

**ปัจจัยที่มีผลต่อภาวะล้มเหลวทางไวรัสและรูปแบบการกลายพันธุ์
ของเชื้อเอชไอวีที่ดื้อยาในเด็กที่ได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐาน
(NNRTI)-based ART ที่โรงพยาบาลกาฬสินธุ์**

**Factors Associated with Virological Failure and
Genotypic Resistance Mutation Patterns in Children
Receiving Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor
(NNRTI)-Based Antiretroviral Therapy in Kalasin Hospital**

สกุลรัตน์ ศรีโรจน์ (พ.บ. ว.กุมารเวชกรรม)
กลุ่มงานกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลกาฬสินธุ์

Sakulrat Sirojana M.D., Dip (Pediatrics)
Department of Pediatrics, Kalasin Hospital

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ : ศึกษาอัตราการเกิดและปัจจัยที่มีผลต่อภาวะล้มเหลวทางไวรัส (Virological failure: VF) ในผู้ป่วยเด็กติดเชื้อเอชไอวี/เอดส์ ที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐาน (NNRTI-based ART) ในโรงพยาบาลกาฬสินธุ์ และศึกษารายละเอียดของการกลายพันธุ์ของเชื้อเอชไอวีที่ดื้อยา

วัสดุและวิธีการศึกษา : ศึกษาข้อมูลย้อนหลังจากเวชระเบียนผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี/เอดส์ ตั้งแต่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2545 ถึง 30 กันยายน พ.ศ. 2555 กลุ่มประชากรศึกษาคือผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี/เอดส์ อายุ 1-15 ปี ที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐานและต้องไม่เคยได้รับยาต้านไวรัสใดๆ มาก่อน ยกเว้นได้รับยาต้านไวรัสเพื่อป้องกันการติดเชื้อจากแม่สู่ลูก ภาวะล้มเหลวทางไวรัสคือตรวจพบจำนวน HIV-RNA ใน พลาสมา มากกว่า 1,000 copies/mL หลังจากได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐานอย่างน้อย 1 ปีขึ้นไป

ผลการศึกษา : ผู้ป่วยเด็กติดเชื้อเอชไอวี/เอดส์ ที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐานมีจำนวน 86 คน กลุ่มที่มีภาวะล้มเหลวทางไวรัส (VF) มีจำนวน 18 คน (20.93%) ปัจจัยที่มีผลต่อภาวะล้มเหลวทางไวรัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ adherence ที่ไม่ดี (< 95%) เกิด VF ถึง 21.50 เท่า เทียบกับ adherence ดี (95% CI: 6.33-72.98) และอัตราการเกิด VF เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการได้รับยาต้านไวรัส จากในปีที่ 1 เท่ากับ 4.69% เป็น 14.48, 21.27 และ 28.86% ในปีที่ 3 ปีที่ 5 และปีที่ 8 ตามลำดับ อัตราการกลายพันธุ์ของเชื้อเอชไอวีที่ดื้อยา ในกลุ่ม NRTIs และ NNRTIs พบ 88.89 และ 100% โดย mutations ที่พบบ่อยในกลุ่ม NRTIs คือ M184V (94.44%), D67N (50.00%), TAMs ≥ 4 (5.55%) และ กลุ่ม NNRTIs คือ Y181 C/I (27.78%) , G190S/A (50.00%) และ K103N (16.67%)

สรุป : อัตราการเกิด VF ในผู้ป่วยเด็กติดเชื้อเอชไอวี/เอดส์ ที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐานอยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างสูง ปัจจัยที่มีผลต่อ VF คือ Adherence ที่ไม่ดี ผู้ป่วยส่วนใหญ่ดื้อต่อยากลุ่ม 3TC และ NNRTIs แพทย์และทีมผู้รักษาจำเป็นต้องดูแลการกินยาต้านไวรัสอย่างใกล้ชิด และการตรวจ plasma HIV-RNA

ในปีแรกหลังได้รับยาต้านไวรัส มีประโยชน์เป็นอย่างมากในการวินิจฉัยภาวะ VF เพื่อให้การเปลี่ยนสูตรยาเป็น second-line regimen ได้เร็วขึ้น

คำสำคัญ: ภาวะล้มเหลวทางไวรัส ยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐาน (NNRTI-based ART) การกลายพันธุ์ของเชื้อเอชไอวี ที่ดื้อยา Adherence

Abstract

Objectives: This study aimed to determine the rate and factors associated with virological failure and describe genotypic resistance mutation patterns in children receiving Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor antiretroviral therapy (NNRTI-based ART) in HIV-infected children in Kalasin hospital.

Materials and Methods: A retrospective study was conducted from 1 October 2002 to 30 September 2012. The inclusion criteria were HIV-infected children who were 1-15 years old and receiving NNRTI-based ART and had not received any ART except for exposure to antiretroviral prophylaxis for mother-to-child transmission. virological failure (VF) was defined as plasma HIV-RNA > 1,000 copies/mL after 1 year of NNRTI-based ART.

Results: There were 86 HIV-infected children, 18 (20.93%) had VF. Risk factor associated with VF was poor adherence (OR 21.50, 95%CI : 6.33-72.98). The rate of VF were increased from 4.69 to 14.48, 21.27 and 28.86% in the 1st to 3rd, 5th and 8th years after ART, respectively. Drug resistance to NRTIs and NNRTIs were 88.89 and 100%. The common NRTIs mutations were M184V (94.44%), D67N (50.00%) and TAMs≥4 (5.55%). The NNRTIs mutations were Y181C/I (27.78%) , G190S/A (50.00%) and K103N (16.67%).

Conclusions: The VF rate in children was high and increased by the years after ART. Factor associated with VF was poor adherence. The most common resistance mutations were those conferring resistance to lamivudine (3TC) and NNRTIs. Closed monitoring of adherence would be useful for prevention of VF and early detection of VF might allow for early switching to second-line regimens.

Keywords: Virological failure (VF), Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based antiretroviral therapy (NNRTI-based ART), Genotypic resistance mutation, Adherence

บทนำ

การใช้ยาต้านไวรัส (Highly active anti retroviral therapy: HAART) อย่างแพร่หลายมากขึ้นในผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวี ทำให้อัตราการป่วยและการเสียชีวิตในผู้ป่วยลดลง เนื่องจากยาต้านไวรัสทำให้เกิด viral suppression และ ภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น เป็นผลให้ผู้ป่วยมีอายุยืนยาวและมีคุณภาพชีวิตดีขึ้น⁽¹⁻⁴⁾

คำแนะนำสำหรับยาต้านไวรัสในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV คือการให้สูตรยา 3 ตัว (Triple combination)

ประกอบด้วย 2NRTI (Nucleoside reverse transcriptase inhibitors) และ 1NNRTI (Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors) หรือ PI (Protease inhibitors) สูตรยาต้านไวรัสที่ประกอบด้วย NNRTI เป็นสูตรพื้นฐาน (NNRTI-based regimen) มักเป็นสูตรแรกที่เลือกใช้ในผู้ป่วยเอชไอวีทั้งเด็กและผู้ใหญ่ เนื่องจากเป็นสูตรยาที่มีประสิทธิภาพดี ผู้ป่วยทนต่อยาได้ดี มีผลข้างเคียงหรือพิษของยาในระยะยาวค่อนข้างน้อย และราคาไม่แพง^(3,5-8)

จากรายงานในประเทศไทยพบว่าผู้ป่วยเอชไอวี/เอดส์ในปี พ.ศ. 2554 มีจำนวน 225,272 รายที่ได้รับยาต้านไวรัส เป็นผู้ใหญ่อ้อยละ 97 ผู้ป่วยเด็กอ้อยละ 3 อัตราการติดเชื้อเอชไอวีจากแม่สู่ลูกอ้อยละ 3.20 อัตราตายในเด็กอ้อยละ 4.20 และอัตราของผู้ป่วยเด็กที่ได้รับยาต้านไวรัสมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ เนื่องจากความสำเร็จของโครงการ Prevention of mother-to-Child Transmission (PMTCT)⁽⁹⁾

National access to ART program (โครงการหลักประกันสุขภาพ) สำหรับผู้ป่วยเอชไอวี/เอดส์ ได้เริ่มให้บริการยาต้านไวรัสฟรีแก่ผู้ป่วยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545 โดยองค์การเภสัชกรรม ได้ผลิตสูตรยาต้านไวรัสรวม 3 ขนาน ชื่อ GPOvir (Fixed-dose combination) ประกอบด้วย Stavudine (d4T), Lamivudine (3TC) และ Nevirapine (NVP) ซึ่งใช้เป็นสูตรยาหลักของ NVP-based regimen และสำหรับผู้ป่วยเด็กที่อายุน้อยกว่า 3 ปี จะใช้สูตร NVP-based โดยไม่ใช้ Fixed-dose combination ส่วนในผู้ป่วยเด็กที่อายุมากกว่า 3 ปี มักจะใช้สูตรยาที่มี Efavirenz (EFV)-based โดยพบว่าสูตรยาพื้นฐานที่มี NNRTI-based เป็นสูตรยาที่ได้ผลค่อนข้างดีและปลอดภัย^(3-5,10)

การกดปริมาณไวรัสได้ไม่ดี (Incomplete viral suppression) สามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของ reverse transcriptase gene ของเชื้อ HIV และเกิดการดื้อต่อยากลุ่ม NNRTIs หรือ NRTIs ได้ ซึ่งเป็นสาเหตุของอาการทางคลินิกที่แยลงและภูมิคุ้มกันที่ลดลง (Clinical failure และ Immunological failure)⁽¹¹⁾ ในผู้ป่วยเด็กซึ่งมักมีปัญหาต่อการกดปริมาณไวรัสเนื่องจากปริมาณไวรัสในเลือดที่ค่อนข้างสูงและปัญหาในการรับประทานยาที่ไม่ต่อเนื่อง ไม่สม่ำเสมอ (Poor adherence) ทำให้เกิดปัญหาการดื้อยาได้ง่ายกว่าในผู้ใหญ่

เมื่อเกิดภาวะล้มเหลวทางไวรัส มีคำแนะนำให้ตรวจ genotypic resistance ในประเทศที่สามารถทำได้ และมีงบประมาณสนับสนุนเพื่อเป็นแนวทางในการเปลี่ยนสูตรยาเป็น second-line regimen⁽⁷⁾ ส่วนใหญ่พบรายงานการตรวจ genotypic resistance patterns

ในผู้ป่วยผู้ใหญ่⁽¹²⁻¹⁷⁾ ในผู้ป่วยเด็กไทยยังมีข้อมูลจากการศึกษาค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับการศึกษาในต่างประเทศ ซึ่ง mutation ที่พบบ่อยคือกลุ่ม NNRTI และ Lamivudine (3TC)⁽¹⁸⁻³⁰⁾

โรงพยาบาลกาฬสินธุ์ได้เปิดบริการรักษาผู้ป่วยเด็กติดเชื้อเอชไอวี/เอดส์ ด้วยยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545 และเริ่มมีผู้ป่วยเด็กที่ได้รับยาสูตร second-line regimen เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากเริ่มมีภาวะล้มเหลวทางไวรัสเกิดขึ้นและได้เปลี่ยนสูตรยาตาม genotypic resistance mutation ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษารวบรวมข้อมูลของผู้ป่วยดังกล่าวเพื่อนำไปปรับปรุงคุณภาพการดูแลรักษาผู้ป่วยต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอัตราการเกิดภาวะล้มเหลวทางไวรัสในผู้ป่วยเด็กติดเชื้อเอชไอวี/เอดส์ ที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐาน (NNRTI-based ART) ที่คลินิกโรคติดเชื้อในเด็ก แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลกาฬสินธุ์
2. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อภาวะล้มเหลวทางไวรัสในผู้ป่วยเด็กติดเชื้อเอชไอวี/เอดส์ ที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐาน (NNRTI-based ART)
3. เพื่อศึกษารายละเอียดของการกลายพันธุ์ของเชื้อเอชไอวีที่ดื้อยา (Drug resistance mutation) โดยใช้การตรวจ genotyping

วัสดุและวิธีการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเชิงวิเคราะหย้อนหลัง (Retrospective Study) ดำเนินการเก็บข้อมูลที่คลินิกโรคติดเชื้อในเด็ก แผนกผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลกาฬสินธุ์ ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2545 ถึง 30 กันยายน 2555 โดยได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ของโรงพยาบาลกาฬสินธุ์

กลุ่มประชากรศึกษา คือ ผู้ป่วยเด็กติดเชื้อเอชไอวี/เอดส์ อายุตั้งแต่ 1-15 ปี ที่เข้ารับการรักษที่โรงพยาบาลกาฬสินธุ์ และได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐาน (NNRTI-based ART) โดยผู้ป่วยจะต้องไม่เคยได้รับยาต้านไวรัสใดๆ มาก่อน ยกเว้น

ได้รับยาต้านไวรัสเพื่อป้องกันการติดเชื้อจากแม่สู่ลูก ผู้วิจัยดำเนินการค้นหาข้อมูลของผู้ป่วยจากเวชระเบียน เก็บข้อมูลพื้นฐานตาม CDC classification สูตรยาที่ได้รับ ผลการตรวจ CD4 cell counts และร้อยละของ CD4 (โดยใช้วิธี Flow cytometry) viral load (ส่งตรวจที่สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 6 จังหวัดขอนแก่น โดยใช้วิธี Real time RT-PCR, Roche Diagnostic) genotypic drug resistance (ส่งตรวจที่สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 6 จังหวัดขอนแก่น โดยใช้วิธี DNA sequencing และใช้น้ำยา TRUGENE HIV-1 Genotyping Kit, SIEMENS) และ adherence ซึ่งเภสัชกรเป็นผู้ประเมิน adherence โดยการนับจำนวนยาที่เหลือ การสัมภาษณ์ผู้ป่วยและผู้ปกครอง โดยทำทุกครั้งที่มีผู้ป่วยมาติดตามการรักษา

การวิเคราะห์ข้อมูล

ลักษณะของประชากรวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา โดยตัวแปรต่อเนื่อง นำเสนอด้วยค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน มัธยฐาน ค่าสูงสุด ค่าต่ำสุด และค่า Interquartile range (IQR) ตัวแปรกลุ่มนำเสนอด้วยค่าความถี่และร้อยละ นำเสนอระยะเวลาของการเกิดการรักษาล้มเหลว โดยใช้ Kaplan-Meier method หาค่าความสัมพันธ์ของตัวแปรต่างๆ กับภาวะล้มเหลวทางไวรัสด้วย Cox's regression และค่าความเชื่อมั่นที่ 95% ตลอดจนค่า P-value โดยใช้โปรแกรม STATA/IC 10.0

ส่วนการจำแนกรายละเอียดของ Drug resistance mutation นำเสนอด้วยค่าความถี่และร้อยละ

นิยามที่ใช้ในการศึกษา

- Virological failure: VF (ภาวะล้มเหลวทางไวรัส) คือ ภาวะที่ตรวจพบจำนวน HIV-RNA ในพลาสมา (viral load) มากกว่า 1,000 copies/ml หลังจากได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐานอย่างน้อย 1 ปี ขึ้นไป

- Adherence ดี คือ การรับประทานยาต้านไวรัสที่ถูกต้อง ครบถ้วน และต่อเนื่องอย่างสม่ำเสมอ โดยต้องมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 95

- CDC classification คือการจำแนกภาวะโรคติดเชื้อเอชไอวีในเด็กตามระบบของศูนย์ควบคุมโรค (Center for Disease Control: CDC) ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยจัดระยะโรคตามอาการแสดงของผู้ป่วยดังนี้

1. กลุ่ม N คือผู้ป่วยที่ไม่มีอาการผิดปกติใดๆ
2. กลุ่ม A คือผู้ป่วยที่มีอาการเล็กน้อย
3. กลุ่ม B คือผู้ป่วยที่มีอาการปานกลาง
4. กลุ่ม C คือผู้ป่วยที่มีอาการเพิ่มขึ้น

- การกลายพันธุ์ของเชื้อเอชไอวีที่ดื้อยา (Drug resistance mutation) คือการที่รหัสพันธุกรรมบนยีนของเชื้อเอชไอวีเกิดการเปลี่ยนแปลง ส่งผลให้มีการสร้างเอนไซม์ที่สำคัญของไวรัส เช่น Reverse transcriptase, Protease และ Integrase ที่มีกรดอะมิโนต่างไปจากไวรัสเดิมที่ไวต่อยาต้านไวรัส

ผลการศึกษา

ข้อมูลพื้นฐานและปัจจัยที่มีผลต่อภาวะล้มเหลวทางไวรัสในผู้ป่วยเด็กติดเชื้อเอชไอวี/เอดส์

จากการเก็บบันทึกข้อมูลผู้ป่วยเด็กที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐานที่คลินิกโรคติดเชื้อ โรงพยาบาลภาพสินธุ์ ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2545 ถึง 30 กันยายน 2555 พบว่ามีเด็กอายุ 1-15 ปี ทั้งหมด 86 คน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มผู้ป่วยที่มีภาวะล้มเหลวทางไวรัส (Virological failure: VF) จำนวน 18 คน คิดเป็นร้อยละ 20.93 กลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะล้มเหลวทางไวรัส จำนวน 68 คน คิดเป็นร้อยละ 79.07 ในกลุ่ม VF มีเพศชายจำนวน 7 คน จากทั้งหมด 18 คน คิดเป็นร้อยละ 38.89 และมีผู้ป่วยที่เคยได้รับยาต้านไวรัสเพื่อป้องกันการติดเชื้อจากแม่สู่ลูกจำนวน 1 คน

จากตารางที่ 1 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยเด็กที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐาน และตารางที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรกับการเกิดภาวะล้มเหลวทางไวรัส พบว่า adherence ในปีแรกหลังได้รับยาต้านไวรัสเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิด VF โดยพบว่าผู้ป่วยที่ adherence ไม่ดี (<95%) มีจำนวน 7 คน จากที่คำนวณ adherence ได้ทั้งหมด 79 คน คิดเป็นร้อยละ

8.86 เมื่อคำนวณ odd ratio พบว่า adherence ที่ไม่ส่งผลให้เกิดภาวะ VF 21.50 เท่า เมื่อเทียบกับกลุ่ม adherence ดี (OR 21.50, 95%CI : 6.33-72.98) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ในส่วนของอายุที่เริ่มยาต้านไวรัส CDC classification น้ำหนักเทียบกับอายุ (Weight for age) จำนวนและร้อยละของ CD4 ก่อนเริ่มยาต้านไวรัส สูตรยาต้านไวรัส (ระหว่าง NVP-based และ FFV-based) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่ามีผู้ป่วยที่เคยเป็นวัณโรคปอดและได้รับการรักษาจนหายดีก่อนที่จะได้รับยาต้านไวรัส 8 คน จาก 68 คน คิดเป็นร้อยละ 11.76 ซึ่งผู้ป่วยทั้งหมดอยู่ในกลุ่มที่ไม่มีภาวะล้มเหลวทางไวรัส ส่วนในกลุ่ม VF ทั้งหมด 18 คน ไม่เคยเป็นวัณโรคปอดมาก่อน จึงไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติได้ เนื่องจากข้อมูลมีจำนวนจำกัด

ตารางที่ 1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยเด็กที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐาน (NNRTI- based HAART)

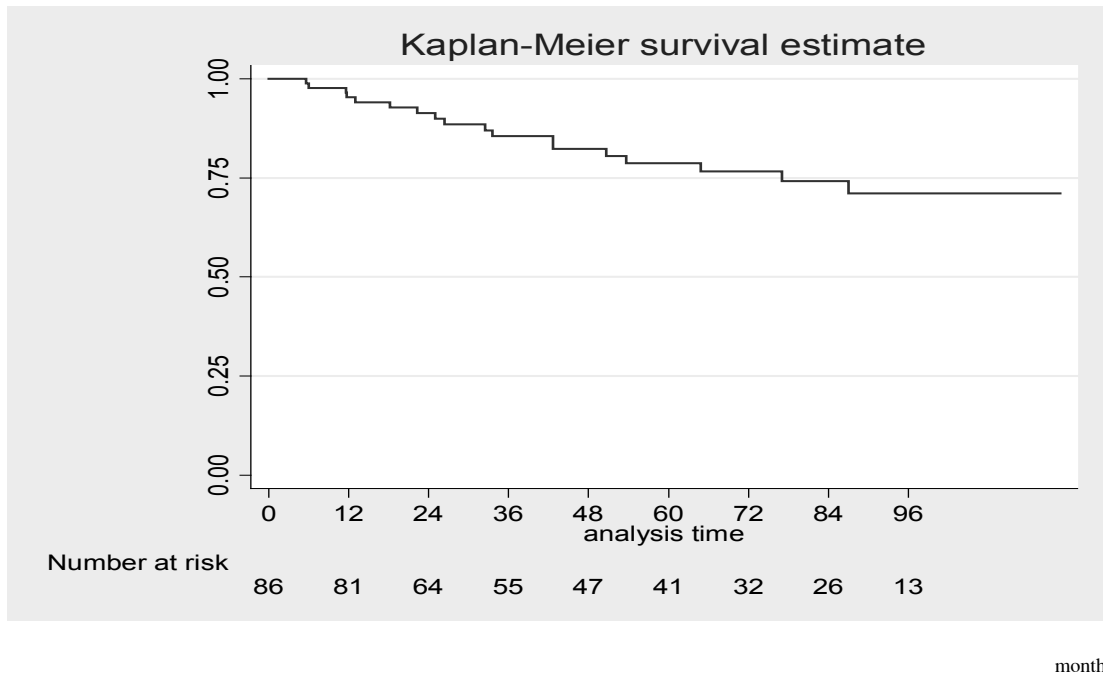
ลักษณะ	ผู้ป่วยที่มีภาวะล้มเหลวทางไวรัส (VF)		ผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะล้มเหลวทางไวรัส		ผู้ป่วยทั้งหมด
	จำนวน (18)	ร้อยละ	จำนวน (68)	ร้อยละ	จำนวน (ร้อยละ)
เพศ					
ชาย	7	38.82	32	47.05	39 (45.34)
หญิง	11	61.12	36	52.95	47 (54.66)
อายุที่เริ่ม ART (ปี)					
1-5	5	27.78	18	26.47	23 (26.74)
6-10	11	61.11	39	37.35	50 (58.14)
11-15	2	11.11	11	16.18	13 (15.12)
Mean, SD	7.91, 2.94		7.30, 3.41		7.81, 3.04
Median, min, max	7.73, 1.62, 13.20		7.95, 0.84, 13.21		7.91, 0.84, 13.32
IQR	5.63, 10.41		4.23, 9.45		5.35, 10.06
CDC Classification					
N	0	0.00	2	2.94	2 (2.33)
A	8	44.44	32	47.05	40 (46.51)
B	10	55.56	33	48.53	43 (50.00)
C	0	0.00	1	1.47	1 (1.16)
น้ำหนักเทียบกับอายุ (weight for age)					
<-2.5 SD	10	55.56	31	45.59	41 (47.68)
-2.5 SD ถึง -1.5 SD	0	0.00	12	17.65	12 (13.95)
-1.5 SD ถึง 2.5 SD	7	38.89	25	36.76	32 (37.21)
>2.5 SD	1	5.55	0	0.00	1 (1.16)

ตารางที่ 1 ข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยเด็กที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐาน (NNRTI- based HAART) (ต่อ)

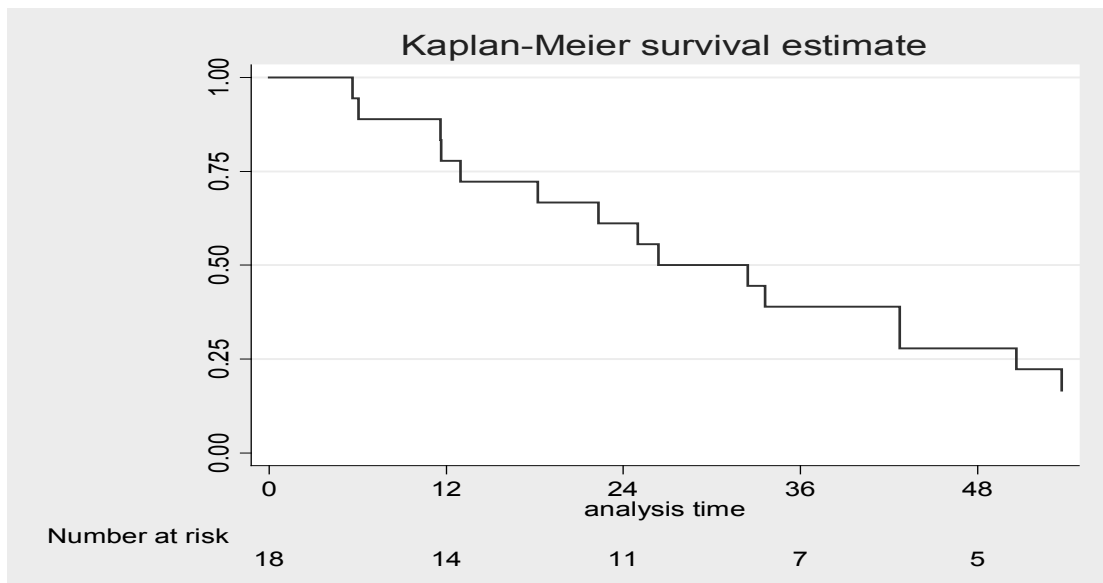
วันโรคปอด					
ไม่เคยเป็น	18	100.00	60	88.24	78 (90.70)
รักษาวินโรคปอดพร้อมกับ					
ยาด้านไวรัส	0	0.00	0	0.00	0 (0.00)
เคยรักษาวินโรคปอดก่อนรับ					
ยาด้านไวรัส	0	0.00	8	11.76	8 (9.30)
CD ₄ % ก่อนเริ่ม ART					
<5	6	33.33	26	38.23	32 (37.21)
5-14	9	50.00	30	44.12	39 (45.35)
15-24	3	16.67	11	16.18	14 (16.28)
≥25	0	0.00	1	1.47	1 (1.16)
Mean, SD	9.03, 6.41		8.81, 6.74		8.84, 6.63
Median, min, max	10.03, 1.00, 20.35		8.36, 0.27, 28.38		8.91, 0.24, 28.31
IQR	1.71, 13.03		2.12, 14.11		2.04, 14.03
CD4 cell count ก่อนเริ่ม					
ART					
Mean, SD	285.51, 290.33		254.43, 251.85		253.44, 258.71
Median, min, max	256.01, 8.01, 1210.03		193.08, 2.03, 900.04		196.01, 2.01, 1210.01
IQR	60.07, 429.02		34.03, 379.01		39.04, 381.06
สูตรยาด้านไวรัส					
(ART regimen)					
NVP-based	12	66.67	50	73.53	62 (72.09)
EFV- based	6	33.33	18	26.47	24 (27.91)
ระยะเวลาของการได้รับยา					
ด้านไวรัส (เดือน)					
Mean, SD	34.71, 24.22		62.62, 33.61		56.81, 33.70
Median, min, max	29.43, 5.71, 87.04		67.33, 7.71, 118.76		54.41, 5.73, 118.71
IQR	13.04, 50.65		28.23, 90.53		23.42, 88.24
Adherence ในปีแรกหลังได้					
รับยาด้านไวรัส					
≥95%	6	54.55	66	97.06	72 (91.13)
<95%	5	45.45	2	2.94	7 (8.86)

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วยเด็กกับการเกิดภาวะล้มเหลวต่อยาต้านไวรัส
สูตรพื้นฐาน (NNRTI- based HAART)

Variable	n	Fail 1 st line	Person-Time (months)	IR/100 Person- Months (95%CI)	HR (95%CI)	p-value
Gender						0.41
male	39	7	2378.43	0.21 (0.12, 0.64)	1	
female	47	11	2502.77	0.42 (0.21, 0.85)	1.49 (0.58, 3.86)	
Age at start ART(years)						0.95
≤5	23	5	1515.75	0.32 (0.11, 0.83)	1	
6-10	50	2	2923.72	0.43 (0.25, 0.73)	1.1 2 (0.39, 3.25)	
≥11	13	2	441.73	0.51 (0.14, 1.83)	1.29 (0.25, 6.79)	
CDC classification						0.29
N	2	0	208.60	NA	NA	
A	40	8	2453.54	0.31 (0.22, 0.73)	NA	
B	43	10	2202.92	0.51 (0.21, 0.83)	NA	
C	1	0	16.14	NA	NA	
Weight for age						0.60
<-2.5 SD	41	10	2429.91	0.42 (0.21, 0.82)	1	
-2.5 SD to -1.5 SD	12	0	643.43	NA	NA	
-1.5 SD to 2.5 SD	32	7	1802.14	0.40 (0.21, 0.81)	0.91(0.32,2.41)	
>2.5 SD	1	1	5.72	17.61 (2.53, 130.01)	NA	
Pulmonary TB status					*	
ไม่เคยเป็น	78	8	4681.30	0.31 (0.22, 0.63)	(ไม่สามารถวิเคราะห์ข้อมูลได้	
เคยรักษาวัณโรคปอด					เนื่องจากจำนวนผู้ป่วยมีจำกัด)	
ก่อนได้รับยาต้านไวรัส	8	0	199.90	NA		
CD₄ % before start ART						0.98
<5	32	6	1903.68	0.31 (0.13, 0.74)	NA	
5-14	39	9	1970.01	0.51 (0.20, 0.92)	NA	
15-24	14	3	919.31	0.34 (0.11, 1.03)	NA	
≥25	1	0	88.20	NA	NA	
ART regimen						0.91
NVP	62	12	3123.15	0.42 (0.21, 0.72)	1	
EFV	24	6	1758.05	0.33 (0.21, 0.81)	0.95 (0.35, 2.54)	
Adherence in first year						<0.01
≥95%	72	6	4402.31	0.12 (0.06, 0.32)	1 21.50 (6.33, 72.98)	
<95%	7	5	172.72	2.91 (1.01, 6.92)		



ภาพที่ 1 ระยะเวลาของการเกิดการรักษาล้มเหลว
โดย Kaplan-Meier survival estimate



ภาพที่ 2 ระยะเวลาติดตามผู้ป่วยที่เกิดภาวะล้มเหลวต่อยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐาน
โดย Kaplan-Meier survival estimate

ผู้ป่วยเด็กที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐานทั้งหมด 86 คน ในระยะเวลาติดตาม 4881.20 คน-เดือน พบว่าผู้ป่วยที่มีภาวะล้มเหลวทางไวรัส จำนวน 18 คน คิดเป็นอัตราความล้มเหลวในการรักษา 0.30 ต่อ 100 คน-เดือน (95%CI:0.20-0.50) โดยอัตราของผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะล้มเหลวทางไวรัสที่ 1 ปี เท่ากับ 95.31% (95%CI:88.02-98.21) ที่ 3 ปี เท่ากับ 85.52% (95%CI:75.21-91.73) ที่ 5 ปี เท่ากับ 78.73% (95%CI:66.83-86.74) และที่ 8 ปี เท่ากับ 71.14% (95%CI:57.03-81.35) ซึ่งแสดงว่า อัตราการเกิดภาวะล้มเหลวทางไวรัสเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการได้รับยาต้านไวรัส จากในปีที่ 1 เท่ากับ 4.69% เป็น 14.48, 21.27 และ 28.86 % ในปีที่ 3, 5 และ 8 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 1

กลุ่มผู้ป่วยเด็กที่มีภาวะล้มเหลวต่อยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐานจำนวน 18 คน ในระยะเวลาติดตาม 624.41 คน-เดือน พบว่า ระยะเวลาที่ถึงกลางที่เกิดภาวะล้มเหลวทางไวรัส เท่ากับ 26.42 เดือน (95%CI:13.01-42.72) โดยอัตราของผู้ป่วยที่ยังไม่เกิดภาวะล้มเหลวทางไวรัสที่ 1 ปี เท่ากับ 77.81% (95%CI:51.11-91.02) ที่ 2 ปี เท่ากับ 61.12% (95%CI:35.32-79.24) ที่ 3 ปี เท่ากับ 38.93% (95%CI:17.53-60.01) และที่ 4 ปี เท่ากับ 27.82% (95%CI:10.12-48.93) ซึ่งแสดงว่าอัตราการเกิดภาวะล้มเหลวทางไวรัสในผู้ป่วยกลุ่มนี้เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการได้รับยาต้านไวรัส จากในปีที่ 1 เท่ากับ 22.19 % เป็น 38.88, 61.07 และ 72.18% ในปีที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 2

ข้อมูลการกลายพันธุ์ของเชื้อเอชไอวีที่ดื้อยา

ผู้ป่วยเด็กจำนวน 18 คน ที่มีภาวะล้มเหลวทางไวรัส ได้รับการตรวจเลือดเพื่อทดสอบ genotypic drug resistance ที่สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 6 จังหวัดขอนแก่น โดยทำการตรวจพันธุกรรมที่ทราบว่าจะเกิดภาวะล้มเหลวทางไวรัส และได้รับการรายงานผลกลับภายใน 6-8 สัปดาห์ พบว่ามีผู้ป่วยที่ดื้อต่อยากลุ่ม NRTI จำนวน 16 คน (88.89%) และผู้ป่วยทั้งหมด 18 คน ดื้อต่อยากลุ่ม NNRTI (100%)

ในกลุ่ม NRTI พบว่ามี mutations ที่สำคัญ ได้แก่ M184V จำนวน 17 คน (94.44%) thymidine analogue mutations (TAMs) จำนวน 13 คน (72.22%) โดย TAMs ที่สำคัญ ได้แก่ D67N 9 คน (50.00%), L210W 3 คน (16.67%), T215Y/F 4 คน (22.22%), K70R 5 คน (27.78%) M41L 3 คน (16.67%) และ K219 Q/E 4 คน (22.22%) และพบว่าผู้ป่วยจำนวน 1 คน (5.55%) ที่มี TAMs มากกว่า หรือเท่ากับ 4 ตำแหน่งขึ้นไป ซึ่งแสดงถึงการดื้อต่อยา NRTI หลายขนาน ยกเว้น 3TC และไม่มีผู้ป่วยรายใดที่มี Q151M และ K65R mutations ซึ่งแสดงว่าผู้ป่วยในการศึกษานี้ส่วนใหญ่ยังไม่มีการดื้อต่อยา NRTI หลายขนาน (Multi-NRTI resistance) และยังไม่ดื้อต่อยา TDF (Tenofovir)

ส่วนในกลุ่ม NNRTI พบว่า mutations ที่สำคัญ ได้แก่ Y181C/I จำนวน 5 คน (27.78%), K103N จำนวน 3 คน (16.67%), G190S/A จำนวน 9 คน (50.00%), Y188CLH จำนวน 2 คน (11.11%) และ P225H จำนวน 2 คน (11.11%) ซึ่งแสดงว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่ดื้อต่อยากลุ่ม NNRTI ทั้ง NVP และ EFV ไม่มีผู้ป่วยรายใดที่มี V108I, V106M/A และ L100I mutations

บทวิจารณ์

การศึกษานี้พบว่าผู้ป่วยเด็กที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐาน มีอัตราการเกิดภาวะล้มเหลวทางไวรัสเท่ากับร้อยละ 20.93 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาอื่น ๆ^(1,19) และพบว่าอัตราการเกิดภาวะล้มเหลวทางไวรัสเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการได้รับยาต้านไวรัส โดยพบอัตราการเกิดภาวะล้มเหลวทางไวรัสภายในปีแรกเท่ากับร้อยละ 4.69 ซึ่งค่อนข้างน้อย เมื่อเทียบกับการศึกษาของ Jittamala P.⁽¹⁹⁾ ซึ่งได้ทำการศึกษาในผู้ป่วยเด็กอายุต่ำกว่า 18 ปี ที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐานจำนวน 202 คน และติดตามเป็นเวลา 4 ปี พบว่ามีผู้ป่วยที่เกิดภาวะล้มเหลวทางไวรัสภายในปีแรกสูงถึงร้อยละ 16 อาจเนื่องจากจำนวนผู้ป่วยในการศึกษานี้มีค่อนข้างจำกัด

ปัจจัยที่พบว่ามีผลต่อการเกิดภาวะล้มเหลวทางไวรัส (VF) ที่สำคัญที่สุดคือ adherence โดยพบว่าผู้ป่วยเด็กที่ adherence ไม่ดี (< 95%) มีอัตราการเกิด VF สูงกว่ากลุ่มที่มี adherence ดี ($\geq 95\%$) ถึง 21.50 เท่า (95%CI:6.33-72.98) ส่วนปัจจัยอื่น ๆ ไม่มีผลต่อการเกิด VF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Emmett SD.⁽³¹⁾ พบว่า การเกิด VF สัมพันธ์กับผู้ป่วยที่อายุน้อย ได้รับสูตรยาที่มี NVP-based CD4 น้อยกว่า 25% และ maladherence ซึ่งพบอัตราการเกิด VF สูงถึง 5 เท่า เมื่อเทียบกับผู้ป่วยที่ adherence ดี (95%CI:1.40-17.30) และจากการศึกษาของ Moolasart V.⁽³²⁾ พบว่า ผู้ป่วยวัยรุ่นในกลุ่มที่ adherence ไม่ดี มีอัตราการเกิด VF สูงกว่ากลุ่มที่ adherence ดี ถึง 17.32 เท่า (95% CI : 2.77-108.46)

ในส่วนของสูตรยาด้านไวรัส พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่ได้รับสูตรยาที่มี NVP-based สูงถึงร้อยละ 72.09 เมื่อเทียบกับสูตรยา ที่มี EFV-based ร้อยละ 27.91 ซึ่งไม่มีความแตกต่างของการเกิด VF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากผู้ป่วยส่วนใหญ่ในการศึกษานี้ เริ่มยาด้านไวรัสเมื่ออายุน้อยกว่า 10 ปี บางรายยังกินยาเม็ดไม่ค่อยได้และมีน้ำหนักน้อย จึงมักใช้ NVP syrup เป็นส่วนใหญ่ เพื่อให้เกิดความร่วมมือในการกินยา ส่วนในกลุ่มเด็กโต หรือเด็กที่มีน้ำหนักมากกว่า 20 กิโลกรัม มักจะใช้ fixed-dosed combination tablet (GPO vir-s, GPO vir-z) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Jittamala P.⁽¹⁹⁾ พบการเกิด VF ในผู้ป่วยที่ได้รับสูตรยาที่มี NVP-based สูงกว่าสูตรยาที่มี EFV-based ถึง 3.72 เท่า (95%CI :1.47-9.40) และจากการศึกษาของ Kamya MR.⁽³³⁾ พบว่าในผู้ป่วยผู้ใหญ่กลุ่มที่ได้รับสูตรยา NVP-based มีอัตราการเกิด VF สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับสูตรยา EFV-based ถึง 2.50 เท่า (95% CI : 1.20-5.55)

รูปแบบของการกลายพันธุ์ของเชื้อเอชไอวีที่ดื้อยา (Genotypic drug resistant mutation) คล้ายคลึงกับการศึกษาในผู้ใหญ่และการศึกษาอื่นๆ ที่ได้รับยาสูตร NNRTI-based^(1,18) โดยพบอัตราการเกิด mutation ซึ่งทำให้เกิดการดื้อยา ในกลุ่ม NRTIs และ NNRTIs เท่ากับร้อยละ 88.89 และร้อยละ 100

ตามลำดับ โดย mutation ที่พบบ่อยที่สุดคือ 184V ซึ่งแสดงถึงการดื้อต่อยา 3TC ซึ่งมักเป็นยาตัวแรกที่เกิดการดื้อยา เนื่องจากสูตรยาด้านไวรัสส่วนใหญ่มี 3TC เป็นส่วนประกอบ และการเกิด multi resistance ต่อ NRTIs (K65R,Q151M หรือ TAMs ≥ 4) มีอัตราค่อนข้างน้อย เนื่องจากการมี M184V mutation ทำให้เกิด viral fitness ลดลง เป็นผลทำให้เกิด TAMs ช้าลง และผู้ป่วยได้รับการเปลี่ยนสูตรยาเป็น second-line drug เร็วขึ้น

ในกลุ่ม NNRTI พบว่า mutation ที่พบบ่อยคือ Y181 C/I ซึ่งทำให้เกิดการดื้อต่อยา NVP เนื่องจากผู้ป่วยส่วนใหญ่ในการศึกษานี้ได้รับสูตรยาที่มี NVP-based ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Bannister WP.⁽¹³⁾ ที่พบ Y181C mutation สูงกว่า ในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับสูตรยาที่มี NVP-based และพบอัตราการเกิด VF สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับสูตรยาที่มี EFV-based

การศึกษาดังนี้ไม่มีข้อจำกัดเนื่องจากการเก็บข้อมูลย้อนหลัง จึงทำให้ได้ข้อมูลไม่สมบูรณ์ และผู้ป่วยมีจำนวนค่อนข้างน้อย ผู้ป่วยบางรายไม่ได้มารับการเจาะเลือดตามนัด และบางรายเจาะเลือดได้น้อย ทำให้การรายงานผลการตรวจ viral load และ genotypic drug resistant mutation ค่อนข้างล่าช้า บางรายไม่สามารถตามผลเลือดได้ เนื่องจากผู้ป่วยได้รับการส่งตัวมารักษาต่อจากโรงพยาบาลต่างจังหวัด ทำให้การวินิจฉัยภาวะ VF และเปลี่ยนสูตรยาเป็น second-line drug ได้ช้ากว่าแนวทางที่องค์การอนามัยโลกแนะนำ^(7,34-35) เพราะต้องอาศัยภาวะล้มเหลวทางภูมิคุ้มกัน (Immunologic failure) และ ภาวะล้มเหลวทางคลินิก (Clinical failure) ร่วมด้วย จึงอาจทำให้เกิดการดื้อยาสะสมมากขึ้น

สรุป

อัตราการเกิด VF ในผู้ป่วยเด็กที่ได้รับยาด้านไวรัสสูตรพื้นฐาน (NNRTI-based) อยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างสูง และอัตราการเกิด VF เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการได้รับยาด้านไวรัส ปัจจัยที่มีผลต่อภาวะล้มเหลวทางไวรัส คือ adherence ที่ไม่ดี ผู้ป่วยส่วนใหญ่ดื้อต่อยากลุ่ม

3TC และ NNRTI แพทย์และทีมผู้รักษาผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี/เอดส์ที่ได้รับยาต้านไวรัสสูตรพื้นฐานจำเป็นต้องดูแลการกินยาต้านไวรัสอย่างใกล้ชิด และการตรวจ plasma HIV-RNA ในปีแรกหลังได้รับยาต้านไวรัสมีประโยชน์เป็นอย่างมากในการวินิจฉัยภาวะ VF เพื่อให้การเปลี่ยนสูตรยาเป็น second-line drug ได้เร็วขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณดวงใจ ดอนเงิน เกษักรหญิง นวลละออง กุญชนะรงค์ เจ้าหน้าที่ปฏิบัติงานคลินิกโรคติดเชื้อ กลุ่มงานผู้ป่วยนอก โรงพยาบาลกาฬสินธุ์ ที่ช่วยรวบรวมข้อมูลผู้ป่วย ขอขอบคุณ คุณเพียงจิตต์ ธารไพโรธานนท์ ที่ให้คำแนะนำทางสถิติ และขอขอบคุณศาสตราจารย์แพทย์หญิงผกากรอง ลุมพิกานนท์ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้คำปรึกษาในการเขียนบทความนี้

เอกสารอ้างอิง

- Janssens B, Raleigh B, Soeung S, Akao K, Te V, Gupta J, et al. Effectiveness of highly active antiretroviral therapy in HIV - positive children : evaluation at 12 months in a routine program in Cambodia. *Pediatrics* 2007; 120: e 1134-40.
- Chearskul P, Chokephaibulkit K, Chearskul S, Phongsamart W, Plipat N, Lapphra K, et al. Effect of antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus-infected Children. *J Med Assoc Thai* 2005; 88: S 221-31.
- Puthanakit T, Oberdorfer A, Akarathum N, Kanjanavanit S, Wannarit P, Sirisanthana S, et al. Efficacy of highly antiretroviral therapy in HIV-infected Children participating in Thailand. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 100-7.
- Puthanakit T, Aupibul L, Sirisanthana T, Sirisanthana V. Efficacy of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor-based highly active antiretroviral therapy in Thai HIV-infected children aged two years or less. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 246-8.
- Lapphra K, Vanprapar N, Chearskul S, Phongsamart W, Chearskul P, Prasitsuebsai W, et al. Efficacy and tolerability of nevirapine versus efavirenz containing regimens in HIV-infected Thai children. *Int J Infect Dis* 2008; 12: e 33-8.
- Mothi NS, Karpagam S, Swamy VHT, Mamatha LM, Sarvode MS. Pediatric HIV-trend & challenges. *Indian J Med Res* 2011; 134: 912-9.
- World Health Organization (WHO) . Antiretroviral therapy for HIV infection in Infants and Children : Toward Universal Access. Recommendation for a Public Health Approach. Geneva, Switzerland : World Health Organization; 2006. [Internet]. 2006 [cite 2009 March 1]. Available from: <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/>.
- ประพันธ์ ภาณุภาค, มนูญ ลิเชวงวงศ์, ทวีทรัพย์ ศิรประภาศิริ, วสันต์ จันทราทิตย์, วิชัย เตชะสาธิต, อัจฉรา ธีรรัตน์กุล และคณะ, บรรณาธิการ. แนวทางการตรวจวินิจฉัยและการดูแลรักษา ผู้ติดเชื้อเอชไอวีและผู้ป่วยเอดส์ระดับชาติ ปี พ.ศ. 2553. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์สหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, 2553.
- Thailand AIDS Response Progress Report 2012 Reporting period : 2010-2011.
- Lolekhha R, Chunwimaleung S, Hansude wechakul R, Leawsrisook P, Prasitsuebsai W, Srisamang P, et al. Pediatric HIV care in Thailand. 2005-2007. *Jt Comm J Qual Patient Saf* 2010; 36: 541-51.

11. สมนึก สังฆานุภาพ. การดื้อยาต้านเอชไอวี : หลักการพื้นฐานและการใช้ทางคลินิก. กรุงเทพฯ: หมอชาวบ้าน, ตุลาคม 2551.
12. Gupta RK, Hill A, Sawyer AW, Cozzi-Lepri A, von Wyl V, Yerly S, et al. Virologic monitoring and resistance to first-line highly active antiretroviral therapy in adult infected with HIV -1 treated under WHO guidelines : Systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2009; 9: 409-17.
13. Bannister WP, Ruiz L, Cozzi-lepri A, Mocroft A, Kirk O, Staszewski S, et al. Comparison of genotypic resistant profiles and virologic response between patient starting nevirapine and efavirenz in Euro SIDA. *AIDS* 2008; 22: 367-76.
14. Zhang F, Haberer J, Wei H, Wang N, Chu A, Zhao Y, et al. Drug resistant in the Chinese National Pediatric Highly Active Antiretroviral therapy Cohort: implication for pediatric Treatment in the developing world. *Int J STD AIDS* 2009; 20: 406-9.
15. Viani RM, Pevault L, Aldrovandi G, Kapogiannis BG, Mitchell R, Spector SA, et al. Prevalence of primary HIV-1 drug resistance among recently infected adolescent ; a multicenter adolescent Medicine trial network for HIV/AIDS interventions study. *J Infect dis* 2006; 194: 1505-9.
16. Richman DD, Morton SC, Wrin T, Hellmann N, Berry S, Shapiro MF, et al. The prevalence of antiretroviral drug resistance in the United states. *AIDS* 2004; 18: 1393-401.
17. Orrell C, Walensky PR, Losina E, Pitt J, Freedberg AK, Wood R. HIV clade C resistance genotypes in naive patients and after first virological failure in a large community ART programme. *Antivir Ther* 2009; 14: 523-31.
18. Sungkanuparph S, Apinattanakul N, Thitithan-yanont A, Chantratita W, Sirisanthana S. HIV drug resistant mutation in children who failed non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI)- based antiretroviral therapy. *South-east Asian J Trop Med Public Health* 2009; 40: 83-8.
19. Jittamala P, Puthanakit T, Chaiinseard S, Sirisanthana V. Predictors of Virologic Failure and Genotypic Resistant Mutation Patterns in Thai Children Receiving Non-Nucleoside Reverse transcriptase Inhibitor-Based Antiretroviral Therapy. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28: 826-30.
20. Yan Z, Weiwei M, Joseph H, Haiwei Z, Xin S, Yuewu C, et al. Drug Resistance Profiles among HIV-1 Infected Children Experiencing Delay Switch and 12 Months Efficacy after Using Second-Line antiretroviral Therapy : An Observational Cohort Study in Rural China. *J AIDS* 2011; 58: 47-53.
21. Helguin A, Erazo K, Escobar G, de Mulder M, Yebra G, Martin L, et al. Drug resistant prevalence in Human immunodeficiency virus type-1 infected pediatric population in Honduras and El-Salvador during 1989-2009. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30: e82-7.
22. Eshleman SH, Krogstad P, Jackson JB, Wang YG, Lee S, Wei LG, et al. Analysis of human immunodeficiency virus type-1 drug resistant in children receiving nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitor plus nevirapine, nelfinavir or ritonavir (Pediatric AIDS Clinical Trials Group 377). *J Infect Dis* 2001; 183:1732-8.

23. Fokan J, Salpini R, Santoro MM, Cento V, Perno CF, Colizzi V, et al. Drug resistant among drug naive and first line antiretroviral treatment failing children in Cameroon. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30: 1062-8.
24. Charpentier C, Gody JC, Tisserand P, Matta M, Fournier J, Mbitikon O, et al. Usefulness of a genotyping resistance test using dried blood spot specimen in African HIV-infected children with virological failure according to the 2010-revised WHO Criteria. *Arch Virol* 2011; 156: 1603-6.
25. Charpentier C, Gody JC, Tisserand P, Matta M, Pere H, Fournier J, et al. Surveillance of antiretroviral drug resistance mutation in untreated young children living in the Central African Republic. *Antivir Ther* 2011; 16: 1347-50.
26. Charpentier C, Gody JC, Mbitikon O, Moussa S, Matta M, Pere H, et al. Virological response and resistance profiles after 18 to 30 months first or second/third-line antiretroviral treatment : a cross-sectional evaluate in HIV type-1 infected children living in Central African Republic. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2012; 28: 87-94.
27. Germanaud D, Derache A, Traore M, Madec Y, Toure S, Dicko F, et al. Level of viral load and antiretroviral resistance after 6 months of NNRTI first-line treatment in HIV-1 infected children in Mali. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 118-24.
28. Puthanakit T, Jourdain G, Hongsiriwan S, Chokephaibulkit K, Sirisanthana V, Kosalaraksa P, et al. HIV-1 Drug Resistance Mutations I Children after Failure First-line Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor-based Antiretroviral Therapy. *HIV Medicine* 2010; 11: 565-72.
29. Rule DT, Kamya RM, Li P, Pasutti W, Charlebois DE, Liegler T, et al. Early virologic failure and the development of antiretroviral drug resistance mutations in HIV-infected Ugandan Children. *J Acquire Immune Defic Syndr* 2011; 56: 44-50.
30. Agwu A, Lindsey CJ, Ferguson K, Zhang H, Spector S, Rudy JB, et al. Analysis of HIV-Drug Resistance Profiles Among Infected Adolescent Experiencing Delayed Antiretroviral Treatment Switch After Initial Nonsuppressive Highly Active Antiretroviral Therapy. *AIDS Patient Care STDS* 2008; 22: 545-52.
31. Emmett SD, Cunningham CK, Mmbaga BT, Kinabo GD, Schimana W, Swai ME, et al. Predicting virologic failure among HIV-1 infected children receiving antiretroviral therapy in Tanzania : a cross-sectional study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010; 54: 368-75.
32. Moolasart V, Boonyarittipat N, Issaard S. Factors associated with virological failure on Lopinavir/Ritonavir therapy in adolescent HIV infected patient in Bamrasnaradura Infectious Disease Institute. *Thai J Pediatr* 2013; 52: 61-9.
33. Kamya RM, Mayanja-kizza H, Kambugu A, Bakeera-Kitaka S, Semitala F, Mwebaze-Songa P, et al. Predictors of Long Term Viral Failure Among Ugandan Children and Adults Treated with Antiretroviral Therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 46: 187-93.
34. Puthanakit T, Aupibul T, Oberdorfer P, Aka-rathum N, Kanjanavanit S, Wannarit P, et al. Sustained immunologic and virologic efficacy after four years of highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus infected children in Thailand. *Pediatr Infect Dis J* 2007; 26: 953-6.

35. Bunuparadah T, Puthanakit T, Kosalaraksa P, Kerr S, Boonrak P, Prasitsuebsai W, et al. Immunologic and virologic failure after first-line NNRTI-based antiretroviral therapy in Thai HIV-infected children. *AIDS Res Ther* 2011; 8: 40.