

# Prevalencia de resistencia a fármacos antirretrovirales en España

B. Larrú Martínez<sup>a</sup>, M<sup>a</sup>I. de José<sup>b</sup>, J.M<sup>a</sup> Bellón<sup>a</sup>, M<sup>a</sup>D. Gurbindo<sup>a</sup>, J.A. León<sup>c</sup>, L. Ciria<sup>d</sup>, J.T. Ramos<sup>e</sup>, M<sup>a</sup>J. Mellado<sup>f</sup>, I. Pocheville<sup>g</sup>, J.L. Jiménez<sup>a</sup> y M<sup>a</sup>A. Muñoz-Fernández<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Hospital Universitario Gregorio Marañón. Madrid. <sup>b</sup>Hospital Infantil La Paz. Madrid. <sup>c</sup>Hospital Virgen del Rocío. Sevilla. <sup>d</sup>Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca. <sup>e</sup>Hospital 12 de Octubre. Madrid. <sup>f</sup>Hospital Carlos III. Madrid. <sup>g</sup>Hospital de Cruces. Bilbao. España.

## Introducción

La aparición de resistencias a los antirretrovirales (ARV) compromete la eficacia del tratamiento antirretroviral (TAR) en los niños infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).

## Métodos

Se realizó un estudio transversal en 86 niños divididos en 4 grupos según su historia de TAR previo: 1. inhibidores de la retrotranscriptasa análogos de nucleósido (NRTI); 2. NRTI e inhibidores de la retrotranscriptasa no análogos de nucleósido (NNRTI); 3. NRTI e inhibidores de la proteasa (IP); 4. NRTI, NNRTI e IP.

## Resultados

En el grupo 1 (11 niños) la mediana de TAR fue de 35 meses (26-108). En 10 pacientes se detectaron mutaciones asociadas a los análogos de timidina (NAM) y en 2 pacientes se halló el complejo de multiresistencia Q151M. Los 3 niños del grupo 2, recibieron 9, 32 y 42 meses respectivamente de TAR con NNRTI. En un paciente de este grupo se aislaron 3 NAM y en otro el complejo Q151M. 2 pacientes tenían la mutación K103N. En el grupo 3 (36 niños) la media de duración de tratamiento con NRTI e IP era de  $48,0 \pm 27,6$  y  $23,0 \pm 14,6$  meses, respectivamente. El 94% de los pacientes de este grupo, tenían NAM y un paciente tenía el complejo Q151M. En el grupo 4 (36 niños) el tiempo previo de TAR era de  $70,0 \pm 36,1$  meses (NNRTI:  $13,0 \pm 12,1$  meses; IP:  $39,0 \pm 14,3$  meses). Todos los pacientes tenían NAM y 3 pacientes tenían el complejo Q151M. Las mutaciones K103N y Y181C se hallaron en 24 (67%) y 10 (28%) de los pacientes, respectivamente. Un total de 32 pacientes (90%) tenían alguna mutación primaria a IP.

## Conclusiones

La aparición de resistencias a los ARV es frecuente en niños, siendo de rápida aparición con los NNRTI.

## Palabras clave:

*Tratamiento antirretroviral. Resistencias. Niños. VIH. Sida.*

## PREVALENCE OF RESISTANCE TO ANTIRETROVIRAL DRUGS IN SPAIN

### Introduction

The development of resistance to antiretroviral therapy (ART) reduces the effectiveness of these drugs in HIV-infected children.

### Methods

We performed a cross-sectional study in 86 vertically HIV-infected children, divided into four groups according to prior treatment: group 1: nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI), group 2: NRTI and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI), group 3: NRTI and protease inhibitor (PI), group 4: NRTI, NNRTI and PI.

### Results

In group 1 (11 children), the median treatment duration was 35 months (26 to 108). Nucleoside-associated mutations (NAMs) were found in 10 of these patients and the Q151M multiresistance mutation was found in two. The three children in group 2 were treated for 9, 32 and 42 months with NRTI and NNRTI. One child showed three NAMs and another showed Q151M. Two children had the K103N mutation. Group 3 (36 children) received treatment with NRTI and PI for  $48.0 \pm 27.6$  and  $23.0 \pm 14.6$  months, respectively. NAMs were observed in 94% of the patients in this group, and one child showed the Q151M mutation. In group 4 (36 children) total treatment duration was  $70.0 \pm 36.1$  months ( $13.0 \pm 12.1$  months with NNRTI, and  $39.0 \pm 14.3$  months with PI). NAMs were observed in all patients in this group, and Q151M was found in three chil-

**Correspondencia:** Dra. B. Larrú Martínez.  
Laboratorio de Inmuno-Biología Molecular.  
Hospital General Universitario Gregorio Marañón.  
Dr. Esquerdo, 46. 28007 Madrid. España.  
Correo electrónico: bealarru@yahoo.es

Recibido en mayo de 2007.

Aceptado para su publicación en mayo de 2007.

**dren. K103N and Y181C were detected in 24 (67%) and 10 (28%) of the children respectively, while 32 (90%) showed primary mutations to PI.**

## Conclusions

**A high prevalence of resistance mutations to NRTI and early appearance of resistance to NNRTI were observed in treated children.**

## Key words:

*Antiretroviral therapy. Resistance. Children. HIV. AIDS.*

## INTRODUCCIÓN

Los beneficios obtenidos gracias al empleo de los fármacos antirretrovirales (ARV) en el tratamiento por la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) pueden verse comprometidos por el desarrollo de resistencias<sup>1</sup>. La aparición de mutaciones de resistencias es una consecuencia casi inevitable cuando no se logra una supresión completa de la replicación viral mediante el tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA)<sup>2</sup>. En los niños infectados verticalmente por el VIH, no siempre se alcanza una supresión completa de la carga viral (CV) plasmática hasta niveles inferiores al umbral de detectabilidad (< 50 copias/ml), lo que favorece el desarrollo de *cuasiespecies* con mutaciones de resistencia a ARV<sup>3</sup>. Esto a su vez empeora el pronóstico de los pacientes y complica la elección de futuros TARGA<sup>2</sup>.

El desarrollo de tests de resistencia genotípicos que detectan mutaciones en el genoma de la retrotranscriptasa y proteasa del VIH, ha aumentado la eficacia del TARGA, ya que ofrece una valiosa información para escoger qué fármacos pueden ser componentes de un TARGA en niños infectados por el VIH<sup>4</sup>. Por lo tanto, es preciso el desarrollo de estudios, que como el nuestro, analicen la prevalencia de resistencia a ARV y evalúen que factores influyen en su aparición.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Población de estudio

Se realizó un estudio transversal en una cohorte de 86 niños infectados verticalmente por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1). Los pacientes fueron divididos en 4 grupos según su historia de tratamiento antirretroviral (TAR): grupo 1: niños que sólo hubieran recibido previamente tratamiento con inhibidores de la retrotranscriptasa análogos de nucleósido (NRTI); grupo 2: niños que habían tomado previamente NRTI e inhibidores de la retrotranscriptasa no análogos de nucleósido (NNRTI); grupo 3: niños que hubieran recibido previamente tratamientos con NRTI e inhibidores de la proteasa (IP), y grupo 4: niños que habían tomado antes del inicio del estudio NRTI, NNRTI e IP.

Los tests de resistencias se solicitaron en pacientes *naive* y tras confirmar un fracaso virológico a un TARGA pre-

vio. El análisis genotípico de las mutaciones halladas se realizó mediante secuenciación. La interpretación del análisis de secuenciación de la retrotranscriptasa y proteasa viral se llevó a cabo mediante el sistema *TRUGENETM HIV-1 Genotyping Kit* según las recomendaciones del fabricante (Visible Genetics, Inc., Toronto, Canada). La interpretación clínica de los resultados obtenidos en los tests genotípicos de resistencia se realizó siguiendo las recomendaciones de la *IAS-USA panel*.

### Análisis estadístico

Los resultados se expresan como media  $\pm$  desviación típica, porcentajes y frecuencias. Cuando los grupos estaban formados por un número pequeño de pacientes, se emplearon la mediana y el rango como medidas. Las diferencias entre los grupos se realizaron mediante tests no paramétricos (test Mann-Whitney "U"). Los datos fueron analizados con el programa SPSS-11.

## RESULTADOS

Las características demográficas, clínicas, inmunológicas y virológicas de los pacientes incluidos en el estudio se resumen en la tabla 1. La cohorte de niños infectados por el VIH estudiada fue dividida en 4 grupos según su historia de TAR previo: 1. NRTI; 2. NRTI y NNRTI; 3. NRTI e IP; 4. NRTI, NNRTI e IP (tabla 1). En el conjunto de la población se detectaron un total de 847 mutaciones en las secuencias virales analizadas. Se hallaron 50,4, 9,3 y 40,3%, mutaciones asociadas con resistencia a NRTI, NNRTI e IP, respectivamente. En el total de mutaciones identificadas, un 3% no lo habían sido como mutaciones de resistencia a ARV en el momento de realización del estudio. Las mutaciones halladas con una frecuencia superior al 4,5% en el total de la población se resumen en la tabla 2.

Se detectaron un total de 51 mutaciones en el grupo 1. De los 11 niños incluidos en este grupo, 10 tenían *cuasiespecies* virales con mutaciones de resistencia a los NRTI conocidas como NAM (mutaciones asociadas a los análogos de timidina). De ellos 4 tenían 2 NAM diferentes, mientras 1, 2 y 1 paciente tenían 3, 4 y 5 NAM, respectivamente. La NAM más frecuentemente hallada en este grupo fue la M41L (en 6 pacientes) mientras que la mutación M184V fue aislada en 4 pacientes y la L74I en un paciente. Dos niños de este grupo tenían el complejo de multiresistencia Q151M.

En los 3 niños incluidos en el grupo 2, se hallaron 22 mutaciones de resistencia. Un niño tenía 3 NAM (L210W, T215Y, M41L) mientras que los otros 2 pacientes no tenían ninguna. Uno de estos 2 pacientes tenía el complejo de multiresistencia Q151M y la mutación K65R mientras que el otro paciente tenía la mutación M184V.

En el grupo 3, se aislaron un total de 295 mutaciones. Entre los 36 niños incluidos en este grupo, 34 (94,4%) tenían alguna NAM. La acumulación de NAM en este grupo mostró la siguiente distribución: 3 pacientes (8,3%) te-

TABLA 1. Características demográficas, clínicas e inmunoviroológicas basales de la cohorte de niños infectados por el VIH según los diferentes grupos de TAR

Características	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Total
Número de niños*	11 (12,8)	3 (3,5)	36 (41,9)	36 (41,9)	86 (100)
Sexo (niño)*	8 (72,7)	0 (0)	18 (50,0)	14 (38,9%)	40 (46,5)
Edad (año)	8,6 (1; 12)	6, 14 y 16	6,7 (1; 15)	9,7 (1; 16)	9,1 (1; 16)
Tiempo de TAR (meses)	35,0 (26; 108)	32, 46 y 9	50,5 (6; 130)	70,0 (2; 158)	53,0 (32,7; 158)
% T CD4+	29,5 (2,4; 41,4)	20,0, 14,8 y 33,2	27,0 (9,0; 59,0)	18,2 (3,0; 48,0)	22,7 (2,4; 59,0)
% T CD8+	35,7 (20,5; 59,0)	40,5, 47,2 y 45,1	45,5 (9,4; 63,5)	52,0 (6,0; 84,0)	45 (6,0; 84)
Log <sub>10</sub> carga viral	4,63 (3,32; 5,90)	5,03, 4,84 y 4,67	4,80 (2,60; 5,94)	4,84 (3,02; 5,63)	4,81 (2,60; 5,94)
Categoría clínica*					
A	6 (55)	1 (33)	8 (22)	6 (17)	21 (22)
B	2 (18)	0	12 (33)	8 (22)	22 (26)
C	3 (27)	2 (67)	16 (44)	22 (61)	43 (52)

Valores expresados como mediana (mín; máx).

\*Valores expresados como frecuencias (porcentajes).

Grupo 1: Niños que sólo habían tomado NRTI.

Grupo 2: Niños que habían tomado NRTI y NNRTI.

Grupo 3: Niños que habían tomado NRTI e IP.

Grupo 4: Niños que habían tomado NRTI, NNRTI e IP.

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; TAR: tratamiento antirretroviral; NRTI: inhibidores de la retrotranscriptasa análogos de nucleósido; NNRTI: inhibidores de la retrotranscriptasa no análogos de nucleósido; IP: inhibidores de la proteasa.

TABLA 2. Número de niños con mutaciones que confieren resistencia a los NRTI, NNRTI o IP con una frecuencia  $\geq 4,5\%$ 

Mutaciones asociadas a resistencia a NRTI					
M41L	43 (50,0)	T69A/D/N	19 (22,1)	K166R	6 (7,0)
T215F/Y	43 (50,0)	G196E	19 (22,1)	F77L	5 (5,8)
D67N	39 (45,3)	V75I/M	16 (18,6)	A62V	4 (4,7)
R211K	39 (45,3)	H208Y	13 (15,1)	K65R	4 (4,7)
M184I/V	38 (44,2)	L74I/V	13 (15,1)	L214F	4 (4,7)
K219E/Q/R	27 (31,4)	Q151M/H	8 (9,3)	L228R	4 (4,7)
L210W	25 (29,1)	S68G	8 (9,3)		
K70R	24 (27,9)	F116Y	7 (8,1)		
Mutaciones asociadas a resistencia a NNRTI					
K103N/R/T	30 (34,9)	L100I	9 (10,5)	V108I	6 (7,0)
Y181C/I	11 (12,8)	G190A/E/S	8 (9,3)		
Mutaciones asociadas a resistencia a IP					
L63A/P	61 (70,9)	M46F/I/L	21 (24,4)	L33F	8 (9,3)
L10F/I/V	37 (43,0)	V82A/F/I/T	18 (20,9)	K20M/R	7 (8,1)
V77I	32 (37,2)	D30N	14 (16,3)	D60E	7 (8,1)
A71T/V	28 (32,6)	N88S/D	11 (12,8)	I54V	17 (19,8)
L90I/M	26 (30,2)	I84V	9 (10,5)		
M36I/V	24 (27,9)	G73S	8 (9,3)		

Valores expresados como frecuencias (porcentajes).

NRTI: inhibidores de la retrotranscriptasa análogos de nucleósido; NNRTI: inhibidores de la retrotranscriptasa no análogos de nucleósido; IP: inhibidores de la proteasa.

nían 1 NAM, 5 niños (13,9%) tenían 2 NAM, 3 (8,3%) tenían 3 NAM, 5 (13,9%) tenían 4 NAM, 4 (11,1%) tenían 5 NAM y 14 niños (38,9%) tenían 6 NAM o más. En este grupo de pacientes la NAM más frecuentemente hallada fue la D67N en 19 niños (52,8%). Además, se identificaron las mutaciones L74V, K65R y M184V, siendo la mutación M184V la más prevalente ya que fue aislada en el 50% de los pacientes pertenecientes a este grupo. Un

niño de este grupo tenía el complejo de multiresistencia Q151M. Tan sólo un 13,8% de los pacientes del grupo 3 tenían mutaciones primarias en el gen de la proteasa: G94V, L90M, V82A, I84V, M46I, D30N y I50V/L. Sin embargo, un 19,4% tenía mutaciones secundarias en el gen de la proteasa.

En el grupo 4 se hallaron un total de 479 mutaciones de resistencia. Todos los niños pertenecientes a este grupo

presentaban alguna NAM en el gen de la RT. La acumulación de NAM en este grupo mostró la siguiente distribución: 3 pacientes (3,8%) tenían 1 NAM, 3 niños (8,3%) tenían 2 NAM, 2 (5,6%) tenían 3 NAM, 3 (8,3%) tenían 4 NAM, y 25 niños (69,4%) tenían 5 NAM o más. La mutación M41L fue la NAM más frecuentemente hallada en 22 pacientes (61,1%) del grupo 4. Las mutaciones L74V, K65R y M184V fueron detectadas en 9 (25,0%), 1 (2,7%) y 12 (33,3%) niños de este grupo, respectivamente. El polimorfismo G33E, que incrementa la resistencia a la zidovudina (ZDV), fue detectado en 2 niños. El complejo de multiresistencia Q151M fue hallado en 3 pacientes (8,3%). Además, 24 (66,7%) de los niños de este grupo tenían la mutación K103N y 10 (27,8%) tenían la mutación Y181C, mientras que 5 niños (13,9%) de este grupo tenían ambas mutaciones. Al considerar las mutaciones primarias en el gen de la proteasa, estas fueron halladas en 34 de los niños (94,4%) pertenecientes al grupo 4. En 6 niños (16,7%) se detectaron 2 mutaciones primarias, un niño de este grupo tenía 3 mutaciones primarias, 4 pacientes (11,1%) tenían 4 mutaciones primarias y 23 pacientes (63,4%) tenían 5 mutaciones o más primarias en el gen de la proteasa. En el total de mutaciones primarias aisladas fue la L90M la más frecuente.

## DISCUSIÓN

El tratamiento antirretroviral ha logrado revertir la progresión de la infección VIH en la infancia y por lo tanto prolongar la supervivencia de los niños infectados por VIH<sup>1</sup>. No obstante, estos beneficios pueden verse comprometidos por el desarrollo de resistencia a los fármacos ARV<sup>4</sup>. Aunque varios estudios han demostrado un aumento en la frecuencia de resistencias en nuevos diagnósticos de VIH en pacientes adultos<sup>5-7</sup>, existen pocos datos sobre prevalencia de resistencia a ARV en niños<sup>8</sup>. En nuestro estudio se han incluido 86 pacientes que han sido divididos en 4 grupos según la clase de TAR que hubieran tomado antes del inicio del estudio ya que los mecanismos de resistencia a ARV son diferentes según cada familia de fármacos. Nuestro estudio demuestra cómo la prevalencia de resistencia a ARV tras fracasos terapéuticos, es también elevada en niños. Este factor complica el TAR en pediatría donde además existen un menor número de fármacos disponibles<sup>3</sup>.

A medida que los niños habían recibido mayor número de ARV, el tiempo y complejidad de los TAR también aumentaba. En nuestra cohorte sólo 3 niños habían tomado exclusivamente NRTI y NNRTI. Estos pacientes iniciaron el TARGA cuando eran más mayores y precisaron un menor número de cambios durante el tratamiento. Esto podría deberse a que estos pacientes se correspondían con un grupo de progresores más lentos de la infección.

Aproximadamente la mitad de las mutaciones halladas (50,2%) correspondían a mutaciones de resistencia a los NRTI. Esto se debe a que esta clase de ARV había sido

empleado durante tiempos más prolongados en la cohorte de pacientes y no al rápido desarrollo de resistencias en esta familia. Sin embargo, en la mayoría de los niños que habían tomado NNRTI, aparecieron mutaciones de resistencia tras períodos de tiempo cortos (12 y 13 meses respectivamente en los grupos 2 y 4)<sup>9,10</sup>. Además, a medida que aumentaba la duración del tratamiento antirretroviral, el número de mutaciones halladas en cada grupo era mayor. De la misma manera, el número de NAM fue superior según aumentaba el tiempo empleando NRTI y lo que es más importante aún, en niños que habían tomado NRTI durante largos períodos se observó una acumulación gradual de NAM tal y como ha sido descrito en adultos. La acumulación progresiva de NAM conlleva el aumento en el nivel de resistencia y a la aparición de resistencias cruzada a más NRTI incluyendo didanosina, abacavir y tenofovir (TDF). En nuestra cohorte, la NAM más frecuentemente hallada fue la M41L (5,1% del total de mutaciones aisladas). Como ha sido descrito en adultos, las NAM se acumulaban siguiendo 2 vías diferentes: la vía de la M41L, L210W y T215Y frente a la vía de la T215F, D67N y K219Q<sup>11,12</sup>. La primera vía fue más frecuentemente hallada en nuestra cohorte. El diferente significado clínico de estas 2 vías fue propuesto por Miller y Larder<sup>13</sup> quienes observaron que la primera vía se asociaba con una mayor resistencia cruzada al TDF.

Dentro de las mutaciones que se conferían resistencia a los NRTI impidiendo la incorporación de nuevos análogos a la cadena creciente de ADN<sup>1</sup>, la M184V fue la más comúnmente hallada en nuestra cohorte (4,4% del total de mutaciones aisladas). Esta mutación confiere altos niveles de resistencia a lamivudina (3TC) y se ha asociado a una disminución en el nivel de resistencia al resto de NRTI en presencia de NAM, aunque el significado clínico de este hallazgo no es del todo conocido.

El conjunto de mutaciones que forma el complejo de multiresistencia Q151M, se asocia con altos niveles de resistencia a diferentes NRTI, con la excepción del 3TC y TDF. El complejo Q151M, fue el complejo de multiresistencia más frecuentemente hallado en nuestra cohorte en 8,1% de los niños, con una frecuencia superior a la comunicada en adultos<sup>14</sup>. El complejo de inserción en el codón 69 también confiere altos niveles de resistencia a todos los NRTI y aunque en series con pacientes adultos se ha presentado en menos del 2% de los casos, ningún paciente de nuestra cohorte presentaba dicho complejo<sup>15</sup>. Respecto a las mutaciones que confieren resistencia a los NNRTI, la K103N fue la más frecuentemente hallada en nuestro estudio (3,3% de todas las mutaciones identificadas). Dicha mutación se asocia con altos niveles de resistencia cruzada a los NNRTI.

Las mutaciones identificadas en nuestra cohorte que confieren resistencia a IP, fueron divididas en primarias y secundarias<sup>16,17</sup>. Dentro de las mutaciones primarias la más prevalente fue la L90M (2,8% de todas las mutacio-

nes), que se selecciona tras fracasos a regímenes que contengan IP y ha sido descrito en pacientes adultos especialmente frente a fracasos con saquinavir. El cúmulo de mutaciones primarias frente a los IP tiene mayor importancia que la presencia de mutaciones específicas cuando esta familia de fármacos se emplea con pequeñas dosis de ritonavir. En pacientes adultos, se han comunicado tasas más altas de éxito terapéutico en regímenes TARGA de rescate que incluyan un IP potenciado cuando los pacientes tienen 5 mutaciones primarias o menos en el gen de la proteasa<sup>18</sup>.

Nuestro estudio muestra cómo la aparición de resistencias al TAR es un fenómeno frecuente en niños, que complica el manejo de esta infección en éstos. Son por tanto precisos más estudios que evalúen la aparición de resistencia a ARV en pacientes pediátricos y que contribuyan a seleccionar los regímenes más óptimos tras un fracaso terapéutico en niños.

### Fuentes de financiación

Fundación para la Investigación Sanitaria (FIS) del Ministerio de Sanidad y Consumo (PI052476, PI061479); Red RIS RD06-0006-0035; FIPSE (36514/05, 24534/05) y Fundación Caja Navarra.

Beatriz Larrú tiene un contrato del FIS con referencia CP04/00090.

### BIBLIOGRAFÍA

- Clavel F, Hance AJ. HIV drug resistance. *N Engl J Med*. 2004; 350:1023-35.
- Hirsch MS, Brun-Vezinet F, Clotet B, Conway B, Kuritzkes DR, D'Aquila RT, et al. Antiretroviral drug resistance testing in adults infected with human immunodeficiency virus type 1: 2003 recommendations of an International AIDS Society-USA Panel. *Clin Infect Dis*. 2003;37:113-28.
- The Working Group on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children. Guidelines for the use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection. 2003 (September 22).
- Margot NA, Isaacson E, McGowan I, Cheng AK, Schooley RT, Miller MD. Genotypic and phenotypic analyses of HIV-1 in antiretroviral-experienced patients treated with tenofovir DF. *AIDS*. 2002;16:1227-35.
- Yerly S, Vora S, Rizzardi P, Chave JP, Vernazza PL, Flepp M, et al. Acute HIV infection: Impact on the spread of HIV and transmission of drug resistance. *AIDS*. 2001;15:2287-92.
- Little SJ, Holte S, Routy JP, Daar ES, Markowitz M, Collier AC, et al. Antiretroviral-drug resistance among patients recently infected with HIV. *N Engl J Med*. 2002;347:385-94.
- Simon V, Vanderhoeven J, Hurlley A, Ramratnam B, Louie M, Dawson K, et al. Evolving patterns of HIV-1 resistance to antiretroviral agents in newly infected individuals. *AIDS*. 2002;16: 1511-9.
- De José M, Ramos J, Álvarez S, Jiménez J, Muñoz-Fernández M. First Report of Vertical Transmission of HIV-1 variants resistant to reverse transcriptase (M184V) and protease (L63P). *Arch Intern Med*. 2001;161:2738-9.
- Shulman NS, Zolopa AR, Passaro DJ, Murlidharan U, Israelski DM, Brosgart CL, et al. Efavirenz- and adefovir dipivoxil-based salvage therapy in highly treatment-experienced patients: Clinical and genotypic predictors of virologic response. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2000;23:221-6.
- Eshleman SH, Jackson JB. Nevirapine resistance after single dose prophylaxis. *AIDS Rev*. 2002;4:59-63.
- Hanna GJ, Johnson VA, Kuritzkes DR, Richman DD, Brown AJ, Savara AV, et al. Patterns of resistance mutations selected by treatment of human immunodeficiency virus type 1 infection with zidovudine, didanosine, and nevirapine. *J Infect Dis*. 2000;181:904-11.
- Yahi N, Tamalet C, Tourres C, Tivoli N, Ariasi F, Volot F, et al. Mutation patterns of the reverse transcriptase and protease genes in human immunodeficiency virus type 1-infected patients undergoing combination therapy: Survey of 787 sequences. *J Clin Microbiol*. 1999;37:4099-106.
- Miller V, Larder BA. Mutational patterns in the HIV genome and cross-resistance following nucleoside and nucleotide analogue drug exposure. *Antivir Ther* 2001;6 Suppl 3:25-44.
- Van Vaerenbergh K, Van Laethem K, Albert J, Boucher CA, Clotet B, Floridia M, et al. Prevalence and characteristics of multi-nucleoside-resistant human immunodeficiency virus type 1 among European patients receiving combinations of nucleoside analogues. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44: 2109-17.
- Tamalet C, Yahi N, Tourres C, Colson P, Quinson AM, Pozot-Martin I, et al. Multidrug resistance genotypes (insertions in the beta3-beta4 finger subdomain and MDR mutations) of HIV-1 reverse transcriptase from extensively treated patients: Incidence and association with other resistance mutations. *Virology*. 2000;270:310-6.
- Molla A, Korneyeva M, Gao Q, Vasavanonda S, Schipper PJ, Mo HM, et al. Ordered accumulation of mutations in HIV protease confers resistance to ritonavir. *Nat Med*. 1996;2:760-6.
- Mammano F, Trouplin V, Zennou V, Clavel F. Retracing the evolutionary pathways of human immunodeficiency virus type 1 resistance to protease inhibitors: Virus fitness in the absence and in the presence of drug. *J Virol*. 2000;74:8524-31.
- Barreiro P, Camino N, De Mendoza C, Valer L, Núñez M, Martín-Carbonero L, et al. Comparison of the efficacy, safety and predictive value of HIV genotyping using distinct ritonavir-boosted protease inhibitors. *Int J Antimicrob Agents*. 2002;20: 438-43.