

LABORATORIO DE INVESTIGACIONES DEL SIDA (LISIDA)

Diseño y evaluación del sistema DAVIH VIH-2

Lic. Dayamí Martín Alfonso,¹ Dr. Eladio Silva Cabrera,² Lic. María T. Pérez Guevara,³ Lic. Dervel F. Díaz Herrera,⁴ Lic. Kenia Romero Martínez,⁴ Dr. Héctor M. Díaz Torres,⁵ Dra. Ana L. Lubián Caballero,⁶ Lic. Nancy Ruiz Gutiérrez⁷ y Lic. Eva Ortiz Losada⁷

RESUMEN

Se expusieron los resultados del diseño y la evaluación del diagnosticador DAVIH VIH-2, sistema ELISA indirecto diseñado para el pesquijaje de anticuerpos al VIH-2, que utiliza en su fase sólida un péptido sintético de la proteína de envoltura gp36 del VIH-2. La evaluación del desempeño del sistema se realizó utilizando paneles de referencia de la OMS y se determinó que la sensibilidad fue 100 %, la especificidad 99,81 %, la eficacia 99,81 % y la concordancia muy buena (índice kappa= 0,978). Las muestras de suero de 959 personas con resultados indeterminados o negativos a la confirmación de anticuerpos al VIH-1 (DAVIH-Blot) se evaluaron en el sistema DAVIH VIH-2. Resultaron reactivas al sistema 24 muestras, confirmando la presencia de anticuerpos al VIH-2 en 6 de ellas. Estos resultados permitieron sugerir la introducción de este diagnosticador en el algoritmo de diagnóstico de la infección por VIH en Cuba.

Palabras clave: Anticuerpos al VIH-2, serodiagnóstico del SIDA, estudios de validación, ELISA/métodos.

En 1986 se aisló por primera vez un virus relacionado con el virus de inmunodeficiencia de los simios (SIV) en seropositivos de África Occidental. Este virus, hoy se conoce como virus de inmunodeficiencia humana tipo 2 (VIH-2) y es el responsable de epidemias localizadas en los países de esta región y en otros como Portugal y Brasil.¹ También en Cuba se ha reportado la circulación del VIH-2.² Aunque los síntomas clínicos son similares para ambos virus, el VIH-2 es menos patógeno, el período de latencia es mayor de 10 años y se estima que la mortalidad es de 2 a 3 veces más baja.³

Se conoce que los anticuerpos contra el VIH-2 reaccionan con las proteínas de las regiones gag

y pol del VIH-1 hasta en 80 % y solo lo hacen con las proteínas de env hasta en 30 %. Por esta razón, proteínas como la gp36 (36 kD) del VIH-2, con alta especificidad y potencial inmunogénico⁴ se han utilizado en el diseño secuencial de péptidos y proteínas recombinantes para el diagnóstico.^{5,6}

El empleo de los péptidos sintéticos ofrece la posibilidad a los sistemas ELISA de obtener mayor sensibilidad y especificidad, porque las secuencias peptídicas imitan eficientemente a los epítopes inmunodominantes. Los péptidos pueden ser utilizados como antígenos en los ensayos inmunoenzimáticos porque permiten la unión de estas secuencias inmunodominantes a la fase sólida.^{7,8} Además, con el empleo de los péptidos no

¹ Máster en Ciencias. Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Investigadora Auxiliar. Laboratorio de Investigaciones del Sida (LISIDA), La Habana, Cuba.

² Doctor en Ciencias. Especialista de II Grado en Microbiología. Investigador Auxiliar. LISIDA.

³ Máster en Ciencias. Licenciada en Bioquímica. LISIDA.

⁴ Licenciada en Bioquímica. Aspirante a Investigadora. LISIDA.

⁵ Máster en Ciencias. Especialista de I Grado en Medicina Interna. Investigador Auxiliar. LISIDA.

⁶ Especialista de I Grado en Epidemiología. Investigadora Auxiliar. LISIDA.

⁷ Máster en Ciencias. Licenciada en Ciencias Biológicas. Investigadora Auxiliar. LISIDA.

existe la posibilidad de que los componentes celulares enmascaren los resultados por la respuesta cruzada de anticuerpos inespecíficos.⁵

El programa de control de la infección por VIH/SIDA en Cuba contempla un procedimiento de diagnóstico altamente específico y sensible para ambos virus, basado en la confirmación de anticuerpos al VIH-1 por *western blot* en las muestras que resultan inicialmente reactivas al sistema UMELISA HIV 1+2 Recombinant (Centro de Inmunoensayos, Cuba).⁹ Durante la confirmación, un grupo de muestras pueden resultar negativas o indeterminadas a VIH-1. *Alcaro* y otros⁵ plantean que en estos casos es necesario que se introduzca un ensayo inmunoenzimático que permita la discriminación de ambos virus, para lo cual sería adecuado el empleo de un ELISA basado en péptidos sintéticos para determinar si la causa de un resultado indeterminado es la infección por VIH-2. Con esos antecedentes, en este trabajo se tuvieron como objetivos fundamentales desarrollar y evaluar el desempeño de un ELISA heterogéneo indirecto para la detección de anticuerpos al VIH-2.

MÉTODOS

Normalización del ELISA

Para el cubrimiento de la fase sólida se utilizó como antígeno un péptido de 20 aminoácidos de la secuencia N-terminal de la glicoproteína de 36 kD del VIH-2 (GP36-5) obtenido por síntesis química en fase sólida, en el Laboratorio de Péptidos del Centro de Inmunoensayo (CIE).

El antígeno (péptido) se diluyó en solución de bicarbonato de sodio pH 9,6 en las concentraciones 2,5, 5 y 10 µg/mL, y se dispuso a razón de 100 µL por pocillos. La incubación se realizó por 2 y 20 h y se probaron las temperaturas de incubación (temperatura 1 igual a 4 °C y temperatura 2 igual a 37 °C), de forma cruzada. Se determinó la influencia de la concentración del antígeno, la temperatura y el tiempo de incubación en la sensibilización de la placa Polysorp F18 (NUNC). Las placas se lavaron 2 veces con PBS tween 20 1X y el bloqueo se realizó con una solución de seroalbúmina bovina (Sigma corp.) 0,2 %.

El suero control positivo y el suero control negativo para VIH-2, así como un suero positivo a VIH-1 y negativo a VIH-2, procedentes del banco

de sueros del Laboratorio de Investigaciones del SIDA (LISIDA), se depositaron a razón de 5 y 10 µL por pozo en 95 y 90 µL de solución diluyente de muestra (Laboratorios DAVIH, Cuba), para un volumen final de dispensación de 100 µL, con tiempos de incubación de 30 y 60 min.

Las inmunoglobulinas de conejo contra Fc de la IgG humana se conjugaron con peroxidasa (Sigma corp.) según la metodología de *Halow y Lane*¹⁰ y se titularon en el sistema utilizando como diluyente una solución de caseína 2 %, con tiempo de incubación de 30 min para un volumen final de 100 µL de conjugado en dilución. Para el revelado de la reacción se utilizaron tabletas de 4 mg de ortophenilendiamine (OPD) como reactivo cromógeno, disueltas en 5 mL de una solución de urea-peróxido (Laboratorios DAVIH, Cuba), tomando como volumen a dispensar 100 µL por pocillo. La reacción se paralizó con 100 µL de ácido sulfúrico 2 mol/L (Riedel de Haen corp.).

Se calcularon las medias de las muestras controles positivas (P) y negativas (N), así como la relación P/N, con la cual se realizó el estudio comparativo de los parámetros: concentración de péptido, temperatura y tiempo de incubación.

Valor de corte: las muestras se consideraron reactivas al sistema cuando el valor de densidad óptica (DO) a 492 nm fue mayor que la DO media del grupo de muestras negativas más 2 desviaciones estándar (DE).

Evaluación del desempeño

Para los estudios de sensibilidad se utilizaron los paneles de referencia ADP501 (Panel A de la Organización Mundial de la Salud [OMS]), que contenía 3 muestras positivas a VIH-2 de Guinea Bissau, 2 de Senegal y 1 de Costa de Marfil y el ADP505 (Panel C de la OMS) conformado por 6 muestras positivas a VIH-2, 2 de Senegal, 2 de Guinea Bissau y 2 de Costa de Marfil. Además, se utilizaron los paneles del Laboratorio de Control de Calidad del LISIDA conformados por 6 sueros humanos positivos al VIH-2, confirmados por el sistema de *western blot* NEW LAV BLOT II (Sanofi Pasteur corp.).

Para los estudios de especificidad se incluyeron 184 sueros de un panel perteneciente al Laboratorio de Control de la Calidad de LISIDA, con diferentes factores de reactividad cruzada: anticuerpos al virus linfotrópico de las células T

humanas tipo I y II, anticuerpos a hepatitis A y C, al paludismo, a factor reumatoideo y antinucleares, reagina rápida reactiva y antígeno de superficie de hepatitis B. Además, se incluyeron 1 999 muestras de donantes sanos no reactivos a VIH-2, todos pertenecientes al banco de sueros del LISIDA, clasificados por el sistema Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab (Biomérieux).

Los sueros negativos a VIH-2 que resultaron reactivos en el sistema DAVIH VIH-2, se clasificaron como sueros discrepantes, y para su esclarecimiento fueron probados en el sistema de *western blot* NEW LAV BLOT II (Sanofi Pasteur corp.).

Se calcularon la especificidad, la sensibilidad, la eficacia y el índice de correlación *kappa*.¹¹

Estudio de precisión

Para el estudio de la precisión se utilizaron: un suero fuerte positivo (SP), uno positivo a VIH-1 y negativo a VIH-2 (SC) y uno negativo (SN) a ambos virus, pertenecientes al banco de sueros del LISIDA.

Repetibilidad interensayos: se realizaron 3 réplicas por cada muestra y se probaron en 3 ensayos diferentes.¹¹ Se estimaron los estadígrafos (*X* media) de los valores de densidad óptica de los sueros probados en los Laboratorios de Estandarización, Serología y Control de Calidad del LISIDA, la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV),¹¹ y se utilizaron las pruebas de Dócima de *Grubbs* y *Cochrans*,¹² para estimar la normalidad de los datos y homogeneidad de varianza de las medias muestrales.

Repetibilidad intraensayos: se probaron 12 réplicas de cada muestra por ensayo en 3 ensayos diferentes.

Ensayo de reproducibilidad: se tomaron los resultados de la lectura de los valores de absorbancia de las 3 muestras probadas en un mismo lote del sistema, en los Laboratorios de Serología y Control de Calidad del LISIDA. Se realizó el mismo procedimiento estadístico que para los ensayos de repetibilidad.

Evaluación de muestras indeterminadas y negativas a VIH-1

Un grupo de 959 sueros de pacientes reactivos a los sistemas de pesquisaje UMELISA HIV 1+2 Recombinant y Vironostika HIV Uniform II Ag/Ab

(Biomérieux), con fecha de diagnóstico entre 2003 y enero de 2005, los cuales tuvieron un resultado negativo o indeterminado en la técnica *western blot* (DAVIH Blot, Laboratorios DAVIH) para confirmación de anticuerpos al VIH-1, fueron probados en el sistema desarrollado (DAVIH VIH-2). Los casos doblemente reactivos se analizaron en el sistema de confirmación de anticuerpos a VIH-2, NEW LAV BLOT II (Sanofi Pasteur).

RESULTADOS

Normalización del sistema

Se determinó que la concentración óptima para la sensibilización del péptido en la placa (Polysorp, Nunc) fue 2,5 µg/mL (fig. 1) y se observó que la variante 37 °C en 20 h representó la única con valores de P/N por encima de 20 (fig. 2). Las condiciones óptimas en este cubrimiento se alcanzaron utilizando la dilución 1:20 para los sueros (5 µL de sueros y controles en 95 µL de diluyente de muestra) así como el conjugado preparado en diluyente de conjugado para un título 1/6000. Se determinó además que 4 lavados son suficientes en los pasos de incubación de las muestras y el conjugado, y que el uso del cromógeno OPD en tabletas le confiere facilidades de operación al sistema.

Estudio del desempeño

Se obtuvo frente a los paneles de muestras utilizados una sensibilidad de 100 %, lo cual mostró que el sistema fue capaz de detectar todos los sueros positivos a VIH-2 de los paneles; sin embargo, 4 muestras de donantes sanos fueron reactivas, lo que significó una especificidad de 99,81 %, eficacia de 99,81 % y un índice de correlación (*kappa*) de 0,978 (tabla 1).

TABLA 1. Tabla de contingencia del sistema DAVIH VIH-2 frente a los paneles de referencia en el estudio de desempeño

Paneles de referencia	DAVIH VIH-2		Total
	Reactivo	No reactivo	
Reactivo	18	0	18
No reactivo	4	2 179	2 183
Total	22	2 179	2 201

Especificidad: 99,81 %, Sensibilidad: 100 %.

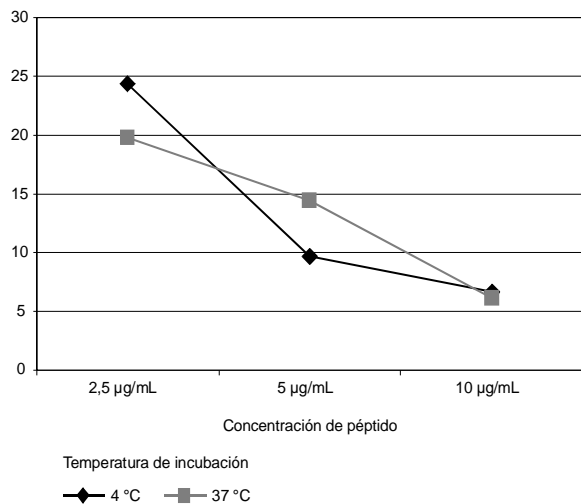


Fig. 1. Efecto de la temperatura de incubación y la concentración del péptido gp36 en la sensibilización de la placa Polysorp.

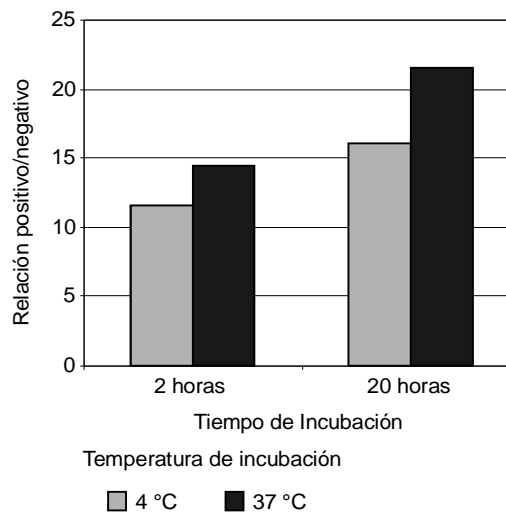


Fig. 2. Efecto del tiempo y la temperatura de incubación en la sensibilización del péptido gp36 en la placa Polysorp.

TABLA 2. Resultados del ensayo de repetibilidad en el Laboratorio de Estandarización

	X	Ensayo 1 DE	CV	X	Ensayo 2 DE	CV	X	Ensayo 3 DE	CV
SP	1,339	0,132	9,89	1,335	0,153	11,46	1,553	0,167	10,74
SC	0,174	0,015	8,62	0,175	0,015	9,13	0,21	0,024	11,62
SN	0,054	0,013	25,5	0,054	0,013	24,8	0,072	0,014	19,52

Interensayos CV (SP): 8,8 %; SC: 5,37 %; SN: 33,33 %
 G_{máx.} y G_{mín.} < V_{crít.} para $\alpha=1$ y 5 %
 Cochrans: C= 0,402. Se acepta

SP: suero positivo a VIH-2; SC: suero positivo a VIH-1; SN: suero negativo a VIH 1 y 2; X: media de los valores de densidad óptica; DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; G: coeficiente para la dócima de Grubbs; V_{crít.}: valores críticos.

TABLA 3. Resultados del ensayo de repetibilidad en el Laboratorio de Control de la Calidad

	X	Ensayo 1 DE	CV	X	Ensayo 2 DS	CV	X	Ensayo 3 DS	CV
SP	2,7	0,261	9,66	1,90	0,172	9,01	2,45	0,296	12,08

Interensayos CV (SP): 19,10 %
 G_{máx.} y G_{mín.} < V_{crít.} para $\alpha=1$ y 5 %
 Cochrans: C= 0,472. Se acepta

SP: suero positivo a VIH-2; X: media de los valores de densidad óptica, DE: desviación estándar, CV: coeficiente de variación; G: coeficiente para la dócima de Grubbs, V_{crít.}: valores críticos.

TABLA 4. Resultados del ensayo de repetibilidad en el Laboratorio de Serología

	X	Ensayo 1 DE	CV	X	Ensayo 2 DE	CV	X	Ensayo 3 DE	CV
SP	2,148	0,451	21,04	1,808	0,303	16,7	2,041	0,177	8,695

Interensayos CV (SP): 8,62 %
 G_{máx.} y G_{mín.} < V_{crít.} para $\alpha=1$ y 5 %
 Cochrans: C= 0,313

SP: suero positivo a VIH-2; X: media de los valores de densidad óptica, DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación; G: coeficiente para la dócima de Grubbs, V_{crít.}: valores críticos.

TABLA 5. Resultados de la reproducibilidad del sistema en el Laboratorio de Serología y Control de Calidad del LISIDA

Laboratorios	X	X media	DE	CV
Serología	1,998	2,174	0,248	11,44 %
Control de calidad	2,35			

Cálculo de estadígrafo C de Cochran: $C = 0,677$.

Se acepta si $C < 0,975$.

Estudio de precisión

Los resultados obtenidos para los ensayos de repetibilidad en cada laboratorio utilizando los sueros positivos a VIH-2, positivo a VIH-1 y negativo a ambos virus, se muestran en las tablas 2, 3 y 4. Se observó que el coeficiente de variación se encuentra en el rango 10-20 %, lo cual es aceptable para valores que no han sido normalizados.

Como se observa en la tabla 5, el coeficiente de variación para la reproducibilidad en estos laboratorios no excedió a 10 % y el estadígrafo C de Cochran resultó en los límites aceptados para este estudio.

Evaluación de muestras indeterminadas y negativas a la confirmación del VIH-1

De las muestras de personas indeterminadas y negativas por *western blot* estudiadas, 24 muestras (2,5 %) resultaron reactivas al sistema desarrollado (DAVIH VIH-2) y de estas, 6 casos (0,62 %) fueron confirmados como individuos seropositivos al VIH-2, en el sistema NEW LAV BLOT II (Sanofi Pasteur).

DISCUSIÓN

Se conoce que la temperatura y el tiempo de incubación son directamente proporcionales a la velocidad de adsorción. Sin embargo, estos parámetros influyen en mayor o menor medida, en dependencia del tipo de molécula, por lo que es necesario realizar estudios de estandarización específicos para cada sistema que se diseñe.¹³

En el proceso de normalización del DAVIH VIH-2 se determinó que la concentración óptima del péptido gp36 para la sensibilización de las pla-

cas es 2,5 $\mu\text{g/mL}$. Según refiere el fabricante (Nunc, Intermed), la concentración necesaria de proteínas para la saturación de la placa Polysorp F18 es 3,6 $\mu\text{g/mL}$; lo cual explicaría el comportamiento de la sensibilización en las concentraciones 5 y 10 $\mu\text{g/mL}$, donde se observó una disminución de la relación P/N de 20 a 15 veces. Estos resultados coincidieron con los de *Mushens* y *Scott*¹³ en estudios con anticuerpos monoclonales, en los cuales se obtuvieron mejores resultados con los tratamientos a 37 °C que a 4 °C.

El uso de una secuencia peptídica específica de la glicoproteína 36 del VIH-2 como antígeno ofreció una adecuada especificidad y sensibilidad al sistema, tal como se observó en el estudio de los parámetros de desempeño. También *Kannangai* y otros,¹⁴ en la optimización de un ELISA en cuya fase sólida se utilizó un péptido específico de la gp36 de 11 aminoácidos, mostraron una sensibilidad de 100 % y especificidad de 96,8 %, con un panel de sueros confirmados por reacción en cadena de la polimerasa (RCP) para VIH-2. En este sistema, 4 sueros resultaron ser falsos reactivos para un valor superior de especificidad de 99,81 % y sensibilidad de 100 %. *Ochoa* y otros¹¹ plantearon que en este tipo de sistema, el cual no implica resultados discriminatorios, se requiere de una elevada sensibilidad y adecuada especificidad para un buen desempeño.

Además, se observó que existió homogeneidad entre las medias muestrales y que el coeficiente de variación (CV) se comportó acorde con lo esperado (OIE. Manual of Standards for Diagnostic Test and Vaccines. Principles of Validation of Diagnostic Assays for Infections Diseases, 5th ed. Part I. Cap I.1.3; 2004. p. 32-45),¹¹ lo que determinó una adecuada precisión y consistencia para el estuche. Los autores de este trabajo consideran que los valores de CV mayores que 30 % para SN, en los ensayos de repetibilidad en el Laboratorio de Estandarización, pudieran estar dados por la cercanía del valor de DO a cero, razón por la cual no se incluyó la evaluación de este suero en los 2 ensayos posteriores (tablas 3 y 4). Aunque en algunos casos el CV excedió a 20 %, los estadígrafos *Grubbs* y *Cochrans*¹² indicaron que existió homogeneidad muestral y de varianza.

La baja seroprevalencia del VIH-2 en Cuba obligó a que esta evaluación inicial se realizara con paneles de referencia de reconocida calidad, con muestras procedentes de zonas endémicas del virus. Aunque se ha utilizado un número bajo de muestras, son representativas del desempeño y los autores de este trabajo recomiendan que en posteriores estudios se utilice un número mayor de muestras a evaluar.

El uso del sistema DAVIH VIH-2 permitió discriminar más de 90 % de las muestras reactivas al Umelisa HIV 1+2 Recombinant que resultaron indeterminadas o negativas al DAVIH Blot VIH-1. Solo 24 muestras (2,5 %) resultaron reactivas al sistema DAVIH VIH-2 y de estas, 6 casos (0,62 %) fueron confirmados como seropositivos al VIH-2. La reactividad de los restantes 18 sueros es explicable, porque esta población ha tenido resultados discrepantes en 2 sistemas ELISA de diferentes principios y un posible resultado indeterminado en el *western blot* de VIH-1, por tanto, se induce que sean sueros con altos títulos de IgG no específica.

La evaluación del DAVIH VIH-2, tanto frente a los paneles de la OMS como en las muestras indeterminadas cubanas, demuestran la utilidad de este sistema para el diagnóstico serológico del VIH-2, lo cual permite sugerir la incorporación de este estuche en el algoritmo de diagnóstico de la infección por VIH en Cuba.

Design and evaluation of DAVIH VIH-2

SUMMARY

The results of the design and evaluation of DAVIH VIH-2 diagnosing system, an indirect Elisa for screening of HIV-2 antibodies, which uses a HIV-2 glycoprotein gp36 synthetic peptide in its solid phase, were exposed. In the system evaluation using WHO reference panels, 100 % sensitivity, 99,81 % specificity, 99,81% efficacy and very good concordance level ($kappa = 0.978$) were attained. Serum samples of 959 individuals with undetermined or negative results to the HIV-1 antibodies confirmation (DAVIH blot) were evaluated by the DAVIH VIH-2 system. Twenty four samples were reactive, six of which had confirmed HIV-2 antibodies. These results allowed recommending the introduction of this diagnostic kit in the HIV infection diagnosing algorithm in Cuba.

Keywords: HIV-2 antibodies, AIDS serodiagnosis, validation studies, ELISA /methods.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cock KM, Weiss HA. The global epidemiology of HIV/AIDS. *Trop Med Inf Health*. 2000;5(7):A3-9.
2. González del Valle Z, Díaz HM, Vázquez A, Lubián AL, Alvarez A. Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 2. Presentación de un caso. *Rev Cubana Med*. 2003;42(6):3.
3. Van der Loeff M, Aaby P. Towards a better understanding of the epidemiology of HIV-2. *AIDS*. 1999;13(suppl):S69-S84.
4. Kanki PJ. Human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2). *AIDS Rev*. 1999;1:101-2.
5. Alcaro CI, Peroni E, Rovero P, Papini, AM. Synthetic peptides in the diagnosis of HIV infection. *Curr Prot Pept Sci*. 2003;4:285-90.
6. Manocha M, Chitrakleha KT, Tacar M, Shashikiran D, Paranjape RS, Rao DN. Comparing modified and plain peptide linked enzyme immunosorbent assay (ELISA) for detection of human immunodeficiency virus type-1 and type-2 (HIV-2). *Immunol Lett*. 2003;85(3):275-8.
7. Plantier JC, Damond F, Souquieres S, Brun-Vezinet F, Simon F. V3 serological subtyping of human immunodeficiency virus type 2 infection is not relevant. *J Clin Microbiol*. 2001;39(10):3803-7.
8. Simon F, Souquieres S, Damond F, Kfutwah A, Makuwa M, Leroy E, et al. Synthetic peptide strategy for the detection of and discrimination among highly divergent primate lentiviruses. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2001;17(10):937-52.
9. Cruz O, Pérez MT, Izquierdo M, Lobaina L, Rubial I, Silva E. Evaluación de un sistema de western blot (DAVIH Blot) para la confirmación de anticuerpos al VIH-1. *Rev Cubana Med Trop*. 1997;49(1):28-31.
10. Harlow E, Lane D. *Antibodies. A laboratory manual*. Cold Spring:Harbor Laboratory; 1988. p. 342-4.
11. Ochoa R, Martínez J, Ferriol X, García A, Estrada E, Blanco R, et al. Guía para la estandarización de técnicas inmunoenzimáticas en ensayos de vacunas. *VacciMonitor* 2000. Disponible en <http://www.finlay.sld.cu/vaccimonitor.htm>
12. NCE (Norma Cubana Experimental). Guía para la Validación de Métodos de Ensayos Químicos para Alimentos. Anexo A, A 1-3. 2001.
13. Mushens A, Scott S. An efficient method for quantification of monoclonal antibodies in an Elisa using a novel incubation system. *J Immunol Meth*. 1990;131:83-9.
14. Kannangai R, Rarnalingarn S, Prakash K, Abraham OC, George R, Castillo RC et al. A peptide enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of human immunodeficiency virus type-2 (HIV-2) antibodies: An evaluation on polymerase chain reaction (PCR) confirmed samples. *J Clin Virol*. 2001;22(1):41-6.

Recibido: 18 de octubre de 2006. Aprobado: 16 de marzo de 2007.

Lic. *Dayamí Martín Alfonso*. Laboratorio de Investigaciones del Sida (LISIDA). Carretera de Jamaica y Autopista Nacional, La Habana, Cuba. Teléf.: 047-862206. Correo electrónico: cicdc@infomed.sld.cu.