

Recomendaciones para el cribado de la infección VIH del niño hijo de madre infectada con posibilidad de adopción.

González- Tomé, MI; Navarro M; Noguera-Julián A; Ramos Amador JT; Polo R; Holguín A.

Introducción:

La mejoría en el control de la infección y la eficacia de las terapias antirretrovirales (TAR) han cambiado las expectativas de vida del paciente infectado por el VIH y ello ha conllevado un incremento del número de parejas que desean tener descendencia. Asimismo, el TAR administrado a la embarazada y recién nacido ha permitido reducir la tasa de transmisión vertical (TV) del VIH hasta cifras inferiores al 1%. En España, la incidencia de nuevas infecciones por VIH en mujeres se estima en 20 casos por millón y año. La mayoría de ellas son mujeres jóvenes e infectadas por transmisión sexual, ya que las tasas de infección debidas al consumo de drogas por vía parenteral ha disminuido drásticamente y, con ello, también la coinfección por hepatitis C. Sin embargo, en ocasiones, estos niños son dados en adopción por diferentes motivos. Es importante determinar en estos casos si el niño presenta o no infección por VIH, pues esto puede determinar cómo se realice la adopción y el tiempo en el que el niño pueda ser adoptado.

De la mano de la mejora en las técnicas diagnósticas, se puede determinar de forma más precoz y con mayor seguridad el estado de infección en el hijo de madre VIH, de manera que a los 5-6 meses se puede tener bastante certeza en la mayoría de los casos de si el niño está infectado o no. Para justificar este punto, a continuación, se exponen los datos relativos al diagnóstico en todo hijo de madre con infección por VIH.

Esquema diagnóstico.

El diagnóstico de la infección VIH en los niños >18 meses se realiza mediante serología como en el adulto. Sin embargo, en los niños menores de esta edad se tiene que hacer un diagnóstico precoz utilizando las pruebas virológicas que detecten directamente alguna de sus proteínas (como el antígeno p24) o más frecuentemente el genoma del virus en forma de ADN proviral o ARN viral y, principalmente, por la reacción de la polimerasa en cadena o PCR. Ello se debe a que los anticuerpos de la madre se transfieren al niño a través de la circulación placentaria y pueden persistir en él hasta en torno a los 18 meses, aunque pueden desaparecer varios meses antes o persistir más en algunos casos. Por eso la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda un diagnóstico de VIH sistemático a todos los niños expuestos al VIH (nacidos de madre infectada) a las 4-6 semanas de edad con pruebas virológicas que tengan una sensibilidad de, al menos, el 95%, así como la iniciación de terapia antirretroviral triple inmediatamente tras el diagnóstico de la infección. Un diagnóstico precoz requiere un primer test virológico positivo confirmado por una segunda prueba virológica positiva realizada en una muestra diferente. Las guías de la OMS recomiendan realizar una prueba de diagnóstico serológico a partir de los 9 meses de edad a todos los niños expuestos al VIH. (1-4)

Las pruebas virológicas más usadas son la **PCR ADN VIH** que detecta ADN proviral en sangre o células infectadas, cuya sensibilidad aumenta con la edad (40% durante la 1ª semana de vida, aumentando la sensibilidad al 96% con especificidad del 99% a partir del mes) y/o la **PCR RNA VIH**, que detecta RNA viral libre en plasma (a la vez que lo cuantifica), siendo esta técnica la que se usa en la mayoría de los centros. La sensibilidad también aumenta con la edad (25-40% durante la 1ª semana de vida, aumentando a partir de la 3ª semana de vida y alcanzando > 90-100% a partir de los 2-3 meses).

En los documentos de consenso del Plan Nacional sobre el sida se recomienda que la detección de RNA y/o DNA viral se realice en las primeras 48 horas de vida. Si en este momento las pruebas virológicas son positivas nos indica que ha existido una infección intraútero. Dado que la sensibilidad de las pruebas virológicas aumentan, sobre todo, a partir del mes de vida, estas deben repetirse a las 4 ó 6 semanas de nacer (se recomienda también entre los 15-21 días de vida, en caso de alto riesgo de TV de VIH) y tras ≥ 4 meses. Esta última determinación tiene especial interés en el caso de niños que hubieran recibido terapia combinada, lo cual podría haber disminuido la carga viral y originar falsos negativos en las determinaciones previas, sobre todo cuando se hace la determinación con ARN. Si se obtiene un resultado positivo de alguna de estas técnicas, deben repetirse rápidamente en una muestra diferente de sangre para confirmar la infección y descartar un falso positivo. Sin embargo, si todas las pruebas virológicas son negativas, y siendo una de ellas obtenida ≥ 4 meses de vida, se puede afirmar con seguridad que el paciente no está infectado por VIH, siempre que no haya recibido lactancia materna, que en nuestro medio se contraindica.(5,6)

El esquema diagnóstico que se recoge en el documento de consenso del PNS en colaboración con la SEIP es el siguiente:

Edad	Actuación	Comentarios
0-48 horas	Iniciar profilaxis antirretroviral Solicitar PCR RNA/DNA HIV en las 1 ^{as} 48h.	Si negativa repetir 15-21 días de vida. Si positiva, repetir en otra muestra para confirmar infección intraútero y descartar falso positivo.
15-21 días	Solicitar PCR RNA/DNA VIH (opcional si bajo riesgo de TV de VIH)	Si negativa repetir a 4-6 semanas de vida. Solicitar en caso de riesgo alto de TV. Si positiva, repetir en otra muestra para confirmar infección y descartar falso positivo.
4 -6 semanas	Solicitar PCR RNA/DNA VIH. Stop profilaxis a las 4 semanas de vida	Si negativa repetir a los 4 meses de vida. Si positiva, repetir en otra muestra para confirmar infección y descartar falso positivo.
≥ 4 meses	Solicitar PCR RNA/DNA HIV	Si negativa: infección prácticamente descartada en el 99% de los casos. Si positiva, repetir en otra muestra para confirmar infección y descartar falso positivo.
12-18 meses	ELISA confirmado por western blot	Comprobar desaparición de anticuerpos para VIH Es excepcional que persistan anticuerpos positivos si las pruebas virológicas han sido negativas, pero puede verse con el grupo O del VIH-1 y con el VIH-2, que pueden dar resultados negativos en la detección por técnicas virológicas. Estas variantes del VIH son excepcionales en nuestro país.

Factores que pueden afectar al diagnóstico molecular del VIH en niños

Existen varios factores que pueden afectar a la eficacia de las técnicas diagnóstico molecular basadas en la amplificación del material genético viral para el diagnóstico precoz de la infección por el VIH en niños. Entre ellas se encuentran el tiempo de adquisición de la infección en el niño, la carga viral de la muestra, la variabilidad genética del VIH-1, el tipo de muestra, el volumen empleado en el ensayo, el límite de detección de la técnica empleada, y el TAR recibido en el niño como profilaxis post-exposición.

Influencia del momento de adquisición de la infección en el niño.

Los niños se pueden infectar por VIH durante el embarazo, el parto y tras el nacimiento por lactancia materna. El niño mayor y el adolescente pueden infectarse por transmisión sexual o parenteral. Los niños que se infectan en el útero generalmente tienen VIH detectable en el nacimiento, y tienen una enfermedad con mayor rapidez de progresión. Los niños que se han infectado durante el parto tardan más tiempo en tener virus detectable y muestran pruebas virológicas negativas en las primeras 48 horas de vida. Por ello, la sensibilidad de todos los métodos moleculares son menores si se hacen más cerca del momento del nacimiento. En niños infectados en el útero se puede detectar ARN viral y ADN proviral en sangre a las 48 horas de nacer, pero si se infectan en el parto pueden tardar algunas semanas (de 1 a 2 semanas) en ser detectables. En general, a las 6 semanas de edad se debería detectar el virus (técnicas ultrasensibles de p24, ARN viral, ADN proviral) en casi todos los niños infectados en el parto y, sobre todo, a los 4 meses cuando ya además no tendrá profilaxis antirretroviral que podría disminuir la carga viral.(7-9)

Influencia de la carga viral (CV). El grado de viremia de la muestra para los ensayos moleculares también es un factor limitante para el diagnóstico precoz en niños. La detección de ARN viral depende de la replicación viral y del TAR que reciba el paciente, ya que esta modifica la CV y puede afectar a la detección de anticuerpos y virus (10-12). Aunque se espera que el niño VIH tenga CV elevada, si ha recibido profilaxis con biterapia o triple terapia se han descrito ocasionalmente (hasta el 10%) falsos negativos al disminuir la viremia por debajo del límite de detección de las técnicas moleculares, sobre todo ARN. Algunos estudios indican que el número de falsos negativos en el diagnóstico neonatal empleando técnicas de CV aumenta en muestras con viremias bajas (<5.000 copias de ARN viral/ml). Esto puede minimizarse utilizándose a la vez de las técnicas de ARN, el ADN proviral en las primeras 4-6 semanas de vida si se tiene disponible. Si no es así, debe asegurarse que se repite la PCR RNA para VIH a las 6 semanas y a los 4 meses cuando ya no tiene profilaxis, como se recoge previamente.

Influencia del tipo y volumen de muestra empleada. La sensibilidad del ensayo puede verse afectada también por el tipo y volumen de muestra empleada en la técnica molecular. La mayoría de ensayos virológicos requiere normalmente un mínimo de 0.5 ml a 1 ml de plasma o suero. Ello precisa tomar entre 1-2 ml de sangre en el paciente, por lo que es importante advertirlo a las unidades de neonatología. Sin embargo, La OMS recomienda el uso de unas pocas gotas de sangre seca recogida en papel de filtro (DBS; *dried blood spots*) para el diagnóstico precoz de la infección por VIH en lugares con infraestructuras limitadas y cuando se tiene poco volumen de sangre disponible (13,14).

Influencia de la tasa de transmisión vertical del virus. Hay trabajos que ya han estimado que la tasa de falsos positivos en el diagnóstico molecular mediante ADN proviral puede aumentar a mayor tasa de transmisión vertical del virus en la población de estudio (15). Por eso siempre debe repetirse una primera determinación positiva en una muestra de sangre diferente.

Influencia de la variabilidad genética viral.

La mayoría de las infecciones en niños ocurren en países donde circula un mayor número de variantes diferentes del VIH, como es el caso de África Subsahariana (16). La variabilidad genética del virus puede

conducir a falsos negativos en el diagnóstico (17). La alta variabilidad genética del VIH, resultado de su alta tasa de mutación, de recombinación y de replicación, puede influir en el diagnóstico molecular precoz del VIH en niños (18-20). Así, basado en su homología genética, el VIH se ha clasificado en diferentes variantes (**Figura 1**). Existen dos grandes tipos llamados tipo 1 (VIH-1), que causa más del 99% de los 37 millones de infecciones en todo el mundo y tipo 2 (VIH-2), presente en algunas regiones de África Occidental y que asocia menor riesgo de transmisión vertical. Ambos pueden determinarse por serología convencional.

Dentro del VIH-1, se encuentran cuatro grandes grupos (grupos M, O, N y P), teniendo los 3 últimos mínima prevalencia y estando restringidos a África central. La práctica totalidad (99%) de infecciones por VIH-1 están causadas por variantes del grupo M, que se ha subdividido a su vez en 9 subtipos hasta el momento (A-D, F-H, J, K) y en múltiples variantes recombinantes, entre las que se encuentran 72 recombinantes circulantes (CRF, ver <http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html>) y numerosos recombinantes únicos (URF). La prevalencia de infección por recombinantes de VIH es elevada, sobre todo en regiones donde circulan simultáneamente muchos subtipos, como es el caso de África Subsahariana, lo que favorece su recombinación tras coinfecciones o reinfecciones con distintas variantes (21, 22).

En el estudio SPREAD, coordinado por la Sociedad Europea de Resistencias a Antivirales, como objetivo secundario, se determinaron las variantes virales de VIH-1 circulantes en nuevos diagnósticos en Europa entre 2002 y 2005 (16). Las más prevalentes fueron el subtipo B (66%), seguido por el subtipo A1 (6.9%), C (6.8%) y el recombinante CRF02_AG (4.7%). Los países con más variantes no-B fueron Portugal e Israel. En función del origen del paciente, las nuevas infecciones presentaron la siguiente distribución: alta proporción de subtipo B en los pacientes del oeste de Europa (76%), Latinoamérica (78%), Europa del este y centro de Asia (86%). En el caso de sur y sureste asiático, el más prevalente fue el recombinante CRF01_AE (64%). Entre los pacientes del África Subsahariana, la mayoría de los subtipos fueron C (31%), mientras que en los que proceden del norte de África y Oriente Medio eran fundamentalmente subtipos B (59%), seguidos del C (17%).

Estudios más recientes realizados en nuestro país han demostrado que, aunque la **variante mayoritaria en España** es el subtipo B del VIH-1, la prevalencia de subtipos no-B y recombinantes oscila entre el 10-15%, según la cohorte estudiada (23-25), aumentando hasta más del 90% entre los infectados procedentes de África Subsahariana (**Figura 2**). Se ha publicado una similar prevalencia de infecciones por variantes no-B en población pediátrica y adulta infectada en Europa. En España se ha detectado la presencia de todos los subtipos no-B del VIH-1 y de un gran número de recombinantes CRF y URF, favorecida por los movimientos de población desde zonas donde están presentes estas variantes, principalmente de África Subsahariana y ciertas zonas de Latinoamérica. Incluso se ha detectado la presencia de infecciones causadas por recombinantes entre dos subtipos CRF diferentes. De hecho, la mayoría de cepas no-B encontradas en nuestro país son formas recombinantes, siendo el recombinante CRF02_AG la variante no-B más frecuente en prácticamente todos los estudios. En Galicia se detectó un brote entre usuarios de drogas por vía parenteral (UDVP) producido por el subtipo G, procedente de Portugal, que conllevó la formación en esta región de recombinantes entre B y G. En la actualidad, algo similar está ocurriendo también en Galicia con el subtipo F procedente de Brasil entre hombres infectados por relaciones homosexuales. También se han encontrado personas infectadas por variantes del grupo O del VIH-1 y por VIH-2 en España, aunque son excepcionales, siendo estos dos últimos los que pueden ocasionar falsos negativos en la detección precoz en el neonato.

Se estima que **las variantes no-B (diferentes al subtipo B del VIH-1) causan en España una de cada 10 infecciones, tanto en adultos como en niños (Figura 3)** (23,24). Las variantes no-B están aumentando entre los nuevos diagnósticos en nuestro país en los últimos años, tanto en población nativa

como en inmigrantes infectados procedentes de África y de Latinoamérica (25). Ello se ha confirmado también para población pediátrica infectada en seguimiento clínico en la Comunidad de Madrid (23), al incrementarse el número de infecciones por variantes no-B, principalmente recombinantes (**Figura 4**).

La variabilidad genética del virus entre variantes virales, incluso en el mismo subtipo, puede influir en el diagnóstico molecular de los niños, ya que puede afectar a las regiones del VIH donde hibridan los *primers* o sondas que se emplean en las técnicas de diagnóstico molecular del VIH, y puede conducir a **falsos negativos en el diagnóstico**. Así, no siempre las diferentes técnicas moleculares comerciales detectan con la misma fiabilidad variantes del VIH de todos los subtipos, recombinantes, grupos o tipos del VIH, ni tampoco tienen el mismo límite de detección (18,20,26). Por tanto, aún se tienen que hacer más esfuerzos para optimizar estas técnicas comerciales y que sean capaces de detectar con la misma eficacia todas las variantes no-B del VIH (subtipos diferentes al B y recombinantes), que causan la mayoría de las infecciones a nivel mundial y son prevalentes en muchos de los países más castigados por el VIH/SIDA si bien tienen baja prevalencia en nuestro medio.

Además, la mayoría de los ensayos virológicos comerciales no detectan ni el grupo O ni el VIH-2, por lo que muchos laboratorios han diseñado PCR no comerciales que emplean para su diagnóstico molecular. El **VIH-2** es más característico de África y está presente en Angola, Mozambique, oeste de África (Costa de Marfil, Cabo Verde), Gambia, Guinea-Bissau, Mali, Mauritania, Nigeria, Sierra Leona, Benin, Burkina Faso, Ghana, Guinea, Liberia, Niger, Nigeria, Sao Tome, Senegal y Togo y en ciertas partes de India. El **grupo O** del VIH-1 se localiza en la zona centro occidental de África (Guinea Conacry, etc.). En ocasiones, pueden detectarse coinfecciones por VIH-1 y VIH-2, por lo que debe testarse de nuevo en la gestación el tipo de VIH de la madre si la pareja tiene VIH-2 o proviene de zonas endémicas para el mismo.

Por tanto, en niños que provienen de un área endémica de variantes no-B del grupo M, grupo O del VIH-1 o VIH-2, como son África Subsahariana y sudeste asiático, puede ocurrir que la PCR ADN sea falsamente negativa, ya que las técnicas actuales no detectan dichos subtipos. En este caso debe cursarse también PCR RNA VIH, disponible en la mayoría de los centros, y que habitualmente detecta a dichas variantes. En estos casos es fundamental comprobar la negativización de anticuerpos frente a VIH antes de descartar la infección, lo que suele ocurrir entre los 12 y los 18 meses.(3) En muchas ocasiones, la serología a los 12 meses se encuentra en el límite de detección y negativiza en la siguiente determinación.

Para soslayar la dificultad derivada de la variabilidad genética viral, se deben tener en cuenta ciertos aspectos que se resumen en el siguiente apartado.

Diagnóstico de infección por VIH en hijos de madre con infección VIH por tipos y subtipos/recombinantes virales no detectables por técnicas convencionales de PCR. ESQUEMA PROPUESTO.

En estos casos será importante conocer el tipo/subtipo/recombinante viral del virus materno. Muchas madres pueden no tener hecho el subtipo viral, ya que esta prueba no se solicita de forma rutinaria o bien puede tenerlo hecho en otra región del genoma viral diferente a la que detecta la técnica diagnóstica que se empleará. Estudios previos nos pueden indicar las variantes más prevalentes en los lugares de origen del niño a adoptar donde se infectó su madre.

Si la madre presenta infección por un **subtipo B del VIH-1**, **este se detectará en principio sin problemas** tanto en la madre con el niño. Por tanto, si el niño tiene todas las PCR VIH negativas siendo alguna obtenida ≥ 4 meses, se puede descartar la infección.

Si tiene una **variante no-B del VIH-1**, es recomendable usar dos técnicas moleculares diferentes que detecten distintas dianas del genoma viral en muestras diferentes. Si alguna de las técnicas ha resultado positiva en la madre (habitualmente técnicas de PCR RNA VIH-1), la utilizaremos en el diagnóstico del niño con el esquema habitual.

Si es un **VIH-2, grupo O del VIH-1 o desconocemos el subtipo viral materno** y no podemos diagnosticar al paciente por las técnicas de PCR convencionales, **será necesario esperar a que desaparezcan los anticuerpos** (determinaciones seriadas a los 6, 9, 12, 15 y hasta 18 meses; titulando un previsible descenso de sus niveles y hasta que una determinación sea negativa). En estos casos, podemos recurrir a laboratorios de referencia con otras técnicas de PCR para VIH no disponibles habitualmente y debe hacer un estricto control clínico-inmunológico del paciente.

Madre sin subtipo conocido:

Serología positiva para HIV-1:

- Si la madre tiene **cargas virales detectables** en algún momento, por ejemplo al diagnóstico, la técnica de PCR en el niño también será capaz de hacerlo y se supone un subtipo habitual.
- Si la madre ha tenido siempre **carga viral indetectable (aún sin TARGA) con serología positiva para VIH 1**, podría tratarse de una variante del VIH no detectada por técnica de PCR VIH y, por tanto, en este caso es muy importante asegurar que en el niño no tiene la infección comprobando la negativización de anticuerpos.

Serología positiva para HIV-2. Habrá que seguir al niño con serología por el motivo anterior.

Se puede plantear en ambos casos la determinación de anticuerpos frente al VIH más precoz con el esquema 6-9-12-15-18 meses hasta la negativización de los anticuerpos.

En resumen, con relación al diagnóstico se considerará que:

- En ausencia de síntomas compatibles, existe infección en un niño < 18 meses si presenta PCR de RNA y/o DNA de VIH positiva en 2 determinaciones de sangre diferentes.
- Las técnicas actuales permiten descartar la infección en un elevado porcentaje de casos (99%) en los primeros meses de vida.
- Se puede descartar la infección en ≤ 6 meses, si tiene al menos dos PCR de ARN y/o ADN de VIH negativas en determinaciones de sangre diferentes, obtenidas por encima de las 6-8 semanas de vida ya sin tratamiento antirretroviral (especialmente, en aquellos niños que reciben terapia combinada) y siendo alguna de estas obtenida ≥ 4 meses.
- En aquellos en los que la madre tenga una infección por VIH-2 o grupo O del VIH-1, o siendo una variante no-B del grupo M del VIH-1 que nunca haya presentado una carga viral detectable, se deberá comprobar la negativización de los anticuerpos para asegurar que el niño no tiene infección. Esta situación es más prevalente en los hijos de madres de origen asiático o africanos subsaharianos con variantes no-B de VIH-1.

Bibliografía

- 1.-Noguera Julian A, De José MI; Grupo de trabajo sobre infección por VIH en el niño de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica (SEIP). [Recommendations issued by the Spanish Society of Pediatric Infectious Diseases for the follow-up of the child exposed to the human immunodeficiency virus and to antiretroviral drugs during pregnancy and the neonatal period]. *An Pediatr (Barc)*. 2012 Jun;76(6):360.e1-9.
- 2.-Penazzato M, Revill P, Prendergast AJ, Collins IJ, Walker S, Elyanu PJ, Sculpher M, Gibb DM. Early infant diagnosis of HIV infection in low-income and middle-income countries: does one size fit all? *Lancet Infect Dis* 2014; 14:650-5. Abstract disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Penazzato+M+and+Revill+P>
- 3.-WHO. Recommendations on the diagnosis of HIV infection in infants and children. 2010. Available at:<http://www.who.int/hiv/pub/paediatric/diagnosis/en/index.html>
- 4.-WHO. Guideline on when to start antiretroviral therapy and on pre-exposure prophylaxis for HIV. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/186275/1/9789241509565_eng.pdf
- 5.- Plan Nacional del SIDA. Recomendaciones de la Secretaría del Plan Nacional sobre el Sida (SPNS), el Grupo de Estudio de Sida (GeSida/SEIMC), la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) y la Asociación Española de Pediatría (AEP) para el seguimiento de la infección por el VIH con relación a la reproducción, el embarazo y la prevención de la transmisión vertical. Marzo de 2013. Accesible en:http://www.mspsi.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/docs/Recomendaciones_VIH_embarazoyprevencion_2013.pdf
- 6.-Panel on Treatment of HIV-Infected Pregnant Women and Prevention of Perinatal Transmission. Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Pregnant HIV-1-Infected Women for Maternal Health and Interventions to Reduce Perinatal HIV Transmission in the United States. September, 2013; Accesible en: <http://aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/PerinatalGL.pdf>
- 7.-Havens PL, Mofenson LM and the Committee on Pediatric AIDS. Evaluation and Management of the Infant Exposed to HIV-1 in the United States. *Pediatrics* 2009;123;175-187. Abstract disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19117880>
- 8.-Read JS and the Committee on Pediatric AIDS. Diagnosis of HIV-1 infection in children younger than 18 months in the United States. *Pediatrics* 2007;120 (6);1547-62. Abstract disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18055670>
- 9.- Bamford A, Turkova A, Lyall H, Foster C, Klein N, Bastiaans D, Burger D, Bernadi S, Butler K, Chiappini E, Clayden P, Della Negra M, Giacomet V, Giaquinto C, Gibb D, Galli L, Hainaut M, Koros M, Marques L, Nastouli E, Niehues T, Noguera-Julian A, Rojo P, Rudin C, Scherpbier H, Tudor-Williams G, Welch S;(PENTA Steering Committee). Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA) guidelines for treatment of paediatric HIV-1 infection 2015: optimizing health in preparation for adult life. *HIV Med*. 2015 Feb 3. Abstract disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Bamford+A+and+Turkova+A>
10. Payne H, Mkhize N, Otwombe K, Lewis J, Panchia R, Callard R, Morris L, Babiker A, Violari A, Cotton MF, Klein NJ, Gibb DM. Reactivity of routine HIV antibody tests in children who initiated antiretroviral therapy in early infancy as part of the Children with HIV Early Antiretroviral Therapy (CHER) trial: a retrospective analysis. *Lancet Infect Dis*. 2015;15(7):803-9. Abstract disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26043884>

11. Sutcliffe CG, Moss WJ, Thuma EP. False positive results in infancy and management of uninfected children receiving antiretroviral therapy. *Pediatr Infect Dis J*. 2015;34(6):607-9. Abstract disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25973939>.
- 12.-Garcia-Prats AJ, Draper HR, Sanders JE, Agrawal AK, Mohapi EQ, Schutze GE. False-negative post-18-month confirmatory HIV tests in HIV DNA PCR-positive children: a retrospective analysis. *AIDS*. 2012;26(15):1927-34. Abstract disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22739392>
- 13.-Smit PW, Sollis KA, Fiscus S, Ford N, Vitoria M, Essajee S, Barnett D, Cheng B, Crowe SM, Denny T, Landay A, Stevens W, Habiyambere V, Perriens JH, Peeling RW. Systematic review of the use of dried blood spots for monitoring HIV viral load and for early infant diagnosis. *PLoS One* 2014; 9:e86461. Abstract disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24603442>
- 14.-De Mulder M, Holguín A. [Dried blood spots for monitoring HIV infection in Public Health Programs in developing countries]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31(2):100-7. Abstract disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23740927>.
- 15.-Feucht UD, Forsyth B, Kruger M. False-positive HIV DNA PCR testing of infants: implications in a changing epidemic. *S Afr Med J* 2012; 102:149–52. Abstract disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22380909>
- 16.-Abecasis AB, Wensing AM, Paraskevis D, Vercauteren J, Theys K, Van de Vijver DA, Albert J, Asjö B, Balotta C, Beshkov D, Camacho RJ, Clotet B, De Gascun C, Griskevicius A, Grossman Z, Hamouda O, Horban A, Kolupajeva T, Korn K, Kostrikis LG, Kücherer C, Liitsola K, Linka M, Nielsen C, Otelea D, Paredes R, Poljak M, Puchhammer-Stöckl E, Schmit JC, Sönnernborg A, Stanekova D, Stanojevic M, Struck D, Boucher CA, Vandamme AM.. HIV-1 Subtype distribution and its demographic determinants in newly diagnosed patients in Europe suggest highly compartmentalized epidemics. *Retrovirology* 2013;10:7.
- 17.-Díaz Pernas P, Riesco Riesco S, Larrú Martínez B, Muñoz-Fernández MA, García-Bujalance S, de José Gómez MI. Falso negativo en el diagnóstico de VIH-1. False negative diagnosis of HIV-1. *An Pediatr* 2006;65 (2):158-61.
- 18.-Holguín A, López M, Molinero M, Soriano V. Performance of three commercial viral load assays, Versant human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA bDNA v3.0, Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1, and NucliSens HIV-1 EasyQ v1.2, testing HIV-1 non-B subtypes and recombinant variants. *J ClinMicrobiol* 2008; 46:2918–23. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18596140>)
- 19.-Mouinga-Ondémé A, Mabika-Mabika A, Alalade P, et al. Significant impact of non-B HIV-1 variants genetic diversity in Gabon on plasma HIV-1 RNA quantitation. *J Med Virol* 2014; 86:52–7.
- 20.- Alvarez P, Martín L, Prieto L, Obiang J, Vargas A, Avedillo P, Rojo P, Fernández McPhee C, Benito A, Ramos JT, and Holguín Á. 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(3):368-76. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26033694>)
21. Hemelaar J. Implications of HIV diversity for the HIV-1 pandemic. *J Infect* 2013;66:391-400.
22. Zhang M, Foley B, Schultz AK, Macke JP, Bulla I, Stanke M, et al. The role of recombination in the emergence of a complex and dynamic HIV epidemic. *Retrovirology* 2010;7:25
- 23.-de Mulder M, Yebra G, Navas A, Martin L, de Jose MI, Navarro ML, de Ory SJ, Gonzalez-Granado I, Mellado MJ, Ramos JT, Holguin A. Trends in drug resistance prevalence in HIV-1-infected

children in Madrid: 1993 to 2010 analysis. *Pediatr Infect Dis J.* 2012;31(11):e213-21. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22785049>)

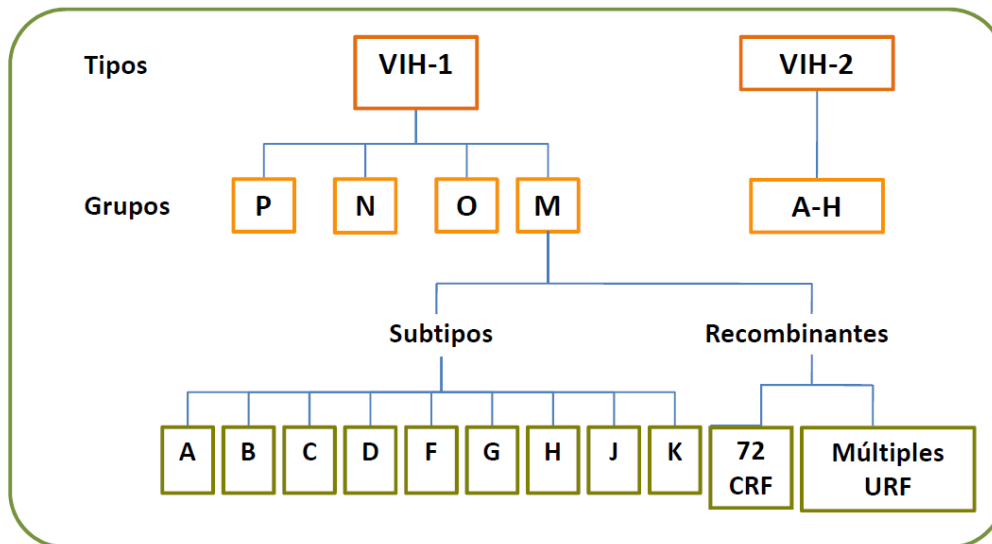
24.-Yebra G, de Mulder M, Martín L, Rodríguez C, Labarga P, Viciano I, Berenguer J, Alemán MR, Pineda JA, García F, Holguín A; Cohort of the Spanish AIDS Research Network (CoRIS). Most HIV type 1 non-B infections in the Spanish cohort of antiretroviral treatment-naïve HIV-infected patients (CoRIS) are due to recombinant viruses. *Journal of Clinical Microbiology.* 2012;50(2):407-13. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22162552>)

25.-Holguín A, de Mulder M, Yebra G, López M, Soriano V. Increase of non-B subtypes and recombinants among newly diagnosed HIV-1 native Spaniards and immigrants in Spain. *Curr HIV Res.* 2008;6(4):327-34. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18691031>)

26.-Alvarez P, Martín L, Prieto L, Obiang J, Avedillo P, Vargas A, Rojo P, Fernández McPhee C, Sanz Canalejas L, Nzang J, Benito A, Ramos JT, and Holguín Á. Evaluation of 4 virological tests using DBS for HIV-1 early infant diagnosis: interpretation of discrepant results. 6th HIV Pediatrics Workshop 18 -19 July 2014 Melbourne, Victoria, Australia. Póster P-28.

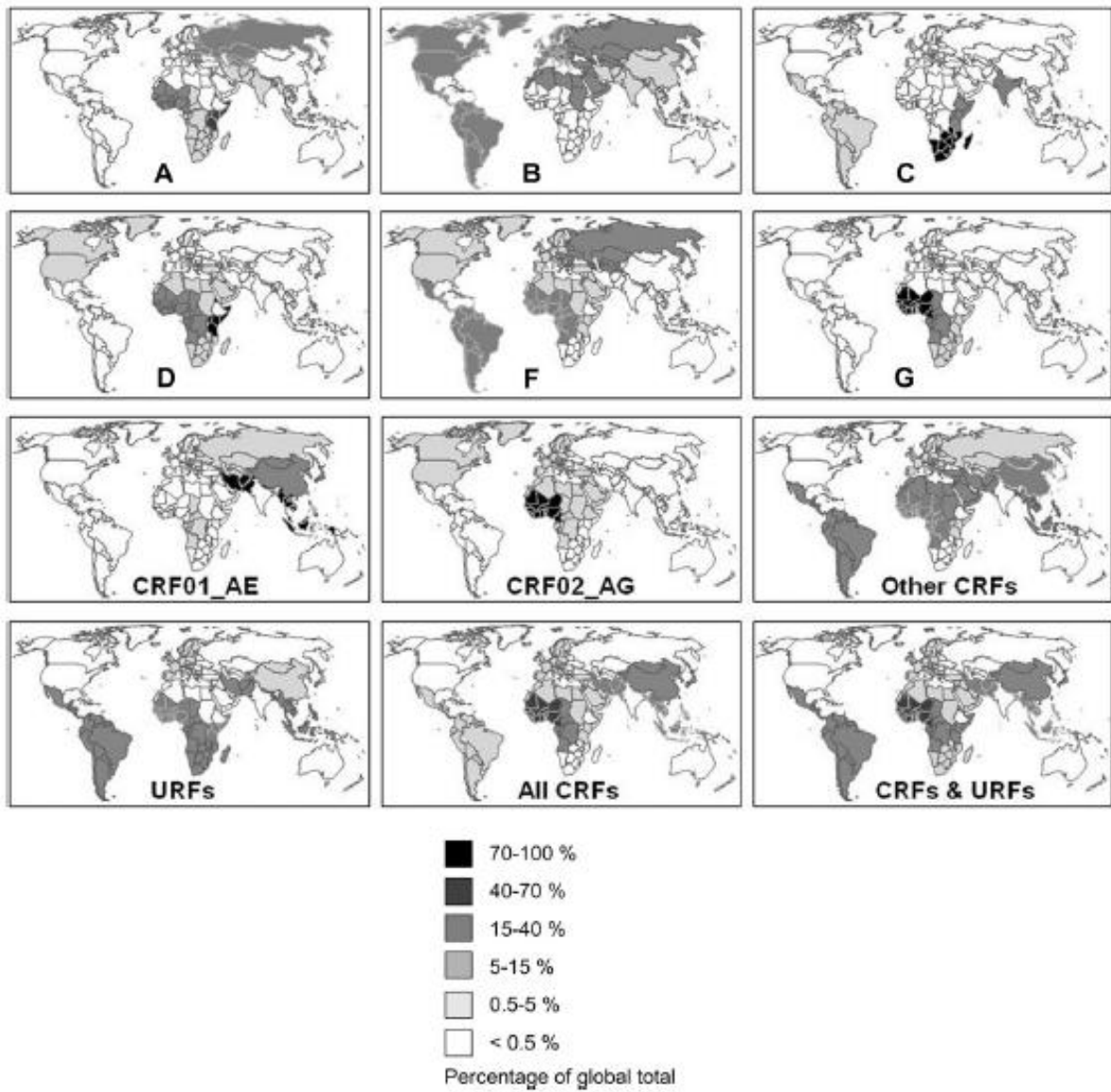
ANEXOS

Figura 1. Clasificación de las variantes del VIH.



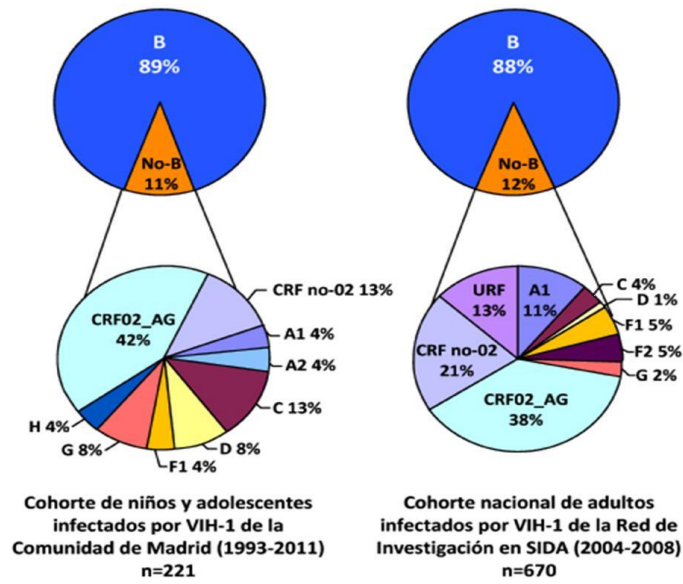
Elaborado por La Dra. África Holguín. 2015. CRF, formas recombinantes circulantes: <http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html>. URF, formas recombinantes únicas.

Figura 2. Distribución mundial de subtipos y recombinantes del VIH-1.



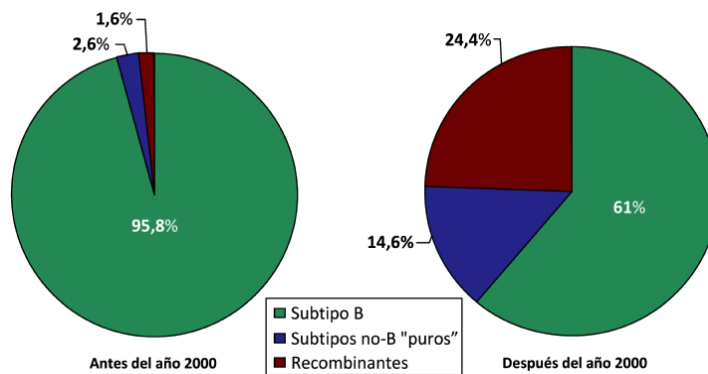
(Tomado del Hemelaar J, Journal of Infection 2013;66:391-400)

Figura 3. Variantes del VIH-1 en la cohorte de niños y adolescentes infectados por VIH de Madrid y en adultos de la cohorte española CoRIS.



(Tomada de Mulder et al., PIDJ 2012;31:e213-21; Yebra et al., JCM 2012;50:407-13)

Figura 4. Variantes del VIH-1 en pacientes de la Cohorte de niños y adolescentes de Madrid infectados por VIH nacidos antes y después del año 2000.



(Adaptada de Mulder et al., PIDJ 2012;31:e213-21).