

Diagnóstico de las infecciones por virus de la inmunodeficiencia humana

ALBERTO LIFSHITZ*,
ALFREDO QUIÑONEZ
GUADALUPE ROMERO

La epidemia de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) se ha extendido rápidamente en nuestro país y, cada vez con más frecuencia, el médico se enfrenta con la necesidad de precisar el diagnóstico. La identificación del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y de algunos productos de la respuesta humoral del hospedario, ha originado pruebas de laboratorio que permiten suponer el estado que guarda la infección. Sin embargo, se ha reincidido en una vieja tendencia de los médicos: la de asignar el valor de "patognomónico" a un hallazgo de laboratorio.

El amplio estudio de esta enfermedad, ha permitido establecer criterios de detección epidemiológica, aplicables también al diagnóstico de un caso particular.

Las pruebas serológicas ayudan a identificar la infección, los datos clínicos son los que fundamentan el diagnóstico de SIDA. Las pruebas de laboratorio pueden contribuir a identificar la etapa de la historia natural en la que se encuentra la infección,

pero el diagnóstico de la enfermedad sólo puede hacerse con la conjunción de los datos clínicos y los de laboratorio.

Desde 1984, se demostró que el hospedario infectado conserva intacta su capacidad de respuesta humoral al virus, lo que hace posible la detección serológica de anticuerpos dirigidos contra los antígenos virales.

El conocimiento de la secuencia de nucleótidos que tiene el virus ha permitido identificar los antígenos evocadores de esta respuesta¹ y desarrollar diversos métodos para reconocer y cuantificar los anticuerpos anti VIH en el suero;² algunas de estas pruebas carecen de suficiente sensibilidad y especificidad. En algunos casos esto puede tener consecuencias: los trastornos psicológicos originados por una prueba falsa positiva, y las implicaciones epidemiológicas de una falsa negativa. Es importante tener en mente la definición de la OMS: "toda persona seropositiva, debe ser considerada como infectada y por ende infectante"; de ahí pues, lo relevante del diagnóstico.

El VIH es un virus RNA que pertenece a la familia de los retrovirus y que posee, como todos los de esta familia, actividad de transcriptasa inversa. Su secuencia de nucleótidos incluye 9,749 pares y cuatro sitios de lectura característicos:¹ el primero, denominado *gag* codifica, entre otros, para la proteína p24, principal antígeno central del virus. Esta proteína

*Académico numerario. Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional.

Alfredo Quiñonez. Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional.

Guadalupe Romero. Centro Nacional de Transfusión Sanguínea. Secretaría de Salud.

tiene una masa molecular relativa (Mr) de 24,000 e induce formación de anticuerpos en una gran proporción de individuos expuestos al virus.³ La segunda región de lectura denominada *pol* codifica para la transcriptasa inversa y para una endonucleasa. La tercera región corresponde al *sor* que codifica para una proteína de la cubierta viral de Mr 21,000, que es una marca familiar de los retrovirus. La cuarta región corresponde al *env-lor* que codifica para una proteína con Mr de 120,000 a 160,000 llamada gP41, que también induce la formación de anticuerpos. Se cree que la porción responsable de los efectos citotóxicos e inmunosupresores es la *sor*.¹

La primera prueba utilizada para identificar la respuesta serológica a la infección por VIH, fue el ensayo inmunoenzimático (ELISA) contra el virus completo lisado.⁴ Esta prueba detecta anticuerpos dirigidos contra las proteínas p24 y gP41; es muy sensible para detectar casos de pre SIDA y de infección por VIH en individuos de alto riesgo, aún asintomáticos.⁵ Sin embargo, existen 5 a 8.7 por ciento de reacciones falsas positivas; por otro lado, en casos avanzados de SIDA o en aquellos que reciben glucocorticoides u otros fármacos inmunosupresores, resulta falsamente negativa, probablemente como consecuencia de la disminución de la respuesta inmunológica humoral.⁵⁻⁷

La prueba de ELISA de tamizaje es particularmente útil para el escrutinio en poblaciones de alto riesgo; se ha demostrado su valor en la exclusión de donadores sanguíneos y en la detección de infección en individuos asintomáticos.⁸⁻¹⁰ La recomendación de la Organización Mundial de la Salud en relación con ella, es que se trata de un método práctico y accesible para la detección a gran escala, pero todos los sueros reactivos para VIH por ELISA de tamizaje, deben someterse a una prueba confirmatoria.^{8,10,11} La proporción de falsas positivas es, pues, inaceptable para el diagnóstico de certeza de infección por VIH, en tanto que su disponibilidad y su relativo bajo costo la hacen muy útil en el rastreo. Se han identificado casos con prueba de ELISA para VIH falsa positiva, en pacientes con hepatitis A, hepatitis B, hepatitis no A-no B,² y podría presentarse en enfermedades que se asocian con aumento en la producción de anticuerpos, como el lupus eritematoso generalizado y la mononucleosis infecciosa, y en los pacientes que tienen antígenos de histocompatibilidad similares a los de las células humanas que se utilizan para el cultivo del virus.^{6,11}

Las pruebas llamadas confirmatorias incluyen a la inmunoprecipitación y la técnica electroforética conocida como Western Blot. Esta última se basa en el fraccionamiento electroforético del virus, y la transferencia de estas fracciones a tiras de nitrocelulosa, las cuales se hacen reaccionar con muestras de suero de los pacientes en estudio; se añade antisuero marcado con material radioactivo y se leen los re-

sultados con métodos radiográficos.¹² Se ha considerado que la positividad de esta prueba prácticamente asegura la existencia de una infección por VIH. Sin embargo, se han informado casos aislados tanto falsos negativos¹³ como falsos positivos.¹⁴ Los títulos altos de la prueba de ELISA de tamizaje, casi siempre correlacionan con la positividad en la prueba de Western Blot.

Los efectos de la infección por VIH sobre las células del sistema inmunológico, se estudian cuantificando la proporción de poblaciones de linfocitos ayudadores y supresores, identificados por medio de anticuerpos monoclonales como OKT4/OKT8. Esto se basa en el conocimiento de que los linfocitos ayudadores (OKT4), son las células primordialmente atacadas por el virus;¹⁵ la disminución de esta subpoblación de linfocitos hace que su relación con respecto a los linfocitos supresores se altere, originando una disminución del cociente. Esta alteración, no es específica de la enfermedad, ya que se puede encontrar en neoplasias, infecciones por otros virus, cirrosis biliar primaria, paludismo, lepra, y en pacientes que reciben medicación inmunosupresora.¹⁶⁻²⁰ Esta prueba es útil para verificar uno de los efectos del virus sobre el hospedario, pero en forma aislada no es suficiente para establecer ningún diagnóstico, ni para aventurar un pronóstico.²¹ La cuantificación del número de linfocitos ayudadores ha sido utilizada para clasificar estadios clínicos de la enfermedad,²² e ilustra el efecto inmunosupresor del virus, al igual que lo hacen la linfopenia absoluta, la hipergamaglobulinemia relativa, la disminución en la actividad de las células asesinas y la anergia cutánea.¹⁵ La cuantificación de las subpoblaciones de linfocitos no está al alcance de la mayor parte de los laboratorios de México, por lo que se suele utilizar como indicador grueso del efecto del virus sobre las células T, la cuenta total de linfocitos. Ciertamente puede existir disminución del número de células ayudadoras al mismo tiempo que una cuenta total de linfocitos normal; cuando el efecto del virus es grave entonces hay linfopenia. Esta prueba, accesible a cualquier laboratorio, ha sido significativamente diferente en pacientes con SIDA, que en donadores voluntarios, homosexuales sanos y síndrome asociado al SIDA.²¹

El aislamiento del VIH en tejidos, secreciones o suero sería la prueba más específica de infección. Sin embargo, con las técnicas disponibles sólo se aísla el virus en 60 por ciento de los casos comprobados de SIDA.¹⁰

Dentro de las perspectivas diagnósticas que ofrece la ingeniería genética, a través de recombinación de ADN, se encuentra un método confirmatorio con fundamento en la técnica de ELISA, que permite identificar la presencia de anticuerpos contra las proteínas p24 y gP41. Con ella, se evitan los errores subjetivos de interpretación de la prueba de Western Blot, ya que los resultados se obtienen en unidades de absorbencia;

la reactividad a cualquiera de las dos proteínas, o a ambas, se considera confirmatoria.

Cuando se esté imprimiendo este artículo, se contará en México con la posibilidad de detectar la presencia del antígeno viral en el suero utilizando éste y los anticuerpos contra p24 y gp41, para determinar el estadio clínico o, en su caso, la presencia o ausencia de enfermedad.

REFERENCIAS

1. RATNER, L. HASLTINE W., PATARCA, R. y col.: *Complete nucleotide sequence of the AIDS virus, HTLV III*. Nature 1985; 313: 277.
2. GROOPMAN, J. E., CHEN, F. W., HOPE, J. A., y col.: *Serological characterization of HTLV III infection in AIDS and related disorders*. J Infect Dis 1986; 153: 736.
3. DOWBENKO, D. J., BELL, J. R., BENTON, C. V., y col.: *Bacterial expression of the acquired immunodeficiency syndrome retrovirus p24 gag protein and its use as a diagnostic reagent*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1985, 82: 7748.
4. FISCHINGER, P. J., y BOLOGNESI, D. P.: *Prospects for diagnosis test, intervention and vaccine development in AIDS*. En: De Vita VI, Hellman, S., Rosenberg, S.A.: AIDS: Etiology, diagnosis, treatment, and prevention. Lipincot. USA. 1985. Pag 55-88.
5. SCHUPBACH, J., HALLER, O., y VOGT, M.: *Antibodies to HTLV III in Swiss patients with AIDS and preAIDS and in groups at risk for AIDS*. N. Engl. J. Med. 1985, 312: 265.
6. BUDIANKY, S.: *AIDS blood test trials inconclusive*. Nature 1985, 316: 96.
7. MARTINK, R., ALLAN, y J., ESSEX, M.: *Unusual serological profiles in AIDS*. Lancet 1986, 1: 1389.
8. WORLD HEALTH ORGANIZATION: *Colaborating control on AIDS*. AIDS Meeting of the WHO. MMWR. 1985; 65:772.
9. McDOUGAL, S.J.; Jaffe, H.W. y CABRIDILLA, C.D.: *Screening test for blood donors presumed to have transmitted the acquired immunodeficiency syndrome*. Blood. 1985;
10. CENTERS FOR DISEASE CONTROL: *Update: Public Health Service Workshop on Human T Lymphotropic virus type III Antibody Testing*. MMWR. 1985: 34:477.
11. MARTIN, W.P.; BURGER, D.R. CAOINETTE, S. y col.: *Importance of confirmatory test after strongly positive HTLV III screening test*. N. Eng. J. Med. 1986; 314:1577.
12. TOWBIN, H.; STACHUNT, y GORDON, J.: *Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheet: procedure and some applications*. Proc. Natl. Acad. Sci. 1979; 76:4350.
13. MARLINK, R.; ALLAN, J. y ESSEX, M.: *Unusual serological profiles in AIDS*. Lancet. 1986; 1:1389.
14. SAAG, M.S. BRITZ, J.: *Asymptomatic blood donor with false positive HTLV III western blot*. N. Engl. J. Med. 1986; 314:118.
15. KALISH, R.S. y SCHLOSSMAN, S.F.: *The T-4 Lymphocyte in AIDS*. N. Engl. J. Med. 1985; 313:112.
16. NEUMEPR, D.A. y HIRSCH, M.D.: *Inversion of T cell subsets before herpes zoster infection*. N. Engl. J. Med. 1986; 314:1456.
17. TROYE, B.; SJOHOLM, P.E.; PERLMAN, H. y col.: *Regulation of the immune response in Plasmodium Falciparum Malaria. I Nono specific protoferative responses in vitro and characterization of the limocytes*. Clin. Exp. Immunol. 1983; 53:335.
18. ARNEBORN, P. y BIBERRELA, G.: *T-Lymphocyte subpopulations in relation immunosuppression in measles and varicella*. Infect. Immun. 1983; 39:39.
19. FAHEY, J. y DETELS, R.: *Immune cell augmentation (with altered T-subset ratio) is common in healthy homosexual men*. N. Engl. J. Med. 1983; 308:842.
20. THOMAS, H.C.: *T-cell subsets in patients with acute and chronic HBV infection, primary biliary cirrhosis and alcohol liver disease*. Int. J. Immunopharmacol. 1981; 3:301.
21. GLUCKMAN, J.C.; CAVAILLE-COLL, M.; KLATZMAN, D. y col.: *Syndrome d'immunodeficit acquis et syndromes apparentes, analyse critique des examens biologiques de l'immunité a mediation cellulaire*. Presse Med. 1984; 13:1937.
22. REDFIELD, R.R.; WRIGHT, D.C. y TRAMONT, E.C.: *The Walter-Reed staging. Clasification for HTLV-III/lav infection*. N. Engl. J. Med. 1986; 314:131.
23. DI MARZO, F.; SARAGADHARAN, M.G.; RAHMAN, R.; MARKHAM, P.D.; POPOVX, M.; BRODNER, A.J. y GALLO, R.C.: *Monoclonal antibodies specific for P24, the major core protein of human T cell leukemia virus type III*. Proc. Natl. Acad. Sci. 1985; 82:5199.
24. DOWBENKO, D.J.; BELL, J.R.; BENTON, C.V. y col.: *Bacterial expression of the acquired immunodeficiency retrovirus P24 GAG protein and its use as a diagnostic reagent*. Proc. Natl. Acad. Sci. 1985; 82:7748.
25. STEIMER, K.S.; PUMA, J.P. y POWER, M.D.: *Differential antibody responses of individual infected with AIDS associated retroviruses surveyed using the viral core antigen P25 GAG expressed in bacteria*. Virology. 1986; 150:283.