

Transmisi Heteroseksual Sebagai Faktor Penyebaran CRF01_AE HIV-1 di Mimika Papua

Heterosexual Transmission as A CRF01_AE HIV-1 Spread Factor in Mimika Papua

Mirna Widayanti¹, Reynold Ubra², Evi Iriani¹
¹Balai Penelitian dan Pengembangan Biomedis Papua
²Dinas Kesehatan Kabupaten Mimika
e-mail: ninawidhy@gmail.com

Abstract

The HIV epidemic has particular characteristic on each region. The genetic diversity of HIV-1 would affect variability of HIV virus that could potentially most virulent, pathogenic and high transmission rate. Thus it triggers the disease progresivity more rapidly and caused a new pandemic of HIV infection. The aim of the study is determine the genetic characteristics of HIV-1 on patient with heterosexual transmission based on gene fragment encoding the glycoprotein-41 (gp41) of HIV envelope. Descriptive analytic method and cross sectional design were attended on VCT clinic Mitra Masyarakat Mimika in March-May 2015. Samples of blood plasma from patient with HIV-1 sexual transmission wer amplified using RT-PCR and nested PCR. Genetic characteristics were analyzed with DNA Sequencing using software Bioedit and Mega 5. Identification using sequence analysis showed two subtypes of HIV patient in Mimika, which were CRF01_AE and B subtypes. There were 40 patients (87%) identified as having genetic characteristics CRF01_AE. Subtypes B was also identified in 6 heterosexual patients. This study suggest that CRF01_AE have heterosexual transmission risk higher than subtype B. Predominance of CRF01_AE contribute to the rapid spread of the HIV epidemic in Mimika.

Keywords: HIV-1, CRF01_AE, Heterosexual, Mimika

Abstrak

Epidemi HIV mempunyai karakteristik tertentu pada masing-masing wilayah. Keragaman genetik HIV-1 akan mempengaruhi besarnya keanekaragaman virus HIV yang berpotensi mempunyai daya virulensi, patogenesis dan daya penularan lebih tinggi. Hal tersebut memicu progresivitas penyakit lebih cepat dan menimbulkan pandemi infeksi HIV baru. Tujuan penelitian ini adalah menentukan karakteristik genetik HIV-1 pada pasien transmisi heteroseksual berdasarkan fragmen gen pengkode glikoprotein (gp41) envelop HIV. Metode penelitian yang digunakan adalah deskriptif analitik dengan rancangan potong lintang di klinik VCT Mitra Masyarakat Mimika pada bulan Maret-Mei 2015. Sampel plasma darah pasien HIV-1 dengan transmisi seksual diampifikasi menggunakan RT-PCR dan *nested* PCR. Karakteristik genetik dilakukan dengan analisis DNA Sekuensing menggunakan software Bioedit dan Mega.5. Analisis sekuensing mengidentifikasi 2 sub tipe pada pasien HIV di Mimika yaitu CRF01_AE dan B. 40 pasien (87%) diidentifikasi memiliki karakteristik genetik CRF01_AE. Sub tipe B juga diidentifikasi pada 6 pasien dengan transmisi seksual. Studi ini menunjukkan bahwa sub tipe CRF01_AE memiliki risiko penularan melalui transmisi heteroseksual lebih tinggi dibandingkan sub tipe B. Dominasi CRF01_AE berkontribusi terhadap penyebaran epidemi HIV di Mimika.

Kata Kunci: HIV-1, CRF01_AE, Heteroseksual, Mimika

Pendahuluan

Sejak awal epidemi, lebih dari 70 juta orang di dunia terinfeksi HIV (*Human Immunodeficiency virus*) dan sekitar 35 juta orang meninggal karena HIV. Angka kasus HIV di dunia pada akhir 2015 diperkirakan 0.8% (0,7-0,9%) dari orang dewasa berusia 15-49 tahun di seluruh dunia hidup dengan HIV (1). Epidemi HIV di berbagai tempat di belahan dunia, mempunyai karakter tertentu pada masing-masing wilayah. Karakter epidemi HIV tersebut dapat ditentukan oleh besarnya prevalensi HIV dan keberagaman sub tipe HIV yang bersirkulasi pada masing-masing wilayah beserta distribusi dan proporsinya pada populasi. Adanya keragaman genetik (*genetic variability*) dalam HIV-1 akan berakibat pada besarnya keanekaragaman virus (*HIV diversity*). Oleh karena itu, tidak tertutup kemungkinan untuk munculnya strain HIV-1 baru yang mempunyai sifat virulensi dan patogenitas lebih tinggi sehingga memicu timbulnya pandemi infeksi HIV baru (2).

Penyebab utama AIDS di dunia saat ini mayoritas adalah HIV-1. HIV-1 dibagi kedalam 3 kelompok yaitu M (*Main*), N (*New*), dan O (*Outlier*). Grup M tersebar luas dan merupakan penyebab tersering epidemi HIV di dunia. Kelompok M dibagi menjadi beberapa sub tipe yaitu A, B, C, D, F, G, H, J dan K. Selain itu terdapat gabungan sub tipe virus yang disebut CRF (*Circulating Recombinant Form*) (3). Sub tipe HIV secara struktural dan fungsional dapat mempengaruhi transmisi HIV, kerentanan antiretroviral, resistensi antiretroviral, progresivitas penyakit dan replikasi virus (4). Sub tipe HIV merupakan penanda molekuler yang penting untuk memonitor perubahan epidemi HIV di dunia (5).

Di Asia Tenggara seperti Thailand, terlihat segregasi yang jelas pada awal epidemi, dimana sub tipe B ditemukan pada *Injecting Drug User* (IDU) atau pengguna narkoba suntik dan CRF01_AE ditemukan pada penularan secara heteroseksual (6). Penelitian Kunanusont et al (1995) menemukan bahwa sub tipe B berhubungan dengan transmisi heteroseksual dan IDU, sedangkan sub tipe A, CRF01_AE dan C berhubungan dengan transmisi heteroseksual, sehingga diduga terdapat hubungan antara cara penularan dengan jenis sub tipe HIV yang menginfeksi penderita (7).

Di Indonesia, penelitian tentang sub tipe dan transmisi pernah dilakukan di 7 provinsi yaitu :Sumatera Utara, Sumatera Barat, Kepulauan Riau, Sulawesi Utara, Sulawesi Selatan, Maluku dan Papua. Jumlah sampel masing-masing provinsi sebanyak 70 penderita HIV/AIDS. Hasil penelitian menunjukkan penularan HIV-1 terjadi melalui transmisi heteroseksual, homoseksual, pengguna narkoba suntik, transfusi darah, perinatal dan lainnya. Prevalensi kasus pada pasien dengan transmisi heteroseksual paling tinggi di semua provinsi diantaranya Papua (82.9%), Kepulauan Riau (75.7%), Maluku (68.6%), Sulawesi Utara (64.3%), Sumatera Utara (61.4%) (8).

Genom HIV terdiri atas gen yang menyandikan protein struktural virus diantara adalah gen *gag*, *pol* dan *env*. Sekuen *env* cukup tinggi variasinya. Berbagai grup dan sub tipe HIV yang berbeda secara genetik telah dikarakterisasi berdasarkan sekuen dari gen *env*. *Env* adalah daerah sasaran utama untuk mempelajari genotipe yang terkait dengan epidemiologi. Untuk menentukan sub tipe HIV-1 daerah yang di amplifikasi adalah gen pengkode *glikoprotein* (gp41) pada *envelope* virus. Region 41 merupakan penanda terpercaya untuk pengelompokan sub tipe HIV-1 (9).

Papua menempati posisi ketiga jumlah kasus HIV/AIDS terbanyak di Indonesia dengan 16.051 kasus HIV dan 10.184 kasus AIDS meningkat dari tahun 2013 dengan 11.871 kasus (10). Kabupaten Mimika merupakan salah satu kabupaten di Papua yang memiliki angka kasus HIV/AIDS cukup tinggi. Data Dinas Kabupaten Mimika menunjukkan bahwa kumulatif kasus HIV/AIDS di Mimika mencapai 3.900 orang pada akhir Agustus 2014. Bagaimana karakteristik genetik HIV-1 belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu penting sekali melakukan penelitian karakteristik genetik HIV-1 di Kabupaten Mimika, sehingga diperoleh data dasar epidemiologi untuk menentukan pola penyebaran virus HIV. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik genetik HIV-1 pada pasien transmisi heteroseksual berdasarkan fragmen gen pengkode glikoprotein (gp41) envelop HIV.

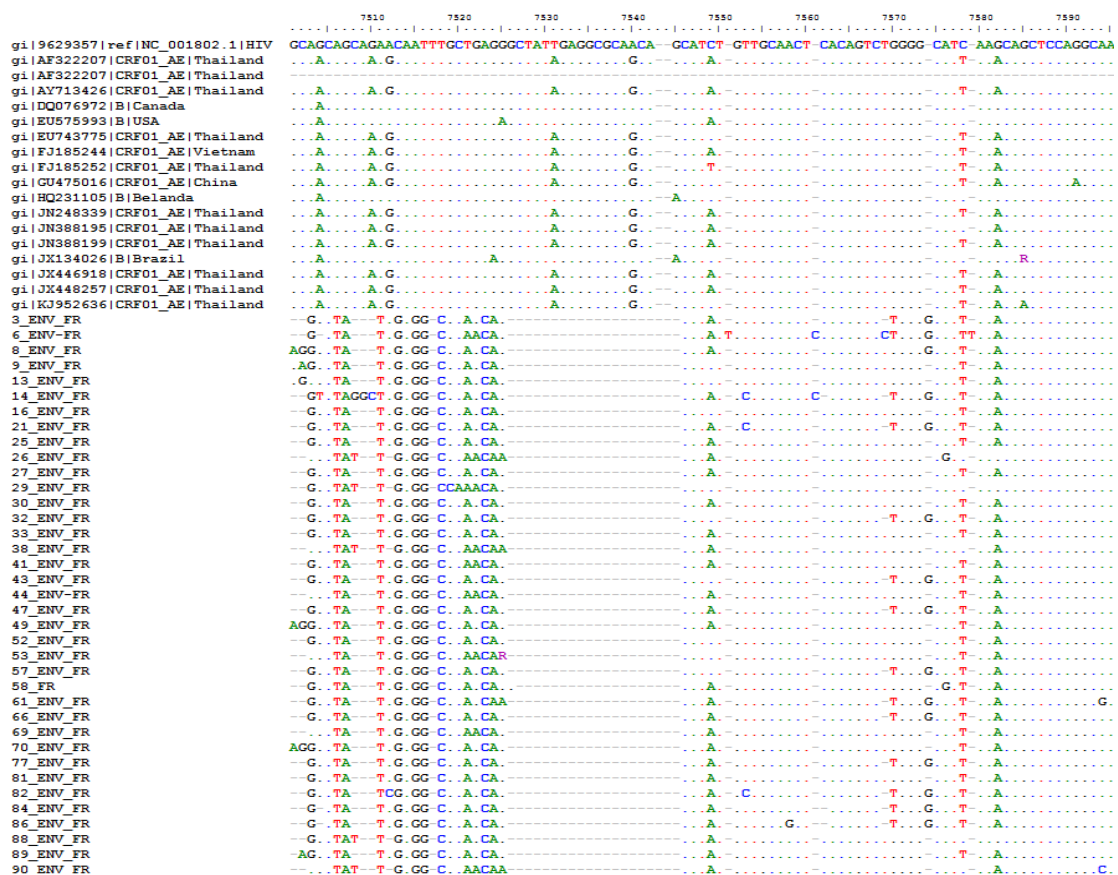
Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 10 bulan yaitu : Januari-Oktober 2015. Pengambilan sampel darah dilakukan di *Voluntary Conseling Test* (VCT) RS. Mitra Masyarakat Mimika. Tahapan Ekstraksi dan PCR dilakukan di laboratorium Virologi Balai Litbang Biomedis Papua. Jenis Penelitian deskriptif analitik dengan rancangan potong lintang. Pemilihan sampel dilakukan secara *consequtive*, yaitu semua pasien yang menderita HIV/AIDS yang telah mendapatkan terapi antiretroviral di VCT RS Mitra Masyarakat Mimika yang telah memenuhi kriteria inklusi. Kriteria inklusi meliputi subyek laki-laki atau perempuan yang telah menerima terapi > 6 bulan, memiliki data CD4 dan riwayat terapi yang lengkap dan menandatangani *inform consent*. Jumlah sampel sebanyak 84 sampel dengan tingkat

kepercayaan 95%. Perekrutan pasien dilakukan oleh VCT, sebelum proses inklusi isi lembar informasi akan dijelaskan kepada pasien dan dilanjutkan dengan proses penandatanganan formulir persetujuan untuk mengikuti penelitian. VCT kemudian akan melakukan wawancara mendalam kepada pasien untuk mengumpulkan informasi klinis, demografis, faktor risiko menggunakan kuesioner. Setelah dilakukan wawancara, dilanjutkan dengan pengambilan darah vena pasien. Darah vena diolah menjadi plasma dan dilakukan proses ekstraksi RNA. RNA HIV kemudian diampifikasi dengan teknik *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) menggunakan primer gp40 dan gp41 dilanjutkan proses *nested PCR* menggunakan primer gp46 dan gp47. Tahapan berikutnya adalah elektroforesis, produk PCR divisualisasi dengan menempatkan gel pada *gel-doc*. Isolat DNA yang menunjukkan *band* sebesar 460 *basepair* dinyatakan positif mengandung gen target. Hasil positif pada tahap ini dilanjutkan ke tahap berikutnya yaitu sekuensing DNA. Analisis hasil dilakukan secara deskriptif. Sekuen nukleotida HIV hasil sekuensing kemudian dibandingkan dengan isolat virus dari beberapa negara di Asia dan Amerika yang diakses melalui *genBank*. Tahapan berikutnya adalah proses BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*), tujuannya yaitu untuk mendapatkan genotipe dan subtipe virus HIV. BLAST dilakukan dengan menggunakan internet di dua situs *genbank* untuk konfirmasi, dua situs tersebut adalah BLAST dari NCBI pada www.ncbi.nlm.nih.gov dan *HIV sequence database* pada www.hiv.lanl.gov. Hasil urutan nukleotida *fragmen gen envelope* kemudian disejajarkan (*alignment*) menggunakan software Bioedit ver.7.

Hasil

Pemeriksaan karakteristik genetik HIV-1 pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan teknik biologi molekuler. Produk PCR disekuensing untuk mengetahui genotipe dan subtipe HIV-1. Berdasarkan hasil analisis program BLAST, hasil sekuen isolat HIV-1 di Mimika memiliki similaritas dengan sekuen HIV-1 CRF01_AE dan subtipe B. Dari sekuen nukleotida HIV yang diperoleh dan sudah siap dianalisis sebanyak 46 dari 84 sekuen yang diharapkan), dilakukan analisis molekuler filogenetik nukleotida HIV dan disusun pohon filogenetik dengan program komputer BLAST bersama 30 nukleotida HIV dengan berbagai subtipe referensi yang sudah dipublikasikan sebelumnya (<http://www.hiv.lanl.gov>).



Gambar 1. Hasil *Multiple Alignment* sekuen nukleotida gen env HIV-1 dari isolat pasien HIV Kabupaten Mimika yang di sejajarkan dengan beberapa isolat HIV yang diakses dari GenBank.

Pada fase *reverse-transcriptase* RNA menjadi cDNA dalam proses replikasi virus, terjadi mutasi genetik yang dapat berupa penggantian (*substitusi*), penghilangan sebagian (*delesi*), atau penambahan (*insersi*) asam amino pada genom virus, dengan kecepatan mutasi diperkirakan sebesar satu basa setiap kejadian *reverse-transcriptase*. Mutasi genetik tersebut menyebabkan perubahan urutan (*sequence*) asam nukleat yang menyusun asam amino dari protein atau glikoprotein genom HIV baru yang akan disintesa. Tingginya mutasi genetik ini menyebabkan besarnya keanekaragaman genetik virus HIV (11). Besarnya keanekaragaman genetik dapat digambarkan dengan besarnya perbedaan komposisi urutan asam nukleat antara HIV-1 dan HIV-2 adalah 50%, antar isolat HIV-1 dari lokasi geografis yang berbeda mencapai 20-30%, antar isolat dari individu berbeda berasal dari lokasi geografis yang sama adalah sebesar 6-19% dan perbedaan antar virus di dalam satu isolat mencapai 2%. Jenis Subtipe dan karakteristik pasien dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Demografi dan Subtipe HIV-1 Pasien di RS.Mitra Masyarakat Mimika

| Variabel | Subtipe | | Jumlah |
|----------------------------|----------|---|--------|
| | CRF01_AE | B | |
| Jenis Kelamin | | | |
| Laki-Laki | 10 | 3 | 13 |
| Perempuan | 30 | 3 | 33 |
| Pekerjaan | | | |
| Tidak Bekerja | 35 | 3 | 38 |
| Bekerja | 5 | 3 | 8 |
| Status Kawin | | | |
| Tidak Menikah | 35 | 3 | 38 |
| Menikah | 5 | 3 | 8 |
| Suku | | | |
| Non Papua | 2 | 2 | 4 |
| Papua | 38 | 4 | 42 |
| Transmisi Penularan | | | |
| Heteroseksual | 38 | 6 | 44 |
| Lainnya | 2 | 0 | 2 |

Pembahasan

Tabel 1 menunjukkan proporsi CRF01_AE lebih banyak ditemukan pada subyek perempuan, tidak memiliki pekerjaan, status menikah dari suku Papua dan faktor risiko heteroseksual. Pada penelitian ini, CRF01_AE didapatkan lebih banyak dibanding subtipe B. Subtipe ini ditemukan pada penelitian sebelumnya di Kota Jayapura dengan proporsi subtipe B sebesar 66.1% dan CRF01_AE sebesar 33.9% (12). Berbeda dengan hasil yang ditemukan di Kabupaten Jayapura oleh Widiyanti dkk (2013) bahwa subtipe CRF01_AE lebih banyak yaitu 86.1% dibandingkan subtipe B (13.9%) (13). Selain itu penelitian di Kabupaten Merauke Papua oleh Rosalinda et al (2012) menemukan 3 jenis subtipe yaitu CRF01_AE sebesar 28.6%, subtipe B (2,9%) dan subtipe C (5.7%) dengan presentasi transmisi HIV lebih banyak melalui heteroseksual (82.9%).

Penelitian di Thailand menemukan bahwa subtipe berhubungan dengan cara dan kecepatan transmisi, dimana subtipe B berhubungan dengan transmisi homoseksual dan *intravenous drug user* (IDU), sedangkan subtipe A, CRF01_AE dan C berhubungan dengan transmisi heteroseksual. Subtipe E di Thailand, pada awal epideminya akhir tahun 1998, secara spesifik hanya menginfeksi kelompok risiko heteroseksual, namun kemudian sejak tahun 1994 juga ditemukan telah menginfeksi kelompok pemakai narkoba suntik, hingga pada akhirnya merupakan subtipe dominan dan yang bertanggung jawab pada ledakan epidemi HIV di Thailand (14).

Dengan ditemukannya bahwa kasus-kasus HIV positif di lokasi Mimika berpeluang tertinggi disebabkan oleh subtipe AE maka dapat dikatakan bahwa subtipe AE adalah subtipe dominan di Mimika. Oleh karena itu dengan mengabaikan faktor-faktor lain yang mempengaruhi infektifitas pada populasi dengan risiko tinggi secara kontak seksual, seperti frekuensi kontak, adanya infeksi PMS yang lain, derajat *viral load* pihak penular, maka probabilitas penularan secara kontak seksual oleh HIV-1 subtipe AE jauh lebih tinggi dari pada oleh subtipe B (15). Dengan demikian apabila diasumsikan bahwa di Papua karena cara penularan HIV tertinggi adalah melalui kontak seksual, maka dominansi subtipe AE HIV-1 dapat dipahami. Mimika merupakan kabupaten yang memiliki jumlah kasus HIV ketiga tertinggi di Provinsi Papua. Adanya mobilitas penduduk lokal, non pribumi dan pekerja seks di Mimika merupakan salah satu rantai penularan, termasuk kemungkinan penularan subtipe CRF01_AE dan subtipe B.

Hasil yang diperoleh ternyata virus HIV dari penderita HIV/AIDS dalam penelitian ini sebanyak 40 sampel terletak dalam satu kelompok *Circulating Recombinant Forms* (CRFs) dan terutama CRF01_AE yang berasal dari Thailand. Terdapat 6 sampel terletak dalam satu kelompok percabangan dengan subtipe B yang berasal dari Amerika. CRF01_AE dominan ditemukan di Asia Tenggara dan menyebar luas di Thailand dan semenanjung Kamboja dengan jumlah penderita HIV mencapai satu juta orang (16). Selain itu, CRF01_AE juga telah dilaporkan tersebar di China, Vietnam, Malaysia, Myanmar, Laos, Korea Selatan, Taiwan, Philipina dan Singapura (17).

Subtipe B ditemukan pada penelitian sebelumnya di Bali, Jawa Barat, Jakarta dan Jawa Timur (18)(19). Subtipe B secara historis terdapat di Eropa Barat, Amerika Utara, Amerika Latin, Jepang, Australia dan Selandia Baru. Subtipe B secara molekuler masuk dalam kluster sekuens dari Amerika. Hal ini dikarenakan subtipe B memiliki kedekatan secara genetik dengan strain asal Amerika (20). Faktor geografis dan mobilitas penduduk berperan penting dalam penyebaran dan keragaman genetik HIV-1 (21). Adanya kejadian peningkatan proporsi infeksi subtipe AE pada epidemi HIV di Indonesia sejak tahun 1993 sampai dengan 2000. Terlepas dari faktor faktor lain yang berpengaruh pada penularan (antara lain hormonal, adanya PMS, *viral load*, *tipe chemokine receptor*) dari pihak penular maupun tertular. Subtipe AE HIV-1 yang mempunyai proporsi infeksi tertinggi di Indonesia mempunyai daya penularan lebih tinggi dibandingkan subtipe HIV-1 yang lain yang bersirkulasi di Indonesia. Fenomena ini didukung oleh hasil penelitian kohort terhadap 1.209 pasien HIV dari kelompok IDU di Thailand dimana pada awal observasinya terjadi ledakan kasus HIV positif oleh subtipe B HIV-1, tetapi kemudian dengan berjalannya waktu ditemukan pula subtipe E yang terus meningkat proporsinya, dan pada akhir penelitian ditemukan terjadinya peralihan dominasi dari subtipe B ke subtipe E (22)

Penemuan dua subtipe HIV-1 selain B perlu diwaspadai karena berkaitan dengan proses mutasi virus HIV-1, untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Penelitian karakterisasi genetik isolat virus yang berkelanjutan penting untuk melakukan pengawasan dan pengendalian epidemi HIV di Indonesia. Mutasi DNA virus sangat mempengaruhi kemampuan virus untuk melumpuhkan sistem imunitas tubuh, yang berarti juga mempengaruhi daya penularan dan virulensi. Tingginya tingkat mutasi virus, pada akhirnya dapat memicu terjadinya ledakan epidemi HIV karena adanya strain virus baru yang lebih virulen dan mempunyai daya penularan lebih tinggi.

Simpulan Dan Saran

Karakteristik genetik HIV berdasarkan fragmen glikoprotein 41 envelop terdiri dari 2 jenis subtipe HIV-1 di Mimika yaitu CRF01_AE dan B dengan distribusi terbanyak melalui transmisi heteroseksual. Diperlukan penelitian berkesinambungan untuk karakterisasi epidemi HIV khususnya karakteristik genetik virus HIV. Karakter tersebut berguna untuk memetakan perjalanan penularan HIV di dalam populasi, dan memprediksi kelanjutan epidemi HIV, sebagai upaya peningkatan usaha-usaha pencegahan penularan HIV secara nasional.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Direktur Rumah Sakit Mitra Masyarakat Mimika, Ketua Pemberantasan AIDS Mimika, dr.Tri Wibawa, Ph.D,Sp.MK., Dr. dr. Budiman Bela, SP.MK. dan seluruh staf VCT yang telah membantu berjalannya penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. WHO. WHO _ HIV surveillance, estimates, monitoring and evaluation [Internet]. 2016 [cited 2017 Aug 10]. Available from: www.who.int
2. Gottlieb S. New, more virulent strain of HIV found. *Br Med J* [Internet]. 1998;317(September):1998. Available from: www.bmj.com
3. Taylor BS, Sobieszczyk ME, McCutchan FE HS. NIH Public Access. *N Engl J Med*. 2009;358(15):1590–602.
4. Geretti AM, Harrison L, Green H, Sabin C, Hill T, Fearnhill E, et al. Effect of HIV-1 Subtype on Virologic and Immunologic Response to Starting Highly Active Antiretroviral Therapy. *Clin Infect Dis*. 2009;48(9):1296–305.
5. Requejo HIZ. Worldwide molecular epidemiology of HIV *Epidemiologia molecular do HIV no mundo*. *Rev Saúde Pública*. 2006;40(2):331–45.
6. Mastro TD, Kumanusont C, Dondero TJ, Wasi C. Why do HIV-1 subtypes segregate among persons with different risk behaviors in South Africa and Thailand? *Aids*. 1997;11:113–6.
7. Kumanusont C, Fay HM, Kreiss JK, Nagrm SR, Phanuphak P, Rakhtam S, Pau CP YN. HIV-1 subtypes and male-to-female transmission in Thailand. *Lancet*. 1995;345(8957):1078–83.
8. Roselinda JR. Genotype and transmission Human Immunodeficiency Virus-1 in seven provinces

- in Indonesia. *Heal Sci J Indones.* 2012;3(2):27–31.
9. Pieniazek D, Yang C LR. Phylogenetic analysis of gp41 envelope of HIV-1 groups M , N , and O strains provides an alternate region for subtype determination. *Analysis.* 1994;112–7.
 10. Ditjen PP & PL Kemenkes RI. *Statistik Kasus HIV/AIDS di Indonesia Dilapor s/d Desember 2013* Cases of HIV/AIDS in Indonesia Reported thru' December 2013. Update. Jakarta; 2013.
 11. Pratt RJ. *HIV & AIDS : 5TH EDITION.* Fifth Edit. Wendy Rooke, editor. Health (San Francisco). London, United Kingdom: Hodder Arnold; 2003. 362-64 p.
 12. Oktavian, Antonius, Kridaningsih TN, Wibowo HA, widiyanti M, Wike I FE. HIV-1 subtypes in Jayapura City , Papua Province Indonesia. In: 15th International Journal of Infectious Diseases. 2012. p. e185.
 13. Widiyanti M, Wibawa T WH. Subtypes and phylogenetic analysis of human immunodeficiency virus-1 in Jayapura. *Universa Med.* 2014;33(1):49–57.
 14. Kalish ML, baldwin A RS. The evolving Molecular Epidemiology of HIV-1 Envelope Subtypes in Injecting Drug users in Bangkok, Thailand : implications for Vaccine Trial. *Aids.* 1995;(9):851–7.
 15. Soto-ramirez LE, Renjifo B, Mclane MF, Marlink R, Hara CO, Sutthent R, et al. H IV- 1 Langerhans â€™™ Cell Tropism Associated with Heterosexual Transmission of HIV. *Science (80-).* 1996;271(7):1–3.
 16. Srisuphanunt M, Sukeepaisarnchareon W, Kucherer C, Pauli G. THE EPIDEMIOLOGY OF HIV-1 SUBTYPES IN INFECTED PATIENTS FROM NORTHEASTERN THAILAND. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2004;35(3):641–8.
 17. Foley B, Donegan E, Silitonga N, Wignall FS, Busch MP, Delwart EL. Importation of Multiple HIV Type 1 Strains into West Papua , Indonesia (Irian Jaya). *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2001;17(17):1655–9.
 18. Merati TP, Ryan C, Turnbull S, Wirawan DN, Otto B BI. Subtipe HIV-1 di beberapa daerah di Indonesia dan perannya sebagai petunjuk dinamika epidemi HIV. *Indones J Biomed Sci.* 2009;2(2):1–25.
 19. Wibowo HA, Setiawaty V SE. Epidemiologi Molekuler genotipe Human Immunodeficiency Virus-1 (HIV-1) pada orang dengan HIV/AIDS atau ODHA di Jawa Timur dan DKI Jakarta. *Bul Penelit Kesehat.* 2011;39(1):1–9.
 20. Porter KR. Genetic, Antigenic and Serologic characterization of HIV-1 from Indonesia. *Aids.* 1997;14:1–6.
 21. Gifford RJ, Oliveira T De, Rambaut A, Pybus OG, Dunn D. Phylogenetic Surveillance of Viral Genetic Diversity and the Evolving Molecular Epidemiology of Human Immunodeficiency Virus Type 1 □. *J Virol.* 2007;81(23):13050–6.
 22. W.Louisirirochanakul S, Beddows S, Cheingsong R, Shaffer N, mastro D, Likansakul S, wasi C TG. Role of maternal Humoral Immunity in vertical Transmission of HIV-1 Subtype E in Thailand. *J Acquir immune Defic Syndr.* 1999;21:259–65.