

# **P**rocedimientos en Microbiología Clínica

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades  
Infecciosas y Microbiología Clínica

Editor: **Juan J. Picazo**

**6.**

Diagnóstico  
microbiológico de la  
infección por VIH

1 9 9 8

Coordinador: **Raul Ortiz de Lejarazu Leonardo**

Ramón Cisterna Cáncer  
José María Eiros Bouza  
Amelia González López  
M<sup>a</sup> Carmen Maroto  
Tomas Pumarola Suñe  
José Romero Vivas

## INDICE

1. Introducción
2. Objetivos
3. Pruebas Diagnósticas y Pruebas de Cribado de Anticuerpos VIH.
  - 3.1. Características
  - 3.2. Tipos de Técnicas
    - Enzimoimmunoanálisis
    - Aglutinación
    - Pruebas de EIA de Membrana (Dot-Blot)
    - Pruebas Fluorimétricas
4. Pruebas de Confirmación
  - 4.1. Confirmación por Técnica de Western Blot
  - 4.2. Confirmación por Técnica de Inmunofluorescencia Indirecta
  - 4.3. Confirmación por Técnica de Radioinmunoprecipitación
5. Reacción de Amplificación Genómica por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en el Diagnóstico de la infección VIH.
6. Aislamiento Vírico en el Diagnóstico de la Infección VIH.
7. Identificación del Tipo de Infección VIH (VIH-1/VIH-2).
8. Marcadores Séricos Específicos de la Infección VIH.
  - 8.1. Sistema Antígeno p24 - Anticuerpo p24.
9. Expresión de Resultados del Diagnóstico Serológico de la Infección VIH y de los Marcadores Específicos.
  - 9.1. Pruebas de Diagnóstico.
  - 9.2. Pruebas de Confirmación.
  - 9.3. Marcadores Específicos de VIH.
10. Estrategias en el Diagnóstico Serológico de la Infección VIH.
  - 10.1 Principios Generales.
  - 10.2. Estrategia en la Donación de Sangre/Organos.
  - 10.3. Estrategia en el Diagnóstico de la Infección VIH.
    - Primoinfección VIH.
    - Fase Asintomática de la Infección VIH.
    - Fase Sintomática de la Infección VIH.
    - Monitorización del Tratamiento Anti-retroviral.
  - 10.4. Estrategia en Situaciones Especiales.
    - Embarazo.
    - Recién nacidos de Madres Portadoras.
    - Accidentes con Riesgo de Exposición a VIH.
    - En la Vigilancia de la Infección VIH.
11. Criterios Generales para la Realización de Pruebas VIH.
12. Disposiciones Legales.
13. Bibliografía Seleccionada.

## 6. DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LA INFECCIÓN POR VIH 1998

### 1. INTRODUCCION

Los virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 y tipo 2 (VIH-1 y VIH-2) han sido claramente identificados como la causa principal del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

Los VIH constituyen el prototipo de miembros del Género *Lentivirus* (tabla 1), perteneciente a la familia *Retroviridae*. El nombre del género alude al largo período de incubación que transcurre entre la infección y la enfermedad, que puede incluso superar los 10 años.

El genoma de VIH está compuesto por genes estructurales (*env*, *pol* y *gag*) responsables de la codificación de proteínas que formarán parte de la partícula viral y genes reguladores que codifican la expresión de proteínas con funciones moduladoras sobre algunas propiedades biológicas del virus y de la célula infectada. Las proteínas estructurales son las más frecuentemente empleadas en el diagnóstico serológico, bien en forma nativa y purificada o como péptidos sintéticos (PS) o péptidos recombinantes (PR) producidos en bacterias y otros microorganismos en los que se ha transferido parte del genoma de VIH.

La acción patógena de VIH en el individuo infectado, resulta de la interrelación entre múltiples factores que influyen en el ciclo vital del virus en sí y en la respuesta inmune por parte del organismo. Aún persisten muchos interrogantes para tener una idea clara de los mecanismos de patogenicidad de VIH. Muy esquemáticamente, la infección por VIH se traduce en un estado de latencia y/o persistencia del virus en diversas estirpes celulares del organismo infectado (linfocitos, macrófagos, glía cerebral, células precursoras de la médula ósea, etc.). Con el transcurso del tiempo, la mayor parte de los individuos infectados desarrollarán signos y síntomas relacionados con la infección por VIH. De acuerdo con su sintomatología hay propuestos varios tipos de clasificación clínica para la infección por VIH, entre las cuales, la que reúne los criterios propuestos por la O.M.S. se recoge en la tabla 2.

Las personas infectadas por VIH durante el estadio I son, las que en términos generales, se denominan portadores asintomáticos, aunque existe la posibilidad de que durante la primoinfección por VIH no aparezcan tampoco ni signos ni síntomas clínicos que hagan sospecharla. El

diagnóstico de la infección VIH tiene distintos objetivos, uno de ellos es el diagnóstico "per se" de personas que sospechan que pueden estar infectadas y requieren atención médica, consejo no directivo y educación sanitaria respecto a su estado. Otro de los objetivos del diagnóstico de VIH es la seguridad en las transfusiones, productos hemoderivados y donaciones de órganos de obligado cumplimiento en el ámbito territorial español. Finalmente, otros objetivos del diagnóstico de la infección VIH, son la aplicación en programas de vigilancia serológica de esta infección (estudios de incidencia y prevalencia, tendencias en grupos poblacionales, etc.) o en programas de investigación clínica, farmacológica, virológica e inmunológica.

El método más comunmente empleado para el diagnóstico de laboratorio de la infección VIH se basa en técnicas serológicas que detectan anticuerpos del virus en el suero de las personas infectadas. De este modo se dispone de reactivos para pruebas que pueden ser automatizadas total o parcialmente y aplicarse a un gran número de sueros. Estas pruebas utilizadas para el diagnóstico de una persona individualizada, reciben el nombre de pruebas de diagnóstico de la infección VIH, pero también pueden utilizarse como un instrumento para desechar o rechazar productos sanguíneos o biológicos contaminados, en cuyo caso se denominan de cribado. **Conviene subrayar, que la estrategia a emplear en el cribado rutinario es distinta a la utilizada para el diagnóstico individualizado de la infección VIH.**

### 2. OBJETIVOS

1. Establecer la utilidad de cada una de las pruebas que se emplean para el diagnóstico serológico de la infección por VIH y valorar la significación de los resultados obtenidos.
2. Determinar los criterios para la elección de las pruebas para el diagnóstico y evolución de la infección VIH.
3. Recomendar estrategias de utilización de pruebas diagnósticas para el diagnóstico y evolución de la infección VIH en una persona, para la seguridad en donaciones y transfusiones y donaciones de órganos y para estudios epidemiológicos y de investigación.

### 3. PUEBAS DIAGNOSTICAS Y PRUEBAS DE CRIBADO DE ANTICUERPOS VIH

De forma conceptual, denominados pruebas diagnósticas a las que se emplean de forma individualizada en el suero de una persona y pruebas de cribado cuando se aplican a un conjunto de muestras y su finalidad no es la diagnóstica.

La eficacia de una prueba diagnóstica depende de su capacidad para señalar correctamente la presencia o ausencia de la enfermedad que se estudia.

La aplicación de técnicas de cribado tiene como objetivo detectar la presencia de anticuerpos anti-VIH (Ac VIH) para evidenciar el estado de infección y su eficacia será tanto mayor cuanto menor sea el número de individuos/muestras infectados

que presenten un resultado falso negativo. Por lo tanto, su importancia radica en ser "un primer escalón" en el proceso diagnóstico de la infección. Ello implica un tipo de tecnología realizable por la mayoría de laboratorio y aplicable a un número importante de muestras.

#### 3.1. CARACTERISTICAS

##### Sensibilidad, Especificidad y Valor Predictivo

La sensibilidad (capacidad de la prueba para detectar la infección cuando la infección está presente) y la especificidad (capacidad de la prueba para detectar la infección cuando la infección está ausente) son los parámetros esenciales para valorar un test que vaya a ser empleado, y se completan con la expresión matemática de los valores predictivos (VP):

VP de un resultado positivo (VPP)= Número de verdaderos positivos

-----  
Número total de positivos de la prueba

VP de un resultado negativo (VPN)= Número de verdaderos negativos

-----  
Número total de negativos de la prueba

Este resultado se puede expresar por el cociente obtenido o en forma de porcentaje, multiplicando por cien las expresiones matemáticas anteriores.

En general, a medida que la prevalencia de infección VIH es alta en una población dada (por ejemplo, ADVP), el valor predictivo positivo tiende a ser elevado y por el contrario el VPN disminuye. De forma inversa, cuando la prevalencia es baja el VPP tiende a ser menor y el VPN es elevado.

La prueba de cribado ideal es aquella en la que los valores de sensibilidad y especificidad son de 100%, es decir, posee la máxima sensibilidad y nunca es negativa en los casos de infección. Actualmente, ninguna de las técnicas disponibles cumple esta condición y las causas son tanto biológicas como técnicas.

Cuando el objetivo del cribado sea la seguridad en el control de productos biológicos (donaciones de sangre, semen, órganos, tejidos, ect.), el criterio de la máxima sensibilidad es el prioritario y deberá optarse por el tipo de técnica cuyo valor se aproxime más al 100%.

Cuando el objetivo es el diagnóstico de la infección, el criterio de la máxima

especificidad es el prioritario; la estimación de la prevalencia en el contexto clínico-epidemiológico en el que se encuentra el paciente será importante para optar por pruebas más específicas con el fin de técnicas de confirmación más complejas y costosas.

##### Sencillez de Ejecución

Características a tener en cuenta de modo que resulten asequibles para la mayoría de los laboratorios.

Deberá ser suficiente una mínima dotación instrumental y unas buenas prácticas de laboratorio sujetas a los controles de calidad correspondientes.

##### Lectura Sencilla

Mejor si es objetiva y con expresión de resultados de forma cualitativa (positivo/dudoso/negativo).

#### 3.2. TIPOS DE TECNICAS

##### Enzimoimmunoanálisis

La detección de Ac VIH con técnicas de EIA es el método más empleado en la actualidad. De ellas existen distintos principios en la detección de los anticuerpos (indirecto, competitivo, "sandwich" y captura). La progresiva calidad en la elaboración de los antígenos (Ag), hacen de

este tipo de técnicas las más indicadas si las condiciones instrumentales del laboratorio lo permiten.

Los términos 1ª, 2ª y 3ª generación se utilizan según la fuente del Ag y el formato de la prueba. Los ensayos de 1ª generación utilizan lisado viral obtenido en líneas celulares de linfocitos T humanos. Las reactividades inespecíficas debidas a anticuerpos contra el sustrato celular obligan, en general, a que estas técnicas utilicen diluciones elevadas de los sueros para evitar falsos positivos y dicho proceder disminuye la sensibilidad de estas pruebas. Poseen sin embargo una gran capacidad de captación de cualquier tipo de Ac VIH presente en la muestra. El formato de captura en el que el lisado viral es ligado por un anticuerpo monoclonal fijado a la fase sólida es más específico que el indirecto.

Las pruebas de 2ª y 3ª generación utilizan como Ag proteínas recombinantes (PR) o péptidos sintéticos (PS). Son muy sensibles y los resultados son más reproducibles, al utilizar un Ag más normalizado y purificado. Con los test de 2ª y 3ª generación utilizan como Ag proteínas recombinantes (PR) o péptidos sintéticos (PS). Son muy sensibles y los resultados son más reproducibles, al utilizar un Ag más normalizado y purificado. Con los test de 2ª generación y formato competitivo se ha conseguido la especificidad más elevada. El tipo "sandwich" es utilizado en las pruebas de 3ª generación, que son actualmente las más sensibles, aunque su especificada es menor que la de los test de 2ª generación, extremos que deben ser obtenidos en cuenta a la hora de escoger una prueba.

Existen reactivos comercializados con los Ag y formatos citados para la detección de Ac VIH-I y Ac VIH-1 +2.

Para la detección específica de Ac VIH-2 solamente disponemos de EIA con PS o listado viral y formato indirecto.

#### **Aglutinación**

Estas pruebas están basadas en la aglutinación de Ag de VIH que previamente ha sido fijado a particulares susceptibles de aglutinar en presencia de suero que contenga Ac VIH.

Este tipo de pruebas comenzaron a desarrollarse a mediados de los años 80 como alternativa a los EIA. Pueden utilizar partículas de gelatina o partículas de látex, y como Ag, lisado viral, PS o PR.

Son técnicas de manejo muy sencillo, rápidas, de lectura visual, apenas requieren instrumentación y pueden adaptarse a un gran número de sueros.

Su sensibilidad parece comparable al EIA, pero su grado de especificidad es mucho menor.

Son las técnicas indicadas para utilizar en laboratorios con escasa dotación instrumental o que manejan un número reducido de muestras.

#### **Pruebas de EIA de Membrana (Dot-Blot)**

En estas pruebas los Ac VIH se detectan por un método inmunoenzimático. El Ag está fijado a tiras de nitrocelulosa y está formado por PR o PS de uno o ambos virus. La mayoría de las pruebas rápidas de detección de anticuerpos emplean este principio. Tienen lectura visual y no requieren instrumentación y su sensibilidad y especificidad aún no están suficientemente evaluadas. Su ventaja y principal indicación es la posibilidad de identificación entre los dos tipos de virus y su mayor inconveniente es un elevado coste.

#### **Pruebas Fluorimétricas**

Han sido las últimas en incorporarse a la oferta diagnóstica (a partir de 1990). Los antígenos específicos están ligados a micropartículas y el indicador de la reacción es un fluorocromo que actúa como sustrato. La fluorescencia emitida durante la reacción es medida por un fluorómetro. Tiene por tanto lectura objetiva y requiere un nivel de instrumentación similar a las técnicas de EIA. Dada su reciente introducción en el mercado, hay poca experiencia y aunque la posibilidad de automatización y el procesamiento de gran número de muestras son muy ventajosas, es necesario estudiar su sensibilidad y valorar el coste de incorporación las de forma rutinaria.

En la tabla 3 se resumen las principales características de las pruebas comentadas.

## **4. PRUEBAS DE CONFIRMACION**

Estas pruebas tienen como objetivo confirmar los resultados obtenidos por las pruebas diagnósticas utilizando técnicas con fundamentos distintos y más específicos. Por lo general, se utilizan para la confirmación de sueros positivos, pero en determinados casos pueden emplearse para continuar sueros negativos, dada su mayor sensibilidad en muchos casos.

Existen diferentes pruebas de confirmación, entre ellas, las más utilizadas son las basadas en la inmunoelectrotransferencia o Western Blot (WB), la inmunofluorescencia

indirecta (IFI) y la radioinmunoprecipitación (RIPA) (tabla 4).

#### 4.1. CONFIRMACION POR TECNICA DE WESTERN BLOT

La técnica de inmunoelectrotransferencia, más comúnmente denominada "western blot" (WB), es una de las más ampliamente utilizadas para confirmar resultados positivos en las pruebas de depistaje de Ac VIH, ya que permite una discriminación puntual de las especificidades de reactividad de anticuerpos frente a las distintas proteínas del virus.

Las tiras de nitrocelulosa en las que se han transferido las proteínas del virus contienen, generalmente, casi todas las proteínas estructurales del VIH, algunas proteínas precursoras de aquellas, y además otros antígenos celulares contaminantes que proceden de las células infectadas empleadas para la obtención del Ag vírico (tabla 5). Algunas tiras de WB comercializadas para VIH- 1 incluyen, además, algún péptido sintético, correspondiente a glicoproteínas específicas de VIH-2, a efectos de identificación de la infección VIH con una sola tira de reactivo.

La técnica de WB consiste, básicamente, en la incubación de una de esas tiras con el suero problema durante un tiempo que oscila entre 2 a 4 horas hasta 18 horas, tras lo cual se revela la presencia de anticuerpos frente a las diferentes proteínas del virus mediante reacciones inmunoenzimáticas de distinta configuración dependiendo del fabricante. El resultado es la aparición de bandas coloreadas de mayor o menor intensidad, en el lugar de la tira de nitrocelulosa en el que están situadas las proteínas del VIH contra las cuales existen anticuerpos en el suero problema.

Existen diferentes comercializaciones de la técnica que pueden variar en la carga y calidad del Ag presente en las tiras, tipo y método de revelado y tiempo de incubación con el suero. Dada la finalidad de esta prueba, los WB de tiempo de incubación largo (16-18 horas) deberían utilizarse en los casos de muestras especialmente conflictivas.

La lectura e interpretación de los resultados por WB debe hacerse siguiendo unas pautas como las que se resumen en la tabla 6. En primer lugar, se identificarán, por su posición en la tira, comparándolas con el control positivo, las bandas específicas de reactividad (gp160, gp120, p66, p55, p51, etc.), a continuación puede ser útil asignar un valor de reactividad a cada banda (2:

reactividad franca, 1: reactividad débil o dudosa, 0: ausencia de reactividad) y anotarlo de forma individualizada. Aunque la técnica no es cuantitativa, el laboratorio puede, de esta forma, archivar los resultados de forma más detallada, aunque las tiras se hayan deteriorado o eliminado. La lectura automatizada debe realizarse por densitometría; los métodos de análisis de imagen por ordenador (scanner) precisan aun anteriores evaluaciones.

Existen distintos criterios de positividad para el WB (tabla 7), de ellos parece el más adecuado el propuesto recientemente por la OMS que resulta el más sensible cuando se manejan sueros de muy variada procedencia poblacional. Adoptando este criterio **un suero es considerado positivo cuando presenta reactividad al menos frente a 2 glucoproteínas de las tres que posee el virus (gp160, gp120 y gp41)**. Los sueros negativos no deberán mostrar reactividad frente a ninguna de las proteínas presentes en la tira. Finalmente los sueros se denominan indeterminados por WB cuando, existiendo reactividad frente a una o más proteínas, no cumple el criterio de positividad adoptado.

Los criterios de positividad más restrictivos se traducen en una falta de sensibilidad para confirmar sueros en sujetos positivos con signos o síntomas de enfermedad ligada a la infección VIH ya que en los enfermos de SIDA se produce una desaparición de las bandas correspondientes a p24, p31, y p55. Sin embargo, dichos criterios aplicados a población de bajo riesgo no hacen perder la sensibilidad al WB, que llega a ser del 100% sin merma de la especificidad. Con el WB pueden darse falsos negativos, posibilidad que debe tenerse en cuenta en individuos con factores de riesgo o signos de infección VIH y en casos de exposición reciente al virus.

En los WB indeterminados se observan frecuentemente reactividades clínicas frente a una banda del core viral (p24, p55 y p66) y en otras ocasiones frente a componentes celulares contaminantes de las tiras de nitrocelulosa o epítomos no víricos que aparecen en el procedimiento de manufacturación del WB, permitiendo la exposición de zonas parcialmente desnaturalizadas de aquellas proteínas. Se han descrito WB indeterminados en personas con factor reumatoide, lupus eritematoso, bilirrubinemias elevadas, anticuerpos contra el sistema HLA y en pacientes hemodializados, y otras causas

(tabla 8). En otros casos la indeterminación en el WB de VIH-1 puede ser causada por infección por VIH-2 u otros retrovirus (HTLV-I, HTLV-II).

En los sueros indeterminados, el seguimiento debe prolongarse al menos durante 6 meses para verificar si existe un cambio en el patrón de anticuerpos hacia la positividad o por el contrario desaparecen las bandas detectadas inicialmente. Las personas con resultados persistentemente indeterminados al cabo de 6 meses, en ausencia de factores de riesgo, síntomas o hallazgos clínicos compatibles con la infección VIH, deben considerarse negativas para Ac VIH. Sin embargo, no deberían donar sangre, plasma, semen u órganos y deberán ser informadas correctamente y verazmente sobre el significado de su situación, ofreciéndoles disponibilidad clínica y sanitaria ante la posible ansiedad que pueda ocasionárseles. En algunos casos pueden estar indicadas nuevas entrevistas clínicas y un seguimiento más prolongado en el que se incluyan otros análisis de confirmación (RIPA), evolución de la función inmune e incluso descartar una infección VIH en su pareja sexual, solicitando la cooperación y consentimiento de ésta.

En conclusión, la técnica de WB es una prueba de confirmación que en el momento actual es fácilmente adaptable a laboratorios de equipamiento medio, que no tengan un excesivo número de muestras para confirmar y que requiere un cierto entrenamiento para su interpretación y lectura.

#### **4.2. CONFIRMACION POR TECNICA DE INMUNOFLOURESCENCIA INDIRECTA**

La inmunofluorescencia indirecta (IFI) es una técnica rápida, sencilla y de bajo coste, susceptible de ser empleada como primera técnica de confirmación en sueros con pruebas diagnósticas (EIA) claramente positivas y en poblaciones con factores de riesgo y sumamente útil para laboratorios que precisen confirmar gran número de sueros.

La confirmación por esta técnica está basada en la demostración de anticuerpos frente a células infectadas por VIH, por este motivo, los resultados sólo pueden expresarse como positivos o negativos y no permite especificar de forma concreta otras reactividades.

Como Ag se utilizan linfocitos humanos infectados y fijados sobre portaobjetos. Para evidenciar posibles reacciones entre

anticuerpos no específicos presentes en la muestra y el substrato celular utilizado es necesario incorporar como sistema de control células no infectadas. Si existe "doble reactividad" frente a las células que expresen Ag y las células control, el resultado es ilegible, dado que no puede atribuirse la positividad a los anticuerpos específicos pero tampoco descartar su presencia.

La lectura se efectúa con microscopio de luz ultravioleta y los resultados dependen mucho de la calidad del microscopio y la experiencia del observador para identificar los patrones de fluorescencia citoplásmica y de membrana que corresponden a la presencia de anticuerpos específicos. El grado de subjetividad en la lectura y la dificultad en la normalización y control del Ag utilizado (distintas líneas celulares, fijación en portaobjetos en diferentes momentos de la infección celular, estado de conservación, etc.) afectan a la reproductibilidad de la técnica.

Las células infectadas expresan gran cantidad de Ag correspondiente a distintos momentos de la infección celular, por lo que esta técnica detecta todo tipo de Ac VIH, pero precisa la existencia de niveles superiores a los detectados por el WB. En los reactivos comerciales el Ag es VIH-1 pero existe reactividad cruzada con VIH-2 por lo que no resulta útil para diferenciar los dos tipos de infección. Las diluciones seriadas del suero problema nos permiten expresar los resultados indicando el título obtenido. Esto es especialmente útil cuando se desea comparar niveles de Ac VIH, como es el caso de suero/LCR del mismo paciente cuando se sospecha infección VIH del SNC.

El mayor rendimiento de la técnica se obtiene con muestras EIA positivas pertenecientes a personas con prácticas de riesgo. No es aconsejable utilizarla en la confirmación de hemodonaciones, en muestras con resultado EIA positivo débil ni en muestras de personas que están en un contexto epidemiológico de baja prevalencia, aunque las pruebas de cribado hayan sido claramente positivas.

Los resultados IFI con patrones atípicos, reactividades inespecíficas o negativos con pruebas de cribado positivas, deberán procesarse con una segunda prueba confirmatoria generalmente WB.

### 4.3. CONFIRMACION POR TECNICA DE RADIOINMUNOPRECIPITACION

Esta técnica esta basada en la demostración de Ac VIH en el suero, que en presencia de proteínas víricas marcadas radioactivamente conduce a la formación de innunocomplejos. Es la técnica de referencia. La elaboración del Ag requiere condiciones de alta seguridad, ya que se realiza mediante cultivo del virus en línea celular de linfocitos humanos y posterior marcaje radioactivo. El virus complejo marcado se obtiene del sedimento celular (Ag con alta expresión de glicoproteínas y sus precursores) y del sobrenadante del cultivo, más rico en proteínas enzimáticas y codificadas por el gen *gag*.

La reacción Ag-Ac es previa a cualquier a cualquier manipulación del Ag lo que, además de una elevada sensibilidad proporciona una gran especificidad. Los complejos proteína viral-anticuerpo específico son separados por técnicas electroforéticas según su peso molecular y se ponen en evidencia mediante la impresión del marcaje radioactivo en placa fotográfica, obteniendo un patrón de bandas similar al del WB. Dada la complejidad de la técnica, las condiciones obligatorias de seguridad biológica y de manejo de sustancias radioactivas y la manualidad de todo el proceso, esta técnica está reservada concretamente al ámbito de:

- 1.- Investigación de muestras problemáticas en las que no se pueda establecer diagnóstico de infección mediante las técnicas convencionales de confirmación.
- 2.- En la elaboración de paneles de suero destinados a sistemas de control de calidad, tanto de reactivos como de "sueros patrón".
- 3.- En la diferenciación serológica con fines de investigación, de la infección VIH-1 y VIH-2 cuando las reactividades cruzadas den patrones mixtos en las técnicas de WB y Dot-Blot.

### 5. REACCION DE AMPLIFICACION GENOMICA POR REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) EN EL DIAGNOSTICO DE LA INFECCION VIH

La base de este diagnóstico reside en la demostración de parte del genoma vírico a partir de muestras de sangre periférica. Existen ciertos casos en los que estas técnicas, basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) logran un diagnóstico más rápido y precoz de la infección VIH en situaciones en las que el

diagnóstico clásico serológico puede tardar en confirmarse: **recién nacido de madres infectadas por VIH** o con antecedentes de riesgo de infección VIH durante el embarazo y en sujetos con períodos ventana más largos del habitual. Otras situaciones en las que esta técnica o variantes de la misma pueden ser de utilidad son la **demostración de infecciones por VIH-2 con serología no concluyente**, infecciones dobles por VIH-1 y VIH-2 más recientemente la **detección de mutaciones específicas asociadas a la resistencia a los antivíricos**.

El grado de estandarización de estas pruebas, así como la disponibilidad de reactivos es desigual. Existen reactivos comercializados para PCR diagnóstica de VIH-1 y no existen por el momento para VIH-2 o para el resto de indicaciones diagnósticas descritas en el párrafo anterior. Aunque esta técnica se ha mostrado en algunos casos superior al diagnóstico serológico, la falta de criterios internacionalmente aceptados para la validación de resultados discordantes con la serología, unido a las consideraciones anteriores hace su aplicación deba realizarse con una escrupulosa consideración del contexto clínico en cada caso individualizado.

### 6. AISLAMIENTO VIRICO EN EL DIAGNOSTICO DE LA INFECCION VIH

El aislamiento del VIH sigue siendo hoy en día una técnica de referencia, aunque su empleo quede restringido a laboratorios bien equipados.

Supone el cultivo del virus a partir de muestras clínicas que contengan virus libres o células infectadas. En la mayoría de los casos se utilizan linfocitos de sangre periférica separados mediante centrifugación en gradiente de Ficoll. Los linfocitos del paciente se cultivan a 37°C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> en medios ordinarios (RPMI 1640 y 20% de suero de ternera fetal) adicionados de interleucina-2 junto con linfocitos de donante sano previamente estimulados con un mitógeno (fitohemaglutinina). Semanalmente se añaden linfocitos estimulados de donante, manteniendo estas condiciones de cultivo durante 4 semanas. La detección del crecimiento vírico se puede realizar midiendo la actividad retrotranscriptasa en los sobrenadantes, por detección de antígenos específicos del virus (p24



principalmente) o bien mediante la demostración del efecto citopático en forma de sincitios o células gigantes formadas por la fusión de células infectadas; que tienen glucoproteína de la envoltura del VIH en su superficie; con otras células contiguas.

A pesar de que las muestras más comunes para aislamiento son linfocitos de sangre periférica y líquido cefalorraquídeo (LCR), el VIH ha podido aislarse de gran número de humores orgánicos entre los que se incluyen el plasma, suero, secreciones cervicales, semen, saliva, leche materna, lágrimas, orina, líquido alveolar, órganos de trasplante y tejido cerebral.

El aislamiento es la técnica de referencia final para cualquier otra técnica y es obligado cuando se pretende establecer el fenotipo de VIH (cepas inductoras de sincitio o no; IS/NIS), la actividad *in vitro* de antiviricos y puede servir de referencia de la cantidad de virus presente en la muestra del paciente. Sin embargo, el aislamiento de VIH presenta, como principal inconveniente, la necesidad de laboratorios con complejos sistemas de contención biológica (nivel P3), pero además, podría plantear la dificultad de seleccionar tan sólo aquellas, con mayor capacidad para su crecimiento *in vitro*, disminuyendo, por tanto, su posible importancia como marcador de eficacia terapéutica o como técnica de monitorización de la aparición de variantes del virus resistentes a los anti-retrovirales.

## **7. IDENTIFICACION SEROLOGICA DEL TIPO DE INFECCION VIH (VIH-1/VIH-2)**

Actualmente, la identificación serológica de los Ac VIH, en una persona infectada, no debe plantear ninguna dificultad en nuestro medio.

En España, la casi totalidad de individuos diagnosticados serológicamente y confirmados, lo están por VIH-1, por tanto, cualquiera de las pruebas de confirmación basadas en reactividad diferenciada frente a las proteínas del virus (WB, RIPA) pueden servir para identificar el tipo de infección VIH.

El contexto epidemiológico debe orientar el diagnóstico de infección VIH-2. En el ámbito de la tecnología EIA, una buena combinación es la utilización de un EIA indirecto (VIH 1 y 2) un EIA competitivo (VIH-1). Una positividad elevada en el primer test y negativo o débilmente positivo en el segundo test, es muy sugerente de infección por VIH-2.

La confirmación de una infección por VIH-2, se debe realizar en sueros reactivos en las pruebas de diagnóstico y no confirmados o indeterminados en el WB de VIH-1, comprobando en WB para VIH-2 su reactividad siguiendo las pautas mencionadas anteriormente con el criterio de la OMS (reactividad al menos frente a dos glicoproteínas: gp140, gp105 o gp36). Existen pruebas que vehiculan en tiras de nitrocelulosa péptidos sintéticos correspondientes a los epítomos de glicoproteínas de VIH-1 (generalmente gp41) y de VIH-2 (generalmente gp36), la utilización de las mismas puede servir para aportar más datos y ayudar a la identificación de infecciones VIH-2 con más certeza.

El mayor problema de identificación lo constituyen los sueros en los que se aprecia doble reactividad frente a VIH-1 y VIH-2 en las pruebas serológicas. En dichos casos la reactividad doble puede estar causada por la existencia en el WB de reactividad cruzada frente a proteínas del "core" y frente a las glicoproteínas de envoltura (consideradas más específicas). En estos casos puede estar indicado utilizar pruebas de péptidos sintéticos realizando diluciones de la muestra y observando frente a cual de los péptidos desaparece la reactividad. Sugiriendo así, que la identificación lo es por el tipo de VIH frente al cual persiste la posibilidad tras la dilución de la muestra. A pesar de lo espuesto los casos de coinfecciones por VIH-1 y VIH-2 pueden ser de difícil confirmación desde el abordaje serológico y precisarán pruebas de diagnóstico directo, (como las de amplificación genómica específica, cultivo o ambas) que permitan una documentación más fiable de la doble infección, que es bastante infrecuente. En el entorno europeo los países con más casos documentados de infección VIH-2 son Portugal, Francia y Bélgica.

En España, desde hace algunos años se han documentado infecciones por VIH-2 principalmente en inmigrantes africanos y esporádicamente en sujetos españoles. En algunos de los sueros de dichos casos se ha observado que puede haber una cierta reactividad en las pruebas de VIH-1 y una lectura superficial del WB podría confundir a personas poco habituales a esta prueba de confirmación.

En conclusión, la identificación de infección por VIH-2 se aconseja sólo en los casos de reactividad repetida en pruebas de diagnóstico y con resultados indeterminados

frente a VIH-1 en pruebas de confirmación o en individuos con antecedentes de contactos sexuales con personas de antiguas colonias portuguesas, de países africanos o con prostitutas de esos países. Las pruebas de péptidos sintéticos pueden ayudar a la identificación serológica de la infección VIH en dichos sueros.

## **8. MARCADORES SERICOS ESPECIFICOS DE LA INFECCION VIH.**

En la actualidad existen marcadores séricos que permiten una mejor caracterización de la infección VIH, uno de ellos lo constituye una de las proteínas estructurales del core de VIH-1, de 24 kd de PM, denominada proteína p24 ó Agp24. Esta proteína aparece como consecuencia de la replicación del VIH en el organismo y puede detectarse en distintos momentos de la infección, constituyendo así otra importante ayuda diagnóstica. Así mismo, en el curso de la infección VIH, se producen anticuerpos específicos contra dicha proteína que sufren variaciones a lo largo del tiempo. Ambos marcadores séricos son específicos de la infección VIH y su manejo conjunto pueden facilitar el mejor seguimiento de los individuos infectados por VIH.

### **8.1. SISTEMA ANTIGENO p24 - ANTICUERPO p24**

En la actualidad, existen diversas técnicas comerciales que utilizan el principio de EIA en triple "sandwich" para la detección de Ag p24. Las muestras clínicas en las que puede realizarse la detección son: suero, plasma y LCR.

Dada la existencia de falsos positivos deberá confirmarse mediante una reacción de bloqueo de la muestra con suero anti-p24.

La sensibilidad de los reactivos actuales permite la detección de cantidades que oscilan entre 10 a 50 pg/ml o más de Ag p24. Se puede hacer una semi-cuantificación de dicho Ag utilizando sueros en cantidades conocidas de p24. Las muestras pueden almacenarse a 4°C durante una semana y más tiempo a -20°C ó -70°C.

Este antígeno puede desnaturalizarse, por ello, se recomienda para el almacenamiento prolongado temperaturas de -70°C. Para este tipo de ensayos deben rechazarse muestras turbias, hemolizadas o repetidamente congeladas y descongeladas. La sensibilidad de esta

técnica es menor que la de la detección de Ac VIH. El hallazgo oscila desde un 4% para sujetos seropositivos asintomáticos hasta el 70% de los pacientes de SIDA. En LCR los porcentajes de detección pueden variar desde 0% en asintomáticos al 55% en pacientes de SIDA.

En el curso de la infección por VIH se produce una antigenemia primaria p24 con un aclaramiento posterior que puede ser debido, entre otros factores, a la formación de inmunocomplejos por la aparición de Ac circulantes anti-p24. Según esto, la aparición de dicho Ag en el curso de la infección sería el resultado de una mayor replicación vírica que puede llevar a un exceso de Ag y producir el aclaramiento de Ac p24 observando en el SIDA. En la actualidad hay descritas técnicas sencillas para disociar inmunocomplejos p24 y evaluar la cantidad libre y combinada de este Ag.

La detección de Ag p24 tiene diferentes gravados de utilidad clínica según la finalidad que se persiga. La aparición de Ag circulante libre y su persistencia es marcador de mal pronóstico y de progresión de la infección, y suele correlacionar bien con otros marcadores no específicos como el cociente de linfocitos CD4/CD8, la elevación de beta-2-microglobulina y neopaterina y los linfocitos totales. Los niveles elevados de antigenemia p24 se asocian con distinta frecuencia a la desaparición de Ac p55 y Ac p24 también de mal pronóstico. Por otra parte, la presencia de p24 puede demostrarse en LCR en diferentes estadios de la infección, como expresión de la multiplicación neurológica del virus.

La detección de Ag p24 para diagnóstico en el período ventana es de menor utilidad y debería reservarse sólo ante signos clínicos compatibles con la primoinfección en caso de exposición conocida o sospechada. Aunque existen referencias sobre detección de p24 antes de la seroconversión, tanto en asintomático expuestos al virus, como en enfermos en el estadio I, en la mayoría de los casos la antigenemia primaria dura 1 o 3 semanas durante el período ventana que precede a la seroconversión VIH.

En los casos pediátricos la detección de Ag p24 confirmada es indicativo de infección y puede agilizar el diagnóstico. Ya que la detección de IgM anti-VIH en recién nacidos de madres infectadas es de variable utilidad y la IgG que presentan puede ser de transferencia materna en el 25% de los casos, de producción propia en la misma

proporción o de la coexistencia de ambas, debido a que el tiempo de aclaramiento de los anticuerpos maternos puede ser superior a los 18 meses. Los métodos que permiten definir dichas situaciones son laboriosos, en algunos casos se dan falsos negativos por pruebas de EIA que resultan positivas mediante WB o pruebas más sensibles. En estos casos la detección de Ag p24 libre o en inmunocomplejos ofrece una alternativa diagnóstica más asequible. Esta técnica serológica, sin embargo, es menos sensible que el cultivo o la detección por amplificación genética (PCR).

En los casos tratados con quimioterapia antivírica específica para VIH la detección y cuantificación de p24 sirve para controlar la eficacia terapéutica del fármaco empleado y como marcador adicional para la monitorización del paciente.

La detección de Ac p24 se realiza habitualmente mediante técnicas de EIA, la mayoría de estas utilizan péptidos recombinantes o sintéticos de p24. En general son algo menos sensibles que otras técnicas cualitativas como el WB pero tienen la ventaja de permitir una semi-cuantificación del título de dichos anticuerpos. No es una prueba de confirmación, su fin es exclusivamente como marcador cronológico de la infección VIH.

Cualquier laboratorio con un equipamiento de tipo medio, habituado al empleo de técnicas de diagnóstico basadas en el principio inmunoenzimático puede realizar este tipo de determinaciones. En algunos casos pueden presentarse falsos positivos en la detección de Ac p24 debido a reacciones heterogéneas con diversos antígenos. Por esta razón y dada su finalidad como marcador de evolución, no es aconsejable hacer este tipo de determinación sin la confirmación previa de la infección VIH en un individuo.

## **9. EXPRESION DE RESULTADOS DEL DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE LA INFECCION VIH Y DE LOS MARCADORES ESPECIFICOS**

La demostración confirmada de anticuerpos frente a VIH en una persona es significativo de infección por dicho virus. Dadas las características biológicas del mismo, dichas personas deberán ser consideradas a todos los efectos como portadores del virus y por tanto potencialmente transmisoras de VIH por los mecanismos actualmente reconocidos. De la misma forma **cuando no**

**exista esa evidencia confirmada de Ac VIH, no podrán considerarse portadoras del virus, aunque si concurren en dichas personas factores de riesgo, deberán aconsejarse la realización de pruebas adicionales.**

Por lo anteriormente expuesto resulta muy importante que los resultados de las pruebas serológicas de diagnóstico de VIH se expresen de forma clara y precisa para evitar situaciones diagnósticas confusas y ansiedad innecesaria en los individuos a los que se les realizan las pruebas serológicas.

### **9.1. PRUEBAS DE DIAGNOSTICO**

Los resultados de estas pruebas deberán expresar con claridad si el suero es positivo o reactivo para Ac VIH-1 o VIH-2, indicando, en los casos en que se utilice una prueba rápida (latéx aglutinación, dot-blot, etc.), la naturaleza de la misma. Asimismo, la expresión en unidades arbitrarias o en unidades de valor de corte añadida a la expresión cualitativa en las técnicas de EIA, indican una mayor o menor reactividad de la muestra con respecto al valor de corte obtenido y no una expresión numérica de la cantidad de anticuerpos presentes en el suero. En los resultados positivos y en los débilmente reactivos se indicará la necesidad de confirmar dicha reactividad.

En los casos en que el laboratorio **no** realice pruebas confirmatorias adicionales, **deberá indicarse la necesidad de confirmar el resultado de la prueba de cribado mediante otras técnicas.**

### **9.2. PRUEBAS DE CONFIRMACION**

Los resultados de estas pruebas expresaran de forma inequívoca si el sujeto es positivo o negativo para Ac VIH. En los casos de sueros con resultados no interpretables o indeterminados en estas pruebas, se expresará claramente que la presencia de Ac VIH no ha sido confirmada, recomendándose en dichos casos un seguimiento serológico y remisión de nuevas muestras para confirmación por otras técnicas, esto es de especial aplicación para los resultados ilegibles en la confirmación por IFI. En los casos de WB indeterminados deberán expresarse las reactividades observadas con objeto de poder interpretar correctamente el seguimiento.

### **9.3. MARCADORES ESPECIFICOS DE VIH**

Los resultados de las pruebas de Ag p24 deberían expresarse como positivas y confirmadas por bloqueo. Es deseable la

semi-cuantificación y su expresión en el informe, dados los fines para los que están destinadas.

En los casos en los que dicha se solicite como ayuda **en el diagnóstico precoz de la infección VIH** en individuos seronegativos o con WB indeterminados **deberá indicarse la necesidad de realizar pruebas de anticuerpos seriadas para llegar al diagnóstico serológico definitivo.**

Las pruebas de Ac p24 deberían expresarse de forma semi-cuantitativa (título, unidades, etc.) para poder ser objeto de seguimiento.

## **10. ESTRATEGIAS EN EL DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE LA INFECCION VIH:**

### **10.1. PRINCIPIOS GENERALES**

En la actualidad, existen diferentes tipos de técnicas de detección de anticuerpos específicos VIH. La selección de la técnica o combinación de técnicas más apropiada dependerá de: a) objetivo de la prueba; b) sensibilidad y especificidad de las técnicas a utilizar y c) la prevalencia de la infección VIH en la población estudiada.

#### **Objetivos de la Determinación de Anticuerpos VIH**

La determinación de anticuerpos VIH se realiza con cuatro objetivos fundamentales:

- a) Cribado de los donantes de sangre, órganos, semen y óvulos.
- b) diagnóstico de la infección VIH.
- c) vigilancia seroepidemiológica de la infección VIH
- d) investigación.

#### **Sensibilidad y Especificidad del Diagnóstico**

Las técnicas de detección de anticuerpos con un elevado nivel de sensibilidad son las técnicas de elección en el cribado de donantes de sangre, órganos, semen y óvulos. Aquellas técnicas con un elevado nivel de especificidad serán las técnicas de elección en el diagnóstico de la infección VIH.

#### **Valores Predictivos del Diagnóstico**

La probabilidad de que una técnica de detección de anticuerpos VIH determine con certeza el verdadero estado de infección de un individuo, varía de acuerdo con a la prevalencia de infección VIH en la población de estudiada. Así, a mayor prevalencia de infección mayor probabilidad de que un resultado positivo signifique que el paciente se halla realmente infectado, es decir, la técnica poseerá un elevado valor predictivo

positivo (VPP). Sin embargo, poseerá un valor predictivo negativo (VPN) menor.

#### **Estrategias en la Determinación de Anticuerpos VIH**

En la actualidad, la O.M.S., recomienda tres estrategias que confieren un máximo de exactitud por un coste mínimo (tabla 9). La estrategia más apropiada, a cada situación, dependerá del objetivo de la prueba y de la prevalencia de infección VIH en la población.

**Estrategia I:** determinación de anticuerpos mediante un único EIA o una técnica rápida/sencilla.

**Estrategia II:** todas las muestras reactivas en una primera técnica, son realizadas de nuevo en una segunda técnica de principio o preparación antigénica diferentes. En caso de falta de reactividad del suero en la segunda técnica el resultado se considerará negativo.

**Estrategia III:** todas las muestras reactivas en la segunda técnica de la estrategia II, son ensayadas de nuevo con una tercera técnica diferente a las anteriores. En caso de falta de reactividad del suero en la tercera técnica es obligado realizar un western blot.

En las estrategias II y III, la prueba utilizada en primer lugar debe poseer la máxima sensibilidad y la utilizada en segundo lugar debe poseer la mayor especificidad.

### **10.2. ESTRATEGIA EN LA DONACION DE SANGRE/ORGANOS**

Con el objetivo de disminuir al máximo el riesgo de transmisión de la infección VIH mediante sangre transfundida, hemoderivados, semen, óvulos u órganos contaminados, desde 1987 es obligatoria la detección de anticuerpos VIH en todas las unidades a transfundir y en suero de donantes de semen, óvulos u órganos. Esto ha obligado a que los Bancos de Sangre incluyan protocolos de cribado para localizar y desechar las unidades presumiblemente contaminadas.

La técnica de cribado indicada es aquella que presenta la máxima sensibilidad y tenga posibilidades de automatización con la finalidad de obtener resultados reproducibles de forma rápida y procesar un gran número de muestras al mismo tiempo. Actualmente, son las técnicas de enzoinmunoanálisis (EIA) de 2ª y 3ª generación que incorporan antígenos de VIH-I y VIH-2 las que cumplen estos requisitos de forma más satisfactoria.

Aunque en sentido estricto los Bancos de Sangre realizan sus competencias

localizando y desechando aquellas unidades con pruebas de cribado claramente positivas o con valores próximos al punto de corte de la prueba (zona gris) (figura 1), su intervención debe comprender, además, los aspectos siguientes: a) envió de la muestra para confirmación del diagnóstico y b) localización del donante, explicación de la anormalidad analítica y derivación a la consulta correspondiente. Mención especial merece la detección de patrones serológicos con EIA positivo/zona gris/negativo (según el reactivo utilizado) y western-blot con patrón indeterminado en población sin antecedentes de exposición a VIH. Estudios de seguimiento de hasta 5 años y de investigación de presencia del virus (detección de ácidos nucleicos, aislamiento) indican que no existe relación entre este patrón y la infección VIH, en ausencia de antecedentes de riesgo. Sin embargo, en esta situación, la obligación es desechar la bolsa de sangre y las recomendaciones más aceptadas son: a) explicar al donante el hallazgo analítico; b) derivación a consulta donde pueda realizarse una historia clínico-epidemiológica, exploración, seguimiento serológico con muestras analizadas en paralelo a los 3 y 6 meses y explicación del cuadro analítico y consejo y c) en caso de patrón indeterminado mantenido en el western-blot, parece oportuno que la persona deje de ser donante de sangre.

### **10.3. ESTRATEGIA EN EL DIAGNOSTICO DE LA INFECCION VIH**

En la actualidad, prevalece la hipótesis de que el VIH, desde el momento en que penetra en el organismo humano, prolifera de una forma continua, aunque a velocidades diferentes según el estadio evolutivo de la infección. Se distinguen tres fases: a) primoinfección; b) asintomática, de varios años de duración, y c) sintomática, que clínicamente se corresponde con el complejo relacionado o el SIDA.

#### **Primoinfección VIH**

Una vez el VIH penetra en el organismo humano, por los mecanismos de transmisión actualmente reconocidos, inicia una replicación activa a consecuencia de la cual se desarrolla el cuadro clínico de la primoinfección, que suele ser asintomática o bien su sintomatología es tan leve que suele pasar desapercibida. No obstante, también puede manifestarse como un síndrome mononucleósico asociado o no a una meningitis o meningoencefalitis aguda o subaguda de tipo linfocitario, o una

neuropatía central o periférica o una depresión transitoria de la inmunidad celular. Las técnicas de PCR cualitativa pueden detectar en esta fase al VIH. Su cuantificación durante este momento de la infección permite valorar la evolución posterior de la misma. Durante esta fase y no antes de las 3-6 semanas después del contagio ("período ventana"), la infección puede ponerse de manifiesto serológicamente mediante la detección de los antígenos del virus, concretamente del antígeno p24 libre, por técnicas de enzimoanálisis (EIA). La aparición de anticuerpos suele acontecer alrededor de los 2-4 meses después de la exposición al virus, y salvo en raras ocasiones, persistirán durante toda la vida. A medida que aumenta el título de anticuerpos específicos frente a las proteínas de envoltura y de core, se produce una disminución paulatina de la concentración sérica de antígeno p24 libre hasta su total negativización en las técnicas de EIA, pero con frecuencia en los niños y ocasionalmente en los adultos coexisten títulos altos de antígeno y de anticuerpo.

La estrategia diagnóstica **ante la sospecha de primoinfección VIH** incluirá necesariamente la detección de anticuerpos totales y antígeno p24 libre en sangre con las siguientes consideraciones:

1) Un resultado negativo frente a los dos marcadores citados de infección VIH puede ser debido a: a) la ausencia de infección o b) el paciente está en el "período ventana". En ambas situaciones se procederá a la realización de determinaciones seriadas de anticuerpos y de antígeno a las 2 y 4 semanas y a los 3 y 6 meses para confirmar la ausencia o presencia de infección VIH.

2) Un resultado de anticuerpos negativo con presencia de antígeno p24 libre en sangre, es indicativo de infección reciente, probablemente durante las 8 semanas anteriores. Se procederá a realizar determinaciones seriadas de anticuerpos y antígeno siguiendo la pauta indicada en el punto anterior.

3) Un resultado de anticuerpo positivo con ausencia de antígeno libre circulante, es diagnóstico de infección VIH completamente establecida.

#### **Fase Asintomática de la Infección VIH**

Esta fase se caracteriza por la presencia de anticuerpos y ausencia de antígeno p24 libre, o presencia intermitente, no mantenida, de dicho Ag. Esta fase puede durar años manteniendo dicho perfil sérico. Los diferentes estudios de seguimiento longitudinal de pacientes infectados indican

que la probabilidad de que la infección progrese hacia estadios más avanzados es baja en los primeros estadios más avanzados es baja en los primeros 2-4 años de infección y aumenta considerablemente a partir de los 5 años, siendo de casi el 60% a los 10 años de haberse producido la infección y sin que, aparentemente, parezca haber diferencias importantes entre los distintos subgrupos importantes afectados. Los niveles de antígeno y anticuerpos varían enormemente entre individuos. Si el médico que sigue a un paciente infectado por VIH decide emplear marcadores séricos específicos víricos, debe conocer que son necesarios **los test seriados para confirmar una tendencia**. Así, los pacientes, en esta fase de la infección por VIH, deben monitorizarse para detectar cambios en el perfil serológico y establecer un pronóstico de evolución de la infección. Un descenso en el título de anticuerpos anti-p24 y/o la positividad del antígeno p24 libre en, por lo menos, dos muestras consecutivas, son un indicador de progresión de la infección.

En el momento actual no existe una recomendación de amplio consenso sobre la cronología de detección de estos marcadores en la fase asintomática, por ello su determinación debe ser realizada en el contexto clínico individualizado teniendo en cuenta otros parámetros clínicos.

#### **Fase Sintomática de la infección VIH**

Esta fase se inicia a consecuencia de un aumento de la actividad replicativa del virus y se caracteriza por la positividad mantenida del antígeno p24 libre por técnicas de EIA, asociada, en un 60-70% de los casos, a un descenso en los niveles de anticuerpos anti-p24 manteniéndose positivos los anticuerpos frente a las proteínas de envoltura, y con una importante disminución de los linfocitos CD4(+).

Clínicamente se manifiesta por la aparición de una grave alteración del estado general, infecciones oportunistas, ciertos tipos de neoplasias o de trastornos neurológicos, cuyo grado de evolución se clasifica según los criterios de la O.M.S. (tabla 2 y 2 bis). El pronóstico vital a partir de este momento, aún con tratamiento específico antivírico es, en las mejores estimaciones, del 50-75% a los 365 días. La edad, el sexo, la actividad de riesgo a través de la cual se adquirió la infección y la forma de presentación (reflejo indirecto del grado de inmunosupresión) influyen en el pronóstico.

#### **Monitorización de Tratamiento Anti-retroviral**

Los pacientes en tratamiento anti-retroviral, presentan disminuciones de los niveles en suero del antígeno p24 libre estadísticamente significativos. El uso de PCR cuantitativa es en la actualidad el método recomendado para la monitorización de tratamiento antirretroviral. En Enero de 1997 la secretaría del Plan Nacional sobre el SIDA elaboró unas directrices que se recogen a continuación y en las tablas 10 y 11.

#### **FRECUENCIA DE REALIZACIÓN DE LA CARGA VÍRICA.**

##### **Obtención de la muestra vasal en pacientes sin tratamiento antirretrovírico previo:**

Es muy recomendable realizar dos determinaciones vasales separadas por 2 a 4 semanas, en ausencia de procesos infecciosos, vacunaciones o patología intercurrente. Dado que las técnicas son complejas y la posible sobrecarga de los laboratorios con esta determinación, podría plantearse la alternativa de una muestra vasal única, al menos en las etapas iniciales de su introducción.

##### **Monitorización en los pacientes sin indicación de tratamiento antirretrovírico:**

Si un paciente no es tratado con antirretrovíricos, sería recomendable su monitorización con carga vírica cada 4 ó 6 meses (simultáneamente con recuento de linfocitos CD4), a menos que presente algún dato clínico de progresión de enfermedad.

##### **Monitorización en los pacientes que han iniciado recientemente tratamiento antirretrovírico:**

Si se dispone de muestra vasal previa al tratamiento y el paciente ha comenzado con antirretrovírico, tal como se recoge en el Documento del Consejo Asesor Clínico (C.A.C.) en su 3ª edición de noviembre de 1.996, se recomienda una determinación a los 2 meses cuando la pauta es de dos análogos de nucleosidos, y a los 3 ó 4 meses si la combinación incluye un inhibidor de proteasa. Tal como se especifica en dicho documento, esta determinación puede realizarse a los tres meses, independientemente de la pauta utilizada, si ello facilita el seguimiento periódico de los pacientes.

##### **Monitorización de los pacientes en tratamiento prolongado con antirretrovíricos:**

En un paciente tratado con antirretrovíricos de forma estable se recomienda una determinación de carga vírica cada cuatro meses, a menos que presente algún dato

clínico de progresión. Si en un paciente se realiza un cambio terapéutico en función de sus datos clínicos inmunológicos o virológicos, tal como se especifica en el apartado nº 4 y en el documento del C.A.C antes citado, se recomienda una determinación previa de carga vírica, a los dos meses cuando la pauta es de dos análogos de nucleósidos, y a los 3 ó 4 meses si la combinación incluye un inhibidor de proteasa. Tal como se refiere previamente puede realizarse de una forma uniforme a los 3 meses, independientemente de la pauta utilizada, si ello facilita el seguimiento periódico de los pacientes.

#### **10.4. ESTRATEGIAS EN SITUACIONES ESPECIALES**

##### **Embarazo**

La transmisión vertical de la infección VIH es la responsable de más del 80% de los casos de SIDA en niños menores de 1 año de edad.

El número creciente de mujeres infectadas que se hallan en edad fértil, conjuntamente con el importante aumento porcentual de la infección VIH por transmisión heterosexual, ha supuesto un importante incremento del SIDA en la población infantil. Actualmente la probabilidad de transmisión vertical del VIH, a partir de una madre seropositiva, es del 13-20% en los países europeos.

La determinación de anticuerpos VIH en las mujeres embarazadas se justifica por : a) posibilidad de interrupción del embarazo; b) modificación de la conducta obstétrica durante el parto, para evitar al máximo el riesgo de transmisión perinatal y c) medidas de atención al recién nacido.

La recomendación mas ampliamente aceptada es realizar determinación de anticuerpos VIH en la mujer gestante cuando existan prácticas de riesgo. Sin embargo, los datos recientes demuestran que la identificación de la embarazada con prácticas de riesgo, presentes o pasadas, puede fallar, bien porque ésta no se identifica como adicta a drogas por vía parenteral o no es consciente del riesgo de la transmisión heterosexual por contactos sexuales previos con individuos seropositivos. En este sentido, estudios recientes demuestran, que hasta un 25% de las mujeres embarazadas VIH(+), desconocían haber estado expuestas a un riesgo de infección VIH. por ello, puede ser conveniente ofrecer esta prueba en el control serológico de la gestación. Es importante que esta oferta se acompañe del

**consentimiento informado** de la embarazada y de una adecuada información sobre la transmisión del virus. La implantación definitiva de este cribado serológico en un Area de Salud debiera precederse de un estudio tipo de prueba anónima no relacionada u otro que informe de la seroprevalencia existente, ya que en muchas zonas de nuestro país tal implantación no va a ser, probablemente, necesaria.

Unicamente en aquellas mujeres seronegativas que presenten prácticas de riesgo persistentes se repetirá periódicamente la determinación, teniendo siempre en cuenta que se ha descrito transmisión en casos que presentaban resultados indeterminados en western blot.

La determinación de anticuerpos VIH en las parejas que acuden a clínicas de esterilidad para fecundación asistida, se deberá realizar por razones obvias.

##### **Recién Nacidos de Madres Portadoras**

La terapia anti-retroviral instaurada precozmente en el tratamiento de la infección congénita, disminuyo el riesgo de aparición de infecciones oportunistas, incrementando, incluso, la supervivencia del niño infectado. Así, la detección precoz de la infección es especialmente importante. Sin embargo, se halla dificultada por: a) presencia de anticuerpos específicos en todos los recién nacidos de madre seropositiva, a consecuencia de una transferencia pasiva de las IgG anti-VIH de la madre; b) persistencia de los anticuerpos maternos por encima de los 10 meses de edad; c) resultados falsamente negativos, durante los tres primeros meses de vida, en caso de infección perinatal y d) infección VIH en ausencia de seroconversión, debido a una importante hipogammaglobulinemia, a consecuencia de una disfunción de los linfocitos B.

La estrategia de diagnóstico serológico en los hijos nacidos de madre seropositiva incluirá necesariamente la detección de anticuerpos totales VIH y antígeno p24 libre en sangre:

1) La presencia de infección VIH en el recién nacido se caracteriza por: a) La persistencia de anticuerpos VIH por encima de los 18 meses de edad; b) aparición, en sueros seriados, de nuevas bandas de reactividad en el Western Blot, a pesar de que su valor es inferior al anterior marcador; c) presencia de antígeno p24 libre en sangre. Este marcador de actividad replicativa del virus, suele asociarse con una evolución rápida de la infección hacia

estadios sintomáticos. El principal problema en la determinación de antígeno p24 radica en que no se positiviza hasta que los anticuerpos anti-p24 del tipo IgG de la madre disminuyen o desaparecen de sangre, como consecuencia de la formación de inmunocomplejos antígeno-anticuerpo circulantes no detectados por las técnicas de EIA. En ésta situación el tratamiento del suero para disociar los inmunocomplejos (acidificación, guanidina, etc.) puede ser de gran ayuda y d) La disminución del nivel de anticuerpos anti-p24 seguido de un aumento de éstos, en el transcurso de uno o dos meses, podrá correlacionarse con la pérdida de anticuerpos maternos y la producción propia, de los mismos, por parte del niño infectado por vía vertical.

Las dificultades derivadas de importante retraso en el diagnóstico de la infección VIH en los recién nacidos de madre seropositiva (18 meses), hace necesario la utilización futura de otros marcadores de infección no serológicos, como cultivo o amplificación genética (PCR).

#### **Accidentes con Riesgo de Exposición a VIH.**

La infección VIH en el Personal Sanitario, como resultado, aparentemente, de un accidente percutáneo con jeringuillas contaminadas, o de un contacto mucomembranoso con sangre o secreciones contaminadas, ha supuesto un motivo de preocupación en el Ambito sanitario. El riesgo de infección VIH a partir de un accidente percutáneo es del 0,1-0,7% mientras que a través de una exposición mucomembranosa el riesgo no se haya suficientemente bien determinado, sin embargo, es claramente inferior al anterior. Es necesario, por tanto, la adopción de protocolos de diagnóstico serológico para el personal sanitario con exposición accidental a VIH.

#### **Protocolo de Actuación Después de una Exposición Accidental a Productos Biológicos Probablemente**

##### **Contaminados:**

Se podrá considerar como criterio de inclusión en protocolo de seguimiento en caso de accidentes percutáneos o mucomembranosos con:

- Fuente con infección VIH conocida.
- Fuente Conocida VIH(-): En caso de duda razonable de exposición reciente o por decisión individual del sanitario accidentado.
- Fuente Desconocida con Antecedentes de Prácticas de Riesgo.

-Fuente Desconocida sin Antecedentes de Prácticas de Riesgo: Decisión individual del sanitario accidentado.

El protocolo de seguimiento serológico del accidentado incluirá:

1º. Determinación de anticuerpos VIH en el momento del accidente, que en caso de ser positivos son indicadores de infección anterior no asociada a la exposición accidental.

2º. A las 2 y 6 semanas: Determinación de antígeno-p24, cuya positivización en un indicador de infección. Un resultado negativo no aporta ninguna información.

3º. A los 3 meses: Determinación de anticuerpos específicos, que en el caso de ser positivos son indicadores de infección.

4º. Si el resultado anterior fuera negativo deberá repetirse la determinación de anticuerpos a los 6 meses.

5º. A los 12 meses: Si la determinación de anticuerpos se mantiene negativa puede asegurarse que no ha habido transmisión de VIH a través de la exposición accidental. Existe controversia sobre la necesidad de una última determinación a los 18-24 meses de la exposición.

#### **En la Vigilancia de la Infección VIH**

En los estudios de seroprevalencia, el marcador de infección VIH deberá ser la detección de anticuerpos específicos VIH, cuya determinación se realizará de acuerdo con la prevalencia de infección VIH esperada en la población objeto de estudio (tabla 9).

## **11. CRITERIOS GENERALES PARA LA REALIZACION DE PRUEBAS VIH.**

La realización de pruebas VIH y las circunstancias que la rodean, hacen necesario establecer unos criterios generales para su utilización:

### **A) DEL CENTRO SANITARIO**

1. Consentimiento Informado. Cada Centro Sanitario debería disponer de un "Documento de Consentimiento Informado" que deberán firmarlo el médico y el paciente.

2. Confidencialidad. Los resultados deberán transmitirse de forma que no se vulnere el principio de confidencialidad.

3. Consejo y Educación Sanitaria antes y después de la indicación y realización de una prueba de diagnóstico de la infección por VIH.

4. Indicaciones Legales. En la actualidad, la realización de pruebas VIH es obligatoria en la donación de productos biológicos de



origen humano, así como también por indicación judicial en caso de violación.

#### B) DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

1. Confidencialidad. Los resultados deberán transmitirse de forma que no se vulnere el principio de confidencialidad.

2. Normas de Buena Práctica.

## 12. DISPOSICIONES LEGALES

### **Resolución de 6 de septiembre de 1985 de la Subsecretaría de Sanidad y Consumo**

por la que se declara obligatoria la prueba de detección de anticuerpos frente al virus asociado a la linfadenopatía/tipo III de virus linfotrópico T humano (LAV/HTLV-III) asociado al Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, por las industrias fraccionadoras de plasma y los fabricantes e importadores de hemoderivados. (BOE de 10 de Septiembre de 1985).

### **Resolución de 20 de Marzo de 1987 de la Subsecretaría de Sanidad y Consumo**

por la que se establece el procedimiento y la documentación necesaria para obtener autorización de los reactivos, para realizar pruebas de detección de marcadores de infección por virus humanos de la familia *Retroviridae*, entre ellos las pruebas de selección de anticuerpos frente a los virus asociados al Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) y la detección de los antígenos correspondientes a los mismos. (BOE de 28 de Marzo de 1987).

### **Resolución de 11 de Septiembre de 1989 de la Subsecretaría de Sanidad y Consumo**

por la que se regula la realización de procesos de investigación controlada de reactivos para la detección de marcadores de infección por virus humanos de la familia *Retroviridae*, entre ellos los asociados al Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). (BOE de 16 de Septiembre de 1989).

### **Orden Ministerial de 18 de Febrero de 1987 del Ministerio de Sanidad y Consumo**

sobre pruebas de detección de VIH en las donaciones de sangre. (BOE de 20 de Febrero de 1987).

### **Orden Ministerial de 24 de Junio de 1987 del Ministerio de Sanidad y Consumo**

sobre pruebas de detección anti-VIH en materia de obtención, extracción, trasplante, injerto o implantación de órganos humanos. (BOE de 14 de Julio de 1987).

### **Orden Ministerial de 15 de Junio 1988 del Ministerio de Sanitaria y Consumo**

la coordinación de actuaciones y control del VIH en las intervenciones médicas para la obtención y recepción de semen. (BOE de 24 de Junio de 1988).

**Real Decreto 478/1993 de 2 de Abril** por el que se regulan los medicamentos derivados de la sangre y plasma humano. (BOE de 7 de Mayo de 1993).

**Real Decreto 1854/1993 de 22 de Octubre**, por el que se determinan con carácter general los requisitos técnicos y las condiciones mínimas de la hemodonación y bancos de sangre. (BOE del 20 Noviembre de 1993).

## 13. BIBLIOGRAFIA SELECCIONADA

1.- Brun-Vezinet PC. Methodes diagnostiques de l'infection par VIH. En: Moutaignier L, Rozenbaum W, Gluckman JC, eds. SIDA et infection par VIH. Paris, Flammarion, 1989; 145-157.

2.- Campos JM. Laboratory methods for early detection of human immunodeficiency virus type 1 in newborns and infants. *Clin. Microbiol. Rev.* 1992; 5:238-247.

3.- Center for Disease Control. Interpretation and use of the Western blot assay for serodiagnosis of human immunodeficiency virus type I infections. *MMWR* 1989; 38:1-7

4.- Consortium for Retrovirus Serology Standardization. Serological diagnosis of human immunodeficiency virus infection by Western blot, *JAMA* 1988; 260:674-679.

5.- Hammer S, Crumpacker C, D'Aquila R, Jackson B, Lathey S, Livnat D and Reichelderfer P. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J.Clin.Microb.* 1993; 31:2557-2564.

6.- The European Collaborative Study. Mother to child transmission of HIV infection. *Lancet* 1988; 3:381-395.

7.- Fahey JL, Taylor J, Detels R, et al. The prognostic value of cellular and serologic markers in infection with human immunodeficiency virus type 1. *N. Engl. J. Med.* 1990; 322:166-172.

8.- Harry DJ, Jennings MB, Yee J, Carlson JR. Antigen detection for human immunodeficiency virus. *Clin. Microbiol. Rev.* 1989; 2:241-249.

9.- Hollinger PB, Bremer JW, Myers LE, et al. Standardization of Sensitive Human Immunodeficiency Virus Coculture Procedures and Establishment of a Multicenter Quality Assurance Program for the AIDS Clinical Trials Group. *J. Clin. Microbiol.* 1992; 30:1787-1794.

10.- Jackson JB, Balfour RH. Practical diagnostic testing for human immunodeficiency virus. *Clin. Microbiol. Rev.* 1988; 1:124-138.

11.- Jacobson MA, Bachetti P, Kolokathis A, et al. Surrogate markers for survival in patients with AIDS and AIDS related complex treated with zidovudine. *Br. Med. J.* 1991; 302:73-78.

12.- Kelinman S, Fitzpatrick L, Secord K et al. Follow-up testing and notification of anti-HIV Western blot atypical (indeterminant) donors. *Transfusion* 1988; 28:280-282.

13.- Levy JA. Pathogenesis of human immunodeficiency virus. *Microbiol. Rev.* 1993; 183- 289.

14.- Nishanian P, Huskins KR, Stehn S, et al. A simple method for improved assay demonstrates that HIV p24 antigen is present as immune complexes in most sera from HIV-infected individuals. *J. Infect. Dis.* 1990; 163:21-28.

15.- Soriano V, Gutierrez M, Tuset C, Martinez-Zapico R, Ortiz de Lejarazu R,

Aguilera A, Codina G, Gonzalez A, Ulloa F, Leal M, Fernandez JL y Grupo Español para el estudio del VIH-2. Estudio multicéntrico de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 2 (VIH-2) en España (1991). *Med.Clin.(Barc)* 1993; 100:531-535.

16.- Ortiz de Lejarazu R, Eiros JM, Rodriguez-Torres A. Diagnóstico de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Enf. Infec. y Microbiol. Clin.* 1991; 9: Spl.1 18-31.

17.- Phair JP, Wonsky S. Diagnosis of infection with the human immunodeficiency virus. *J. Infect. Dis.* 1989; 159:320-323.

18.- Pumarola T. El síndrome de la inmunodeficiencia humana. En: Prats G. ed. *Enfermedades Infecciosas (Monografías Medicine)*. IDEPSA sa, Barcelona 1992; 53-73.

19.- WHO. AIDS. Proposed WHO criteria for interpreting results from Western blot assays for HIV-1, HIV-2 and HTLV-II/HTLV-III. *Wkly. Epidem. Rec.* 1990; 65:281-283.

20.- WHO. Global Programme on AIDS. Recommendations for the selection and use of HIV antibody test. *Wkly. Epidem. Rec.* 1992; 67:145-152.

21.- Olajide O. HIV- 1 indeterminate Western Blot results: Implications for diagnosis and subject notification. *Clin.Microb.Newslet.* 1992; 14:121-126

TABLA 1  
CLASIFICACION DE LOS RETROVIRUS HUMANOS\*

FAMILIA RETROVIRIDAE	
GENERO	SUBGENERO/ESPECIE
ONCOVIRUS DE MAMIFEROS TIPO B	
ONCOVIRUS DE MAMIFEROS TIPO C	
RETROVIRUS TIPO D	
RETROVIRUS AVILARES TIPO C	
VIRUS ESPULMOSOS	
GRUPO HTLV-BLV	- Virus Linfotrófico de Células T humanas tipo 1 y 2 (HTLV1 y 2)
LENTIVIRUS	VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA DE PRIMATES - Virus de la Inmunodeficiencia Humana Tipos 1 y 2 (VIH1 y 2) - Virus de la Inmunodeficiencia de los Simios (VIS)

\*Classification and Nomenclature of Viruses. Fifth Report of the International Committee on Taxonomy Edited by Francki R.I.B., Fauquet C.M., Knudson D.L., Brown F. Arch. Virol. Sp1.2. 1991

TABLA 2  
**CLASIFICACION DE LA O.M.S. DE LA INFECCION POR VIH EN LOS ADULTOS\***

<p><b>ESTADIO 1</b>  Paciente asintomático  Adenopatías generalizadas persistentes  Nivel 1: asintomático, actividad normal</p> <p><b>ESTADIO 2</b>  Pérdida de peso de menos del 10% del peso habitual  Manifestaciones cutáneas mínimas (dermatitis seborreica, prurito, onicomycosis, úlceras orales, quielitis angular)  Herpes zoster durante los últimos 5 años  Infecciones respiratorias altas recurrentes  Y/o nivel 2: presencia de síntomas, actividad normal</p> <p><b>ESTADIO 3</b>  Pérdida de peso de más del 10% del peso habitual  Diarrea crónica no explicada de más de 1 mes de evolución  Fiebre prolongada (constante o intermitente) no explicada de más de 1 mes de evolución  Candidiasis oral vellosa  Tuberculosis pulmonar durante el último año  Infecciones bacterianas severas  Y/o nivel 3: paciente encamado menos del 50% del tiempo el último mes</p> <p><b>ESTADIO 4</b>  Pérdida de más del 10% del peso habitual más diarrea crónica (&gt;1 mes) no explicada o debilidad crónica y fiebre crónica (&gt;1 mes) no explicada  Neumonía por <i>P.carinii</i>  Toxoplasma cerebral  Criptosporidiosis con diarrea de más de 1 mes  Criptococosis extrapulmonar  Enfermedad por CMV con afectación de otros órganos aparte del hígado, bazo y ganglios linfáticos  Infección mucocutánea por virus del herpes simple de más de 1 mes de duración o visceral de cualquier duración  Leucoencefalopatía multifocal progresiva  Cualquier micosis endémica diseminada  Candidiasis esofágica, traqueal, bronquial o pulmonar  Infección diseminada por micobacterias atípicas  Sepsis por <i>Salmonella sp.</i> diferente a <i>S. Typhi</i>  Tuberculosis extrapulmonar  Linfoma  Sarcoma de kaposi  Encefalopatía por VIH  Y/o nivel 4: paciente encamado más del 50% del tiempo el último me</p>
---

\*.- Wky Epidem Rec 1990; 65:221-8

TABLA 2 BIS  
**CLASIFICACIÓN DE LA INFECCIÓN POR EL VIH**

CD4	CATEGORIA CLÍNICA		
≥ 500/MM <sup>3</sup>	A1	B1	C1
200-499 mm <sup>3</sup>	A2	B2	C2
<200/mm <sup>3</sup>	A3	B3	C3

En punteado categorías incluidas en la definición de SIDA.

TABLA 3  
**CARACTERISTICAS DE LAS PRUEBAS PARA DIAGNOSTICO Y CRIBADO DE LA INFECCION VIH**

TIPO DE TECNICA	CARACTERISTICAS							UTILIDAD
	ANTIGENO VIH1-VIH2	PRINCIPIO	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	LECTURA	SENCILLEZ DE EJECUCION	AUTORIZACION	
<b>EIA 1ªG</b>	Lisado viral	Indirecto	Buena. Capta todo tipo de Ac	+++	Objetiva	Media	Parcial	Diagnóstico y Cribado. Nº medio alto de muestras
<b>EIA 2ª G</b>	P.R./P.S.	Indirecto Competitivo	Elevada	+++	Objetiva	Media	Total o Parcial	
<b>EIA 3ª G</b>	P.R./P.S.-	Sandwich	La más elevada	++++	Objetiva	Media	Total o Parcial	
<b>AGLUTINACION</b>	Lisado viral. P.R./P.S.	Sandwich	Elevada	++	Subjetiva	Elevada	No	Pocas muestras. Poca dotación instrumental. Estudios de prevalencia
<b>EIA DE MEMBRANA</b>	P.R./P.S.	Tiras de Nitrocelulosa/ EIA indirecto	Poco valorada	Poco valorada	Subjetiva	Media	No	Diagnóstico diferenciación entre VIH1 y VIH2
<b>FLUORIMETRICA</b>	P.R./P.S.	Emisión de fluorescencia	No suficiente mente valorada	No suficiente mente valorada	Objetiva	Media	Total o Parcial	Posiblemente similar a EIA de 2ª y 3ª G

TABLA 4  
PRUEBAS DE CONFIRMACION SEROLOGICA DE LA INFECCION VIH

CARACTERISTICA	WB	IFI	RIPA
Lectura	Subjetiva*	Subjetiva	Subjetiva
Automatización	Parcial	No	No
Dificultad	Media	Baja	Alta
Sensibilidad	+++	++	++++
Especificidad	+++	++	++++
Rapidez	++	+++	+
<b>INDICACIONES</b>			
WB	Confirmación de todo tipo de sueros VIH 1 y VIH 2		
IFI	Confirmación en grupos de alta prevalencia VIH 1		
RIPA	Confirmación de referencia en nuestras especialmente problemáticas. Investigación		

TABLA 5  
BANDAS DE REACTIVIDAD FRENTE A VIH EN LA TECNICA DE WESTERN BLOT

NATURALEZA/ DESCRIPCION	VIH 1	VIH 2	ASPECTO DE LA BANDA REACTIVA <sup>a</sup>
gp precursora (env)	gp160	gp140	Ancha (3-4 mm). Ligeramente difusa
gp externa (env)	gp120	gp125 <sup>b</sup>	Ancha (3-4 mm). Ligeramente difusa
transcriptasa reversa (pol)	p66	p68	Moderadamente estrecha (1-2 mm). Nítidas. Entre la p66 y las p55 y 51 suelen existir bandas de antígeno de origen celular Estrechadas y nítidas
precursora (gag)	p55	p56	Estrechadas y nítidas
transcritasa reversa (pol)	p51	p53	Estrechadas y nítidas
gp transmembrana	gp41	gp36	Ancha (5-6 mm). Francamente difusa
endonucleasa	p32	p34 <sup>c</sup>	Ancha (3-4 mm). generalmente nítida
proteína del core(gag)	p24	p26	Ancha(4-5 mm). Nítida
matriz (gag)	p17	p16	Ancha (4-5 mm). Difusa <sup>c</sup>
matriz (gag)	p9		Ancha (3-4 mm). Francamente difusa <sup>c</sup>

a.- Cuando existe reactividad franca.

b.- Identificación como gp105 en algunos equipos diagnósticos.

c.- Pueden no aparecer en algunos equipos diagnósticos.

TABLA 6  
PAUTAS DE LECTURA

- |   |
|---|
| <ol style="list-style-type: none"> <li>1º.- Identificación de bandas específicas virales de reactividad.</li> <li>2º.- Valoración de la reactividad de cada banda</li> <li>3º.- Anotación de resultados individualizados por muestra.</li> <li>4º.- Aplicación del criterio de interpretación.</li> <li>5º.- Resultados e informe.</li> </ol> |
|---|

TABLA 7  
**CRITERIOS DE POSITIVIDAD PARA VIH POR LA TECNICA DE WB**

CRITERIO	REACTIVIDAD FRENTE AL MENOS
Organización Mundial de la Salud (OMS) Food and Drug Administration (FDA)	Dos glucoproteínas cualquiera de: gp160/gp120/gp41 p24 + p32 + (gp41 o gp120 o gp160)
Cruz Roja Americana Consortium for Retrovirus Serology and Standardization (CRSS)	Una proteína de cada gen estructural (env, gag y pol) p24 + (gp41 o gp120 o gp160) ó p32 +(gp41 o gp120 o gp160)
Association of State and Territorial Public Health Laboratory Directors/Center for Disease Control	p24 + (gp41 o gp120 o gp160) ó gp41 + (gp120 o gp160)

TABLA 8  
**CAUSAS DE REACTIVIDADES ANORMALES\* EN EL WB DE VIH1**

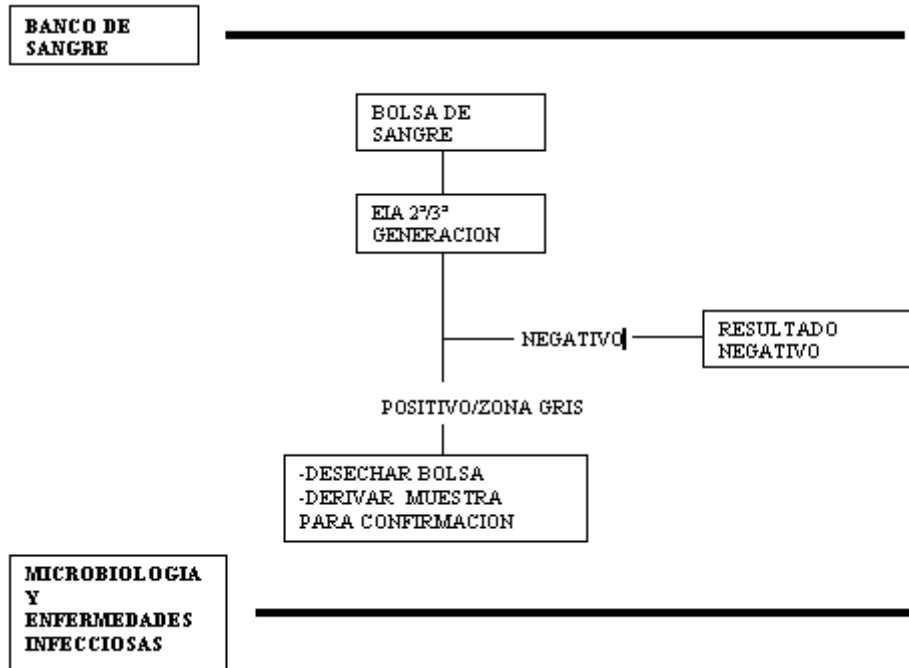
REACTIVIDAD FRENTE A	CAUSAS APUNTADAS Y COMUNICADAS
p17	- Reacción cruzada frente a antígenos de timo y placenta
p24	- Reacción precoz en casos de seroconversión - Reacción homóloga al antígeno <i>gag</i> de VIH 2 - Reacción cruzada con otros lentivirus - Reacción aberrante en múltiparas
p51-55	- Complejo HLA
gp41 estrecha	- Actina de la línea celular utilizada para cultivar el virus empleado como Ag - Reacción homóloga a gp36 de VIH 2 - Reacción homóloga a la proteína fusionante de paramyxovirus
gp120/160	- Multímetro de gp41 de VIH 1

\* En personas seronegativas a VIH 1

TABLA 9  
**RECOMENDACIONES DE LA O.M.S. PARA LA DETERMINACION DE ANTICUERPOS VIH**

OBJETIVO	PREVALENCIA	ESTRATEGIA
TRANSFUSION/ DONACION	TODAS LAS PREVALENCIAS	I
DIAGNOSTICO	CRS/SIDA	TODAS LAS PREVALENCIAS
	ASINTOMATICO	>10%
		<10%
SEROVIGILANCIA	>10%	I
	<10%	II

**FIGURA 1**  
**ESTRATEGIA DEL DESPISTAJE SEROLOGICO DE LA INFECCIÓN VIH EN LA DONACION DE SANGRE**



**TABLA 10**  
**CONDICIONES DE CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE MUESTRAS PARA METODOS DE CUANTIFICACIÓN DE CARGA VIRAL DE VIH**

PARAMETROS	AMPLICOR HIV-1 MONITOR	NASBA HIV-1 RNA QT	QUANTIPLEX HIV RNA
Anticoagulante	EDTA, citrado	EDTA, citrado, heparina	EDTA
Tiempo máximo de sangre sangre completa sin separar el plasma	6h	4h	4h.
Tiempo máximo del plasma a Tª (18-20° C)	24h	2-4h. sin tampón de lisis 24h. en tampón de lisis	30 min.
Tiempo máximo del plasma a 4-8° C (frigorífico)	7 días	No se recomienda sin tampón de lisis	30 min.
Tiempo máximo del plasma a -20°C (congelador)	7 días	7 días en tampón de lisis meses en tampón de lisis	72 h.
Tiempo máximo del plasma a -80°C (criocongelador)	7 días	meses en tampón de lisis	meses
Congelar/descongelar plasma almacenado	2 veces máximo	no se recomienda este proceso	no se recomienda este proceso
Transporte del plasma:			
temper.ambiente	no	no	
refrigerado (8-10°C)	sí	no	no
con acum. de frío congelado (-20°C)	sí	sí	no
en hielo seco		en tampón de lisis	sí

TABLA 11  
**CARACTERISTICAS TECNICAS DE LOS METODOS CUANTITATIVOS DE CARGA  
 VIRAL DE VIH**

PARAMETROS	AMPLICOR HIV-1 MONITOR	NASBA HIV-1 RNA QT	QUANTIPLEX HIV RNA v.2
Método aplicado	RT-PCR	Amplificación isotérmica del ARN	Amplificación de señal por hibridación molecular
Sensibilidad (copias/ml)	400-200	4.000 (con 100 µl) 400 (con 1 ml)	500-240
Rango dinámico del método (copias/ml)	400-750.000 (diluir si >750.000)	400-10 <sup>7</sup>	500-800.000 (diluir si >800.000)
Reproductividad* (Coeficiente de variación)			
intraensayo	3,5-28%		12-25%**
interensayo	9-45%	<0,3 log	17-39%
interlaboratorio	18-43%	<0,15 log	(consultar bibliografía)
interlote	(consultar bibliografía)	<0,3 log	(consultar bibliografía)
Detección de los subtipos de VIH-1 del grupo M	B	<0,15 log A-H	A-F
Detección de VIH-2	no/?	no/?	no
Detección del VIH-1 grupo O	no/?	no/?	no/?
Volumen de plasma	200 µl	100 µl (para 4.000 cp/ml) 1 ml (para 400 cp/ml)	2 ml
Método de detección	colorimétrica (peroxidasa) lectura a 450 nm cálculo manual	electroquimioluminiscencia (rutenio) lectura y cálculo controlado	quimioluminiscencia (fosfatasa) lectura y cálculo realizado
Cálculos de interpretación de los resultados	por programa informático (abierto)+	por programa informático (abierto)+	por programa informático (abierto)+
Control de calidad interno (estándar de RNA)	sí (uno por cada determinación)	sí (tres por cada determinación)	sí (cuatro por cada serie)
Controles del reactivo	sí (control positivo alto, positivo bajo, y negativo) no	sí (control positivo)	sí (control positivo alto, positivo bajo y negativo) no
Automatización		no	

(\*) suministrados por las empresas, para mayor información se recomienda revisar bibliografía seleccionada;(\*\*) en el método Quantiplex la muestra es analizada por duplicado;(\*\*\*) cerrado, significa que no es posible acceder al cálculo de los datos;(+ )abierto, significa que es accesible el cálculo de los datos;(?) significa que no hay datos definitivos.