

# Resistencia del VIH en mujeres embarazadas de Honduras durante el año 2015

Leda Parham, Wendy Murillo, Ivette Lorenzana de Rivera <sup>1</sup>

## RESUMEN

El tratamiento antirretroviral (TARV) en mujeres embarazadas ha contribuido a la prevención de la transmisión del VIH de madre a hijo. Sin embargo, el desarrollo de resistencia del VIH-1 a la TARV es un problema latente y puede reducir la eficacia del tratamiento en las mujeres embarazadas, generar un riesgo de transmisión de madre a hijo e impactar el manejo clínico de las mujeres embarazadas o de los niños que resulten infectados.

Este estudio determinó la presencia de resistencia en mujeres embarazadas VIH-1 positivo (recibiendo TARV) de Tegucigalpa y San Pedro Sula durante el año 2015. Un total de 63 participantes fueron analizadas y en 35 de ellas se obtuvo amplificación exitosa del gen pol del VIH-1 para evaluar la presencia de mutaciones asociadas a resistencia.

La cuantificación de carga viral y conteo de CD4 fue realizado a todas las participantes. La prevalencia global de resistencia fue del 17 %. Un 62 % de las participantes presentaron carga viral detectable y en el 16 % recuentos celulares  $\leq 200$  células/mm<sup>3</sup>. La prevalencia de resistencia, la viremia y bajos recuentos celulares indican que podría existir un riesgo de transmisión vertical en esta cohorte.

Este estudio proporciona datos actuales sobre la prevalencia de la resistencia a la TARV en población femenina embarazada VIH-1 positivo de Honduras y refleja la necesidad de realizar de forma rutinaria y permanente pruebas de resistencia, carga viral y conteo de CD4, con el fin de apoyar en la prevención de la transmisión del VIH-1 en el binomio madre-hijo.

---

<sup>1</sup> Beneficiarias de una beca sustantiva de la DICYP, Laboratorio de Virología, Escuela de Microbiología, UNAH: lparham29@hotmail.com

**Palabras clave:** *Virus de la inmunodeficiencia Humana (VIH), mutaciones asociadas a resistencia, tratamiento antiretroviral (TARU)*

## **ABSTRACT**

Antiretroviral therapy (ART) in pregnant women has contributed to the prevention of HIV transmission from mother to child. However, the development of HIV-1 resistance to antiretroviral therapy is a serious problem, which can reduce the efficacy of treatment in pregnant women, generating a risk of transmission from mother to child and also generating impact on the clinical management of pregnant women or children who become infected.

This study determined the presence of resistance in HIV-1 positive pregnant women (receiving ARV) who live in Tegucigalpa and San Pedro Sula during the year 2015. A total of 63 participants were tested and 35 of them obtained a successful HIV-1 pol gene amplification to evaluate the presence of resistance mutations.

Quantification of viral load and CD4 count was performed on all participants. The overall prevalence of resistance was 17%. Of all the participants, 62% had detectable viral load and 16% had cell counts  $\leq 200$  cells / mm<sup>3</sup>. The prevalence of resistance, viremia and low cell counts indicated that there could be a risk of vertical transmission in this cohort.

This study provides current data on the prevalence of resistance to antiretroviral therapy in HIV-1 positive pregnant honduran women. The study reflects the need for routine and permanent tests, viral load and CD4 count, in order to support the prevention of HIV-1 transmission to the mother and child.

**Keywords:** *Human Immunodeficiency Virus (HIV), resistance mutations, antiretroviral treatment (ART)*

## INTRODUCCIÓN

La pandemia causada por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1) afecta a unos 36.9 millones de personas; proximadamente la mitad de esa cifra (47 %) corresponde a mujeres. En la actualidad más de 2.6 millones de niños se encuentran infectados, estimándose que en el 90 % la vía de transmisión es de madre a hijo (UNAIDS, 2012).

El uso de los regímenes de tratamiento antirretroviral (TARV) en mujeres embarazadas es considerada una de las estrategias de prevención más importantes para reducir la transmisión de madre a hijo, debido a que la TARV suprime la replicación viral y restablece y preserva las funciones inmunes (Cooper et al., 2002), sin embargo, el uso de drogas antiretrovirales (ARV) puede inducir el desarrollo de resistencia, pudiendo exponer al niño a riesgo de transmisión (Clavel & Hance, 2004) y disminuyendo las opciones de TARV para el binomio madre-hijo (Duran et al., 2007; Hoffmann C. and Rockstroh, 2012; Johnson et al., 2001; Lyons et al., 2005).

En Honduras se estimó que la prevalencia de VIH-1 en mujeres embarazadas era del 0.1 % para el año 2014 (Boletín Epidemiológico ITS/VIH/SIDA, 2014). El uso de TARV en Honduras para la prevención de la transmisión del VIH-1 de madre a hijo inició desde el año 2000 utilizando la monoterapia o biterapia (García O. Sierra T, 2006); luego en el año 2008, fue implementado el uso de triple terapia a partir de las 28-34 semanas de embarazo (Manual de Atención Integral a la Embarazada para la Prevención de la Transmisión del VIH de Madre a Hijo o Hija, 2013); posteriormente, se introdujo la TARV en mujeres embarazadas desde su momento de diagnóstico, tanto para tratamiento como para fines de prevención de transmisión al producto (Boletín Epidemiológico ITS/VIH/SIDA, 2012), por lo que el estudio de resistencia a las drogas ARV en mujeres embarazadas ha sido considerado de gran importancia para el país.

A través del presente estudio fue posible determinar en un grupo de mujeres embarazadas VIH positivo durante el año 2015, de diferentes centros asistenciales de Tegucigalpa y San Pedro Sula, si eran portadoras de cepas de VIH-1 resistentes a ARV. Los resultados obtenidos aportan evidencia valiosa sobretodo para el Sistema Nacional de Salud para la evaluación de las guías actuales de manejo en mujeres embarazadas en Honduras.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **1. Población de estudio**

El estudio es de tipo cuantitativo y de diseño descriptivo transversal, debido a que se determinó la prevalencia de la resistencia del VIH-1 a TARV en una única población de estudio (mujeres embarazadas con VIH-1 positivo) con un muestreo en un solo punto de tiempo.

La población femenina embarazada VIH positivo era mayor de 18 años, atendida durante el periodo de enero a septiembre de 2015, en tres centros de atención integral (CAI) del Hospital Escuela Universitario, Centro de Salud Alonso Suazo y del Instituto Hondureño de Seguridad Social (IHSS), en Tegucigalpa; y del Hospital Mario Catarino Rivas de San Pedro Sula. Un total de 63 mujeres embarazadas que cumplieron los criterios de inclusión fueron invitadas a participar de manera voluntaria por medio de un consentimiento informado. Todas las participantes ya se encontraban bajo regímenes de TARV previo a su embarazo al momento de su inclusión en el estudio. Muestras de sangre total fueron colectadas en tubos con EDTA entre las 9 a 36 semanas de embarazo, de las muestras obtenidas se separó el plasma que fue utilizado para los análisis de resistencia para VIH-1, carga viral y de la sangre total se hizo el conteo de linfocitos T CD4+.

### **2. Cuantificación de la carga viral y conteo de células CD4**

En la cuantificación de los niveles de RNA viral se utilizó el sistema amplicor HIV-1 monitor (Roche, Rotkreuz, Suiza). El límite inferior de detección fue de <50 HIV-1 RNA copias/ml y el límite superior de cuantificación es de 100,000 copias/ml. Los conteos de células CD4 fueron realizados utilizando anticuerpo monoclonal anti-CD4 a través de la metodología de citometría de flujo con láseres argón y detectando fluorescencia en el equipo BD FACSCanto II (Becton, Dickinson and Company, EE.UU.).

### **3. Analisis de resistencia**

Para el análisis de resistencia del VIH-1 a las drogas ARV se realizó la genotipificación del gen pol del virus a partir del material genético extraído de plasma con el método QIAmp ARN (QIAGEN®, Santa Clara, California, EE.UU.), que posteriormente fue amplificado en la Sección de Virología de la Escuela de Microbiología de la

UNAH, con un protocolo de PCR in-house (Lindstrom & Albert, 2003), utilizando la enzima thermoscript y los primers JA269 y JA272.

Los productos de PCR fueron enviados a la compañía Macrogen en Estados Unidos de Norteamérica (EE.UU.) para su secuenciación. Las secuencias obtenidas fueron remitidas por la compañía Macrogen a la Sección de Virología de la Escuela de Microbiología de la UNAH y estas fueron ensambladas en el programa bioinformático Sequencher (Gene Codes Corp., Ann Arbor, MI, EE.UU.), alineadas en el programa BioEdit version 7.0.9.0. (Hall, 1999) y luego analizadas en la base de datos de resistencia de la Universidad de Stanford de EE.UU. (Stanford HIVseq Sequence Analysis Program version 4.2 [<http://hivdb.stanford.edu>]) para determinar la susceptibilidad o resistencia del VIH a los inhibidores nucleósidos de transcriptasa reversa (NRTI), inhibidores no-nucleósidos de transcriptasa reversa (NNRTI) e inhibidores de proteasa (PI) mediante la lista de mutaciones de resistencia adquirida de la IAS-2014 (Wensing et al., 2014). Adicionalmente, se determinó el subtipo viral utilizando el programa bioinformático MEGA 4 (Tamura, Dudley, Nei, & Kumar, 2007).

#### **4. Análisis estadístico**

La prevalencia de la resistencia fue calculada con 95 % de intervalo de confianza (IC 95 %) en base a distribución binomial. Para la comparación de proporciones fue utilizada la prueba de Fisher. Los programas estadísticos EpiInfo software 6.4 (Center for Disease Control and Prevention, CDC) e InfoStat versión 1.1, fueron utilizados.

## **RESULTADOS**

### **1. Características de la población analizada**

Se analizaron 63 muestras de mujeres embarazadas VIH-1 positivo recibiendo TARV y que cumplieran con el criterio de inclusión (mayores de 18 años), quienes consintieron participar en el estudio, con una media de edad de 26 años (rango 19-38 años); 35 % (n=22) procedentes de Tegucigalpa y 65 % (n=41) de San Pedro Sula. La media de tratamiento fue de 4 años (rango 1-13 años), el 65 % (41/63) de las mujeres embarazadas se encontraban bajo el régimen de TARV zidovudina combinado con lamivudina y efavirenz (ver tabla 1).

**Tabla 1. Características de la población de estudiada 2015**

Descripción	Resultados
No. de pacientes	n=63
Ruta de transmisión [n (%)]	
Transmisión sexual	59 (93 %)
Transmisión vertical	4 (7 %)
Semanas de gestación al momento de toma de muestra [media (rango)]	24 (9-36)
Tiempo en TARV [media (rango)]	4 (1-14 años)
Tratamientos administrados [n (%)]	
NRTI/NNRTI: (AZT + 3TC + EFV)	41/63 (65 %)
NRTI/PI: (AZT + 3TC + LPV/r)	19/63 (30 %)
NRTI/NNRTI: FTC + EFV + TDF	2/63 (3 %)
NRTI/NNRTI: AZT/3TC/NVP	1/63 (2 %)
Conto de células CD4 (células/ul) [media (rango)]	478 (21-1,156)
Carga viral (copias/ml) [media (rango)]	74,890 (<40-168,060)

NRTI: inhibidores nucleósidos de la transcriptasa reversa; NNRTI: inhibidores no-nucleósidos de la transcriptasa reversa; PI: inhibidores de proteasa. AZT: Zidovudina; 3TC: Lamivudina; EFV: Efavirenz; LPV/r: Lopinavir/ritonavir; FTC: Emtricitabine; TDF: Tenofovir.

## 2. Niveles de RNA viral y conteo de células CD4

La media de la carga del VIH-1 en el plasma en la población de estudio fue de 74,890 copias/ml (rango < 40 - 168,060 copias/ml) (ver tabla 1); de las 63 participantes, 39 (62 %) tenían niveles de virus > 50 copias/ml. El 13 % (5/39) de las mujeres con viremia detectable tenían niveles de virus superiores a 10,000 copias/ml. Con relación al conteo de células CD4, el 16 % (10/63) de las mujeres embarazadas presentaron recuentos  $\leq 200$  células/mm<sup>3</sup>.

Tabla 2. Mutaciones asociadas a resistencia en mujeres embarazadas con TARV – 2015

ID	Inicio Tx (#años)	TARV	Mutaciones asociadas a resistencia		Nivel de resistencia		
			NRTI	NNRTI	Baja	Intermedia	Alta
<b>01MS</b>	2013 (2a)	AZT/3TC/ NVP	-	K103N, V106I	-	-	EFV, NVP
<b>04MS</b>	2013 (2a)	AZT/3TC/ NVP	V75AV, M184V	K101P, K103N	-	-	FTC, 3TC, EFV NVP, RPV
<b>6MT</b>	2004 (11a)	AZT/3TC/ NVP	T215S	V179D, P225HP	AZT ,d4T RPV	-	EFV, NVP
<b>13MT</b>	2005 (10a)	AZT/3TC/ NVP EMT/TNF/ LPV/r	M41L, M184V, L210W, T215Y	-	-	DDI, ABC, TDF	AZT, d4T, 3TC, ABC, DDI, FTC
<b>14MS</b>	2001 (14a)	AZT/3TC/ NVP ABC/3TC/ NFV	M184V	L100I, V179D, P225H	d4T	ETR	3TC, FTC, EFV, NVP, ETR, RPV
<b>ARA280</b>	2006 (9a)	AZT/3TC/ NVP	M41L, M184V, T215Y	K101E, G190S	TDF	ABC, DDI, ETR, RPV	AZT, d4T, 3TC, FTC, EFV, NVP

### 3. Detección de mutaciones del VIH-1 asociadas a resistencia a las drogas ARV

De las 63 muestras de mujeres embarazadas que fueron analizadas mediante las pruebas moleculares para la posterior secuenciación, se obtuvo la amplificación de la región pol del VIH-1 en 35 muestras (56 %). El porcentaje de resistencia detectado en la población de estudio fue del 17% (6/35; IC95% 6.5-33.6%) (ver tabla 2).

No se observa diferencia estadísticamente significativa ( $p=1.0$ ) entre el porcentaje de resistencia en las mujeres embarazadas de Tegucigalpa 18 % (3/16) y de San Pedro Sula 16 % (3/19).

Dos (44 %) mujeres embarazadas presentaron mutaciones asociadas a un alto nivel de resistencia a una sola clase de droga (NNRTI) y cuatro (66 %) a un alto nivel de resistencia tanto a drogas NRTI como a NNRTI, que son ampliamente utilizadas en el país. La prevalencia global de resistencia para las drogas (NNRTI y NRTI) fue del 14 %; (IC95 % 4-30 %). No se encontró resistencia para los inhibidores de proteasa en ninguna de las participantes analizadas.

Con respecto a las mutaciones encontradas, la mutación M184V de la clase de drogas NRTI fue la más frecuente (80 %). En dos mujeres embarazadas (33 %) se encontró presente la mutación K103N (NNRTI). Adicionalmente se encontró que las mujeres embarazadas analizadas están infectadas con el VIH-1 subtipo B.

## DISCUSIÓN

Se han realizado grandes progresos a nivel mundial en la prevención de la transmisión del VIH-1 de madre a hijo por medio del uso de TARV durante el embarazo (Townsend et al., 2008), sin embargo, un inconveniente es que la TARV puede promover el desarrollo de resistencia, teniendo como posibles consecuencias la transmisión de cepas virales resistentes al bebé, además de limitar las opciones de profilaxis o tratamiento en el futuro tanto para la madre como para su hijo, si el niño resulta infectado (Townsend et al., 2008), por lo que se consideró necesario realizar un monitoreo de la situación de resistencia en mujeres embarazadas VIH positivo durante el año 2015.

La resistencia detectada en las mujeres embarazadas analizadas fue del 17 %, lo que indica que en el grupo de participantes había limitada o no respuesta a uno o varios



fármacos antirretrovirales, por lo que probablemente la TARV empleada no fuera del todo efectiva en ellas.

Estos resultados son comparables a los obtenidos en estudios de Brasil y Jamaica (17-25 %) (Amarakoon et al., 2014; Cardoso, Pereira, Viegas, Schmaltz, & Stefani, 2010). El 100 % de las mujeres embarazadas (ver tabla 2) presentaron altos niveles de resistencia a las drogas NRTI o NNRTI, que son ampliamente utilizadas en el país como parte de los regímenes de tratamiento de primera línea (Boletín Epidemiológico ITS/VIH/SIDA, 2012) La mutación M184V detectada en el 80 % de las mujeres embarazadas se encuentra asociada a altos niveles de resistencia a la droga NRTI lamivudina (3TC), el resultado obtenido está en concordancia con otros estudios realizados en mujeres embarazadas, siendo en general una de las mutaciones encontradas más frecuentemente asociadas a la resistencia a los NRTI (Johnson et al., 2011).

El 100 % de las participantes que presentaron mutaciones para la clase de drogas NNRTI tenían altos niveles de resistencia a nevirapina (NVP) y efavirenz (EFV); esto se debe a la baja barrera genética de estas drogas NNRTI, lo cual promueve resistencia cruzada después de la emergencia de una mutación, por ejemplo K103N (Rajesh, Ramesh, Hanna, Narayanan, & Swaminathan, 2010).

No se encontraron mutaciones de resistencia a los inhibidores de proteasa, lo cual podría deberse a que esta clase de drogas tiene una alta barrera genética, por lo que requieren el acúmulo de varias mutaciones para el desarrollo de resistencia a una droga ARV o debido a un uso más limitado de esta clase de drogas (van de Vijver et al., 2006).

Los resultados obtenidos en la carga viral muestran niveles detectables de replicación del VIH-1 (62 % de mujeres embarazadas con carga viral >50 copias/ml y 13 % de ellas con niveles de virus superiores a 10,000 copias/ml), a pesar de encontrarse bajo TARV. Con relación al conteo de células CD4, 16 % de las mujeres embarazadas presentaron valores  $\leq 200$  células/mm<sup>3</sup>. Estos resultados son preocupantes, ya que tanto la carga viral detectable en la mujer embarazada como las células CD4 en niveles  $\leq 200$ /mm<sup>3</sup>, son considerados importantes factores de riesgo para la transmisión del virus de madre a hijo (Gilbert et al., 2007).

A través de este estudio se muestra que la resistencia del VIH-1 a las drogas ARV es un problema vigente en las mujeres embarazadas VIH-1 positivo de Honduras. Es evidente que existe una necesidad urgente de contar con la tecnología necesaria para realizar análisis de resistencia de forma rutinaria en el país, incluyendo como

prioridad a las mujeres embarazadas durante su control prenatal, esto para poder orientar qué régimen terapéutico puede ser efectivo para la salud de la mujer embarazada y para la prevención de la transmisión del VIH-1 al niño.

El estudio también refleja la utilidad de la detección de carga viral y conteo de células CD4 como pruebas complementarias para la prevención de la transmisión del VIH-1 de madre a hijo.

Adicionalmente, los resultados obtenidos son considerados valiosos, ya que además de enriquecer el conocimiento actual relacionado con la problemática del VIH/SIDA en la población materno-infantil del país, también servirán al Programa Nacional de VIH/SIDA en la evaluación de las guías actuales de profilaxis y tratamiento en mujeres embarazadas en Honduras.

## CONCLUSIONES

1. La resistencia global a drogas antiretrovirales en las mujeres embarazadas bajo tratamiento fue del 17 % (6/35; IC95 % 6.5-33.6 %) considerándose alta y de preocupación, pues indica que existe un riesgo potencial de transmisión del virus (al no limitar su replicación); incluso, que pudiera transmitirse un virus resistente al niño.
2. La resistencia encontrada a las clases de drogas NRTI y NNRTI en la población analizada tiene relevancia clínica, ya que las mutaciones detectadas confieren altos niveles de resistencia a estas clases de drogas y a que tanto los NRTI como los NNRTI son ampliamente utilizados en los regímenes de tratamiento y para la prevención de la transmisión del VIH-1 de madre a hijo en el país.
3. La carga viral detectable y el bajo recuento de células CD4 son considerados importantes factores de riesgo para la transmisión del virus de madre a hijo, por lo que es preocupante que en las mujeres embarazadas VIH positivo de Honduras este fenómeno aún siga presentándose (carga viral detectable en un 62 % y bajo recuento de CD4 en 16 % de las mujeres embarazadas de la cohorte analizada).

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Dirección de Investigación Científica y Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras, por el financiamiento otorgado para realizar el estudio. Asimismo, gracias a los doctores Luisamaría Pineda, Dennis Padgett, César Caballero y Gabriela Cano, por su valiosa colaboración para el desarrollo de este estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amarakoon, Il, Ramkisson, A., Pierre, R., Eyzaguirre, L. M., Carr, J. K., Blattner, W. A., & Roye, M. E. (2014). HIV-1 Antiretroviral Drug Resistance in Pregnant Women in Jamaica: A Preliminary Report. *West Indian Med J*, 63(6), 596-600. doi:10.7727/wimj.2014.016
- Boletín Epidemiológico ITS/VIH/SIDA*. (2012). Honduras Secretaría de Salud Pública.
- Boletín Epidemiológico ITS/VIH/SIDA*. (2014). Honduras Secretaría de Salud Pública.
- Cardoso, L. P., Pereira, G. A., Viegas, A. A., Schmaltz, L. E., & Stefani, M. M. (2010). HIV-1 primary and secondary antiretroviral drug resistance and genetic diversity among pregnant women from central Brazil. *J Med Virol*, 82(3), 351-357. doi:10.1002/jmv.21722
- Clavel, F., & Hance, A. J. (2004). HIV drug resistance. *N Engl J Med*, 350(10), 1023-1035. doi:10.1056/NEJMra025195
- Cooper, E. R., Charurat, M., Mofenson, L., Hanson, I. C., Pitt, J., Diaz, C., . . . Blattner, W. (2002). Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 29(5), 484-494.
- Duran, A. S., Losso, M. H., Salomon, H., Harris, D. R., Pampuro, S., Soto-Ramirez, L. E., . . . Read, J. S. (2007). Drug resistance among HIV-infected pregnant women receiving antiretrovirals for prophylaxis. *AIDS*, 21(2), 199-205. doi:10.1097/QAD.0b013e328011770b00002030-200701110-00010 [pii]
- García O. Sierra T, G. J., Lara B, Aragón M. (2006). Situación del Programa de Prevención de la Transmisión del VIH de Madre a Hijo en el 2005. *Boletín Epidemiológico ITS/VIH/SIDA - Honduras*, 1(11), 7.
- Gilbert, M. T., Rambaut, A., Wlasiuk, G., Spira, T. J., Pitchenik, A. E., & Worobey, M. (2007). The emergence of HIV/AIDS in the Americas and beyond. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104(47), 18566-18570. doi:0705329104 [pii]10.1073/p-

nas.0705329104

- Hall, T. (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucl. Acids.Symp. Ser.* 41 . 95-98.
- Hoffmann C. and Rockstroh, J. (2012). HIV 2012/2013. (2012 by Medizin Fokus Verlag, Hamburg). Recuperado de [www.hivbook.com](http://www.hivbook.com)
- Johnson, V. A., Calvez, V., Gunthard, H. F., Paredes, R., Pillay, D., Shafer, R., . . . Richman, D. D. (2011). 2011 update of the drug resistance mutations in HIV-1. *Top Antivir Med*, 19(4), 156-164.
- Johnson, V. A., Petropoulos, C. J., Woods, C. R., Hazelwood, J. D., Parkin, N. T., Hamilton, C. D., & Fiscus, S. A. (2001). Vertical transmission of multidrug-resistant human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and continued evolution of drug resistance in an HIV-1-infected infant. *J Infect Dis*, 183(11), 1688-1693. doi:JID001048 [pii]10.1086/320697
- Lindstrom, A., & Albert, J. (2003). A simple and sensitive 'in-house' method for determining genotypic drug resistance in HIV-1. *J Virol Methods*, 107(1), 45-51. doi:S016609340200188X [pii]
- Lyons, F. E., Coughlan, S., Byrne, C. M., Hopkins, S. M., Hall, W. W., & Mulcahy, F. M. (2005). Emergence of antiretroviral resistance in HIV-positive women receiving combination antiretroviral therapy in pregnancy. *AIDS*, 19(1), 63-67. doi:00002030-200501030-00007 [pii]
- Manual de Atención Integral a la Embarazada para la Prevención de la Transmisión del VIH de Madre a Hijo o Hija.* (2013). Honduras: Secretaría de Salud Pública.
- Rajesh, L., Ramesh, K., Hanna, L. E., Narayanan, P. R., & Swaminathan, S. (2010). Emergence of drug resistant mutations after single dose nevirapine exposure in HIV-1 infected pregnant women in south India. *Indian J Med Res*, 132, 509-512. doi:IndianJMedRes\_2010\_132\_5\_509\_73319 [pii]
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., & Kumar, S. (2007). MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol*, 24(8), 1596-1599. doi:msm092 [pii]10.1093/molbev/msm092
- Townsend, C. L., Cortina-Borja, M., Peckham, C. S., de Ruiter, A., Lyall, H., & Tookey, P. A. (2008). Low rates of mother-to-child transmission of HIV following effective pregnancy interventions in the United Kingdom and Ireland, 2000-2006. *AIDS*, 22(8), 973-981. doi:10.1097/QAD.0b013e3282f9b67a 00002030-200805110-00008 [pii]
- UNAIDS. (2012). Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic 2012. Recuperado de <http://www.unaids.org>
- Van de Vijver, D. A., Wensing, A. M., Angarano, G., Asjo, B., Balotta, C., Boeri, E., . . . Boucher, C. A. (2006). The calculated genetic barrier for antiretroviral drug resistance substitutions is largely similar for different HIV-1 subtypes. *J Acquir Immune*

*Defic Syndr*, 41(3), 352-360. doi:10.1097/01.qai.0000209899.05126.e4  
00126334-200603000-00013 [pii]

Wensing, A. M., Calvez, V., Gunthard, H. F., Johnson, V. A., Paredes, R., Pillay, D., . .  
. Richman, D. D. (2014). 2014 Update of the drug resistance mutations in HIV-1.  
*Top Antivir Med*, 22(3), 642-650.