

<sup>1</sup>Sección de Inmunología, VIH y Alergias, Laboratorio de Medicina Molecular, Hospital Clínico Universidad de Chile. Santiago, Chile.

<sup>2</sup>Hospital Barros Luco Trudeau, Corporación Grupo SIDA-Chile. Santiago, Chile.

<sup>a</sup>TM.

<sup>b</sup>Bq.

<sup>c</sup>PhD.

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuentes de apoyo financiero: Corporación Sida Chile, Proyecto N°OAI 986/18 Hospital Clínico Universidad de Chile.

Recibido el 11 mayo de 2020, aceptado el 27 de octubre de 2020.

Correspondencia a:

Dra. Valeria Palma Pino, Inmunóloga Clínica, Hospital Clínico Universidad de Chile Campanario 402, Las Condes. vd.palma@gmail.com vpalmap@hucuch.cl

## Prevalencia de resistencia transmitida a drogas antirretrovirales en pacientes con infección por VIH en Chile (2014-2018)

VALERIA PALMA P.<sup>1</sup>, INTTY LEIVA B.<sup>1</sup>, MAGDALENA DURÁN P.<sup>1,a</sup>, VERÓNICA RAMOS V.<sup>1,b</sup>, CONSTANZA SÁNCHEZ<sup>1</sup>, CARLOS BELTRÁN B.<sup>2</sup>, ALEJANDRO AFANI S.<sup>1</sup>, PABLO FERRER C.<sup>1,b,c</sup>

### Prevalence of transmitted drug resistance in HIV-infected treatment-naive patients in Chile

**Background:** Transmitted drug resistance (TDR) occurs in patients with HIV infection who are not exposed to antiretroviral drugs but who are infected with a virus with mutations associated with resistance. **Aim:** To determine the prevalence of TDR and characterize HIV reverse transcriptase and protease mutation patterns. **Material and Methods:** HIV infected antiretroviral treatment-naive patients treated in three centers between 2014 and 2018 were studied. A genotyping study was carried out. The HIVdb Program (Stanford University) and the World Health Organization (WHO) TDR surveillance mutation list were used to register resistance-associated mutations. **Results:** We enrolled 220 patients aged a median of 29 (interquartile range (IQR) 24-34) years, 99% men. Median CD4 count was 365 cells/ $\mu$ L (IQR 250-499 cells/ $\mu$ L) and median viral load was 39.150 copies/mL (IQR 9,270 -120,000). The overall prevalence of RTD was 10.45% (95% CI 6.7-15.2, N = 23/220). The higher frequency of TDR was against non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, reaching 9.0% (95% CI 5.6-13.6), followed by nucleoside reverse transcriptase inhibitors reaching 1.8% (95% CI 0.49-4.5) and protease inhibitors reaching 0.45% (95% CI 0.01-2.5). The mutations in reverse transcriptase were M41L, L210W, D67N, K70E, M184V, K103N (6.36%, 95% CI 3.5-10.4), G190A, E138A, K101E, and I84V in protease. **Conclusions:** These results should prompt a change in recommendations for starting antiretroviral therapy, especially in first-line regimens that include non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors.

(Rev Med Chile 2020; 148: 1550-1557)

**Key words:** Antiretroviral Therapy, Highly Active; HIV; Mutation.

De acuerdo al último reporte del Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre VIH/SIDA (ONUSIDA), se estima que habría alrededor de 38 millones de personas viviendo con VIH a nivel mundial a diciembre de 2018 y que se producirían 1,7 millones de nuevas infecciones anualmente<sup>1</sup>. La epidemia del VIH en Chile comenzó en el año 1984, con la detección de 6 casos ese año. En los últimos 10 años, la tasa de nuevos casos notificados ha presentado un incremento

creciente y sostenido, llegando a 6.948 nuevos casos al año 2018. Se estima que habría 71.000 personas viviendo con el virus en nuestro país, de los cuales 45.000, aproximadamente, se encuentran en terapia antirretroviral (TAR) en el sistema de salud público o privado. En Chile, la epidemia está concentrada en hombres que tiene sexo con hombres y en el rango etario de 15 a 49 años<sup>1,2</sup>.

El objetivo fundamental de la TAR es lograr la indetectabilidad del virus en el paciente, lo que

permite, además, una reconstitución del sistema inmune, mejora calidad de vida, disminuye la morbimortalidad y, por consiguiente, evita la transmisión del VIH.

Habitualmente se transmite la cepa salvaje del virus sin mutaciones, sin embargo, potencialmente, se puede transmitir el virus con mutaciones asociadas a resistencia a antirretrovirales, lo que se conoce como resistencia transmitida (RTD).

La RTD es mayor en aquellas regiones del mundo donde los antirretrovirales han estado disponibles con acceso universal por más de 20 años. Por este motivo, los primeros reservorios se establecieron inicialmente en países desarrollados, como Estados Unidos de Norteamérica y algunos países de Europa, debido al uso de mono-biterapia previo a la triterapia, utilización de regímenes subóptimos de TAR, dificultades en tolerancia y adherencia o dificultades en acceso universal<sup>3</sup>.

Numerosos estudios han demostrado que los pacientes con RTD presentan, en forma significativa, una mayor falla virológica si la TAR de primera línea presenta, en al menos una droga, una actividad reducida dada por resistencia<sup>4-6</sup>.

En Chile se han realizado 3 estudios previos de RTD, el primero de ellos se publicó en 2005, en que se evaluaron 60 pacientes del área norte de Santiago, entre los años 2001 y 2002, reportándose una tasa de RTD de 0%<sup>7</sup>. El segundo trabajo fue publicado en el año 2007, incluyó 136 pacientes, de los cuales 79 eran pacientes *naive* a terapia, y se encontró una tasa de RTD de 2,5%<sup>8</sup>.

En el tercer trabajo publicado en 2010, se reclutaron 75 pacientes con diagnóstico reciente de infección por VIH, entre los años 2006 y 2008 y se reportó una tasa de RTD de 2,7%<sup>9</sup>.

La vigilancia activa de RTD ofrece información importante acerca de los factores que intervienen en la transmisión de cepas VIH resistentes y en la selección de antirretrovirales. Desempeña un papel importante en el diseño de estrategias para controlar la evolución y la aparición de resistencia<sup>10</sup>.

Después de un quinquenio, se desconoce la situación actual de la RTD en nuestro país, por esta razón, nuestro objetivo fue conocer la prevalencia de RTD en Chile, reclutando un número de pacientes mayor a la descrita en estudios previos, de manera de poder entregar recomendaciones específicas para nuestros pacientes, evitando el riesgo de fracaso a TAR de primera línea.

## Materiales y Métodos

### Estudio poblacional

A través de un proyecto colaborativo entre Corporación SIDA CHILE y el Hospital Clínico Universidad de Chile, se reclutaron 220 pacientes *naive* a TAR con infección por VIH-1 confirmada en el Instituto de Salud Pública (ISP-Chile), independiente de la fecha de su diagnóstico. El período de reclutamiento fue desde agosto de 2014 hasta marzo 2018 y se incluyeron pacientes bajo control en Hospital Clínico Universidad de Chile, Hospital Barros Luco Trudeau y Fundación San Borja Arriarán.

Se aplicó una encuesta en la que se recopilaron los siguientes datos: edad y sexo, vía de transmisión, carga viral VIH, recuento de linfocitos CD4 al momento de ingresar al estudio. Cada paciente firmó el consentimiento informado respectivo y este estudio contó con la aprobación del Comité de Ética del Hospital Clínico Universidad de Chile.

### Test de resistencia genotípica de VIH

La prueba de resistencia genotípica para las drogas que utilizan como blanco genético a la transcriptasa reversa (TR) y la proteasa (P) se realizó en tres etapas: extracción automatizada de ARN viral de VIH, usando 1 mL de plasma (NucliSENS®, easyMAG®, BioMérieux, Lyon, Francia). Luego, el ARN obtenido se disolvió en 25 µL de tampón de elución. Posteriormente, el gen completo de la transcriptasa inversa y la proteasa correspondiente a 339 aminoácidos se amplificó por RT-PCR anidada. La secuenciación se realizó en con el método convencional de Sanger, utilizando una estrategia redundante con 8 partidores<sup>11</sup>. Las secuencias obtenidas se analizaron con el *software* ReCall®<sup>12</sup>. Solo las secuencias aprobadas por este *software* se usaron para generar un reporte de resistencia a la TR y P, de acuerdo con el programa HIVdb<sup>13</sup>.

La resistencia transmitida fue definida por la presencia de al menos una mutación mayor de resistencia presente en listado Drug Resistance Mutations for Surveillance of Transmitted HIV-1 Drug-Resistance (SDRM-2009)<sup>14</sup>.

### Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva mediante medidas de resumen de tendencia central (mediana) y medidas de dispersión (percentiles 25 y

75) para las variables de tipo cuantitativa. Para las variables de tipo cualitativa se utilizaron medidas de frecuencia absoluta y relativa. La prevalencia se presenta en intervalos de confianza de 95%, asumiendo una distribución binomial. La estimación de los factores de riesgos asociados a resistencia a las distintas familias de antirretrovirales aplicó un modelo de regresión logística bivariado con sus respectivos intervalos de confianza a 95% (IC 95%). Para todas las pruebas se consideró un  $p$  *value* < 5%. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa Stata v12.1.

## Resultados

Un total de 220 pacientes voluntarios fueron reclutados para el estudio. La mediana de edad fue de 29 años (IQR 25-34) y en su mayoría de sexo masculino, 99% (219/220).

La mediana de recuento de CD4 fue de 365 cel/ $\mu$ L (IQR 250-499), y la mediana de carga viral fue de 39.150 copias/mL (IQR 9270-120.000 copias/mL). La vía de transmisión predominante fue hombres que tienen sexo con hombres (94%).

La resistencia transmitida global de acuerdo a las mutaciones de vigilancia establecidas por la OMS fue de 10,45% (95% CI 6,7-15,2; N 23/220).

La resistencia transmitida a inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa reversa (INNTR) fue la más prevalente, con 9,0% (95% CI 5,6-13,6; N: 20/220), seguida por la resistencia a inhibidores nucleosídicos de la transcriptasa reversa (INTR), 1,8% (95% CI 0,49-4,5) y, posteriormente, por la resistencia a los inhibidores de proteasa (IP), 0,45% (95% CI 0,01-2,5).

Las mutaciones asociadas a resistencia encontradas en los INNTR fueron: K103N con 6,36% (95% CI 3,5-10,4; N: 14/220), seguida por K101E (1,8%; 95% CI 0,49-4,5; N 4/220), V106M (0,9%; 95% CI 0,11-3,24; N: 2/220) y G190E (0,9%; 95% CI 0,11-3,24; N: 2/220). Se detectó también la presencia de E138A/K, 6,8% (95% CI 3,86-10,99).

Las mutaciones asociadas a resistencia en los INTR fueron M41L, L210W, D67N, K70E, M184V (0,45%, 95% CI 0,01-2,5), y para los IP solo la I84V (0,45%, 95% CI 0,01-2,5).

De los 23 pacientes en que se detectó resistencia transmitida, solo 2 presentaron mutaciones asociadas a resistencia a 2 familias de antirretrovirales, que correspondieron a INNTR e INTR.

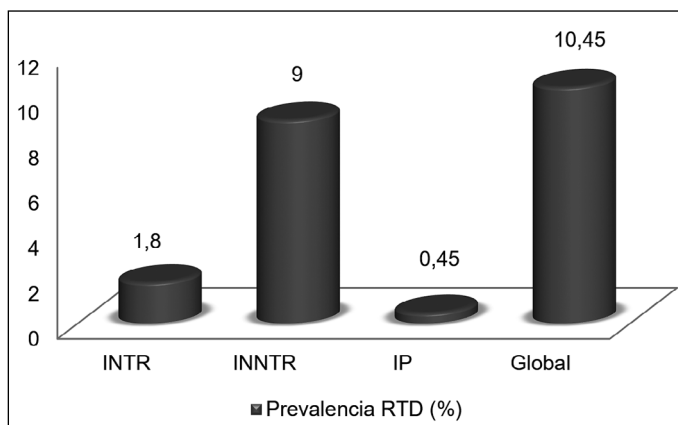
Se realizó análisis multivariado sin encontrar diferencias significativas en pacientes con y sin resistencia, respecto a recuento de CD4 y carga viral.

## Discusión

Este es el primer estudio con una muestra significativa de pacientes que da cuenta de la prevalencia de resistencia transmitida en nuestro país. Se evidencia un aumento importante de RTD en Chile, el último registro publicado fue de 2,7% en el año 2010<sup>9</sup> y la prevalencia global registrada en nuestro estudio fue de 10,45%.

La resistencia transmitida es un fenómeno a nivel mundial, que requiere monitoreo continuo por su constante evolución y su impacto en la toma de decisiones para la terapia de primera línea.

En América Central, Caribe y América del Sur (LAC) el acceso a TAR se ha implementado en forma escalonada desde hace más de una década,



**Figura 1.** Prevalencia de resistencia transmitida global y por grupo de drogas antirretrovirales. RTD: resistencia transmitida a drogas antirretrovirales; INTR: inhibidores nucleosídicos de la transcriptasa reversa; INNTR: inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa reversa; IP: inhibidores de proteasa.

**Tabla 1. Caracterización clínica de los 23 pacientes con RTD y detalle de las mutaciones registradas**

Paciente	Edad (años)	Sexo	CD4 (cels/ul)	Carga viral (copias/ml)	Mutaciones
1	22	M	294	360.000	K103N
2	29	M	485	1.700	G190E
3	24	M	271	220.000	K101E
4	29	M	488	13.000	K103N
5	30	M	499	56.000	K103N
6	23	M	833	15.000	K103N
7	24	M	268	< 20	K103N
8	24	M	96	120.000	K103N
9	20	M	340	23.000	V106M
10	24	M	415	25.000	K103N, D67N, V106M, K70E
11	23	M	204	67.300	K103N
12	34	M	590	5.020	K103N
13	30	M	236	49.000	K103N, M184V
14	26	M	479	11.200	K101E
15	27	M	384	58.700	K101E
16	35	M	877	29.700	K103N
17	36	M	278	67.000	K103N
18	32	M	850	9.920	L210W
19	35	M	311	134.000	M41LM
20	25	M	531	958	G190E
21	42	M	580	6.000	K103N
22	23	M	420	2.228	K103N
23	31	M	848	2.200	I84V

M: masculino.

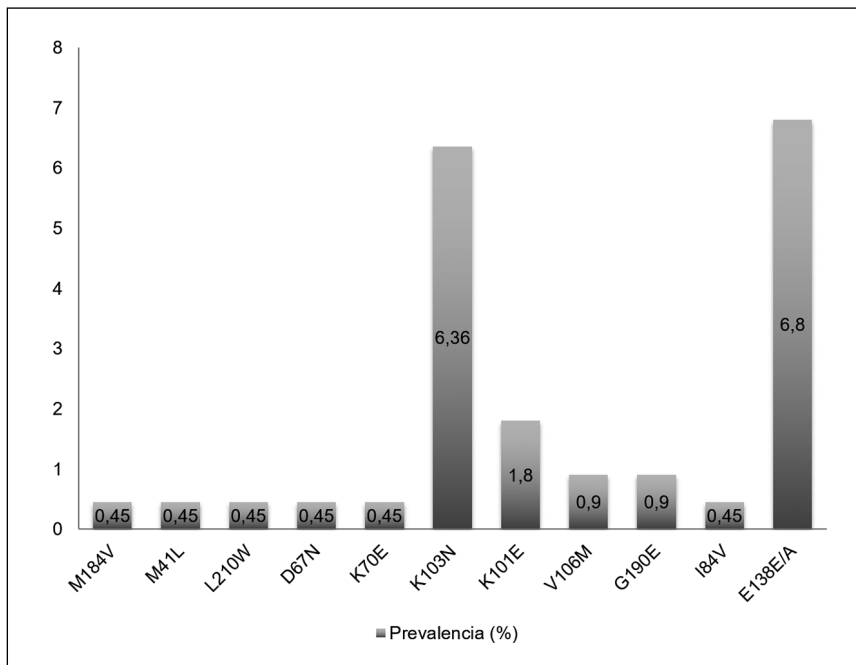
la mayoría de los pacientes en LAC comenzaron con triterapia, por lo que históricamente la RTD en esta región del mundo había sido menor comparada con aquellos países que inicialmente partieron con mono-biterapia. Sin embargo, los mayores cambios se están reflejando en esta región, con aumento progresivo en muchos países, igualando a cifras de lo que ocurre en Estados Unidos de Norteamérica y Europa<sup>15,16</sup>.

La prevalencia de RTD en LAC es estimada en 7,7% para el período 2000-2015, siendo de 8,2% si se analiza el último período 2006-2015<sup>15</sup>. Se han registrado ascensos progresivos en los últimos períodos evaluados, fundamentalmente en Brasil y Argentina, que es de donde se cuentan

con mayores estudios de RTD, con prevalencias que hasta se han duplicado, en Argentina 3,9% en período 2003-2005 aumentó a 8,4% en período 2006-2008<sup>17,18</sup> e, incluso, estudios recientes la cifran en 13,0%<sup>19</sup> y en Brasil, de 5,6% en período 1998-2002 a 12,2% en el período 2009-2011<sup>20,21</sup>.

El historial de la TAR en cada una de las regiones del mundo es muy diversa, sobre todo en Latinoamérica, lo que puede explicar estas cifras y las distintas tendencias.

La RTD por grupo de antirretrovirales registrada en LAC ha presentado cambios significativos en el último tiempo, con incrementos de RTD a INNTR (4,2%) y descenso a INTR (3,8%), manteniéndose estable respecto a IP (1,8%), tendencias



**Figura 2.** Prevalencia de mutaciones registradas en los pacientes VIH *naive* a TAR analizados con genotipificación.

similares se registran en publicaciones realizadas en Estados Unidos de Norteamérica<sup>22</sup>, Alemania<sup>23</sup>, Brasil<sup>24</sup>, y, a su vez, concuerdan con lo presentado en nuestro estudio donde la RTD a INNTR es la más prevalente con 9,0%, seguido de los INTR 1,8% e IP 0,45%.

Cabe mencionar que, si bien en Europa y en países como Estados Unidos de Norteamérica las prevalencias globales de RTD se han mantenido estables en los últimos 10 años, entre 9,0% y 14,0%<sup>25-29</sup>, la prevalencia de TDR a INNTR ha presentado un aumento significativo, destacando la mutación K103N como la más registrada<sup>22-27</sup>. Esta mutación también fue la más prevalente en nuestra muestra de pacientes (6,36%) y predomina en otros estudios realizados en diferentes regiones de América y del mundo.

La presencia de esta mutación se asocia con altos niveles de resistencia a INNTR, nevirapina y efavirenz, drogas que hasta ahora forman parte del régimen recomendado en Chile para la terapia inicial en las infecciones por VIH.

Otras mutaciones encontradas para INNTR K101E, E138A/K, G190E también están asociados con la resistencia a nevirapina, efavirenz y rilpivirina.

Se detectó con alta prevalencia la mutación E138A/K, 6,8% (95% CI 3,86-10,99) que confiere resistencia a rilpivirina (INNTR). Si bien esta mutación es considerada polimórfica, ya que ocurre en 1 a 4% de pacientes virgen a TAR<sup>30,31</sup>, los estudios *in vitro* evidencian que reduce 2 veces la sensibilidad a rilpivirina<sup>32,33</sup>. De lo que ocurre *in vivo* no hay certeza, pero si podemos considerar 2 aspectos, primero que en los estudios pivotaes fase 3 a esta droga, los pacientes con esta mutación fueron excluidos<sup>34</sup> y segundo, los pacientes que fallan a rilpivirina desarrollan la E138K<sup>31</sup>. Esta mutación no fue parte de la medición de prevalencia, ya que no está registrada en las mutaciones de vigilancia de resistencia transmitida publicadas por la OMS<sup>14</sup> y, por lo mismo, en la mayoría de los estudios<sup>23,25,27</sup> es registrada en forma independiente, sin embargo, adquiere relevancia en pacientes que iniciarían terapia antirretroviral con rilpivirina y la probabilidad de falla virológica.

Respecto a las mutaciones asociadas a resistencia a INTR encontradas M41L, L210W, D67N, K70E, M184V, todas se presentaron en baja frecuencia (Figura 2) y son mutaciones descritas en otras series de pacientes con RTD, solo mencionar que la M184V que confiere resistencia a lamivu-

dina, emtricitabina, didanosina y abacavir, es una mutación que se describe de forma excepcional en los registros de RTD actuales, siendo más prevalentes las TAM M41L y L210W<sup>15, 22-29</sup>.

La única mutación a IP fue la I84V, que confiere resistencia a darunavir, lopinavir/ritonavir y atazanavir, no es una mutación prevalente en los registros de RTD de otros países del mundo<sup>15, 22-29</sup>.

Conocer la prevalencia de RTD en nuestro país es muy relevante y debiera tener un impacto importante en la toma de decisiones, ya otros autores, como Sax et al., reportan que en lugares donde la prevalencia de RTD es > 1%, la genotipificación para el test de resistencia antes del comienzo de la TAR es considerado costo-efectivo<sup>35</sup>.

En Chile, hasta el momento no se ha considerado realizar un test de genotipificación basal, sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio debieran determinar un cambio en las recomendaciones de inicio de TAR, y la indicación de INNTR en primera línea, sugiriendo genotipificación basal a pacientes que vayan a iniciar terapia con efavirenz y rilpivirina.

Cabe mencionar que en este estudio no se realizó monitoreo de RTD a inhibidores de integrasa dado la baja prevalencia de esta familia a nivel mundial, lo cual hace poco probable que en Chile sea la excepción<sup>36</sup>.

Finalmente, consideramos que es importante actualizar la información de lo que está ocurriendo con la RTD en Latinoamérica, ya que el monitoreo continuo en el tiempo otorgará datos relevantes que nos permitirán tener estrategias actualizadas y consensuadas sobre el cuidado de las personas que viven con VIH en la región.

**Agradecimientos:** Dra. Valeria Palma agradece a todo el equipo del Laboratorio de Medicina Molecular Hospital Clínico Universidad de Chile. También a su familia, que sin ellos nada de esto sería posible.

## Referencias

1. ONUSIDA/Aidsinfo. <https://www.unaids.org/es/regionscountries/countries/chile>, acceso 2 marzo 2020.
2. Boletín Vigilancia Laboratorio. Resultados confirmación de infección por VIH. Chile, 2010-2018 Instituto Salud Pública. Chile. Boletín 2019; 9 (8).
3. Rhee SY, Taylor J, Fessel WJ, Kaufman D, Towner W, Troia P, et al. HIV-1 protease mutations and protease inhibitor cross-resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54 (10): 4253- 61.
4. Chaix ML, Desquilbet L, Descamps D, Costagliola D, Deveau C, Galimand J, et al; French PRIMO Cohort Study Group (ANRS CO 06); French ANRS AC11 Resistance Study Group. Response to HAART in French patients with resistant HIV-1 treated at primary infection: ANRS Resistance Network. *Antivir Ther* 2007; 12 (8): 1305-10.
5. 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 HIV (EuroCoord-CHAIN joint project): a European multicohort study. *Lancet Infect Dis* 2011; 11 (5): 363-71. doi: 10.1016/S1473-3099 (11) 70032-9.
6. Bansi L, Geretti AM, Dunn D, Hill T, Green H, Fearnhill E, et al; UK Collaborative Group on HIV Drug Resistance and UK Collaborative HIV Cohort (CHIC) Study. Impact of transmitted drug-resistance on treatment selection and outcome of first-line Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART). *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010; 53 (5): 633-9.
7. Afani A, Ayala M, Meyer A, Cabrera R, Acevedo W. [Primary resistance to antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS in Chile]. *Rev Med Chile* 2005; 133 (3): 295-301.
8. Rios M, Villanueva C, San Martin C, Ramirez E. [Identification of B and F human immunodeficiency virus subtypes in Chilean patients]. *Rev Med Chile* 2003; 131 (7): 711-8.
9. Afani A, Beltrán C, María Gallardo A, Roessler P, Acevedo W, Vásquez P. Resistencia primaria en pacientes con infección reciente por VIH-1 en Chile. *Rev Med Chile* 2010; 138 (6): 669-76.
10. Hecht FM, Wang L, Collier A, Little S, Markowitz M, Margolick J, et al. A multicenter observational study of the potential benefits of initiating combination antiretroviral therapy during acute HIV infection. *J Infect Dis* 2006; 194: 725-33.
11. Lee GQ, Swenson LC, Poon AFY. Prolonged and Substantial Discordance in Prevalence of Raltegravir-Resistant HIV-1 in Plasma versus PBMC Samples Revealed by 454 "Deep" Sequencing. *PLoS ONE* 2012; 7: e46181.
12. Woods CK, Brumme CJ, Liu TF, Chui CKS, Chu AL, Wynhoven B, et al. Automating HIV drug resistance genotyping with RECall, a freely accessible sequence analysis tool. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 1936-42.
13. HIVdb program: sequence analysis. Available at: <https://>

- hivdb.stanford.edu/hivdb/by-sequences/. Accessed: December 2019.
14. Bennett DE, Camacho RJ, Otelea D, Kuritzkes DR, Fleury H, Kiuchi M, et al. Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 drug-resistance: 2009 update. *PLoS One* 2009; 4 (3): 4724.
  15. Avila-Rios S, Sued O, Rhee S-Y, Shafer RW, Reyes-Teran G, Ravasi G (2016) Surveillance of HIV Transmitted Drug Resistance in Latin America and the Caribbean: A Systematic Review and Meta- Analysis. *PLoS ONE* 11 (6): e0158560. doi:10.1371/ journal. pone. 0158560.
  16. Pineda-Pena AC, Bello DC, Sussmann O, Vandamme AM, Vercauteren J, van Laethem K, et al. HIV-1 transmitted drug resistance in Latin America and the Caribbean: what do we know? *AIDS Rev* 2012; 14: 256-67.
  17. Pando MA, Gómez-Carrillo M, Vignoles M, Rubio AE, dos Ramos Farias MS, Vila M, et al. Incidence of HIV type 1 infection, antiretroviral drug resistance, and molecular characterization in newly diagnosed individuals in Argentina: A Global Fund Project. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2011; 27: 17-23.
  18. Rubio A, Pando M, Dileria D, Trincherro J, Rovner N, Salomon H. Primary resistance in newly diagnosed HIV-1 infected drug-naïve individuals from Buenos Aires, Argentina: a two-period comparison. In: 18th International HIV Drug Resistance Workshop Basic Principles & Clinical Implications; Fort Myers, Florida. *Antivir Ther* 2009; 14 (Suppl 1): A175. [Abstract 152]
  19. Bissio E, Barbás MG, Bouzas MB, Cudolá A, Salomón H, Espínola L, et al. Pretreatment HIV-1 drug resistance in Argentina: results from a surveillance study performed according to WHO-proposed new methodology in 2014-15. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72: 504-10.
  20. Alencar CS, Sabino EC, Carvalho SMF, Leao S, Carneiro- Proietti AB, Capuani L, et al. HIV genotypes and primary drug resistance among HIV seropositive blood donors in Brazil: role of infected blood donors as sentinel populations for molecular surveillance of HIV. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2013; 63 (3): 387-92.
  21. Barreto C, Nishyia A, Araujo L, Ferreira J, Busch M, Sabino E. Trends in antiretroviral drug resistance and clade distributions among HIV-1-infected blood donors in Sao Paulo, Brazil. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; 41: 338- 41.
  22. Rhee SY, Clutter D, Fessel WJ, Klein D, Slome S, Pinsky BA, et al. Trends in the Molecular Epidemiology and Genetic Mechanisms of Transmitted Human Immunodeficiency Virus Type 1 Drug Resistance in a Large US Clinic Population. *Clin Infect Dis* 2019; 68: 213-21.
  23. Machnowska P, Meixenberger K, Schmidt D, Jessen H, Hillenbrand H, Günsenheimer- Bartmeyer B, et al. (2019) Prevalence and persistence of transmitted drug resistance mutations in the German HIV-1 Seroconverter Study Cohort. *PLoS ONE* 14 (1): e0209605. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209605>.
  24. Bahls LD, Canezin PH, Reiche EMV, Fernández JCC, Dias JRC, Meneguetti VAF, et al. Moderate prevalence of HIV-1 transmitted drug resistance mutations in southern Brazil. *AIDS Res Ther* 2019; 16: 4. doi: 10.1186/s12981-019-0219-1.
  25. Ross LL, Shortino D, Shaefer MS. Changes from 2000 to 2009 in the Prevalence of HIV-1 Containing Drug Resistance-Associated Mutations from Antiretroviral Therapy-Naive, HIV-1-Infected Patients in the United States. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2018; 34 (8): 672-9.
  26. Olson A, Bannert N, Sonnerborg A, de Mendoza C, Price M, Zangerle R, et al. Temporal trends of transmitted HIV drug resistance in a multinational seroconversion cohort. *AIDS* 2018; 32 (2): 161-9. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001689>. PMID: 29112061.
  27. Hofstra LM, Sauvageot N, Albert J, Alexiev I, Garcia F, Struck D, et al. Transmission of HIV Drug Resistance and the Predicted Effect on Current First-line Regimens in Europe. *Clin Infect Dis* 2016; 62 (5): 655-63. <https://doi.org/10.1093/cid/civ963>. PMID: 26620652; PubMed Central PMCID: PMC4741360.
  28. Vercauteren J, Wensing AM, van de Vijver DA, Albert J, Balotta C, Hamouda O, et al. Transmission of drug-resistant HIV-1 is stabilizing in Europe. *J Infect Dis* 2009; 200 (10): 1503-8. <https://doi.org/10.1086/644505> PMID: 19835478.
  29. Frentz D, Van de Vijver DA, Abecasis AB, Albert J, Hamouda O, Jorgensen LB, et al. Increase in transmitted resistance to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors among newly diagnosed HIV-1 infections in Europe. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 407. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-407> PMID: 25047543; PubMed Central PMCID: PMC4223652.
  30. Sluis-Cremer N, Jordan MR, Huber K, Wallis CL, Bertagnolio S, Mellors JW, et al. E138A in HIV-1 reverse transcriptase is more common in subtype C than B: implications for rilpivirine use in resource-limited settings. *Antiviral Res* 2014; 107: 31-4.
  31. Rimsky L, Van Eygen V, Hoogstoel A, et al. 96-week resistance analyses of rilpivirine in treatment-naive, HIV-1-infected adults from the ECHO and THRIVE phase III trials. *Antivir Ther* 2013; 18: 967-77.
  32. Xu HT, Colby-Germinario SP, Asahchop EL, Oliveira M, McCallum M, Schader SM, et al. Effect of mutations at position E138 in HIV-1 reverse transcriptase and their interactions with the M184I mutation on defining patterns of resistance to nonnucleoside reverse trans-

- criptase inhibitors rilpivirine and etravirine. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 3100-9.
33. Picchio GR, Rinsky LT, Van Eygen V, Haddad M, Napolitano LA, Vingerhoets J. Prevalence in the USA of rilpivirine resistance-associated mutations in clinical samples and effects on phenotypic susceptibility to rilpivirine and etravirine. *Antivir Ther* 2014; 19: 819-23.
  34. Molina JM, Cahn P, Grinsztejn B, Lazzarin A, Mills A, Saag M, et al. Rilpivirine versus efavirenz with tenofovir and emtricitabine in treatment-naive adults infected with HIV-1 (ECHO): a phase 3 randomised double-blind active-controlled trial. *Lancet* 2011; 378: 238-46.
  35. Sax PE, Islam R, Walensky RP, Losina E, Weinstein MC, Goldie SJ, et al. Should resistance testing be performed for treatment-naive HIV-infected patients? A cost-effectiveness analysis. *Clin Infect Dis* 2005; 41 (9): 1316-23.
  36. Koullias Y, Sax PE, Fields NF, Walensky RP, Hyle EP. Should We Be Testing for Baseline Integrase Resistance in Patients Newly Diagnosed With Human Immunodeficiency Virus? *Clin Infect Dis* 2017; 65 (8): 1274-81.