarak Narcotics Hospital, Pathumthani, During 1994 -1995. The subtypes were analyzed by a peptide binding enzymeimmunoassay (PEIA) using specific synthetic peptides of 14 amino acid derived from V3-loop of gp 120.

Of those 111 HIV-1 infected mothers, 109 (89.2%) were infected by HIV-1 subtype E while 2 (1.8%) were infected by HIV-1 subtype B. When 141 IDU were analyzed, 67 (47.5%) were infected by subtype E and 74 (52.5%) were infected by subtype B. These results showed that subtype E was predominant in the mothers who acquired HIV-1 infection via heterosexual transmission. However, in IDU, both subtypes were nearly equal and the percentage of subtype E in this group was slightly higher. Such data may indicated that the distribution of HIV-1 subtype E and subtype B in IDU, now, is near equilibrium. This postulation has to be kept on surveillance and further investigations are needed.

บทนำ

นับตั้งแต่ พ.ศ. 2527 ซึ่งมีการค้นพบผู้ป่วยเอดส์รายแรกในประเทศไทย การระบาดของโรคเอดส์ได้ทวีความรุนแรงขึ้นทุกปี มีการกระจายของการติดเชื้อไวรัสเอดส์ไปสู่ประชากรทุกกลุ่มและทุกภูมิภาคทั่วประเทศไทย[1] ดังจะสังเกตจากรายงานผู้ป่วยโรคเอดส์สะสมระหว่าง พ.ศ. 2527 - 2537 โดยสถิติของกรมควบคุมโรคติดต่อในเดือนเมษายน พ.ศ. 2538 มีจำนวนถึง 17,844 ราย ในขณะที่ปัจจุบันอาจจะมีจำนวนผู้ติดเชื้อถึง 700,000 ราย[2,3]

นอกจากความรุนแรงของการระบาดและการดำเนินอาการของโรคเอดส์แล้ว เชื้อไวรัสเอดส์ยังมีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาก ซึ่งอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้การป้องกันและควบคุมโรคเป็นไปอย่างลำบาก จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลิโอไทด์ของยีนส์บริเวณที่กำกับการสร้างไกลโครโปรตีนผิวนอก (envelop glycoprotein) โดยเฉพาะ V3-loop ของ gp 120 จะแบ่ง HIV-1 ออกเป็น 8 subtypes คือ subtype A B C D E F G และ H แต่ละ subtype จะมีความแตกต่างของยีนส์ในส่วนนี้ร้อยละ 25 -35 และยังจัดกลุ่มพิเศษคือ subtype O (Outliner, subtype O) ซึ่งจะมีลำดับนิวคลิโอไทด์ในส่วน V3-loop ที่แตกต่างจาก subtype อื่น ๆ ร้อยละ 50 นอกจากนี้ subtype ที่พบจะมีการกระจายตามภูมิภาคของโลกที่แตกต่างกันอีกด้วย[4 - 8]

สำหรับในประเทศไทยจะพบ 2 subtype คือ subtype E (Clade E หรือเดิมเรียก genotype E) และ subtype B (Clade B หรือ genotype B) subtype ทั้งสองที่พบในประเทศไทยมีลักษณะพิเศษที่บริเวณปลายยอดของ V3-loop จะมีลำดับกรดอะมิโนเป็น GPGQ (ไกลซีน-โปรลีน-ไกลซีน-กลูตามีน) ในขณะที่ subtype ที่ใกล้เคียงกันจะเป็น GPGR (ไกลซีน-โปรลีน-ไกลซีน-อาร์จีนีน)[9] ลักษณะการระบาดในประเทศไทยพบว่ามีการติดเชื้อ HIV-1 subtype B มากในกลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้น ในขณะที่ผู้ติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์จะติดเชื้อ HIV-1 subtype E เป็นส่วนใหญ่[9-11] อย่างไรก็ตามการกระจายของ subtype ในประเทศไทยมีลักษณะไม่คงที่ โดยแนวโน้มจะพบ subtype E มากขึ้นเรื่อย ๆ ในทุกกลุ่มประชากรหรือแม้แต่ในกลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้น[12] นอกจากนั้นยังพบว่าผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้นจะติดเชื้อ HIV-1 subtype B มากกว่า subtype E เมื่อศึกษาในภาค

กลางและภาคใต้ ในขณะที่ภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือจะพบว่าติดเชื้อ HIV-1 subtype E มากกว่า subtype B[9]

จากการเปลี่ยนแปลงของ subtype ข้างต้น คณะผู้วิจัยจึงดำเนินการศึกษาอัตราส่วนร้อยละของชนิด subtype ในประชากร 2 กลุ่ม คือ กลุ่มมารดาที่ติดเชื้อ HIV-1 และกลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้น เพื่อทราบสถานการณ์ในปี พ.ศ. 2537-2538 การศึกษาครั้งนี้ใช้ PEIA ซึ่งเป็นวิธีทดสอบที่ง่ายและราคาประหยัด มีประสิทธิภาพดีและเป็นที่ยอมรับว่าเชื่อถือได้[13,14] เนื่องจากข้อมูลที่สนใจเป็นสัดส่วนของชนิด subtype ซึ่งเป็นตัวเลขทางระบาดวิทยา คณะผู้วิจัยจึงไม่ตรวจยืนยันชนิด subtype ด้วยวิธี DNA sequencing หรือ Heteroduplex mobility analysis หากจะมุ่งวิเคราะห์จำนวนตัวอย่างที่มากเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ใกล้เคียงกับความเป็นจริง

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. ตัวอย่าง กลุ่มแรกเป็นหญิงมีครรภ์ที่ติดเชื้อ HIV-1 ซึ่งคลอดบุตร ณ โรงพยาบาลศูนย์เชียงราย ประชานุเคราะห์ จำนวน 111 ราย ทั้งหมดเป็นผู้ป่วยนอกที่พาบุตรมารับการดูแลและเฝ้าระวังการติดเชื้อ HIV-1 ในแผนกกุมารเวชกรรม ในช่วงปี พ.ศ. 2537 สุ่มตัวอย่างเมื่อหญิงเหล่านี้คลอดบุตร กลุ่มที่สองเป็นผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้นซึ่งติดเชื้อ HIV-1 สุ่มจากผู้ติดยาที่เข้ารับการบำบัดการติดยา ณ โรงพยาบาลธัญญารักษ์ จังหวัดประทุมธานี จำนวน 141 รายโดยรวบรวมตัวอย่างในเดือนมกราคม พ.ศ. 2538 การเก็บตัวอย่างเลือดจะเก็บประมาณ 3-5 มิลลิลิตรต่อราย

2.วิธีการ วิเคราะห์ชนิด subtype ด้วย PEIA ซึ่งมีความไว 100% ความจำเพาะ 88-97%[14] หลักการวิเคราะห์เป็น indirect EIA ใช้เปปไทด์สังเคราะห์ E และ B โดยแต่ละสายจะเพิ่มกรดแอสปาติกที่ปลายด้านอะมิโน (N-terminal) เพื่อเพิ่มการเคลือบจับพื้นผิว ลำดับกรดอะมิโนมีดังนี้

เปปไทด์ E: D-TSITGPGQVFYRT

เปปไทด์ B: D- KSIHGPGQAWYTT

อักษรย่อของกรดอะมิโน:

D = กรดแอสปาติก

T = ทรีโอนีน	S = ซีรีน
I = ไอโซลูซีน	V = วาลีน
F = ฟีนีลอะลานีน	Y = ไทโรซีน
R = อาร์จีนีน	K = ไลซีน
H = ฮีสติดีน	L = ลูซีน
A = อะลานีน	W = ทริปโตเฟน

เปปไทด์สังเคราะห์ทั้งสองสายและตัวอย่างควบคุม ได้รับการอนุเคราะห์จากศูนย์ความร่วมมือการวิจัยโรคเอดส์ (the HIV/AIDS Collaboration)

2.1 การเตรียมเพลท ใช้เพลทพลาสติกหลุมชนิด 8 X 12 หลุม (Immulon II, Flat-bottom, Dynatech) ซึ่งแบ่งเพลทเป็น 2 ด้านๆ ละ 48 หลุม แต่ละด้านจะเคลือบด้วยสารละลายเปปไทด์ E หรือ B โดยใช้ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ในบัฟเฟอร์คาร์บอเนตไบคาร์บอเนตเข้มข้น 0.5 โมลาร์ pH 9.6 หยดสารละลายเปปไทด์หลุมละ 110 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่ 4 °C 1 คืน แล้วคลุม (block) พื้นผิวพลาสติกที่ว่างด้วยสารละลายนมผง 5 กรัมเปอร์เซ็นต์ (skimmed milk, Carnation) ที่เตรียมในบัฟเฟอร์ PBS-0.3% Tween-20 เติมหลุมละ 200 ไมโครลิตร แล้วอบที่ 37 °C 1 ชั่งโมง ล้างเพลทด้วย PBS-0.05% Tween-20 4 ครั้ง แล้วอบแห้งที่ 37 °C 1 ชั่งโมง ปิดเพลทด้วยแผ่นพลาสติกใส เก็บรักษาในตู้แช่ -20 °C จนกระทั่งใช้งาน

2.2 การตรวจสอบประสิทธิภาพของเพลท ทำ

ทุกครั้งที่เตรียมเพลทชุดใหม่เพื่อหาอัตราส่วนเจือจางที่เหมาะสมของตัวอย่างและคอนจูเกตที่เจือจางในสารละลายนมผง 5%

อัตราส่วนของตัวควบคุม	อัตราส่วนของคอนจูเกต
1:250	1:1000 1:2000 1:3000
1:500	

ตัวควบคุมที่ใช้ตรวจสอบประกอบด้วยตัวควบคุมบวกเปปไทด์ E ตัวควบคุมบวกเปปไทด์ B และตัวควบคุมลบ ดำเนินการวิเคราะห์ตามขั้นตอน 2.3 จะได้อัตราส่วนเจือจางที่เหมาะสมเมื่อ plate cut-off น้อยกว่า 0.300 และได้ค่าบวกจำเพาะตรงกับชนิดเปปไทด์และตัวควบคุม

2.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ เติมตัวอย่างที่เจือจางในสารละลายนมผง 5% ลงในหลุมด้าน E และ B ด้านละ 2 หลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร พร้อมกับเติมตัวควบคุมบวก E ตัวควบคุมบวก B และตัวควบคุมลบในทุกเพลท อบที่ 37°C 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างเพลท 5 ครั้ง ด้วย PBS-T (0.05 โมลาร์ Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 - 0.89% NaCl pH 7.4 - 0.05% Tween-20) แล้วเติมคอนจูเกตที่เจือจางในสารละลายนมผง 5% (Antihuman IgG-horse raddish peroxidase, Organon Technika) หลุมละ 100 ไมโครลิตร อบที่ 37°C 1 ชั่วโมง แล้วล้างด้วย PBS-T 5 ครั้ง เติมสารละลายสับสเตรท (OPD tablet-solution, Genelavia mixt-Pasteur) หลุมละ 100 ไมโครลิตร วัดการดูดกลืนแสง (OD) ที่ 490 นาโนเมตร โดยวัดเทียบค่าอ้างอิงที่ 630 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องอ่านอิไลซ่าชนิดเพลท (Biotek Instrument) การแปลผล Plate cut-off น้อยกว่า 0.300 จึงจะแปลผลได้ และผลบวกเมื่อ OD มากกว่า 0.300

ถ้า OD ทั้งของเปปไทด์ E และ B มากกว่า 0.300 ทั้งคู่ ให้เปรียบเทียบค่า OD ใด มากกว่า 3 เท่าของเปปไทด์อีกชนิดหนึ่ง จะสรุปว่าบวกเฉพาะกับเปปไทด์ที่มีค่ามากกว่า 3 เท่า หากบวกทั้งคู่แต่ค่า OD ไม่ต่างกันถึง 3 เท่า จะสรุปว่าเป็น dual reactive อย่างไรก็ตามทั้ง dual reactive และ non-reactive จะตัดออกจากการวิเคราะห์ข้อมูลเนื่องจากไม่ทราบ subtype ที่แท้จริง

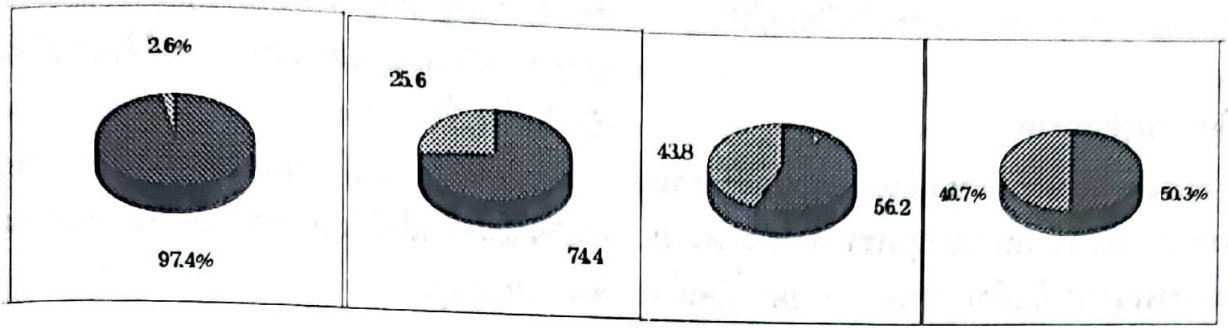
ผลการศึกษา

ผลการวิเคราะห์ชนิด HIV-1 subtype ของมารดาและผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้นที่ติดเชื้อ HIV-1 แสดงไว้ในตารางที่ 1 ส่วนแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนร้อยละของ HIV-1 subtype ในกลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้นตามปีที่มีการศึกษาได้แสดงไว้ในภาพที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการวิเคราะห์ชนิด HIV-1 subtype ของมารดาและผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้นที่ติดเชื้อ HIV-1

กลุ่มตัวอย่าง	subtype E	subtype B	รวม
มารดาที่ติดเชื้อ	109 (98.2%)	2 (1.8%)	111 (100%)
ผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้น	67 (47.5%)	74 (52.5%)	141 (100%)

ภาพที่ 1 แนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนเฉลี่ยของ HIV-1 subtype ในกลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้น ตามปีที่มีการศึกษา



ก	ข	ค	ง
n = 38	n = 43	n = 16	n = 141
2532-2533	2534-2535	2536-2537	2538

หมายเหตุ 1. กราฟ ก ข ค ดัดแปลงมาจากรายงาน ของ Wasi และคณะ[12] กราฟ ง แสดงข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้

2. (■ = subtype B, □ = subtype E)

วิจารณ์

1. ในกลุ่มหญิงที่ติดเชื้อ HIV-1 ซึ่งคลอดบุตร ณ โรงพยาบาลศูนย์เชียงรายประชานุเคราะห์ที่ศึกษาในปี พ.ศ. 2537 พบว่าอัตราการติดเชื้อ HIV-1 subtype E สูงถึงร้อยละ 98.2% ในขณะที่พบว่าติดเชื้อ HIV-1 subtype B เพียง 1.8% เท่านั้น (ตารางที่ 1) ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Thai PAVE project[15] ซึ่งศึกษาในภาคเหนือเฉพาะกลุ่มที่ติดเชื้อ HIV-1 ทางเพศสัมพันธ์แบบต่างเพศ แต่ไม่ได้ระบุรวมมารดาที่ติดเชื้อด้วย Thai PAVE Project รายงานว่าไม่พบ subtype B จากตัวอย่างชนิด seroconversion จำนวน 54 ราย ผลการวิจัยครั้งนี้ยังสนับสนุนผลการสำรวจกลุ่มผู้ติดเชื้อ HIV-1 ทางเพศสัมพันธ์ที่ผ่านมาว่าติดเชื้อ HIV-1 subtype E เป็นส่วนใหญ่[9,11,16]

2. ในกลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้นที่สำรวจครั้งนี้ พบว่าอัตราการติดเชื้อ HIV-1 subtype E และ subtype B ไม่แตกต่างกัน คือ 47.5 % และ 52.5% ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และรูปที่ 1) หากแต่เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบกับรายงานของ Wasi, C และคณะ[12] ซึ่งแสดงการเพิ่มขึ้นของ HIV-1 subtype E ระหว่างปี พ.ศ. 2532-2537 มีลักษณะเป็นกราฟเส้นตรง (รูปที่ 1) จากความสัมพันธ์ดังกล่าวจะคาดการณ์ว่า ในปี พ.ศ. 2538 ควรจะพบ HIV-1 subtype E ในกลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้น 65 % ในขณะที่ข้อมูลจากการวิจัยนี้พบ subtype E เพียง 47.5 % ซึ่งน้อยกว่าที่คาดไว้มาก ลักษณะการชะลอการเพิ่มขึ้นของ subtype E อาจเป็นไปได้ที่แสดงภาวะการเปลี่ยนแปลงที่เข้าใกล้สมดุล กล่าวคือ หากปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการระบาดไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก จะพบ HIV-1 subtype E

ในกลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้นในอัตราส่วนที่เท่ากับ HIV-1 subtype B ในช่วงเวลา 2-3 ปีข้างหน้านี้ ทั้งนี้จะต้องมีการศึกษาและเฝ้าระวังในปีต่อๆไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะแพทย์กลุ่มงานกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลเชียงรายประชานุเคราะห์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างเลือดมารดาที่ติดเชื้อ HIV-1

ขอขอบคุณแพทย์หญิงจิตรา อุ่นเอกลาภ โรงพยาบาลธัญญารักษ์ จังหวัดประทุมธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างเลือดผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้นที่ติดเชื้อ HIV-1

ขอขอบคุณ คุณแนนซี ยัง ศูนย์ความร่วมมือการวิจัยโรคเอดส์ที่ได้เอื้อเฟื้อเปปไทด์สังเคราะห์และตัวอย่างควบคุม.

เอกสารอ้างอิง

1. Weniger BG, Limpakarnjanarat K, Ungechusak K, et al. The epidemiology of HIV infection in Thailand. AIDS 1991;5(suppl 2):S71-S85.
2. กองโรคเอดส์. การคาดประมาณจำนวนประชากรผู้ติดเชื้อเอดส์และผู้ป่วยเอดส์ในประเทศไทย พ.ศ. 2530 - 2548. ข่าวสารโรคเอดส์ 2538;8(3):1-4.
3. กองโรคเอดส์. สรุปสถานการณ์โรคเอดส์ในประเทศไทย ตั้งแต่ พ.ศ. 2527 ถึง 31 มีนาคม พ.ศ. 2538. ข่าวสารโรคเอดส์ 2538;8(4):4-7.
4. Delwart EL, Shpaer EG, Louwagie J, et at. Genetic relationships determined by a DNA heteroduplex mobility assay: analysis of HIV-1 env genes. Sciences 1993;262:1257-1261.
5. Myers G, Korbe B, Smith RF, et al. Human retroviruses and AIDS 1993. In: Los Alamos National Library. Theoretical biology and biophysics. New Mexico: Los Alamos, 1993.
6. Louwagie J, Mc Cutchan FE, Peeters M, et al. Comparison of gag genes from seventy international HIV-1 isolates provides evidence of multiple genetic subtypes. AIDS 1993;7:769-780.
7. Gurtler L, Eberle J, von Brunn A, et al. A new subtype of human immunodeficiency virus type 1 (MPV 5180) from Cameroon. J Virol 1994;68:1581-1585.
8. Vanden Haesevelde M, De Court JL, De Leys RJ, et al. Genomic cloning and complete sequence analysis of highly divergent African human immunodeficiency virus isolate. J Virol 1994;68:1586-1596.
9. Ou CY, Takebe Y, Luo CC, et al. Independent introduction of two major HIV-1 genotypes into distinct high-risk populations in Thailand. Lancet 1993;341:1171-1174.
10. Mc Cutchan FE, Hegerich PA, Brennan TP, et al. Genetic variants of HIV-1 in Thailand. AIDS Research Human Retroviruses 1992;8:1887-1895.

11.Ou CY, Takebe Y, Luo CC, et al. Wide distribution of two subtypes of HIV-1 in Thailand. AIDS Research Human Retroviruses 1992;8:1471-1472.

12.Wasi C, Herring B, Rakthan S, et al. Determination of HIV-1 subtypes in injecting drug users in Bangkok, Thailand, using peptide binding enzyme immunoassay and the heteroduplex mobility assay: evidence of increasing infection with HIV-1 subtype E. (in press).

13. Pau CP, Lee-Thomas S, Auwanit W, et al. High specific V-3 peptide enzyme immunoassay for serotyping HIV-1 specimens from Thailand. AIDS 1993;7:337-340.

14. Pau CP, Weniger BG, Kai M, et al. An improved peptide EIA for serotyping HIV-1 from Thailand. First National Conference on Human Retroviruses and Related Infections, Washington DC, December 1993. (abstract).

15. Khamboonrung C, Beyer C, Yu XF, et al. molecular Epidemiology studies on HIV-1 in Northern Thailand: Results from the Thai PAVE Project, 1992-1994, in WHO Workshop; Advance Technologies in Sequencing of HIV-1 Genetic Variability in Thailand, February 20-24, 1995.

16.Young N, Limpakarnjanarat K, Ungchusak K, et al. Surveillance of HIV-1 subtypes in Thailand, 1992-1993. Tenth International Conference on AIDS, Yokohama, Japan, August 1994. (abstract PC 0431).