

## Artículo original

# Uso de la carga viral del Virus de Inmunodeficiencia Humana para la detección de la transmisión vertical en pacientes referidos al Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel

Carmen Reyes García, Pierina D'Angelo Samarín\*, Gladys Ameli Marcozzi, Jesús Ramírez Orduz, Elsy Gudiño Sánchez

*Laboratorio de Programas Especiales Hepatitis y Sida. Departamento de Virología. Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Caracas, Venezuela.*

Recibido 25 de septiembre de 2018; aceptado 21 de diciembre de 2018

**Resumen:** La detección de la transmisión vertical del VIH no puede realizarse por métodos serológicos debido a la permanencia de anticuerpos maternos durante los primeros 18 meses de vida, por lo que se requiere de métodos virológicos directos. La prueba de referencia para el diagnóstico en estos pacientes es la PCR de ADN proviral. Diversos estudios han demostrado que la cuantificación de la carga viral puede ser utilizada para el diagnóstico de la infección por VIH. El objetivo del estudio fue evaluar la utilidad de la carga viral como un método alternativo para el diagnóstico precoz de la transmisión vertical del VIH. Se seleccionaron un total de 191 infantes, hijos de madres positivas para el VIH, con edades comprendidas entre 26 días y 17 meses durante el período 2011-2017, referidos al INHRR con resultados positivos para la PCR de ADN proviral del VIH, a los cuales se les procesó la carga viral plasmática. El 100% de las muestras presentó valores de carga viral detectables, con un promedio de 748.488,83 copias/mL ( $5,87 \log_{10}$ ). Este estudio sugiere que la cuantificación de la carga viral de VIH puede ser utilizada para la detección de la infección en hijos de madres VIH positivas.

**Palabras clave:** VIH; carga viral; infantes; transmisión vertical.

## Use of the Viral Load of Human Immunodeficiency Virus for detection of vertical transmission in patients referred to the National Institute of Hygiene Rafael Rangel

**Abstract:** Determination of vertical HIV transmission cannot be performed by serological methods during the first 18 months of life due to the persistence of maternal antibodies, therefore direct virological methods are required. The reference test for diagnosis in these patients is proviral DNA PCR. Several studies have shown that viral load quantification could be used for diagnosis of HIV infection. The objective of this study was to evaluate the use of HIV viral load as an alternative method for early diagnosis of vertical HIV transmission. During the period 2011-2017 a total of 191 infants aged between 26 days and 17<sup>th</sup> months born from HIV positive mothers were selected from those referred to the INHRR for proviral DNA PCR determination. Their plasma viral load was quantified. All the specimens (100%) had detectable viral load, with mean value of 748,488.83 copies /mL ( $5.87 \log_{10}$ ). These results suggest that quantification of HIV viral load could be used for detection of HIV infection in children born from HIV positive mothers.

**Keywords:** HIV; viral load; infants; vertical transmission.

\* Correspondencia:  
E-mail: pierinads@yahoo.com

### Introducción

La transmisión vertical es una de las vías de propagación de la infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH); para el año 2017 el Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) estimó que a nivel mundial el número de niños por debajo de 15

años de edad que viven con el VIH es de 2,1 millones [1]. En Venezuela, la ONUSIDA estimó que para el año 2016 existían 120.000 personas viviendo con VIH, de los cuales existen 2.500 niños de 0 a 14 años infectados con el VIH, igualmente, para el 2016 aproximadamente 500 niños se infectaron con el VIH debido a la transmisión vertical [2].

Los niños infectados con VIH sufren de enfermedades

infantiles comunes similares a las de aquellos que no lo están. Sin embargo, en niños con VIH estas enfermedades duran más, ocurren con mayor frecuencia o responden mal a los tratamientos habituales [3]. Por esto es necesario dar una respuesta oportuna en lo que se refiere al diagnóstico precoz de la infección, para que se inicie el tratamiento antirretroviral requerido [3].

Debido a la permanencia de anticuerpos maternos durante los primeros 18 meses de vida en los recién nacidos, no es posible la utilización de métodos indirectos para la detección de la infección en niños nacidos de madres VIH positivas [4]. La prueba de referencia para la detección de la infección en estos pacientes, es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) del ADN proviral, cuya sensibilidad aumenta con la edad; a partir de primer mes la sensibilidad es de 96% con especificidad del 99% [5]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que a todos los lactantes expuestos al VIH se les realice la prueba de detección viral entre las 4 a 6 semanas de edad y entre los 4 y 6 meses de vida. En los infantes con un resultado de la prueba virológica inicial positiva, se recomienda comenzar el tratamiento antirretroviral y al mismo tiempo tomar una segunda muestra para confirmar el resultado positivo [6].

El diagnóstico basado en la PCR requiere de una instrumentación compleja, reactivos dependientes de cadena de frío, suministro eléctrico fiable y laboratorios altamente especializados, que requieren de una infraestructura significativa, por lo que la mayoría de las muestras se envían a laboratorios centralizados en zonas urbanas [7]. Actualmente, dicha determinación está siendo reemplazada por la carga viral, principalmente debido a dificultades para disponer de ensayos comerciales para determinar el ADN proviral con suficientes controles de calidad y certificación por agencias reguladoras, además que para su realización se debe utilizar sangre total [8]. El Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel (INHRR), es el único centro de referencia en Venezuela que atiende de manera gratuita pacientes con VIH procedentes de diferentes estados y el diagnóstico se realiza mediante la prueba de PCR de ADN proviral, desde el primer mes de vida.

La carga viral del VIH, basada en la cuantificación del virus circulante en el plasma, y referida al número de copias de ARN del VIH por mililitro (copias/mL) y el conteo de linfocitos T CD4+, son los marcadores más utilizados para el pronóstico de la progresión del VIH; el primero es utilizado como un indicador de replicación viral, mientras que el segundo es utilizado como indicador del estado inmunológico. La prueba de carga viral puede ser utilizada para el diagnóstico de la infección por el VIH sólo en la confirmación de la infección neonatal [9]. Debido a lo anteriormente expuesto el objetivo de este trabajo fue evaluar la utilización de la prueba de carga viral del VIH-1 como un método alternativo para el diagnóstico precoz de la infección en infantes nacidos de madres VIH positivas.

## Materiales y métodos

Se realizó un estudio de tipo observacional, analítico y retrospectivo. La población estuvo conformada por todos los hijos de mujeres con diagnóstico de VIH que acudieron al INHRR para la detección del ADN proviral del virus, con edad inferior a los 18 meses entre los años 2011 y 2017. La muestra correspondió a los hijos de madres con diagnóstico de VIH que obtuvieron resultados positivos para la prueba de PCR ADN proviral del VIH y su respectiva cuantificación de la carga viral basal.

Los investigadores de este trabajo conservaron el anonimato de todos los pacientes y mantuvieron el acuerdo de confidencialidad. Los hallazgos obtenidos en este estudio no interfirieron con los resultados reportados al paciente. El desarrollo de esta investigación contó con la aprobación de la Gerencia de Diagnóstico y Vigilancia Epidemiológica, dado que el VIH es una enfermedad de notificación obligatoria.

## Métodos de Detección

*PCR de ADN proviral:* Las muestras de sangre total fueron extraídas mediante columnas de sílica gel, siguiendo las especificaciones del estuche comercial (DNA Blood QIAGEN) y el ADN extraído fue almacenado a -20 °C, hasta su procesamiento. Posteriormente se realizaron dos ensayos de reacción en cadena de la polimerasa en dos rondas, a través de las cuales se determinaron las regiones genéticas *env* y *gag* del VIH-1 [10]. La visualización del producto amplificado, se obtuvo luego de una electroforesis en gel de agarosa al 2% por tinción con bromuro de etidio. A los pacientes con resultados positivos para alguna de las dos pruebas de PCR se les solicitó inmediatamente una segunda muestra para la confirmación del resultado obtenido.

*Cuantificación de la carga viral del VIH-1:* A cada uno de los pacientes que resultaron positivos para el PCR de ADN proviral se le realizó la determinación de la carga viral del VIH-1. La misma fue realizada, según disponibilidad, mediante las técnicas de ADN ramificado (bDNA) ensayo Versant 340 (Siemens) y PCR en tiempo real COBAS AmpliPrep/COBAS Taqman HIV-1, versión 2.0. (Roche), de acuerdo a las especificaciones de cada una de las técnicas.

*Ensayo Versant 340 (Siemens):* Esta técnica comercial se fundamenta en la amplificación de una señal; para ello el virus es lisado, liberándose su ARN, donde oligonucleótidos sintéticos o sondas (blanco) median la captura del ARN viral a la superficie de un micropozo en una placa de poliestireno. Otras sondas específicas a su vez permiten la unión del ARN viral a moléculas de ADN ramificadas con múltiples copias de fosfatasa alcalina. Posteriormente, se incuba el complejo con un sustrato quimioluminiscente y se mide la emisión de luz con un luminómetro. La señal de quimioluminiscencia obtenida es directamente proporcional a la concentración de ácido nucleico presente en la muestra. El rango de cuantificación para el ensayo bDNA versión 3.0

es de 50 a 500.000 copias de ARN/ml [11].

*Ensayo PCR en tiempo real COBAS AmpliPrep / COBAS Taqman HIV-1, versión 2.0. (Roche):* Este ensayo comercial realiza una extracción totalmente automatizada; la PCR en tiempo real utiliza una diana de detección localizada en el gen *gag* y regiones LTR del VIH-1. Presenta un rango de detección de 20 a 10.000.000 copias/ml [12].

### Análisis estadístico

Los datos se describieron mediante el uso de frecuencias, medias, rangos y porcentajes. Se utilizó la prueba *t* de Student como método estadístico para el análisis de los resultados.

### Resultados

Se incluyeron un total de 191 infantes hijos de madres positivas para el VIH con edades comprendidas entre 26 días y 18 meses, con resultados positivos para el PCR de ADN proviral del VIH y con valores de cuantificación de la carga viral basal.

El 100% de las muestras de los pacientes presentaron valores de carga viral detectables, con un rango comprendido entre 1.342 copias/mL ( $3,13 \log_{10}$ ) y 10.000.000 copias/mL ( $7 \log_{10}$ ), y un promedio correspondiente a 748.488,83 copias/mL ( $5,87 \log_{10}$ ). En la figura 1 se puede observar el número de muestras de pacientes agrupadas de acuerdo a la cuantificación de la carga viral en  $\log_{10}$  respectivamente, para el total de las muestras estudiadas, en un rango de carga viral en  $\log_{10}$  que va desde 3 a 7 (equivalente a 1.000 y 10.000.000 copias/mL), observándose que la mayoría de los pacientes presentaron niveles elevados de carga viral, agrupándose la mayor cantidad de ellos entre 5 y 6

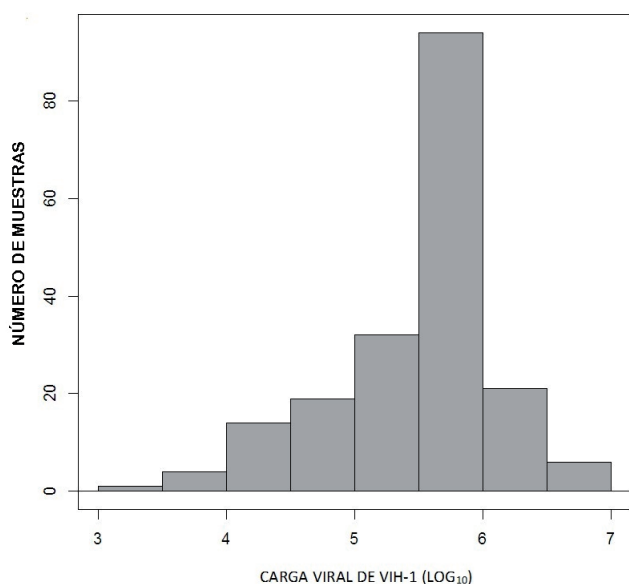


Figura 1. Frecuencia de la cuantificación de la carga viral en  $\log_{10}$  en la muestra estudiada.

correspondiendo a la media obtenida en el presente estudio, la cual fue de 5,7.

Del total de muestras procesadas, 5 (2,6%) presentaron valores de carga viral menores a 10.000 copias/ml ( $4,0 \log_{10}$ ), 33 (17,3%) presentaron valores de carga viral entre 10.000 a 100.000 copias/ml ( $4,0 \log_{10} - 5,0 \log_{10}$ ), y 153 (80,1%) mostraron valores de carga viral, mayores a 100.000 copias/ml ( $5,0 \log_{10}$ ).

A fin de correlacionar los niveles de carga viral con respecto a la edad de los pacientes, la tabla 1 muestra los resultados obtenidos con respecto al promedio de las cargas virales expresada en  $\log_{10}$  de las muestras estudiadas y la estratificación de la edad de los pacientes, observándose que el promedio de carga viral del primer grupo (0-4 meses) fue más elevado que el resto de los grupos, y el cuarto grupo de pacientes, con edad superior a 12 meses, el promedio de carga viral fue el menor.

Tabla 1. Promedio de cuantificación de la carga viral ( $\log_{10}$ ) de acuerdo a la edad de los pacientes estudiados.

Edad (meses)	Número de pacientes	Media de carga viral de VIH-1 ( $\log_{10}$ )
1 a 4	107	5,6
5 a 8	39	5,4
9 a 12	28	5,4
12 a 18	17	5,1

En relación al sexo, ambos grupos mostraron una distribución normal, sin diferencias estadísticamente significativas en los niveles de carga viral ( $0,05 < p$ ), representando un promedio de carga viral  $\log_{10} = 5,46$  y  $5,48$  para el sexo masculino y femenino respectivamente.

Con respecto al uso del tratamiento profiláctico, de la muestra total, 94 (49,2%) no recibieron tratamiento profiláctico, 73 (38,2%) recibieron tratamiento y de 24 (12,6%) pacientes no se obtuvo información. En este sentido, de acuerdo al análisis estadístico, estos grupos también presentaron una distribución normal, sin diferencias significativas ( $0,05 < p$ ), lo que indica que el uso de tratamiento profiláctico no afectó los niveles de carga viral en estos pacientes (tratamiento profiláctico  $\log_{10} = 5,4$ ; sin tratamiento profiláctico  $\log_{10} = 5,5$ , sin información:  $\log_{10} = 5,6$ ).

### Discusión

El uso de la cuantificación de la carga viral para el diagnóstico de la infección por transmisión vertical del VIH representa un método alternativo cuando no se dispone de los métodos tradicionales. En un trabajo realizado en Argentina se evaluó el desempeño del ensayo de ARN cuantitativo COBAS TaqMan HIV-1 Test, versión 1.0 (Roche), para considerarlo como metodología alternativa o complementaria en el diagnóstico precoz de la infección

por VIH en niños expuestos durante la etapa perinatal. Los resultados demostraron una alta sensibilidad y especificidad, y mostraron que no es necesario establecer un valor de corte a partir del cual una muestra detectable pueda ser considerada como verdadera positiva para el diagnóstico de infección congénita por VIH [13]. Al igual que en nuestro estudio, los resultados demostraron un excelente desempeño entre las dos técnicas evaluadas, lo que indica que puede ser utilizada como método alternativo para el diagnóstico de la infección en estos pacientes.

En relación al nivel de viremia, en España, se consideran válidos resultados en los que el nivel sea elevado (mayor a 5.000 copias/mL), de lo contrario, es preferible descartar la infección mediante el uso de otras pruebas [14]. Otros autores consideran que cuando se utiliza esta metodología se requiere que la carga viral plasmática sea  $\geq 10.000$  copias/mL para que el resultado sea interpretado como positivo. Generalmente los niños con infección no tratada por VIH presentan cargas virales extremadamente altas (mayores a 100.000 copias/mL), por lo que consideran que un ensayo con carga menor a 10.000 copias/mL no debe interpretarse como definitivamente positivo cuando se utiliza para el diagnóstico de la infección [4]. De acuerdo a resultados obtenidos en nuestra investigación, 97,4% de los pacientes presentaron valores de carga viral mayores de 10.000 copias/mL, mientras que 2,6% de los pacientes estudiados mostraron valores de carga viral menores a 10.000 copias/mL, corroborándose que en ellos generalmente se presentan cargas virales elevadas. Por esta razón, consideramos que se puede establecer 10.000 copias/mL como punto de corte para el diagnóstico en este tipo de pacientes. La correlación de los resultados obtenidos entre los valores de carga viral y la edad demostraron, en líneas generales, que los valores de carga viral en los primeros meses de vida son más elevados y después van disminuyendo paulatinamente; es posible que esta disminución se deba al uso de tratamiento antirretroviral. Entonces, es importante tomar en cuenta que el periodo donde existe la mayor posibilidad de detección de la infección está en los primeros meses de vida, por lo que se hace prioritario establecer la atención médica en este intervalo de tiempo.

En Brasil, investigadores determinaron que la carga viral media de los niños infectados de 3 semanas hasta los 3 meses de edad fue de 1.500.000 copias/mL ( $\log_{10}$  6,2) con un rango desde 125.000 hasta 44.000.000 copias/mL ( $\log_{10}$  5,1-7,6) [15]. Dichos resultados son similares a los obtenidos en nuestra investigación, donde el primer grupo de pacientes (hasta 4 meses) presentó un promedio de carga viral menor al reportado por los investigadores brasileños, representado por 398.107 copias/mL ( $5,6 \log_{10}$ ) con una diferencia logarítmica de 0,6 y un rango entre 1.342 a 10.000.000 de copias/mL.

En un estudio realizado en Estados Unidos [16], no hubo diferencias significativas entre la PCR de ADN cualitativo y la cuantificación de ARN. La sensibilidad de la cuantificación fue ligeramente menor cuando los niños habían recibido Zidovudina (ZDV) pero sin una

diferencia estadísticamente significativa. En este sentido, nuestra investigación demostró que no hubo diferencias estadísticamente significativas al comparar los niveles de carga viral con el uso de tratamiento profiláctico. Los autores mencionados anteriormente, determinaron que resultados falsos positivos sólo pueden ocurrir por errores técnicos del laboratorio e igualmente definieron que los valores de carga viral menores a 1.000 copias/mL deben evaluarse con especial atención. Investigadores han referido que la terapia antirretroviral y la profilaxis que se utiliza para reducir la transmisión madre-hijo podrían afectar la sensibilidad de las técnicas de carga viral, por lo que debe considerarse el uso de terapia antirretroviral a la hora de interpretar los resultados [13]. Nuevamente, en nuestro estudio no hubo diferencias significativas en los valores de carga viral de los niños que recibieron o no tratamiento profiláctico, por lo que este aspecto no interfirió en la interpretación de los resultados.

Por otra parte, Álvarez *et al* [17] indicaron que la carga viral del VIH puede verse afectada por la variabilidad genética del virus. En este estudio se compararon dos metodologías: ensayo de ADN de VERSANT VIH-1 RNA 1,0 kPCR (kPCR) y Roche CAP/CTM cuantitativo v2.0 (CAP/CTM v2.0) en muestras de diferentes variantes de VIH-1, describiendo que la variabilidad genética del VIH-1 puede llevar a la subestimación de la carga viral o a la ausencia de detección de ARN del VIH-1 usando diferentes metodologías. De acuerdo a estos resultados, sugieren que si se utiliza la carga viral para el diagnóstico en infantes, se espera obtener una carga viral elevada, pero se debe considerar un ensayo muy específico, que en su caso fue kPCR sin ningún resultado falso positivo, mientras que la metodología CAP/CTMv2.0 mostró 10,5% de detección de VIH falsos positivos con cargas inferiores a 2.300 copias/mL, lo que indica que los resultados falsos positivos podrían resultar en un diagnóstico incorrecto y un tratamiento innecesario [17]. En nuestra investigación ambas metodologías fueron comparables para detectar y cuantificar la carga viral, sin embargo, no fueron evaluados pacientes con PCR negativo para el VIH a fin de valorar los falsos negativos y/o falsos positivos.

Finalmente, una vez analizados los resultados de la investigación, se presenta un algoritmo alternativo para el diagnóstico del VIH en pacientes menores de 18 meses hijos de madres VIH positivo (Figura 2); donde, un resultado de carga viral mayor de 10.000 copias/mL es reportado Positivo y se solicita una segunda muestra para confirmar el resultado, por su parte, si se obtiene una carga viral menor de 10.000 copias/mL se deben verificar los antecedentes clínicos-epidemiológicos y solicitar una segunda muestra, en caso de obtener una carga viral mayor de 10.000 copias/mL se reporta Positivo y se procede como se describió anteriormente, si se obtiene nuevamente una carga menor a 10.000 copias/mL se debe solicitar una nueva muestra para la detección del VIH mediante la prueba de PCR de ADN proviral.

En escenarios donde el acceso a un centro de referencia

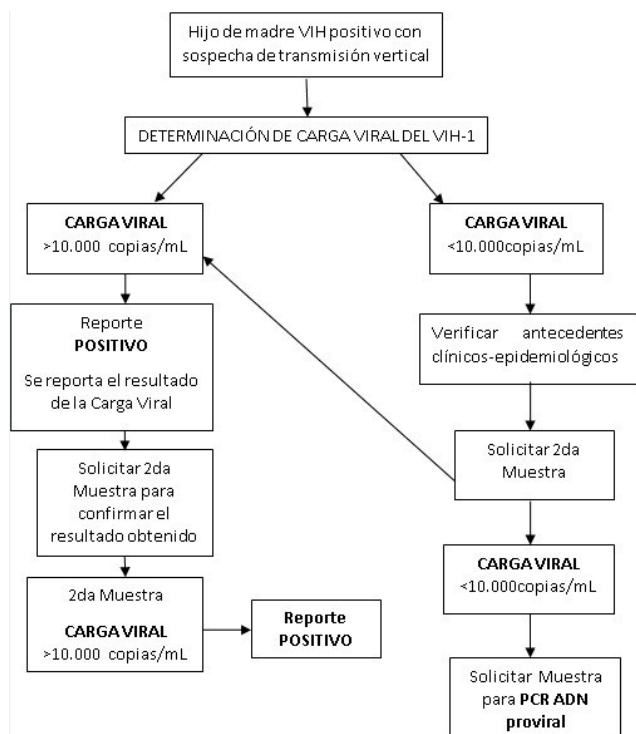


Figura 2. Algoritmo diagnóstico alternativo del VIH en pacientes menores de 18 meses hijos de madres VIH positivas.

y/o la disponibilidad de las pruebas es limitada, la cuantificación de la carga viral de VIH puede ser utilizada como prueba virológica para la detección de la infección en hijos de madres VIH positivo. Es importante el diagnóstico temprano de la infección por el VIH-1 en el recién nacido para su manejo clínico oportuno. Los resultados obtenidos permitieron establecer un algoritmo diagnóstico alternativo para la detección de la infección vertical del VIH en hijos de madres VIH positivo.

Al comparar nuestros resultados con los obtenidos por otros grupos de investigación se encontraron similitudes que permitió evidenciar que el uso de esta técnica es altamente sensible para la detección de la infección en estos pacientes, lo que aumenta las alternativas diagnósticas que permitan elevar la capacidad de respuesta y conlleve a lograr el diagnóstico temprano de la enfermedad para su manejo clínico oportuno con la aplicación de tratamiento temprano, ya que está demostrado que en pacientes sin acceso a tratamiento antirretroviral la enfermedad progresa rápidamente, y hasta 45% de los niños infectados desarrollan el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) y mueren dentro de los dos primeros años de vida.

Con la aplicación del algoritmo de diagnóstico propuesto en este estudio, en aquellas poblaciones con dificultades de acceso y transporte, no será necesario el traslado de los pacientes hasta el centro de referencia. De esta manera, el médico tratante podrá referir la muestra de plasma para la detección del VIH al INHRR, a través de su envío por los servicios de encomienda, cumpliendo las normativas de transporte de sustancias infecciosas, garantizando de esta manera el acceso al diagnóstico de la población venezolana.

## Agradecimientos

A la Dra. Tatiana Drummont, médico pediatra infectólogo del Servicio de Infectología Pediátrica del Hospital Universitario de Caracas, por su colaboración en la revisión de este trabajo.

## Conflicto de intereses

Los autores de este trabajo no tienen conflicto de intereses para su publicación.

## Referencias

1. ONUSIDA, 2017. UNAIDS Data 2017. Disponible en: [http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/UNAIDS\\_FactSheet\\_es.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_es.pdf). Acceso abril de 2018.
2. ONUSIDA VENEZUELA, 2016. Datos Venezuela. Disponible en <http://www.unaids.org/es/regionscountries/countries/venezuela>. Acceso agosto de 2017.
3. UNAIDS, 2002. Paediatric HIV infection and AIDS. Disponible en: [http://data.unaids.org/publications/IRC-pub02/jc750-paediatric-pov\\_en](http://data.unaids.org/publications/IRC-pub02/jc750-paediatric-pov_en). Acceso julio de 2016.
4. Read J. Committee on Pediatric AIDS. Diagnosis of HIV-1 infection in children younger than 18 months in the United States. *Pediatrics*. 2007; 120:1547-62.
5. OMS, 2016. Consolidated Guidelines on the Use of Antiretroviral drugs for Treating and Preventing HIV infection 2016 recommendations for a public health approach second edition. Disponible [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/208825/9789241549684\\_eng.pdf?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/208825/9789241549684_eng.pdf?sequence=1). Acceso agosto de 2017.
6. WHO, 2010. Recommendations on the Diagnosis of HIV Infection in Infants and Children. Disponible en: <http://www.who.int/hiv/pub/paediatric/diagnosis/en/>. Acceso agosto de 2017.
7. Boyle D, Lehman D, Lillis L, Peters D, Singhal M, Armes N. Rapid detection of HIV-1 proviral DNA for early infant diagnosis using recombinase polymerase amplification. *mBio*. 2013; 4:1-8.
8. García F, Álvarez M, Bernal C, Chueca N, Guillot V. Diagnóstico de laboratorio de la infección por el VIH, del tropismo viral y de las resistencias a los antirretrovirales. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011; 29: 297-307.
9. Alvarez M, Chueca N, Guillot V, Bernal M, Garcia F. Improving clinical laboratory efficiency: Introduction of systems for the diagnosis and monitoring of HIV infection. *Open Virol J*. 2012; 6:135-43.
10. D'Angelo P, Ameli G, Gutiérrez C. Detección del virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 mediante la PCR, en neonatos de madres seropositivas *Rev Soc Ven Microbiol*. 2007; 27:79-84.
11. Gutiérrez C, Pacheco M, Sánchez D, Ameli G, Moncada M, Chacón E *et al*. Comparación de dos métodos comerciales para determinación de carga viral

- en plasmas provenientes de pacientes venezolanos infectados por el virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1). *Rev Panam Infectol.* 2009; 11:44-9.
12. Hatzakis A, Papachristou H, Nair S, Fortunko J, Foote T, Kim H *et al.* Analytical characteristics and comparative evaluation of Aptima HIV-1 Quant Dx assay with Ampliprep/COBAS TaqMan HIV-1 test v2.0. *Virology*. 2016; 13:176. doi: 10.1186/s12985-016-0627-y.
  13. Castro G, Sosa M, Gallego S, Sicilia P, Marin A, Altamirano N *et al.* Implementación del Ensayo de Carga Viral COBAS Taqman HIV-1 Test, v 1.0. *Rev Argent Microbiol.* 2015; 47:57-61.
  14. Aguilera A, Álvarez M, Reina G, Rodríguez C. Diagnóstico Microbiológico de la Infección por el VIH. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2014. Disponible en: <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia6b.pdf>. Acceso agosto de 2018.
  15. Espineli, I, Azevedo L, Succi R, Machado D, Diaz R. RNA Viral Load test for early diagnosis of vertical transmission of HIV-1. *JAIDS.* 2000; 23:358-9.
  16. Nesheim S, Palumbo P, Sullivan K, Lee F, Vink P, Abrams E *et al.* Quantitative RNA testing for diagnostic of HIV-infected infants. *JAIDS.* 2003; 32:192-5.
  17. Álvarez P, Matín L, Prieto L, Obiang J, Vargas A, Avedillo P *et al.* HIV-1 variability and viral load technique could lead to false positive HIV-1 detection and to erroneous viral quantification in infected specimens. *J Infect.* 2015; 71:368–76.
  18. OMS, 2016. Hoja informativa: Transmisión materno-infantil del VIH y sífilis en las Américas. Disponible en: [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=11083%3A2015-hoja-informativa-madre-hijo-vih-sifilis-americas&catid=8473%3Ageneral&Itemid=41525&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=11083%3A2015-hoja-informativa-madre-hijo-vih-sifilis-americas&catid=8473%3Ageneral&Itemid=41525&lang=es). Acceso agosto de 2017.