

# Aplicación del PCR-ADN en el diagnóstico de la infección por VIH-1 en infantes

## *PCR for diagnosis of HIV-1 infection in infants*

Ivette Lorenzana de Rivera\* y Wendy Murillo Barahona\*

**RESUMEN. ANTECEDENTES.** Ante la necesidad de establecer el diagnóstico temprano de la infección por VIH-1 en niños nacidos de madres VIH-1 seropositivas del Proyecto Piloto de Prevención de la Transmisión Perinatal y pacientes pediátricos que lo requieran, se implementa la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa de ADN del VIH-1. **MÉTODOS.** La población de estudio fueron niño(as) nacidos de madres VIH-1 seropositivas de varios centros asistenciales de Honduras y Belice. Las muestras tomadas en papel filtro fueron procesadas para la extracción del ADN; la amplificación del ADN se hizo por medio de un PCR anidado, utilizando primers dirigidos a la región POL del VIH-1, los amplicones fueron detectados por electroforesis en gel de agarosa. **RESULTADOS.** En el periodo de febrero del 2001 a noviembre del 2002, se analizaron 109 muestras de niños, en los cuales se desconocía su estado de infección, 26 (23.8%) resultaron positivos y 83 (76.2%) negativos por PCR. Es importante mencionar que 10/25 (40%) niños cuyas madres optaron por darle lactancia materna resultaron positivos, 1/4 (25%)

niños en quienes se desconocía si habían recibido lactancia materna estaban positivos. Nueve de 57 (15.7%) niños cuyas madres recibieron terapia antiretroviral (curso corto de zidovudina o nevirapina) fueron positivos; 15/42 (35.7%) niños cuyas madres no recibieron terapia antiretroviral, resultaron positivos. **CONCLUSIONES.** Este método constituye un simple ensayo para detección de ADN-VIH-1 en muestras de sangre colectadas en papel filtro, lo cual elimina largos pasos de extracción y purificación del ADN y facilita el transporte y manejo de las muestras. La implementación de esta técnica en el país implica desarrollo tecnológico, ya que de no ser así el diagnóstico de infección con el VIH-1 en los infantes no sería posible hasta la edad de 15-18 meses a través de pruebas serológicas.

**Palabras clave:** *Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR). Transmisión Perinatal. Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).*

**ABSTRACT. BACKGROUND.** There is a need to establish an early diagnosis of HIV infection in babies born to HIV- infected mothers from the Prevention Project of Perinatal transmission and from pediatric patients that require it, the polymerase chain reaction technique for detection of the HIV-1 DNA, was implemented for this purpose. **METHODS.** The pop-

\* Microbióloga. Sección de Virología. Departamento de Microbiología, Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

Dirigir correspondencia a: ivette@multivisionhn.net, ivettelorenzana@hotmail.com, wmurillo@hotmail.com

ulation studied was babies born to seropositive mothers from several health facilities from Honduras and Belize. The samples were collected on filter paper, from these DNA was extracted. The amplification reaction was done in nested fashion, using primers for the POL region; the amplicons were detected by gel electrophoresis in agarose. **RESULTS.** In the period of February of 2001 to November of 2002, a total of 109 samples were collected from infants, its status of infection was unknown, 26 (23.8%) were positive and 83 (76.2%) negatives by PCR. Out of those that were breast fed, 10/25 (40%) are positives by PCR and 25% were positive and it was unknown the type of feeding. Nine of 57 (15.7%) that their mother received antiretroviral therapy (zidovudine o nevirapine), were positive, in contrast with 15/42 (35.7%) positives without getting any treatment. **CONCLUSIONS.** This PCR method is a simple assay for the detection of the HIV-DNA in blood samples collected on filter paper, eliminating the need for long extraction methods and purification steps, facilitating the transport and handling of the samples. Implementing this technique in the country is considered as technological development because otherwise the HIV diagnosis of the infant would not be possible until the age of 15-18 months of age by serological methods.

**Keywords:** *Human Immunodeficiency Virus (HIV). Perinatal Transmission. Polymerase Chain Reaction (PCR).*

## INTRODUCCIÓN

Según los datos estadísticos del Programa Conjunto de las Naciones Unidas y la Organización Mundial de la Salud (ONUSIDA-OMS) sobre el VIH/SIDA, en el 2002 ocurrieron 5 millones de nuevas infecciones a nivel mundial, de los cuales 2 millones son mujeres y 800,000 son menores de 15 años. (UNAIDS Press Release. "Datos Estadísticos de la Epidemia Mundial del VIH/SIDA". Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA, <http://www.unaids.org/unaids/press/Dec2002/html>, Diciembre, 2002). Desde el inicio de la epidemia la infección de VIH-1 en los niños ha sido una constante preocupación por su trascendencia social y sus repercusiones. El primer caso de infección por VIH-1 documentada en niños se remite al año 1982 (Ref.1). Las

cifras son abrumadoras, todos los días 8,000 niños y jóvenes se infectan con el VIH, de los 800,000 niños menores de 15 años que han adquirido la infección se estima que más del 90% lo adquirieron a través de la transmisión vertical de madre a hijo. Más de 10 millones de niños han quedado huérfanos por la epidemia del SIDA en el mundo y 1,600 menores de 18 años fallecen por esa enfermedad diariamente (ONUSIDA/UNICEF, "Datos estadísticos sobre la epidemia mundial del VIH/SIDA en niños y adolescentes". <http://www.unaids.org/unaids/press/2002/html>, 2002). Entre las enfermedades que causan el mayor número de muertes en menores de 5 años a nivel mundial se encuentra el VIH con un 4% (Caulfield LE, Black RE. "Major causes of death among children under five, 2000". EPI/WHO 1999. <http://www.cpihuo.org>, 1999).

Alrededor de 2.7 millones de niños han muerto de SIDA desde el comienzo de la epidemia a nivel mundial. Cerca del 10% de los 42 millones viviendo con VIH/SIDA a nivel mundial, son niños y adolescentes. En los últimos años se ha observado un incremento en el número de infecciones pediátricas por el VIH-1, y esto, como resultado del incremento en el número de mujeres infectadas en edad reproductiva. En ausencia de intervención, aproximadamente del 13% al 48% de los niños nacidos de madres VIH seropositivas se infectan con el virus a través de la transmisión perinatal. La transmisión perinatal del VIH-1 ocurre: in útero aproximadamente del 26-38%, en el período peripartum de 65-74% y transmisión postnatal tardía mediante leche materna, de un 12-14% (Ref. 1,2). En Honduras se ha estimado que la tasa global de transmisión de VIH-1 de madre a hijo es de 30% - 36% (Ref. 3,4).

La epidemia de VIH/SIDA en Honduras ha golpeado fuertemente y está afectando especialmente a los estratos más jóvenes de la sociedad, las mujeres y sus hijos(as). El Programa Nacional de SIDA de Honduras, ha registrado 18,117 casos de VIH/SIDA hasta Diciembre del 2002, de los cuales 5,725 son mujeres y 994 son menores de 15 años. Un 74% de las mujeres están entre las edades de 20-39 años, la razón hombre: mujer es de 1.2:1, con un promedio de 84% infectados heterosexuales y un 5% niños menores de 5 años.<sup>5</sup> Se ha observado que la enfermedad está avanzando más rápidamente en las mujeres, especialmente entre las amas de casa y las trabajadoras domésticas. Estudios centinelas en 1998 en clínicas de

control prenatal han mostrado prevalencias por VIH de 2% con una media de 3.6% en la ciudad de San Pedro Sula y en Tegucigalpa (1997) reveló una prevalencia de 0.7% (Ref. 5-7). La Secretaria de Salud de Honduras inició en el año de 1998 un Proyecto Piloto de Prevención de la Transmisión Perinatal del VIH (PPTV), éste surge de la urgente necesidad de desarrollar una estrategia nacional que enfoque de una manera integral el problema de la infección que está ocurriendo en el hogar y que a su vez prevenga la transmisión vertical del VIH de madre a hijo(a).<sup>6-10</sup>

Muchos niños infectados con VIH-1 se mantienen asintomáticos por largos periodos de tiempo por lo que el diagnóstico clínico no es la forma más sensible de determinar la infección, tampoco existe alguna manifestación clínica que sea característica de la infección por el VIH-1 o del SIDA y, aunque la presencia de alguna de ellas puedan sugerir en un contexto determinado la presencia de la infección, no es posible establecer un diagnóstico clínico de la enfermedad por lo que éste solo se puede determinar de un modo definitivo por pruebas de laboratorio. (Revisión Clínica sobre SIDA. "SIDA: procedimientos para diagnóstico serológico, viral y molecular". <http://www.sidarevision.com>. 1998). Posterior al descubrimiento del VIH, rápidamente se desarrollaron ensayos para la detección de anticuerpos contra este retrovirus; una de las pruebas más accesible es el ensayo inmunoenzimático denominado "ELISA", que al mismo tiempo es la técnica más ampliamente usada a nivel mundial como prueba de tamizaje por su alta sensibilidad. En adultos y niños mayores de 18 meses, la infección de VIH es diagnosticada generalmente por medio de métodos serológicos (ELISA), además de que existen otras pruebas de tamizaje, las cuales generalmente requieren confirmación. Para los niños menores de 18 meses el diagnóstico temprano de laboratorio es muy difícil por los ensayos convencionales de anticuerpos debido a que no discriminan los anticuerpos maternos (IgG) adquiridos transplacentariamente, ya que estos pueden circular hasta los 15 meses o más después del nacimiento.<sup>11</sup> La determinación del antígeno p-24, que corresponde a los antígenos solubles secretados por los tejidos linfoides donde el virus se replica puede ser usado como alternativa para el diagnóstico de infantes nacidos de madres infectadas con el VIH-1, en términos generales reporta menor sensibilidad y especificidad que las pruebas moleculares.<sup>1</sup>

La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) es la técnica molecular que ha emergido como el método más eficiente para la identificación del ADN del VIH-1 en niños menores de 18 meses nacidos de madres seropositivas.<sup>11-14</sup> Esta técnica tiene una sensibilidad de 98.4%, una especificidad de 98.3% y un nivel de detección de 5-10 copias de VIH-1 en 5 µl de sangre cuando se utilizan muestras por duplicado.<sup>11</sup> Este método es muy ventajoso cuando se usa en muestras de sangre tomadas en papel filtro ya que simplifica la toma de la muestra, almacenamiento, transporte y la extracción del material genético.<sup>11,14</sup>

Ante la necesidad de establecer un diagnóstico en los infantes que nacen de madres infectadas con el VIH-1 y como una manera de evaluar al mismo tiempo la efectividad de la intervención, por medio del tratamiento que recibieron las madres durante el embarazo y/o parto con zidovudina o nevirapina, se propone implementar la técnica de PCR-ADN VIH-1 para determinar la infección en los infantes tanto del PPTV, como de otros pacientes pediátricos que su médico lo requiera.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Población y muestras:** el estudio fue realizado de Febrero del 2001 hasta Noviembre del 2002. Se colectaron muestras de 109 niños y niñas en edades comprendidas entre 11 días y 21 meses, nacidos de madres VIH-1 positivas de Honduras y Belice; clasificados de la siguiente manera: 38 muestras provenientes del PPTV de Honduras, 51 muestras originadas de varios centros asistenciales de Tegucigalpa y San Pedro Sula (Hospital Escuela, Centro de Salud Alonso Suazo, Instituto Hondureño Nacional de la Familia-IHNFA, Instituto Hondureño de Seguro Social-IHSS, Laboratorio de la Región Sanitaria No. 3 en San Pedro Sula, la organización no gubernamental de atención a niños huérfanos Montaña de Luz, otras provinieron de una clínica especializada en atención a pacientes con VIH/SIDA de la organización no gubernamental Médicos sin Fronteras); y 20 muestras del PPTV de Belice.

Previo a la toma de muestra del bebé se obtuvo un consentimiento informado de la madre y se llenó una ficha que contiene datos referentes a las condiciones y características del infante y tipo de parto.

La muestra requerida para el análisis fue sangre periférica, colectada de dos maneras: por medio de una punción con lanceta en el talón de los niños o en tubo con EDTA mediante venopunción en aquellos casos que fuese factible; la muestra una vez colectada era colocada en el centro de la tarjeta de papel filtro (FTA® Gene Guard System Card - Life Technologies) y dejada secar al aire para ser almacenada a temperatura ambiente hasta su envío al laboratorio de Virología del Departamento de Microbiología de la UNAH para su posterior procesamiento.

**Procesamiento de la muestra:** las muestras tomadas en papel filtro fueron procesadas para la extracción del ADN de las células mononucleares de sangre periférica (PBMCs); una microperforadora fue usada para hacer dos discos de papel filtro del centro de la mancha de sangre en cada tarjeta, los cuales fueron transferidos por duplicado a tubos eppendorf de capacidad de 1.5 ml. Cada disco de papel filtro tenía un diámetro de 3 mm, conteniendo aproximadamente 5 µl de sangre total, los cuales fueron lavados repetidamente con el reactivo de purificación FTA (FTA® Purification Reagent from Life Technologies) y con tampón Tris-EDTA (TE), para lisar las células PBMCs liberando la hemoglobina y otros contaminantes que pudieran afectar el análisis, quedando el ADN adherido en el papel filtro. Los discos de papel filtro se dejaron secar al aire en el mismo tubo y seguidamente estos se utilizaron para la amplificación.

**Amplificación del ADN:** la amplificación del ADN se hizo por medio de un PCR anidado, utilizando oligonucleótidos (primers) dirigidos específicamente al gen de la transcriptasa reversa del VIH-1 (POL VIH-1), con dos vueltas de amplificación de 35 ciclos cada una, utilizando el la primera un set de primers externos: RT1 y RT2 (Promega) y en la segunda vuelta, un set de primers internos a los anteriores: RT3 y RT4 (Promega).<sup>15</sup>

La amplificación fue realizada en un termociclador automático (MJ Research, Inc.), el ADN fue inicialmente desnaturado (94°C por 5 min.), seguido de los 35 ciclos de desnaturación a 94°C por 30 seg., hibridación a 55°C por 30 seg. y extensión a 72°C por 1 min., con un paso de extensión final a 72°C por 7 min.<sup>15</sup>

Como control para asegurar que no haya inhibidores en la sangre especialmente hacia la Taq polimerasa y para

controlar que haya amplificación, se realizó una tercera reacción de PCR en el mismo disco de papel filtro utilizando primers específicos para el gen de la β-globina humana: Fluo-GH20 y KM38 (Promega), el cual esta presente en todas las células humanas y por lo tanto debe resultar positivo en todas las muestras.<sup>15-17</sup>

**Análisis de los productos de PCR:** 10 µl los productos amplificados de la segunda reacción de PCR fueron detectados por electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, los fragmentos de 665 pb para el gen POL y 350 pb para el gen de la β-globina humana fueron visualizados con Bromuro de Etidio.

**Análisis de los resultados:** los datos fueron analizados utilizando el programa EpiInfo versión 6. Para comparar proporciones y determinar si las diferencias eran estadísticamente significativas se utilizó la prueba de X<sup>2</sup> con un nivel de confianza de 95%.

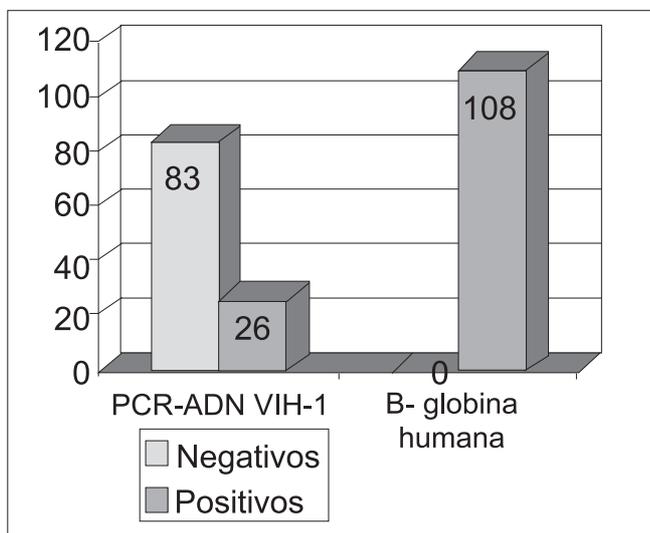
## RESULTADOS

En forma global se puede observar que de los 109 niños analizados por PCR-ADN VIH-1, 50 pertenecen al sexo masculino y 59 al sexo femenino; con respecto al tipo de parto, 47 nacieron por parto normal (vaginal), 6 por cesárea y 56 no se determinó el tipo de parto (Cuadro No. 1). De las 109 muestras analizadas para VIH-1, 26 resultaron positivas (23.8%) y 83 negativas (76.2%) (Figura No. 1 y Figura No. 1). Del total de pacientes analizados, 38 niños pertenecen al PPTV, de los cuales 6 resultaron positivos y 32 negativos; de los 51 niños que no pertenecen al proyecto, 18 fueron positivos y 33 negativos; los restantes correspondían a 20 muestras de niños del proyecto de prevención vertical de Belice, resultando 2 positivos y 18 negativos (Cuadro No. 2).

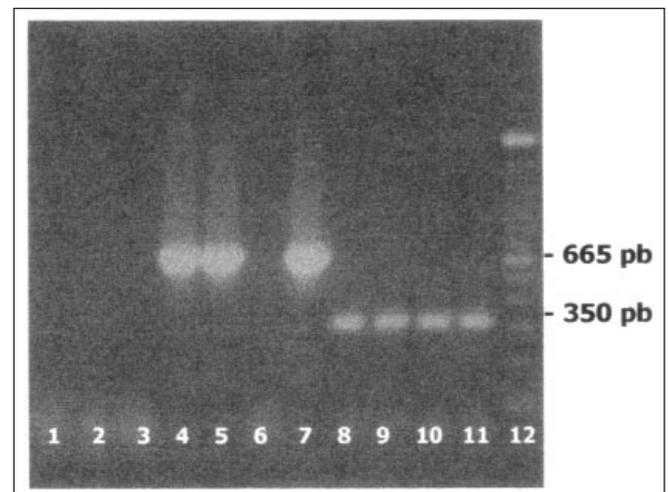
En relación al tipo de alimentación se pudo documentar que todos los niños incluidos en el estudio recibieron alimentación artificial; es importante resaltar que 15 de 80 niños (18.7%) que no recibieron lactancia materna estaban positivos por VIH-1; diez de 25 niños (40.0%) cuyas madres optaron por darle lactancia materna combinada con lactancia artificial eran positivos por VIH-1 y 1 de 4 niños (25%) que se desconocía si habían recibido lactancia materna o no, resultaron positivos por VIH-1, con esto se pudo observar que de las madres que no le dieron lactancia materna a sus niños, 18.7% resultan positivos,

**Cuadro No. 1.** Condiciones asociadas al parto y características de los niños analizados por PCR ADN VIH-1. (n=109)

Características		PCR Positivo	PCR Negativo	Total
Sexo	Masculino	13	37	50
	Femenino	13	46	59
Tipo de Parto	Vaginal	11	36	47
	Cesárea	2	4	6
	No determinado	13	43	56
Tipo de Alimentación	Artificial Exclusiva	15	65	80
	Mixta: alimentación artificial y lactancia materna	10	15	25
	Lactancia Artificial, pero no se determinó si recibió Lactancia Materna	1	3	4

**Figura No. 1.** Resultados positivos y negativos de los productos amplificados por PCR-ADN VIH-1 y la coamplificación de la  $\beta$ -globina humana. (N=109)

comparados con 40% de positividad de las que sí les dieron lactancia materna, esta diferencia es estadísticamente significativa ( $p= 0.02$ ) (Cuadro No. 3). Nueve de 57 niños (15.7%) del total analizados por PCR-ADN VIH-1, cuyas madres recibieron terapia antiretroviral (TAR) estaban positivos por VIH-1; quince de los 42 niños (35.7%) cuyas madres no recibieron TAR, resultaron positivos para VIH-1 y 2 de 10 (20%) en quienes se desconocía si sus madres recibieron o no TAR, fueron positivos por VIH-1. Dichas diferencias son estadísticamente significativas ( $p= 0.02$ ), entre recibir terapia o no

**Figura No. 2.** Electroforesis en gel de agarosa de los productos amplificados por PCR-ADN VIH-1 y la co-amplificación del gen de la  $\beta$ -globina humana. Las muestras 1 y 2 son de un paciente negativo, las muestras 4 y 5 son de un paciente positivo, la muestra número 7 es el control positivo de la prueba, las muestras 8, 9, 10 y 11 son los resultados de la coamplificación de la  $\beta$ -globina humana y la muestra número 12 es el Marcador de Peso Molecular.

durante el embarazo (Cuadro No. 4). Es importante mencionar que tres de las madres que recibieron terapia antiretroviral no completaron el tratamiento y sus hijos resultaron positivos, lo cual cambiaría los cálculos estadísticos, si se considera a éstos como que no recibieron terapia, y en este caso la significancia estadística es mayor ( $p= 0.00008$ ).

**Cuadro No. 2.** Resultados de los niños analizados por PCR ADN VIH-1 en grupos de origen. (n=109)

<b>Grupo de Origen</b>	<b>PCR Positivos</b>	<b>PCR Negativos</b>	<b>Total</b>
PPTV1	6 (15.7%)	32 (84.3%)	38 (100%)
No PPTV2	18 (35.2%)	33 (64.8%)	51 (100%)
Belice3	2 (10.0%)	18 (90.0%)	20 (100%)
Total	26 (23.8%)	83 (76.2%)	109 (100%)

PPTV Niños que pertenecen al Proyecto Nacional de prevención de la transmisión vertical de VIH-1 de madre a hijo(a).  
 No PPTV Niños atendidos en el varios centros asistenciales que no pertenecen al PPTV.  
 Belice Niño que pertenecen al PPTV de Belice.

**Cuadro No. 3.** Resultados de los niños analizados por PCR-ADN-VIH-1 que recibieron lactancia materna.

<b>Lactancia Materna</b>	<b>PCR Positivos</b>	<b>PCR Negativos</b>	<b>Total</b>
Si	10 (40.0%)	15 (60.0%)	25 (100%)
No	15 (18.7%)	65 (81.3%)	80 (100%)
ND	1 (25.0%)	3 (75.0%)	4 (100%)
Total	26 (23.8%)	83 (76.2%)	109 (100%)

p= 0.02

**Cuadro No. 4.** Resultados de los niños analizados por PCR-ADN-VIH-1 que recibieron terapia antiretroviral.

<b>Terapia Antiretroviral</b>	<b>PCR Positivos</b>	<b>PCR Negativos</b>	<b>Total</b>
Si	9 (15.7%)	48 (84.3%)	57 (100%)
No	15 (35.7%)	27 (63.3%)	42 (100%)
ND	2 (20.0%)	8 (80.0%)	10 (100%)
Total	26 (23.8%)	83 (76.2%)	109 (100%)

p= 0.02

Se observó que el ADN obtenido de las muestras de sangre periférica colectadas en papel filtro estaba intacto y era adecuado para el análisis por PCR. Esto se pudo comprobar mediante el análisis de los resultados de la amplificación del gen de la β-globina humana. Todas las muestras (n=109) amplificadas para el gen de la β-globina humana dieron resultados positivos (100%) (Figura No. 1 y Figura No. 2).

## DISCUSIÓN

El método implementado constituye un ensayo simple para detección de ADN del VIH-1 por medio de PCR en muestras de sangre colectadas en papel filtro comparándolo con la recolección de muestras de sangre en tubo de ensayo.<sup>11-14</sup> La prueba tiene un nivel de detección de 5-10 copias de VIH-1 en 5 ul de sangre.<sup>11</sup> Esta requiere solo una pequeña cantidad de sangre total, permitiendo la recolección por medio de un pinchazo en el talón del bebé, facilitando así la toma de la muestra. Una vez secas, las muestras de sangre en el papel filtro no son infecciosas, reduciendo el potencial de peligro biológico para el manipulador. La sangre seca es biológicamente estable, lo que permite almacenar las muestras por largos períodos de tiempo, manteniendo adherido el ADN al papel filtro y eliminando la necesidad de tener las muestras en refrigeración. También, omite largos pasos de extracción y purificación del ADN. El ADN inmovilizado en el papel filtro es muy fácil de manipular para la amplificación, en este caso del gen POL del VIH-1 y el gen de la β-globina humana. La coamplificación del gen de la β-globina humana es un marcador excelente de eficiencia de amplificación y procesamiento de la extracción del ADN, además mediante esta amplificación se pudo comprobar la ausencia de inhibidores e integridad del ADN (Ref. 16). Al utilizar muestras por duplicado, el ensayo reporta una sensibilidad de un 98.4% y una especificidad de 98.3% (Ref. 11). El costo de la prueba es de aproximadamente 25 dólares (US\$) por paciente incluyendo la muestra por duplicado y todos los controles,

representado esto también una ventaja en cuanto a las pruebas comerciales que son mucho más costosas.

Desafortunadamente no todas las madres estaban dentro del protocolo del proyecto para prevenir el riesgo de la transmisión, y no tuvieron acceso al tratamiento con antiretrovirales, otras tampoco suspendieron la lactancia materna y/o se les realizó una cesárea electiva.<sup>18-22</sup> Se observó una diferencia significativa entre las madres que dieron lactancia materna a sus hijos y las que no, 18.7% y 40% respectivamente; ya que un buen número de casos de la transmisión materno-filial del VIH-1 se deben a la lactancia materna, muchos autores recomiendan la suspensión de la misma. Pero, la lactancia artificial plantea al mismo tiempo otros problemas, por lo que se debe brindar apoyo a las madres que deciden no lactar para que puedan usar sustitutos de leche materna con total seguridad y sin violar el código internacional de comercialización de sustitutos de leche materna, ni las resoluciones de la Asamblea Mundial de la Salud relacionadas con este código.<sup>10</sup> También se observó una proporción estadísticamente más baja de bebés VIH-1 positivos cuyas madres recibieron TAR, en contraste con la encontrada entre los hijos de madres que no recibieron TAR. Este es un resultado esperado y solo demuestra la eficacia de la terapia en la prevención vertical del VIH-1. Es relevante mencionar que tres de las madres que recibieron terapia antiretroviral no completaron el tratamiento y los niños resultaron VIH-1 positivos, por lo que es importante reforzar la consejería a la madre sobre adherencia al tratamiento para disminuir el riesgo de transmisión perinatal del VIH-1.

En conclusión este método constituye un simple y sensible ensayo para la detección del ADN del VIH-1 en muestras de sangre tomadas en papel filtro, con la ventaja de requerir solo una pequeña cantidad de sangre; la fácil recolección, almacenamiento y transporte, junto con el bajo costo, hacen que esta prueba sea la ideal para la detección del VIH en niños. Por lo tanto la implementación de esta técnica en el país ha implicado desarrollo tecnológico ya que de no ser así el diagnóstico de infección con el VIH-1 del infante no sería posible hasta la edad de 15-18 meses.

Agradecimiento: Agradecemos el apoyo financiero de las siguientes organizaciones: OPS, UNICEF, FUNDATEC, NORTHWEST MEDICAL TEAM INTERNATION-

AL. La asistencia técnica de la Dra. Ingrid Beck y la Dra. Lisa Frenkel de la Universidad de Washington. También agradecemos la valiosa participación de la Dra. Maribel Rivera del Dpto. de Infectología Pediátrica del Hospital Materno Infantil y a la Dra. Marina Rodríguez del Dpto. ITS/SIDA/TB de la Secretaría de Salud Pública de Honduras.

#### REFERENCIAS

1. **Polsky BW, Clumeck N. Pediatric AIDS and Diagnosis of HIV in newborns. HIV and AIDS, 1ª ed. London Mosby-Wolf, Merck; 1999.**
2. **Iribarren JA, Ramos JT, Guerra L, et al. Prevención de la transmisión vertical y tratamiento de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana de la mujer embarazada. Enferm Infec. Microbiol Clin 2001. 19:314-335.**
3. **Godoy A, Sabillón F, Lorenzana I. Prevalencia de la infección por VIH en mujeres post-parto y tasa de transmisión vertical, Hospital Escuela, Honduras. Rev Med Hond 2201;69:3-7.**
4. **Secretaría de Salud Pública-Programa Nacional de SIDA. Planteamiento estratégico para la ejecución del proyecto piloto de prevención de la perinatal del VIH en Honduras. Febrero, 1999.**
5. **Secretaría de Salud Pública-Programa Nacional de SIDA. Datos Estadísticos sobre VIH/SIDA en Honduras. Diciembre, 2002.**
6. **Secretaría de Salud, Subsecretaría de Riesgos Poblacionales, Dirección General de Riesgos Poblacionales, Departamento de ITS/VIH/SIDA/TB. Protocolo para la atención integral durante el control prenatal, parto y postnatal de las mujeres embarazadas infectadas con el VIH/SIDA, Honduras 2001.**
7. **Secretaría de Salud, Subsecretaría de Riesgos Poblacionales, Dirección General de Riesgos Poblacionales, Departamento de ITS/VIH/SIDA/TB. Investigación de la transmisión del VIH/SIDA de la madre al hijo(a), Honduras 2001.**
8. **Fitera LL. Atención madre-hijo. Pub. Of SEISIDA, Vol. 11, Num. 4, Abril 2000. p. 1096-197.**
9. **Berer M. Reducing perinatal HIV transmission in developing countries through antenatal and delivery care, and breast feeding: supporting infant survival by supporting women's survival. Bulletin of World Health Organization 1999;77(11):871-877.**
10. **Berer M. Reduction de la transmission périnatale du VIH dans les pays en developpement: favoriser la survie des nourrissons en favorisant celle de leur mere (soins prénatals, soins obstétricaux et allaitement). Bulletin de L'Organization mondiale de la Santé. Recueil d'article N° 2, 2000; 24-31.**
11. **Beck IA, Drennan KD, Melvin AJ, et al. Simple, sensitive and specific detection of human immunodeficiency virus type 1 subtype B DNA in dried blood samples for diagnostic in infants in the field. Journal of Clinical Microbiology 2001; 39(1):29-33.**
12. **Albert J, Fenyo EM. Simple, Sensitive, and Specific Detection of Human Immunodeficiency Virus Type 1 in Clinical**

- Specimens by Polymerase Chain Reaction with Nested Primers. *Journal of Clinical Microbiology* 1990; July:1560-1564.
13. Cassol S, Salas T, Arella M, Neumann P, Schechter M, O'Shaughnessy M. Use of dried blood spot specimens in the detection of human immunodeficiency virus type 1 by the polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*: 1991; April: 667-671.
  14. Cassol S, Butcher A, Kinard S, *et al.* rapid screening for early detection of mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1. *Journal of Clinical Microbiology*: 1994; Nov: 2641-2645.
  15. University of Washington, Department of Laboratory Medicine-Virology Division. Protocol: Polimerase Chain Reaction DNA VIH-1. December 1999.
  16. Coutllé F, He Y, Saint-Antoine P, Olivert C, Kessous A. Coamplification of HIV Type 1 and  $\beta$ -Globin Gene DNA sequences in a nonisotopic polymerase chain reaction assay to control for amplification efficiency. *AIDS Research and Human Retrovirus*. 1995; (11, 3): 363-371.
  17. White TJ, Hadej R, Persingt DH. The Polimerase Chain Reaction: Clinical applications. *Advances in Clinical Chemistry*, Academic Press Inc. 1992; Vol. 29: 162-191.
  18. Embree J E, Njenga S, Datta P, *et al.* Risk Factors for post-natal mother-child transmission of HIV-1. *AIDS* 2000;14: 2535-2541.
  19. Nájera R. Nuevos datos sobre la prevención de la Transmisión madre-hijo del VIH y sus complicaciones. *Pub. of SEISIDA*, 2001; Vol. 12: (2) 53-54.
  20. Lallemand M, Jourdian G, Le Coeur S, *et al.* A trial of shortened zidovudine regimens to prevent mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1. *New England Journal Medicine* 2000; 343 (14): 982-991.
  21. Mofenson LM, Lambert JS, Stiehm ER *et al.* Risk Factors of perinatal transmission of human immunodeficiency virus type 1 in women treated with zidovudine. *New England Journal Medicine* 1999; 341:385-393.
  22. De José Gómez MI. Prevención de la transmisión vertical del VIH. *Pub. Of SEISIDA* 2000; 11 (4) Abril 229- 232.

---

---

ÉN TODAS LAS COSAS EL ÉXITO DEPENDE DE LA PREPARACIÓN Y SIN  
ESA PREPARACIÓN ES CASI SEGURO QUE SE LLEGA EL FRACASO.

*CONFUCIO*