

# Resistência Primária aos Antirretrovirais na Criança (2000 - 2013)

## Primary Resistance to Antiretrovirals in Children (2000-2013)

Ana SC Fernandes<sup>1</sup>, Filipa Prata<sup>1</sup>, Ana Mouzinho<sup>1</sup>, Guilhermina Marques<sup>2</sup>, José Gonçalo Marques<sup>1</sup>

1. Unidade de Infeciologia Pediátrica, Departamento de Pediatria, Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Lisboa Norte, EPE, Lisboa, Portugal  
2. Laboratório de Biologia Molecular, Serviço de Patologia Clínica, Hospital de Santa Maria, Centro Hospitalar Lisboa Norte, EPE, Lisboa, Portugal

Acta Pediatr Port 2015;46:226-31

### Resumo

**Introdução:** A transmissão à criança de estirpes resistentes de vírus da imunodeficiência humana tem sido documentada e condiciona a eficácia da terapêutica antirretroviral combinada. Pretendeu-se descrever as resistências primárias em crianças com infeção pelo vírus da imunodeficiência humana 1 adquirida por transmissão mãe-filho ou por outra via.

**Métodos:** Estudo de coorte retrospectivo das crianças com diagnóstico de infeção por vírus da imunodeficiência humana 1 entre 2000 e 2013, com estudo genotípico de resistências a antirretrovirais prévio ao início de terapêutica antirretroviral combinada.

**Resultados:** Foram avaliadas 32 crianças com diagnóstico de infeção entre o nascimento e os 14 anos, 53,1% do sexo feminino, 20 originárias de Portugal e 12 de países africanos de língua oficial portuguesa. A transmissão mãe-filho ocorreu em 27 (84,4%) casos. Não houve acesso ao perfil de resistências maternas. Identificaram-se resistências primárias em 5/32 (15,6%) casos; 4/27 (14,8%) no grupo transmissão mãe-filho e 3/12 (25,0%) no subgrupo submetido a profilaxia de transmissão mãe-filho. A mediana da idade à data do estudo genotípico de resistências aos antirretrovirais foi 2,4 meses no grupo transmissão mãe-filho com resistência identificada e 17,1 meses no grupo transmissão mãe-filho sem resistência identificada. A resistência primária a lamivudina ocorreu em 2/6 casos expostos a profilaxia com o fármaco, não se registando resistências primárias a zidovudina (0/9) ou nevirapina (0/2) nas crianças expostas aos mesmos profilaticamente.

**Discussão:** Nesta coorte identificou-se uma prevalência significativa de resistências primárias, confirmando a importância do estudo genotípico de resistências aos antirretrovirais nas mães e nas crianças com infeção pelo vírus da imunodeficiência humana, tão precocemente quanto possível. É tranquilizadora a inexistência de resistências a zidovudina, o antirretroviral preferencial na profilaxia de transmissão mãe-filho.

**Palavras-chave:** Criança; Fármacos Anti-VIH; Farmacorresistência Viral; Infeções por VIH; Terapia Antirretroviral de Alta Atividade; Terapêutica Combinada; Transmissão Vertical de Doença Infecciosa; VIH 1

### Abstract

**Introduction:** Children may acquire HIV drug resistant strains, interfering with the efficacy of combined antiretroviral treatment (cART). We aimed to characterize primary antiretroviral (ARV) resistance among HIV1-infected children assisted at our hospital.

**Methods:** HIV1-infected children diagnosed between 2000 and 2013 with a genotyping drug resistance test (ARV-RT) performed prior to initiating cART were selected.

**Results:** Thirty-two infected children were enrolled. Age at diagnosis ranged from birth to 14 years; 53.1% were female; 20 were from Portugal and 12 from Portuguese-speaking African countries. Mother-to-child transmission (MTCT) occurred in 27 cases (84.4%). No information was available on mothers' drug resistance tests.

Drug resistance was present in 5/32 (15.2%) patients, 4/27 (14.8%) cases of MTCT and 3/13 (23.1%) children who underwent MTCT prophylaxis. The median age at ARV-RT was 2.4 months in the MTCT group with identified primary drug resistance and 17.1 months in the MTCT group with no identified resistance.

Resistance to lamivudine (M184V) was present in 2/6 cases treated by lamivudine; no resistance to zidovudine (0/9) or nevirapine (0/2) was found in patients undergoing prophylaxis with these ARVs.

**Conclusion:** The overall rate of primary drug resistance in our population was not insignificant, highlighting the importance of performing mother and child ARV-RT as soon as possible. The absence of primary resistance to zidovudine, a first choice ARV for MTCT prophylaxis, is reassuring.

**Keywords:** Child; Anti-HIV Agents; Drug Resistance, Viral; HIV Infections; Antiretroviral Therapy, Highly Active; Drug Therapy, Combination; Infectious Disease Transmission, Vertical; HIV-1

### Introdução

A terapêutica antirretroviral combinada (TARc) permitiu uma importante redução da morbidade e mortalidade associadas à infeção pelo vírus da imunodeficiência

humana (VIH). O seu uso na gestação, associado a outras medidas preventivas estabelecidas durante e após o parto, permitiram que a transmissão mãe-filho (TMF) no conjunto dos nove anos de 2005 a 2013 seja inferior a 2%.<sup>1,2</sup> Contudo, os doentes sob TARc em falência virológica serão responsáveis pela emergência e transmissão de vírus resistentes na população,<sup>3</sup> afetando a eficácia dos esquemas de quimioprofilaxia e de TARc.<sup>4</sup>

A infeção materna por vírus resistentes, bem como a seleção de estirpes resistentes durante a quimioprofilaxia periparto, devem ser consideradas na TMF.<sup>5-10</sup>

Está, por isto, indicada a realização do estudo de resistências antes do início da terapêutica antirretroviral.

As estreitas ligações de carácter económico e social que Portugal mantém com os países africanos de língua oficial portuguesa (PALOP) e o Brasil, resultam num perfil de infeção VIH distinto do da maioria dos países da Europa. Este facto motivou o estudo das estirpes circulantes e resistências primárias aos antirretrovirais numa população adulta portuguesa, que revelou uma prevalência de resistências primárias aos antirretrovirais de 7,78% em 2003.<sup>11</sup> Porém, desconhece-se a prevalência de resistência primária aos antirretrovirais na população pediátrica portuguesa.

Este estudo teve como objetivo principal o conhecimento da prevalência e perfil de resistências primárias nas crianças infetadas por TMF, pesquisar a existência de associação dessas resistências com a quimioprofilaxia periparto, o estudo de resistências e a TARc da mãe. Como objetivos secundários, pretendeu-se determinar a prevalência de resistências primárias a antirretrovirais em crianças infetadas por vias de transmissão não vertical.

## Métodos

Estudo retrospectivo de coorte de crianças seguidas na consulta de infeção VIH de um centro pediátrico. Foram incluídas todas as crianças com os seguintes critérios:

- Diagnóstico de infeção VIH-1 entre os anos 2000 e 2013;
- Estudo genotípico de resistências aos antirretrovirais (ER-ARV) prévio ao início de TARc.

Foi feita a consulta individual de cada processo clínico com registo de informação num formulário de recolha de dados, que incluiu dados demográficos, clínicos, laboratoriais e terapêutica prescrita.

O tratamento dos dados foi efetuado recorrendo aos programas informáticos Microsoft Excel® e Statistical Package for the Social Sciences®, versão 19.

As genotipagens realizadas até 2005 e depois de 2010 foram efetuadas pelo método de sequenciação

direta das regiões da protease (PR) e da transcriptase reversa (RT) através da metodologia TruGene HIV-1 Kit e OpenGene DNA Sequencing Systems (Siemens) – sequenciação em gel de poliacrilamida. Entre os anos 2006 e 2010 a genotipagem foi efetuada por sequenciação direta das regiões da PR e da RT gene pol do VIH-1 por metodologia *in house*.

Num doente transferido de outro centro hospitalar o método utilizado nesse centro foi a sequenciação direta das regiões da PR e da RT através da metodologia Abbott Molecular Viro Seq HIV-1 Genotyping System (Abbott) – sequenciação capilar.

Em todos os casos a caracterização do subtipo e a análise de mutações de resistência foi realizada com recurso a Stanford HIV Drug Resistance Database<sup>12</sup> e REGA HIV-1 Subtyping Tool v2.0.

## Resultados

### Dados demográficos e epidemiológicos

Trinta e duas crianças seguidas na consulta de VIH preenchiem os critérios de inclusão no estudo. Destas, 17 (53,1%) eram do sexo feminino, 20 (62,5%) eram de origem portuguesa e 12 oriundas dos PALOP. A idade de diagnóstico variou desde recém-nascido até aos 14 anos, sendo a mediana da idade no diagnóstico de 13,4 meses. A via de transmissão foi TMF em 27 (84,4%) crianças, outra via em três (9,4%) crianças e não foi possível a sua identificação em dois (6,2%) casos.

### Subtipos de VIH-1

Os subtipos de VIH-1 identificados estão descritos na Tabela 1.

### Resistência primária aos antirretrovirais

À data do primeiro ER-ARV, 17 (53,1%) crianças encontravam-se assintomáticas ou ligeiramente sintomáticas [categorias clínicas N ou A da classificação do Center for Disease Control and Prevention (CDC)], sendo a mediana da carga viral  $\log_{10}$  5,51 cópias/mL (Q3 - Q1:  $\log_{10}$  6,22 -  $\log_{10}$  4,74). Nos casos de TMF, a mediana da idade à data da pesquisa de resistências foi de 10 meses (Tabela 2).

Identificaram-se cinco (15,6%) casos de resistência primária a antirretrovirais, quatro dos quais em crianças que adquiriram a infeção por TMF, correspondendo a uma prevalência de resistências primárias de 14,8% das crianças infetadas por TMF (Tabela 3). Nestas quatro últimas crianças, em cada uma foi identificada apenas uma mutação de resistência a antirretrovirais, três das quais condicionavam resistência a análogos nucleósidos

Tabela 1. Subtipos de VIH-1 identificados

Subtipo de VIH-1	n (%)
AG	10 (31,2)
G	9 (28,1)
A	3 (9,4)
B	2 (6,3)
C	2 (6,3)
D	1 (3,1)
F	1 (3,1)
Desconhecido	4 (12,5)

VIH - vírus da imunodeficiência humana.

Tabela 2. Características da população à data do ER-ARV (categoria clínica, carga viral e idade)

Categoria clínica CDC [n (%)]	
N	11 (34,4)
A	6 (18,7)
B	11 (34,4)
C	4 (12,5)
<b>Carga viral (mediana) (cópias/mL)</b>	5,51 log <sub>10</sub>
<b>Idade (mediana) (meses)</b>	
TMF	10
TMF com resistência identificada	2,4
TMF sem resistência identificada	17,1
Transmissão horizontal ou desconhecida	111,5

TMF - transmissão mãe-filho; ER-ARV - Estudo Genotípico de Resistências aos Antirretrovirais; CDC - Center for Disease Control and Prevention.

inibidores da transcriptase reversa (NITR) e uma responsável por resistência a não nucleósidos inibidores da transcriptase reversa (NNITR). Em três destas crianças o teste de resistência genotípica foi realizado antes dos 3 meses de vida e na quarta criança aos 3 meses de vida. Estas quatro crianças eram filhas de mãe portuguesa. No quinto caso de resistência primária (infecção adquirida por via horizontal) foram identificadas quatro mutações, condicionando resistência a NITR e NNITR.

Na criança #1, com mutação de resistência primária a efavirenze e nevirapina, desconhece-se a terapêutica antirretroviral materna na gestação, tendo cumprido profilaxia intraparto e pós-parto apenas com zidovudina (AZT). As crianças #2 e #4, com mutação de resistência a lamivudina, haviam sido expostas a este fármaco na profilaxia periparto ou na gestação. A criança #3 não fora exposta a qualquer ARV.

Das 27 crianças que adquiriram a infeção por TMF, foram encontradas mutações em três de 13 (23,1%) que tinham sido expostas a antirretrovirais em algum momento da gestação, parto e/ou pós-parto e numa de 14 (7,1%) não expostas a ARV. A idade média no ER-ARV nestes dois grupos foi de 4,2 meses no grupo exposto a ARV e de 63,4 no grupo não exposto a ARV. Nas sete crianças expostas a profilaxia com lamivudina em combinação com outros fármacos, foram identificados dois (28,6%) casos de resistência primária a este fármaco. Não foram encontradas resistências primárias a AZT nas 13 crianças expostas a profilaxia com este fármaco (nove em monoterapia e quatro em terapêutica combinada), nem resistências primárias a nevirapina nas duas crianças expostas a profilaxia com combinações terapêuticas incluindo este fármaco.

Tabela 3. Resistências primárias a antirretrovirais identificadas e profilaxia da TMF

Criança	#1	#2	#3	#4	#5
Mutações	K103N	M184V	M41L	M184V	K65R, H221Y, Y181C, V108I
Resistência	EFV, NVP	3TC, FTC	AZT, d4T	3TC, FTC	TDF, ddi, ABC, d4T, NNITR
Classe farmacológica	NNITR	NITR	NITR	NITR	NITR e NNITR
Subtipo VIH	B	G	G	ND	AG
Via de transmissão	TMF	TMF	TMF	TMF	Horizontal
ARV na gestação	ND	AZT, 3TC	Não	Não	NA
ARV intra-parto	AZT	ND	Não	AZT	NA
ARV recém-nascido	AZT	ND	Não	AZT, 3TC, NVP	NA
Idade no estudo de resistências (meses)	3,3	2,6	1,1	2,0	172,1

3TC - lamivudina; ABC - abacavir; ARV - antirretrovirais utilizados em profilaxia da transmissão; AZT - zidovudina; d4T - estavudina; ddi - didanosina; EFV - efavirenze; FTC - emtricitabina; NA - não aplicável; ND - não disponível; TDF - tenofovir; NNITR - não nucleósido inibidor da transcriptase reversa, NITR - nucleósido inibidor da transcriptase reversa; NVP - nevirapina; TMF - transmissão mãe-filho; VIH - vírus da imunodeficiência humana.

Em nenhum dos casos de TMF houve acesso a resultados de estudo genotípico de resistência da mãe.

### Evolução das resistências

Das 23 crianças com infecção adquirida por TMF sem resistência primária identificada, 10 foram submetidas a TAR *in utero* e/ou em RN. Destas, cinco foram estudadas depois dos 3 meses de vida e quatro iniciaram TARc. Aos 12 meses de terapêutica, três tinham carga viral detetável, atribuída a má adesão. Em duas delas o estudo de resistência revelou a mutação M184V, que confere resistência à lamivudina, à qual tinham sido expostas na gestação / profilaxia de TMF e no regime de TARc.

## Discussão

Estudos na população adulta portuguesa com infecção VIH, já haviam demonstrado que Portugal apresenta um perfil de infecção VIH distinto da maioria dos países da Europa Ocidental e Central, com uma elevada prevalência de subtipos não-B em circulação.<sup>11,13</sup> Contudo, contrariamente aos estudos na população adulta portuguesa, em que o subtipo B permanecia como o mais prevalente, seguido do subtipo G,<sup>11,13</sup> na população pediátrica aqui avaliada, os subtipos AG (31,2%) e G (28,1%) foram os mais prevalentes, sendo o subtipo B responsável por apenas 6,3% dos casos. Os subtipos AG e G são prevalentes em países da África Ocidental e Central,<sup>14</sup> pelo que os valores encontrados poderão relacionar-se com as estreitas ligações que Portugal mantém com os PALOP, de onde eram oriundas 37,5% das crianças estudadas.

Identificou-se uma prevalência de resistências primárias a antirretrovirais de 5/32 (15,6%) na população estudada, 4/27 (14,8%) no subgrupo de crianças que adquiriram a infecção por transmissão vertical, um valor superior ao valor de resistências primárias de 7,78% identificado na população adulta portuguesa.<sup>11</sup> Comparando com outros estudos realizados na idade pediátrica, a prevalência de resistências primárias a antirretrovirais encontrada é superior à identificada em alguns estudos realizados no Brasil (0-12,8%),<sup>15-17</sup> Argentina (9%)<sup>18</sup> e América Latina (8,7%),<sup>19</sup> mas inferior à relatada em estudos em França (20%),<sup>7</sup> Estados Unidos da América (19,1-23,8%),<sup>10,20</sup> Brasil (26,9%)<sup>21</sup> ou Tanzânia (28%).<sup>22</sup>

Contudo, a pequena dimensão das coortes estudadas e as diferentes bases de dados utilizadas na interpretação das mutações de resistência encontradas, tornam difícil a comparação entre estudos.

Além destes fatores, o tempo decorrido entre a infe-

ção e a realização do teste de pesquisa de resistências pode ter condicionado os resultados encontrados. Com efeito, nesta coorte, nas crianças infetadas por TMF, a mediana da idade de realização do teste de pesquisa de resistências foi de 2,4 meses naquelas em que foi identificada resistência primária a antirretrovirais, mas de 17,1 meses nas crianças em que não foram identificadas resistências primárias (Tabela 2). O tempo decorrido até à realização do teste de resistência neste segundo grupo, na ausência de pressão seletiva farmacológica, pode ter permitido que algumas mutações de resistência primária se tornassem indetetáveis, assim subestimando a verdadeira taxa de resistências primárias. Um exemplo é o da mutação M184V que tem elevados custos de *fitness* viral motivando que, na ausência de pressão seletiva antirretroviral, haja uma substituição por estirpes selvagens.<sup>23,24</sup> Contudo, nas duas crianças expostas a lamivudina, tanto na profilaxia da TMF como no primeiro esquema de TARc, sem resistências identificadas no primeiro teste (efetuado mais de dois meses após contacto com o fármaco), a falência viral subsequente foi associada a má adesão. Não se pode assim inferir que a mutação M184V detetada se tenha desenvolvido no âmbito da profilaxia instituída.

A confirmar-se essa hipótese, uma pesquisa mais precoce de resistências primárias nestas crianças poderia ter permitido a identificação da mutação, possibilitando a opção por esquemas terapêuticos alternativos eficazes e evitando a falência da TARc.

Nas crianças #1, #2 e #4, as resistências primárias identificadas poderão resultar da pressão seletiva de antirretrovirais utilizados na gestação e/ou profilaxia intra ou pós-parto (Tabela 3). Contudo, os dados em falta sobre a terapêutica materna e a ausência de informação sobre pesquisa de resistências a antirretrovirais na mãe, não permitem confirmar a origem das mutações identificadas. As crianças #3 e #5 não foram expostas a antirretrovirais, indicando a transmissão de estirpes resistentes. Noutros estudos, a profilaxia da TMF com AZT associou-se a taxas de 9-30% de resistências primárias a este fármaco.<sup>7</sup> Contudo, na coorte estudada, não foram identificadas resistências primárias ao AZT nas crianças expostas a profilaxia com este fármaco, tanto em terapêutica combinada, como em monoterapia, sugerindo que, no nosso contexto, este se mantém como uma boa opção para utilização na profilaxia da TMF.

Não foram detetadas resistências primárias a inibidores da protease, que é uma classe de fármacos não utilizada na profilaxia de TMF, e também a que possui maior barreira genética para a aquisição de resistências.

O caráter retrospectivo do estudo constituiu uma importante limitação, não permitindo obter informações

completas sobre a profilaxia da TMF utilizada em todos os casos ou a presença de resistências aos antirretrovirais nas mães. A pequena dimensão da coorte estudada não permite a extrapolação dos resultados obtidos para a realidade nacional, a qual é necessário analisar. No entanto, a identificação de uma prevalência de resistências primárias de 15,6% na coorte estudada, confirma a importância da pesquisa de resistências nas mães e nas crianças com infeção VIH, que deve ser efetuada tão precocemente quanto possível após a confirmação da infeção.

### Conflitos de Interesse

Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse na realização do presente trabalho.

### Fontes de Financiamento

Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

### Proteção de Pessoas e Animais

Os autores declaram que os procedimentos seguidos estavam de acordo com os regulamentos estabelecidos pelos responsáveis da Comissão de Investigação Clínica e Ética e de acordo com a Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial.

### Confidencialidade dos Dados

Os autores declaram ter seguido os protocolos do seu centro de trabalho acerca da publicação dos dados de doentes.

### Correspondência

Ana Sofia Cordeiro Fernandes dos Santos  
anascfernandes@gmail.com

**Recebido:** 21/01/2015

**Aceite:** 06/04/2015

### Referências

1. Pádua E, Almeida C, Água-Doce I, Nunes B, Cortes Martins H. Evolução de casos de transmissão VIH da mãe ao filho em Portugal. *Bol Epidemiol Obs* 2013;2:8-10.
2. Programa Nacional para a Infeção VIH/SIDA. Infeção VIH, SIDA e tuberculose em números – 2014. Lisboa: Direção Geral da Saúde; 2014.
3. Frenzt D, Boucher CA, van de Vijver DA. Temporal changes in the epidemiology of transmission of drug-resistant VIH-1 across the world. *AIDS Rev* 2012;14:17-27.
4. Wittkop L, Günthard HF, de Wolf F, Dunn D, Cozzi-Lepri A, de Luca A, et al. Effect of transmitted drug resistance on virological and immunological response to initial combination antiretroviral therapy for VIH (EuroCoord-CHAIN joint project): a European multicohort study. *Lancet Infect Dis* 2011;11:363-71.
5. Nolan M, Fowler MG, Mofenson LM. Antiretroviral prophylaxis of perinatal VIH-1 transmission and the potential impact of antiretroviral resistance. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002;30:216-29.
6. Masquelier B, Chaix ML, Burgard M, Lechenadec J, Doussin A, Simon F, et al. Zidovudine genotypic resistance in VIH-1-infected newborns in the French perinatal cohort. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;27:99-104.
7. Delaugerre C, Chaix ML, Blanche S, Warszawski J, Cornet D, Dollfus C, et al. Perinatal acquisition of drug-resistant VIH-1 infection: mechanisms and long-term outcome. *Retrovirology* 2009;6:85.
8. Pérez L, Correa C, Campos YA, González I, Pérez J, Martínez PA, et al. Drug-resistant VIH-1 in Cuban children and their seropositive mothers. *MEDICC Rev*. 2011;13:24-31.
9. Guo H, Liu C, Liu B, Wood C, Kong X. Analysis of primary resistance mutations to VIH-1 entry inhibitors in therapy naive

- subtype C VIH-1 infected mother-infant pairs from Zambia. *J Clin Virol* 2013;58:233-9.
10. Karchava M, Pulver W, Smith L, Philpott S, Sullivan TJ, Wethers J, et al. Prevalence of drug-resistance mutations and non-subtype B strains among VIH-infected infants from New York State. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;42:614-9.
11. Palma AC, Araújo F, Duque V, Borges F, Paixão MT, Camacho R, Portuguese SPREAD Network. Molecular epidemiology and prevalence of drug resistance-associated mutations in newly diagnosed VIH-1 patients in Portugal. *Infect Genet Evol* 2007;7:391-8.
12. Stanford University. VIH Drug Resistance Database [consultado em outubro 2014]. Disponível em: <http://hivdb.stanford.edu>
13. Esteves A, Parreira R, Venenno T, Franco M, Piedade J, Germano de Sousa J, et al. Molecular epidemiology of VIH type 1 infection in Portugal: High prevalence of non-B subtypes. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2002;18:313-25.
14. Bártolo, I. Molecular epidemiology and evolution of VIH-1 in Portugal and portuguese speaking african countries [dissertação]. Lisboa: Faculdade de Farmácia; 2011.
15. Almeida FJ, Berezin EN, Rodrigues R, Sáfiadi MA, Arnoni MV, Oliveira C, et al. Diversity and prevalence of antiretroviral genotypic resistance mutations among VIH-1-infected children. *J Pediatr* 2009;85:104-9.
16. Almeida FJ, Rodrigues R, Zapparoli MS, Berezin EN, Sáfiadi MA, de Paula Ferreira JL, et al. Prevalence of transmitted VIH-1 drug resistance mutations in children and adolescents in São Paulo, Brazil. *Pediatr Infect Dis J* 2012;31:e255-7.
17. Ferreira FG, Pinto JA, Kakehasi FM, Cleto S, Tupinambás U, Aleixo AW, et al. Prevalence of primary drug resistance-associated mutations among VIH type 1 vertically Infected

children in Belo Horizonte, Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2010;26:229-32.

18. Vignoles M, Barboni G, Agosti MR, Quarleri J, García MK, Giraudi V, et al. High frequency of primary mutations associated with antiretroviral drug resistance in recently diagnosed VIH-infected children. *Antivir Ther* 2007;12:1133-7.

19. Soto-Ramirez LE, Rodriguez-Diaz R, Harris DR, Hazra R. VIH drug resistance-associated mutations in antiretroviral naïve VIH-1-infected latin american children. *Adv Virol* 2010; 2010:407476.

20. Persaud D, Palumbo P, Ziemniak C, Chen J, Ray SC, Hughes M, Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1030 Team, et al. Early archiving and predominance of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-resistant VIH-1 among recently infected infants born in the United States. *J Infect Dis* 2007;195:1402-10.

21. Pedroso C, Queiroz AT, Alcântara LC, Drexler JF, Diaz RS, Weyll N, et al. High prevalence of primary antiretroviral resistance among VIH-1-infected adults and children in Bahia, a northeast state of Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007;45:251-3.

22. Shao ER, Kifaro EG, Chilumba IB, Nyombi BM, Moyo S, Gaseitsiwe S, et al. VIH-1 drug mutations in children from northern Tanzania. *J Antimicrob Chemother* 2014;69:1928-32.

23. Jain V, Sucupira MC, Bacchetti P, Hartogensis W, Diaz RS, Kallas EG, et al. Differential persistence of transmitted VIH-1 drug resistance mutation classes. *J Infect Dis* 2011;203:1174-81.

24. Wagner BG, Garcia-Lerma JG, Blower S. Factors limiting the transmission of VIH mutations conferring drug resistance: fitness costs and genetic bottlenecks. *Sci Rep* 2012;2:320.