

# Métodos de laboratorio para el diagnóstico pediátrico del VIH

Presidenta de la Nación  
**Dra. Cristina Fernández de Kirchner**

Ministro de Salud  
**Dr. Juan Luis Manzur**

Secretario de Promoción y Programas Sanitarios  
**Dr. Máximo Andrés Diosque**

Subsecretaria de Promoción y Control de Riesgos  
**Dra. Marina Kosacoff**

Director de Sida y ETS  
**Dr. Carlos Falistocco**

Autores  
**María Belén Bouzas**  
**Ana Cañizal**

Edición y corrección  
**Cecilia Dávila**

Diseño y diagramación  
**Carolina Berdiñas**

Dirección de Sida y ETS, Ministerio de Salud de la Nación.

Argentina, 2013

Está permitida la reproducción total o parcial de este material y la información contenida, citando fuente.

# Métodos de laboratorio para el diagnóstico pediátrico del VIH

Capítulo 3. A de  
"Atención integral de niños, niñas y adolescentes con VIH"  
UNICEF, Buenos Aires, 2012

## Métodos de laboratorio para el diagnóstico pediátrico del VIH

Es de vital importancia que el diagnóstico de infección en niños recién nacidos hijos de mujeres con VIH se realice lo más precozmente posible, ya que su identificación temprana colabora en la inmediata aplicación de la terapéutica apropiada. Asimismo, las estrategias de inmunización están supeditadas a dicho diagnóstico. Debido a que por transferencia transplacentaria los anticuerpos maternos del tipo IgG pueden estar presentes en el niño hasta los 18 meses de vida, el diagnóstico antes de esa edad debe realizarse exclusivamente a través de ensayos virológicos. Mientras que en niños de más de 18 meses una prueba de anticuerpos positiva confirmada con Western Blot indica infección por VIH.

No se conoce con precisión cuándo ocurre la transmisión perinatal, pero diversos estudios han sugerido que la mayoría de las transmisiones se producen muy tarde en el embarazo o en el parto.

Los métodos virológicos moleculares de detección de ácidos nucleicos, como la detección del RNA plasmático y el DNA proviral, son los empleados preferentemente en la actualidad, ya que el cultivo viral es lento y laborioso, y la detección de Ag p24, aun con disrupción de inmunocomplejos, tiene muy baja sensibilidad (8 a 32%).

Los estudios sobre estimación de la transmisión que han empleado como ensayo virológico la detección de DNA proviral por PCR han aportado evidencia de que aproximadamente un tercio de los niños infectados pueden ser diagnosticados dentro de las 48 horas de nacidos. Se considera que estos niños han contraído la infección tempranamente en útero. En cambio en los restantes, identificados con posterioridad, se asume que la transmisión de la infección fue tardía, presumiblemente en el periparto. Esta sería una razón por la cual la sensibilidad de este ensayo en los primeros días de vida no alcanzaría los niveles de detección óptimos. La sensibilidad de un solo ensayo de DNA PCR realizado a menos de 48 horas de vida es menor al 40%, pero aumenta rápidamente durante la segunda semana (93%) y alcanza el 96% a los 28 días de vida, y con una especificidad del 99%. Este marcador es sumamente importante, en particular en niños con resultados previos negativos, ya que el valor predic-

tivo del negativo es del 100% a los 6 meses de vida. En su mayoría, estos ensayos son desarrollados en el laboratorio y en general deberían incluir la detección de más de un gen de VIH, además de la detección de un gen celular.

Por otra parte, los ensayos desarrollados en el laboratorio para DNA proviral deberían además ser evaluados en su sensibilidad para la detección de subtipos no-B y sus formas recombinantes, como los que circulan en nuestro país, ya que esta podría estar disminuida tratándose de una técnica de amplificación genómica. Finalmente, respecto de este marcador, es importante recordar que la detección de DNA proviral en tiempo real presenta una sensibilidad superior a la de los métodos convencionales de DNA PCR.

Se ha reportado que, en los niños, el RNA extracelular alcanza altos niveles rápidamente después de la infección, por lo tanto las pruebas que lo detectan pueden ser de gran utilidad para el diagnóstico precoz de la infección perinatal. A su vez, los ensayos disponibles para la detección de RNA pueden ser cualitativos o cuantitativos.

La detección de RNA plasmático cualitativo (QL) constituye un marcador altamente sensible para el diagnóstico temprano. La incorporación al algoritmo diagnóstico de infección por VIH en niños recién nacidos expuestos perinatalmente mostró en un estudio una sensibilidad del 85,7% en el grupo de menos de 15 días de edad y una sensibilidad del 100% en mayores de 15 días, encontrándose una especificidad general del ensayo del 100%. En el mencionado estudio, Cañizal y col. encontraron que la sensibilidad general del ensayo fue de 98,6% con una especificidad del 100% en todos los grupos etarios, lo que refleja un alto valor predictivo positivo (VPP) y una alta eficiencia del ensayo. Los ensayos cualitativos deben ser validados, frente al diagnóstico definitivo de infección, antes de ser utilizados con tal fin.

En cuanto a los ensayos de cuantificación de RNA plasmático (CV), varios estudios han evaluado su incorporación al diagnóstico reportando valores de sensibilidad que varían entre 29 y el 100%, de acuerdo con la edad del niño, y de especificidad entre 93

y 100%. Ante la presencia de falsos positivos, algunos autores han sugerido la utilización de valores de corte de RNA plasmático entre 5000 y 10.000 copias/ml, a partir del cual un resultado podría ser interpretado como positivo. Nesheim y col. en 2003 sugieren, en cambio, la utilización de los ensayos cuantitativos como estudios confirmatorios en aquellos niños que posean un resultado positivo previo de DNA proviral.

En nuestro país, Cañizal y col. publicaron en el año 2010 los resultados de un estudio sobre validación de un ensayo cuantitativo de RNA de VIH para el diagnóstico pediátrico. En este estudio, el ensayo cuantitativo de RNA plasmático (Cobas Ampli-cor 1.5) mostró una sensibilidad general del 92,5% frente al diagnóstico final, con una especificidad del 100%. Durante el mismo no se detectaron falsos positivos, por lo cual no se requirió de un valor de corte para la interpretación de un resultado como positivo. Como en el caso de RNA QL, las técnicas de cuantificación de RNA deben validarse frente al diagnóstico pediátrico definitivo, antes de su aplicación para tal fin, por lo que no se puede generalizar para todos los ensayos comerciales la necesidad de establecer un valor corte.

En este escenario, la sola presencia de resultados con bajos niveles de RNA plasmático indica que deben repetirse o completarse con otros estudios moleculares, como DNA proviral, antes de ser interpretados como prueba definitiva de infección por VIH en un recién nacido. Por otra parte, un ensayo de RNA (CV) puede utilizarse como la prueba de confirmación para aquellos pacientes con una prueba inicial positiva de DNA proviral, que otorga la ventaja, al mismo tiempo, del dosaje de la carga viral basal del niño infectado, previa a la instauración de terapia antirretroviral.

La sensibilidad de los ensayos de RNA puede verse afectada por el tratamiento combinado de drogas antirretrovirales tanto durante el embarazo como en la profilaxis del niño. Considerando las particularidades del diagnóstico molecular, se sugiere que el informe de resultados provea información sobre la metodología empleada, marca comercial, parámetros analíticos y criterio de interpretación, si fuera requerido, particularmente para los ensayos desarrollados en laboratorio.

Sobre la base de esta información, las pruebas de diagnóstico virológicas en el recién nacido expuesto perinatalmente deben realizarse entre los 14 y 21 días de vida, entre 1 y 2 meses (privilegiando si es posible que la muestra de sangre sea colectada dos semanas después de haber sido cumplimentada la profilaxis) y entre los 4 a 6 meses de edad. Para los recién nacidos con alto riesgo de infección por el VIH, como son los bebés nacidos de mujeres infectadas que no recibieron terapia antirretroviral prenatal o de aquellas que tuvieran cargas virales superiores a 1000 copias/ml cercanas al momento del parto, se recomienda la realización de ensayos virológicos entre las 24 y las 72 horas del nacimiento. En particular, la utilización de los ensayos de detección de RNA plasmático debido a su alta sensibilidad dentro de las primeras horas posteriores al nacimiento, y considerando la posibilidad de infección en útero. Es importante resaltar que, independientemente de la evaluación de riesgos, la toma de muestra temprana, dentro de las primeras horas, permite aprovechar una oportunidad única de tener muestra del niño en virtud de la hospitalización de madre-hijo.

Un niño se considera infectado cuando tiene dos pruebas virológicas positivas en dos muestras de sangre distintas, independientemente de su edad.

La infección por VIH podría ser *presumiblemente* excluida en los *bebés no amamantados* con dos o más pruebas virológicas negativas, considerando una de ellas a los 14 días de edad y otra con más de 1 mes de vida; o bien, resultados virológicos negativos obtenidos en *niños mayores de 2 meses de edad*.

La exclusión *definitiva* de infección podría considerarse en *bebés no amamantados* con dos ensayos virológicos negativos (uno al mes de vida y otro con más de 4 meses) y en *niños mayores de 6 meses* (con dos pruebas serológicas para anticuerpos negativas en muestras distintas). En todos los casos deberá considerarse la ausencia de evidencias clínicas de infección.

Para la *confirmación definitiva* de ausencia de infección se requiere de una prueba serológica de anticuerpos a los 18 meses de vida, que documente la serorreversión.

Si el *niño ha sido amamantado*, el algoritmo deberá ser reevaluado, comenzando un mes después de suspendida la lactancia y hasta seis meses posteriores a la suspensión.

Los niños menores de 18 meses sin estudios virológicos previos deberán ser evaluados mediante estudios virológicos y serológicos.

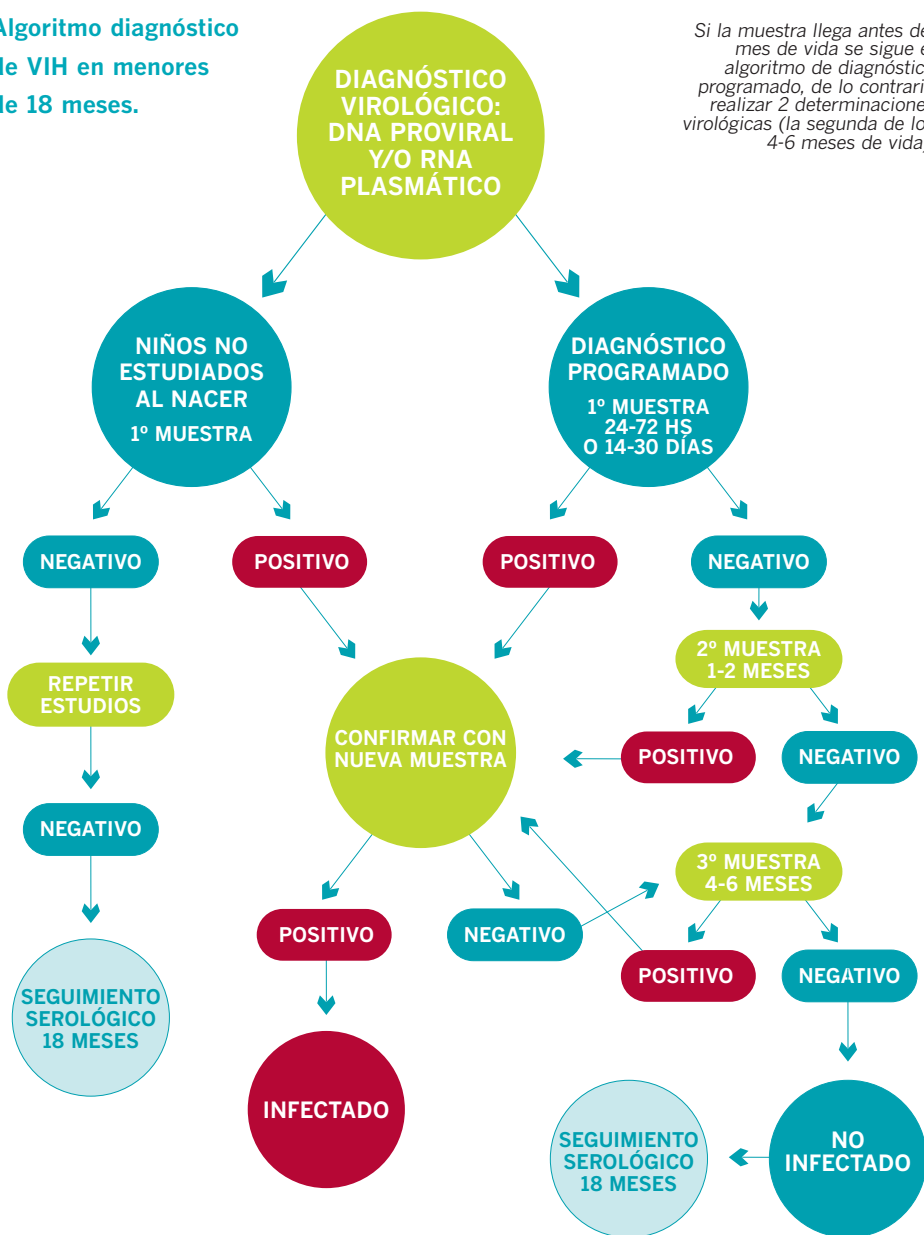
### Algoritmo diagnóstico de VIH en mayores de 18 meses.





**Algoritmo diagnóstico de VIH en menores de 18 meses.**

*Si la muestra llega antes del mes de vida se sigue el algoritmo de diagnóstico programado, de lo contrario realizar 2 determinaciones virológicas (la segunda de los 4-6 meses de vida).*



## Bibliografía

- CAÑIZAL, A. M.; FERNÁNDEZ GIULIANO, S.; ZAPIOLA, I.; BOUZAS, M. B.:** "Evaluación del ensayo de RNA cualitativo QL Nuclisens en el diagnóstico precoz de HIV en niños expuestos perinatalmente", Actualizaciones en SIDA 2007; Vol 15, nº 57: 94-100.
- CAÑIZAL, A. M.; FERNÁNDEZ GIULIANO, S.; ZAPIOLA, I.; BOUZAS, M. B.:** "Utilización del ensayo Cobas Amplicor Monitor HIV-1 en el diagnóstico temprano de la infección por HIV en pediatría", Actualizaciones en SIDA 2010. Vol 18, nº 67, 18-24.
- CERVIA, J.; KAPLAN, B.; SCHUVAL, S.; WEISS, S.:** "Virologic testing in the management of perinatal HIV exposure", AIDS Read. 2003; 13 (1): 39-46.
- CONNOR, E. M.; SPERLING, R.S.; GELBER, R. et al.:** "Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type1 with zidovudine treatment", N Engl J Med. 1994; 331: 1173-1180.
- COORDINACIÓN SIDA/SECRETARÍA DE SALUD:** Recomendaciones para la prevención de la transmisión vertical del VIH, Actualización 2004, GCBA, Buenos Aires, 2004.
- CUNNINGHAM, C. K.; CHARBONNEAU, T. T.; SONG, K.; PATTERSON, D.; SULLIVAN, T.; CUMMINS, T.; POIESZ, B.:** "Comparison of human immunodeficiency virus 1 DNA polymerase chain reaction and qualitative RNA polymerase chain reaction in human immunodeficiency virus 1-exposed infants", Pediatr Infect Dis J. 1999, Jan; 18 (1): 30-5.
- DELAMARE, C.; BURGARD, M.; MAYAUX, M. J.; BLANCHE, S.; DOUSSIN, A.; IVANOFF, S. et al.:** "HIV-1 RNA detection in plasma for the diagnosis of infection in neonates. The French Pediatric HIV infection study Group", J. Acquir Immune Defic Hum Retrovirol. 1997 June 1; 15 (2): 121-5.
- DUNN, D. T.; BRANDT, C. D.; KRIVINE, A. et al.:** "The sensitivity of HIV-1 DNA polymerase chain reaction in the neonatal period and the relative contributions of intra-uterine and intra-partum transmission", AIDS 1995; 9 (9): F7-11.
- DUNN, D. T.; SIMONDS, R. J.; BULTERYS, M. et al.:** "Interventions to prevent vertical transmission of HIV-1 effect on viral detection rate in early infant samples", AIDS 2000; 14: 1421-1428.
- GARCIA, P. M.; KALISH, L. A.; BURNS, D.N. et al.:** "Maternal levels of plasma human immunodeficiency virus type1 RNA and the risk of perinatal transmission", N Engl J Med. 1999; 341: 394-402.
- KOURTIS, A. P.; BULTERYS, M.; NESHEIM, S. R. et al.:** "Understanding the timing of HIV transmission from mother to infant", JAMA 2001; 285 (6): 709-712.

**LANDCSMAN, S. H.; KALISH, L. A.; BURNS, D. N. et al.:** "Obstetrical factors and the transmission of human immunodeficiency virus type 1 from mother to child". *N Engl J Med.* 1996; 334: 1617-1623.

**NESHEIM, S.; PALUMBO, P.; SULLIVAN, K.; LEE, F.; VINK, P.; ABRAMS, E.; BULTERYS, M.:** "Quantitative RNA testing for diagnosis of HIVinfected infants", *JAIDS*, 2003; 32 (2): 192-195. TENCIÓN INTEGRAL DE NIÑOS, NIÑAS Y ADOLESCENTES CON VIH [47]

**PANEL ON ANTIRETROVIRAL THERAPY AND MEDICAL MANAGEMENT OF HIVINFECTED CHILDREN:** *Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection.* August 11, 2011; disponible en: <<http://aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/PediatricGuidelines.pdf>>, [consultado: 02/12/2011].

**READ, J. S. and the Committee on pediatric AIDS:** "Diagnosis of HIV-1 Infection in children younger than 18 months in the United States", *Pediatrics* 2007; vol. 120, nº 6; e1547-e1562

**RESINO GARCÍA, S.; ALONSO ARIAS, R.; JIMÉNEZ FUENTES, J. L.; GURBINDO GUTIÉRREZ, D, MUÑOZ-FERNÁNDEZ M. A.:** "Viral load quantification for the early diagnosis of perinatal human immunodeficiency virus (HIV-1) infection", *An Esp Pediatr.* 1998 Jul; 49 (1): 60-4.

**ROUET, F., MONTCHO, C.; ROUZIUX, C.; LEROY, V.; MSELLATI, P. et al.:** "Early diagnosis of paediatrics HIV-1 infection among African breast-fed children using a quantitative plasma HIV RNA assay", *AIDS* 2001 Sep 28, 15 (14): 1849-1856.

**SIMONDS, R. J.; BROWN, T. M.; THEA, D. M. et al.:** "Sensitivity and specificity of a qualitative RNA detection assay to diagnose HIV infection in young infants", *AIDS* 1998; 12: 1545-1549.

**SOUZA, I. E.; AZEVEDO, M. L.; SUCCI, R. C.; MACHADO, D. M.; DIAZ, R. S.:** "RNA viral load test for early diagnosis of vertical transmission of HIV-1 infection", *JAIDS* 2000 Apr 1; vol. 23, nº 4: 358-60.

**STEKETEE, R. W.; ABRAMS, E. J.; THEA, D. M., et al.:** "Early detection of perinatal human immunodeficiency virus(HIV) type 1 infection using HIV RNA amplification and detection", *J Infect Dis.* 1997; 75: 707-711.

**WORKING GROUP ON ANTIRETROVIRAL THERAPY AND MEDICAL MANAGEMENT OF HIV-1 INFECTED CHILDREN:** *Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatrics HIV infection.* Washington, DC: National Pediatric and Family HIV Resource Center, Health Resources and Services Administration and the National Institutes of Health; 1999: 1-49.

## Dirección de Sida y ETS

Av. 9 de Julio 1925, piso 9 - Ala Moreno  
(C1073ABA) Ciudad Autónoma de Buenos Aires  
(005411) 4379-9017  
[dir-sida-ets@msal.gov.ar](mailto:dir-sida-ets@msal.gov.ar)  
[www.msal.gov.ar/sida](http://www.msal.gov.ar/sida)



Sociedad Argentina  
de Pediatría

