

El laboratorio en el diagnóstico del síndrome de la inmunodeficiencia humana en niños

(The laboratory in the diagnosis of children with the human immunodeficiency syndrome)

María del Carmen Gorbea Robles,* Gustavo Barriga Angulo**

RESUMEN

El diagnóstico de la infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se hace por procedimientos de laboratorio, pues el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) aparece en una etapa avanzada de la infección. La presencia del virus en el organismo se reconoce por la respuesta inmune del organismo: el procedimiento usado es el ensayo inmuno-enzimático ligado a enzimas (ELISA), que permite identificar la presencia del antígeno en los niños y en el periodo ventana de la enfermedad. También se usa para el diagnóstico temprano en niños la PCR cuantitativa (carga viral). El diagnóstico de infección por VIH en menores de 18 meses, implica cierta dificultad; aquí se propone un algoritmo para el diagnóstico de infección en ellos.

Palabras clave: Diagnóstico de VIH, VIH en niños, infección por VIH.

SUMMARY

The HIV diagnosis is recognized only through laboratory technics. The presence of the virus infection virus is recognized by the body immune response. The ELISA assay is the most used for detection of antibodies, by this way it is possible to identify the antigens in children and before the AIDS illness. PCR is also used for the early diagnosis in children. The diagnosis of HIV infection in children below 18 months age is not easy, in this report an algorithm for the diagnosis of HIV infection is presented.

Key words: Diagnostic of HIV, HIV in children, infection for HIV.

El diagnóstico de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es por métodos de laboratorio, ya que en la etapa en que se manifiesta la enfermedad las manifestaciones no son específicas de esta infección; aunque en fases avanzadas de la enfermedad es posible considerar esta enfermedad en el diagnóstico de este padecimiento, en pacientes con riesgo de infección.¹ Por otra parte, las pruebas de laboratorio permiten reconocer con certeza a los niños infectados por este virus y el grado de progresión de su enfermedad, la variación genética del virus y su sensibilidad a los medicamentos antirretrovirales.

Las pruebas empleadas para el diagnóstico de la infección pueden ser directas e indirectas, según se permitan reconocer la presencia del virus o sus componentes (proteínas o ácidos nucleicos), o bien que tengan el propósito de conocer la respuesta inmune ante la infección. Como los anticuerpos son más fáciles de reconocer que el virus, el diagnóstico de la infección por el VIH comúnmente se hace buscando los anticuerpos contra el virus.^{1,2}

Pero las pruebas de laboratorio no sólo se emplean en el diagnóstico clínico de la enfermedad sino también son esenciales para la seguridad de la sangre y sus derivados que se emplean en la clínica, así como para la vigilancia epidemiológica de la epidemia de VIH en el diagnóstico de personas infectadas por el virus. Es por eso que se han propuesto diferentes estrategias de diagnóstico: dependiendo del objetivo. Conceptualmente podemos llamar pruebas diagnósticas a las que se em-

* Laboratorio Hospital de Infectología.

** Servicio de Pediatría.

plean en forma individualizada y pruebas de tamizaje cuando se aplican a muestras de sangre de un grupo de personas; por ejemplo, las pruebas usadas en el tamizaje de la sangre donada: para disminuir la posibilidad de transmisión del virus, en tal caso las pruebas deben tener una sensibilidad muy alta. En cambio, en el diagnóstico individual se debe minimizar la posibilidad de tener resultados falsos positivos, por lo que se usan ensayos de alta especificidad y un ensayo suplementario o confirmatorio. Otra consideración pertinente es tener en cuenta la región geográfica y la prevalencia de la infección por el VIH en la población, pues los ensayos dan resultados diferentes, por lo que no hay un ensayo que sirva para todos los objetivos planteados ante todas las situaciones particulares y en todos los escenarios clínicos.

MARCADORES SEROLÓGICOS DE INFECCIÓN

Ensayos para determinación de anticuerpos

Tamizaje. La técnica más empleada es el ELISA o ensayo inmuno-enzimático ligado a enzimas. Hay diversos formatos (indirecto, competitivo, de captura etc.) con diferentes clases de antígenos y pueden emplear anticuerpos de detección sean éstos poli o monoclonales. Su empleo requiere personal técnicamente entrenado, un buen sistema de mantenimiento de equipo y un estricto control de calidad para obtener resultados confiables. Ante el costo que representa esta prueba hay otras que también identifican anticuerpos y son equivalentes a la prueba de ELISA; se conocen como ensayos simples/rápidos y son técnicamente sencillos. Entre éstos están las de aglutinación, de "peines" o tiras, y de flujo a través de membranas; su costo es significativamente menor.

Independientemente de la prueba que se vaya a utilizar, es necesario que el personal esté bien entrenado, utilizar sueros de población, similar a la que va a ser atendida, procurando condiciones de trabajo en el laboratorio (que deben ser apropiadas). Satisfechos estos requisitos hay parámetros para determinar la eficacia con la que una prueba en particular puede ser valorada; los más empleados son los que permiten conocer su sensibilidad, especificidad, eficiencia, valores predictivos y valores delta, de cada prueba.^{1,2}

Confirmación. La confirmación implica ratificar el resultado con otra prueba con principio distinto. Así, se busca que las pruebas empleadas tengan un alto grado de especificidad para evitar que personas con resultados negativos se reporten como positivos. Sin embargo, los ensayos confirmatorios no siempre producen un resul-

tado definitivo, y si eso sucede se requiere usar pruebas suplementarias o un algoritmo de seguimiento de los niños aún indeterminados.

El método más empleado por su alta especificidad es el Western Blot o inmunoblot, se basa en dos factores: la separación de los componentes virales y alta concentración de estos componentes. La interpretación de las tiras del Western Blot debe hacerse definiendo claramente el criterio de positividad, empleando componentes que sean internacionalmente aceptados y que permitan clasificar a los casos, como positivos, negativos o indeterminados, de acuerdo al patrón de reactividad con las distintas proteínas virales que se obtengan.

Para elaborar un algoritmo de diagnóstico, la primera decisión es selección del ensayo o ensayos de tamizaje, que van a emplearse en el laboratorio: de acuerdo al objetivo que se pretenda con la prueba que se desea usar en distintas poblaciones. Cabe, pues, decidir por la mejor prueba de acuerdo a su sensibilidad y especificidad en poblaciones distintas, las necesidades de equipo, la complejidad técnica y el número de muestras que serán procesadas por día y costos que representarán.

Ensayos para identificar el antígeno viral

En la infección por VIH hay ciertas etapas en las que se puede encontrar el antígeno viral circulante en el plasma, pero sólo en 50-60% de los enfermos de SIDA y en menos de 10% de las personas asintomáticas el resultado será positivo al antígeno. En la prueba de ELISA, que se usa para este propósito, se emplea un sistema de anticuerpos monoclonales antiproteína (generalmente anti-p24) fijos a la superficie de la placa para que el antígeno presente en el plasma (o suero) se adhiera a éstos. Despues se detecta el antígeno capturado con la ayuda de otros anticuerpos anti-p24 conjugados a una enzima.² La aplicación de este ensayo comúnmente es para detección de antígeno para diagnóstico en niños y personas en periodo de "ventana", o para conocer la producción de virus en el sobrenadante de cultivos para aislamiento viral.

Ensayos de detección de ácidos nucleicos virales

Las partículas de VIH contienen ARN de una cadena de su interior; además, el virus tiene la característica de integrar su genoma en forma de provirus, en el genoma de las células que infecta. Este ADN integrado, permanece en la célula infectada por todo el ciclo vital de la célula. El provirus integrado puede transcribirse y formar las tres especies de ARNm que lo caracterizan y también se ha encontrado ADN de doble cadena en el núcleo de las células que infecta. Todas estas fracciones de material genómico: ARN en

la partícula viral, ARNm en las células infectadas, ADN viral integrado y ADN no integrado, pueden ser identificadas, para lo cual se usa la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que ofrece una alta sensibilidad.

Uno de los problemas del PCR son los resultados falsos positivos, debido a su gran sensibilidad que permite obtener miles de copias de una sola molécula original, se contamina con facilidad, sea de otras muestras o por productos de reacciones previas corridas en el laboratorio. Ésta es una limitante para el uso indiscriminado de la PCR en el diagnóstico rutinario: que requiere de instalaciones adecuadas, con zonas aisladas entre sí y un programa estricto de control de calidad.

Se recomienda que el diagnóstico de infección no se haga con base sólo a un resultado de PCR y que en los casos en que los demás ensayos resulten negativos debe hacerse una reacción, por lo menos en otro par de oligonucleótidos en una región del genoma diferente a la primera;^{2,3} también se sugiere que al interpretar el resultado del ADN proviral se considere que no distingue si el virus que se detecta es replicativo o defectuoso, lo cual indica la exposición al virus pero no necesariamente infección. En algunas etapas de la enfermedad los resultados suelen ser falsos negativos: debido al bajo número de células circulantes con el provirus integrado.

Ordinariamente el empleo del PCR se reserva para dar apoyo al diagnóstico en casos indeterminados, en aquéllos de riesgo alto con serología negativa y en los menores nacidos de madres infectadas. Se hace a partir del ADN extraído de mononucleares de sangre periférica separadas mediante un gradiente de ficol. Se seleccionan oligonucleótidos que amplifican una región del gen *gag*, que es bien conservada. Como segundo par de oligonucleótidos se usa iniciadores de *pol* o de *env*, todos son genes estructurales del virus. Finalmente, si la

PCR es el único ensayo positivo es necesario dar seguimiento al paciente hasta que desarrolle anticuerpos o se obtenga de él un cultivo viral positivo.

Identificación de personas en riesgo

Las pruebas de diagnóstico se deben hacer en cualquier enfermo adulto que lo solicite. Las razones para considerar que una persona pida voluntariamente que se le haga una prueba son: infecciones de transmisión sexual, embarazo y tuberculosis activa. También se sugiere en aquellos enfermos con linfadenopatía generalizada, demencia no explicable, meningoitis aséptica, neuropatía periférica, fiebre, diarrea o pérdida de peso no explicables, herpes simple generalizado o herpes zoster con lesiones múltiples en piel, citopenias inexplicables, linfomas de células B o cualquier infección o condición por gérmenes oportunistas que sugieran inmunodeficiencia mediada por células.¹

El diagnóstico en la infección primaria

De dos a cuatro semanas después de la exposición al VIH, 80-90% de las personas infectadas manifiestan un conjunto de síntomas que se conoce como síndrome retroviral agudo o infección primaria. Los síntomas no son específicos, por lo que en la mayoría de los casos, aunque el sujeto busque atención médica, no se piensa en la infección por VIH. Los síntomas incluyen: fiebre, linfadenopatía, faringitis, erupción eritematosa maculopapular, mialgias y artralgias; algunos manifiestan cefalea o síntomas gastrointestinales y otros presentan hepatosplenomegalia, candidiasis oral, meningitis aséptica, meningoencefalitis, neuropatía periférica o síndrome de

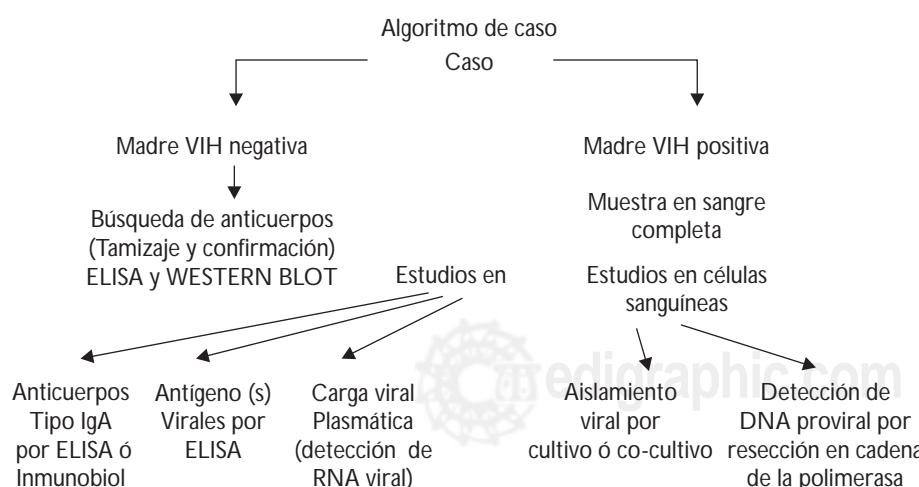


Figura 1. Algoritmo de diagnóstico en niños con sospecha de infección por el VIH.

Guillain-Barré. La serología para VIH en este periodo es negativa.

En esta etapa los enfermos tienen una gran viremia, por lo que puede hacerse el diagnóstico mediante un ensayo cuantitativo de ARN de viral (carga viral). Si el resultado es menor de 100,000 copias/mL no puede considerarse al individuo infectado, ya que puede ser el producto de un resultado falso positivo. La determinación del genoma proviral integrado a las células no es muy eficiente en este periodo. Un método más económico es la identificación de antígeno viral en el plasma, aunque es menos sensible es útil por los valores de virus que se esperan en esta etapa.¹⁻³ El algoritmo de la *Figura 1* contempla el diagnóstico en niños nacidos de madres infectadas, que puede ser aplicable a los casos de infección primaria.

Los niños nacidos de madres infectadas

El diagnóstico de la infección por VIH en los menores de 18 a 24 meses nacidos de madres positivas, son casos que presentan algunas dificultades particulares. Esto se debe a que los anticuerpos de tipo IgG atraviesan la barrera placentaria y por lo tanto están presentes en casi todos los bebés de mujeres VIH positivas, por lo que se deben usar pruebas directas de la infección en busca de la presencia del virus o de sus componentes. El diagnóstico serológico se puede emplear en estos casos: consiste en comprobar la presencia de anticuerpos anti-VIH que por su estructura molecular, no atraviesen la placenta: como son los de anticuerpos del tipo IgA.

Para detectar la infección en los niños es necesario probar la presencia del virus por aislamiento, identificar el material genético viral: sea ARN o ADN en el plasma o en las células del niño, encontrar las proteínas virales en el plasma y evaluar la presencia de anticuerpos anti-VIH específicos de tipo IgA. En la actualidad la prueba diagnóstica que se emplea en los niños es la PCR cuantitativa (carga viral).

Interpretación de los resultados

Para un diagnóstico confiable en lactantes se evalúa un mínimo de dos muestras tomadas en un intervalo de dos meses. Si todas las pruebas específicas (aislamiento, PCR, carga viral, antígeno en plasma y anticuerpos tipo IgA) son negativas, se puede considerar que el niño no se encuentra infectado, aunque la serología sea positiva (ELISA y Western Blot de IgG). Se recomienda valorar nuevamente al niño 18 meses después, para asegurar que ha ocurrido la sero-reversión, por la pérdida de los anticuerpos IgG de la madre.

Para considerar a un niño infectado se debe obtener un resultado positivo en aislamiento viral, o la presencia de antígeno viral en el plasma, o una carga viral mayor de 100,000 copias de ARN/mL del plasma y PCR o anticuerpos tipo IgA positivos. Salvo el resultado de IgA, los de los otros ensayos en niños menores de un mes, deben ser corroborados, ya que hay evidencias de la presencia del virus en los primeros días de vida, sin que después el virus se establezca en una infección permanente.²

Tanto los resultados de la carga viral como de la PCR deben considerarse con reservas, sobre todo si los resultados no concuerdan en estudios secuenciales: debido a la posibilidad de obtener resultados falsos positivos. Hay también que considerar que un niño infectado puede dar lugar a resultados negativos en uno o varios de los estudios con las pruebas mencionadas, debido a que los resultados obtenidos con marcadores empleados pueden variar durante las distintas etapas de la infección.

Otra consideración pertinente es que las pruebas se deben hacer cuando se desee hacer el diagnóstico de VIH en los niños nacidos de madres positivas, pues implican costos, dificultad técnica, tipo de muestra requerida, tiempo para obtener el resultado y disponibilidad de la prueba por realizar. Los ensayos más sensibles, como el aislamiento y la PCR, son los de mayor costo y dificultad técnica, y en el primer caso se requiere de más tiempo para tener el resultado. Tanto la determinación de la IgA como del antígeno viral, son los ensayos más viables por su costo y por la disponibilidad de ellos, pero son menos sensibles. Una práctica común es hacer el seguimiento de los niños nacidos de madres positivas para VIH y tener datos de negatividad en todas las pruebas disponibles en dos muestras diferentes, para considerar que no está infectado; o bien datos de positividad en por lo menos dos de las pruebas en dos muestras consecutivas para diagnosticar como infectado al niño (*Cuadro 1*).

Evaluación inicial en infectados por VIH

Para conocer la situación y el pronóstico de niños infectados con VIH se debe valorar su situación clínica, inmunológica y virológica. Hay tres categorías de pruebas de laboratorio de gran valor en esta valoración: el número de células CD4+, la carga viral y los marcadores de activación inmune.³ En cualquier caso, un médico que reciba por primera vez un niño infectado debe confirmar el diagnóstico, especialmente si los valores de células CD4+ están dentro del margen de normalidad (*Cuadro 1*). Se recomienda que en la evaluación inicial se haga

Cuadro 1. Porcentaje de niños y niñas correctamente identificados por diferentes ensayos de laboratorio.

Método	Nacimiento al mes %	Hasta los 3 meses %	Hasta los 6 meses %
IgA	5 a 25	50 a 60	60 a 100
Antígeno p ₂₄	10 a 25	30 a 60	30 a 50
Aislamiento	40 a 50	80 a 100	90 a 100
PCR	40 a 50	80 a 100	90 a 100

una química sanguínea, la evaluación de su condición nutricia, investigación de su función renal y de la función hepática, y un análisis general de sangre, pues los niños infectados por VIH suelen presentar leucopenia y trombocitopenia.³

Cuenta de células CD4+

La cuantificación de células CD4+ es indispensable en el manejo de los enfermos VIH+, tanto para tomar decisiones para su tratamiento como para estimar el riesgo de complicaciones y tratar de prevenirlas, y para valorar la respuesta terapéutica. Los resultados pueden reportarse en términos de porcentaje de células o por su número absoluto. En los enfermos de VIH es común usar los valores absolutos de células CD4, pero los porcentajes sirven mejor para conocer el estado inmunológico de los pacientes, como cuando las cuentas de linfocitos o de células blancas de un enfermo son muy altas. Cifras menores de 14% corresponden a menos de 200 células/mm³. Cuando el porcentaje es entre 14 y 28%, el número absoluto de linfocitos CD4+ está entre 200 y 500 células/mm³ y cuando el porcentaje es mayor de 28%, el paciente tiene más de 500 CD4/mm³.³ Hay que tener en cuenta que el número de células CD4+ puede variar hasta 25% en los resultados obtenidos en serie, debido a cierta variabilidad biológica.

Carga viral

La cuantificación de la carga viral es imprescindible en la atención de enfermos con VIH. Como ya se mencionó, mide el número de copias de ARN de VIH circulando en el plasma. Es útil para emitir un pronóstico, determinar el inicio de la terapia antirretroviral y el tipo de tratamiento que se dará al enfermo.

Durante la etapa de infección primaria la carga viral se encuentra elevada: alcanza valores de más de un millón de copias de ARN de VIH/mL en plasma. A los pocos meses se establece un equilibrio con el sistema inmune disminuyendo la carga viral y se establece la carga que permanecerá relativamente estable por varios

años (set point), al cabo de los cuales se registra un aumento que, sin tratamiento, ya no puede ser controlado por el organismo. El nivel estable tiene un valor pronóstico relevante, ya que permite predecir la probabilidad de progresión.³

Hay varios métodos para la determinación de la carga viral, algunos se basan en la amplificación del material genómico (ARN) ya sea por PCR o por una amplificación isotérmica (NASBA), en tanto que otros se basan en la amplificación de la señal de detección, sea por el método de ADN ramificado o por hibridación con sondas marcadas. Al comparar resultados de carga viral de dos muestras de un paciente se debe tenerse en cuenta la alta variabilidad de estos ensayos entre laboratorios y entre distintos ensayos. El consenso es que en la práctica clínica se deben emplear los valores logarítmicos.

Marcadores de activación inmune

La infección por VIH provoca trastornos en la respuesta inmune, tanto humorar como celular. La activación inmune es una de las características importantes en la patogenia de esta enfermedad. La activación inmune está relacionada con el curso de la enfermedad y se ve modificada por los tratamientos antirretrovirales.⁴

En relación con la función de las células mononucleares sanguíneas se ha documentado que en respuesta a la estimulación por mitógenos o antígenos microbianos ocurre una menor proliferación, que se puede encontrar aun antes de la disminución de células CD4+. También se sabe que los linfocitos producen y liberan ciertas citocinas y que en el suero se pueden investigar algunos marcadores solubles, de los cuales los más estudiados son la beta2-microglobulina o la neopterina, aunque también se encuentra antígeno CD8 soluble y la concentración de IgA en suero. Todos estos marcadores están elevados en la infección por VIH.

Por otro lado, se han descrito cambios con respecto a antígenos fenotípicos en linfocitos periféricos. Además de la disminución de células CD4+ y el aumento de células CD8+, se ha encontrado una expresión aumentada de CD38 y HLA-DR, tanto en

linfocitos CD4+ como CD8+. Algunos otros antígenos como CD45RA y CD25 disminuyen. Cabe resaltar que el uso de todos estos marcadores en la práctica clínica se ve afectado por la carencia de métodos estandarizados y por un deficiente control de calidad, lo que ha hecho que su empleo esté restringido a estudios de investigación.⁴

Resistencia del VIH-1 a los antirretrovirales

La transcriptasa reversa viral, que se encarga de copiar el ARN del virus a ADN, carece de actividad de corrección, por lo que cada vez que se copia una molécula de ARN viral se incorporan nucleótidos equivocados, con respecto a la secuencia original del ARN. Si se considera, además, que la velocidad de replicación del virus le permite formar aproximadamente 1,010 viriones nuevos cada día, diariamente puede haber un cambio o mutación en cada una de las 9,400 bases que forman la secuencia completa del ARN del virus.^{5,6}

Algunas de las mutaciones, sencillas o múltiples, en el VIH le confieren resistencia total o parcial a los antirretrovirales. Cuando hay replicación viral durante la terapia, aun cuando ésta sea de bajo nivel, se seleccionan variantes virales con una mayor capacidad de replicarse en presencia de los medicamentos. Clínicamente esta resistencia se pone en evidencia cuando no hay respuesta clínica al tratamiento, ya sea porque la supresión de la replicación no fue completa o por una nueva reaparición del virus en el plasma.

También hay factores del hospedero que influyen en la aparición de virus resistente al tratamiento, entre éstos se pueden mencionar: faltas de adherencia al tratamiento, respuesta farmacocinética propia de cada individuo, como una deficiente absorción del medicamento o excreción rápida de éste, o un alto índice de unión del medicamento a las proteínas plasmáticas.⁵

El desarrollo de variantes del virus resistentes a los fármacos en los niños limita ser tomados como opción de tratamiento, además que se ha documentado la transmisión de cepas resistentes a través de las vías de transmisión conocidas. La detección de resistencias virales en el laboratorio es técnicamente compleja; pueden emplearse dos tipos de metodología: ensayos fenotípicos o genotípicos, el costo de estos estudios es elevado y aunque todavía no hay un consenso sobre su empleo en la clínica, es probable que en corto plazo su empleo se convierta en una práctica común. Algunos estudios ya muestran que la relación costo-beneficio de su aplicación es útil: ya que evita el mantener un tratamiento que ya no muestra beneficio alguno para el enfermo.⁶

El laboratorio en el pronóstico y seguimiento de enfermos

La determinación de la secuencia de nucleótidos (genotípico) del VIH permite identificar mutaciones en las cadenas de aminoácidos, le permite conocer los patrones de resistencia a los medicamentos antirretrovirales. Se cuenta actualmente con la metodología para reconocer genotipos, mediante la secuenciación directa y ensayos para identificar las mutaciones puntuales, entre las más comunes. La secuenciación directa implica la extracción del ARN del VIH plasmático por el método de amplificación de RT-PCR, o bien la amplificación del ADN en los polimorfonucleares mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Con esta metodología se identifica la secuencia de la mayoría de las especies de virus del SIDA.

Comentarios al margen

El número de niños con VIH ha aumentado significativamente en todo el mundo durante la última década y de la prevalencia de infección por VIH en mujeres en edad reproductiva. La mayor parte de los casos nuevos de infección por VIH en infantes son consecuencia de la transmisión perinatal. La vulnerabilidad de las mujeres y los niños en países poco desarrollados se reconoce en ellos por el gran número de casos de VIH/SIDA, a pesar de los esfuerzos dirigidos a los grupos de "riesgo" en estos países, con poco énfasis en acciones hacia los "grupos de víctimas".

Es por eso importante identificar a las mujeres embarazadas que se encuentran infectadas con el VIH, antes del parto, para disminuir la transmisión perinatal del virus; ésta ha sido la recomendación de múltiples organizaciones al cuidado de la salud. Además, la identificación temprana de la embarazada y de su hijo, es necesario optimizar su tratamiento médico, que no sólo va dirigido a intervenciones médicas apropiadas con la prescripción de medicamentos antirretroviral, sino también para la profilaxis contra gérmenes oportunistas y recomendaciones a las madres de no amamantar a sus hijos, y el diagnóstico temprano del niño infectado por el VIH. Se estima que en el mundo diariamente contraen el virus 1,600 niños menores de 15 años;¹⁰ que de cada cinco mujeres VIH+ cuatro viven en los países en vías de desarrollo y que en estas áreas se encuentra el 87% de todos los casos de niños con VIH. No menos lamentable es que el acceso a cuidados médicos antes y después del nacimiento es crítico, para la reducción de la transmisión perinatal del VIH y otras infecciones. Lamentablemente por la inequidad en estas poblaciones

pobres las mujeres no tienen acceso al control prenatal, por lo que, en términos generales, 52% de las mujeres no reciben ningún tipo de cuidado perinatal institucionalizado y 40% de las mujeres tienen a sus bebés en su casa, sin apoyo médico.

Entre los niños que corren riesgo de infección por el VIH cabe mencionar los niños nacidos de sexoservidoras o usuarias de drogas, los hijos de madres cuyos compañeros sexuales son bisexuales, los enfermos de hemofilia o los usuarios de drogas endovenosas. También los adolescentes son una población especialmente vulnerables al VIH, por que tienen prácticas sexuales no protegidas. Sin embargo, hay que reconocer en los niños y en las organizaciones de niños, su potencial para contribuir al bienestar de las familias, las comunidades y la sociedad, por lo que para disminuir la incidencia de SIDA en esta población hay que iniciar o ampliar las estrategias de prevención en aquellos que tienen ascendencia sobre los niños y con los propios niños. Todo ello en memoria de los niños fallecidos por esta enfermedad.

3. United Nations Program HIV/AIDS. HIV testing methods. Technical update, Best Practice Collection. New York: UNAIDS 1997.
4. Dunn TD, Simonds JR, Bulterys M, Kalish AL et al. Interventions to prevent vertical transmission of HIV-1: Effect on viral detection rate in early infant samples. *AIDS* 2000; 14: 1421-8.
5. Palumbo PE, Raskino C, Fiscus S et al. Disease progression in HIV infected infants and children: predictive value of quantitative plasma HIV-RNA and CD4 lymphocyte count. *JAMA* 1998; 279: 756-61.
6. Boucher C, Saag M. Viral load in HIV infection. *Assays and clinical applications*. London Education 2000 Series, Hodman-La Roche. Adelphi.
7. Condra JH, Schleif WA, Vali OM et al. *In vivo* emergency of HIV variants resistant to multiple protease inhibitors. *Nature* 1995; 374: 569-71.
8. Finzi D, Hermankova M, Pierson T et al. Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *Science* 1997; 278: 1295-300.
9. Reisler RB, Thea DM, Pliner V et al. Early detection of reverse transcriptase activity in plasma of neonates infected with HIV-1: a comparative analysis with RNA based testing using PCR. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001; 26: 93-102.
10. Gorbea-Robles MC. Diagnóstico de la infección por el VIH/SIDA. En: *Manejo integral del binomio madre-hijo con VIH/SIDA*. 1^a ed. México: Manual Moderno. 2003: 95-108.

Referencias

1. Fahey JL, Flemming DS. *AIDS/HIV Reference Guide for medical professionals*. 4th ed. San Diego: Williams & Wilkins. 1997.
2. Schochetman G, George R, ed AIDS testing. *A comprehensive guide to technical, medical, social, legal and management issues*. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag. 1994.

Correspondencia:

María del Carmen Gorbea Robles
Servicio de Pediatría, Hospital de Infectología
Seris y Cto. Interior S/N Col. La Raza.
México, D.F.
Tel. 56722739

