

Ensayo

Virus de inmunodeficiencia humana y control de calidad en serología

Elizabeth Guzmán Vázquez*

Introducción: Se ha observado que a consecuencia de las transfusiones sanguíneas, se pueden transmitir diferentes enfermedades, lo cual en la actualidad, y a pesar de las medidas establecidas, sigue representando un problema de salud pública. Entre tales enfermedades resaltan el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el virus de la hepatitis B (VHB), el virus de la hepatitis C (VHC) y otros. Por esta razón, antes de transfundir los hemocomponentes sanguíneos se deben someter a un estudio previo de pruebas serológicas como lo indica la Norma Oficial Mexicana que rige a los bancos de sangre del país (NOM-003). Una vez siendo negativos estos estudios se puede hacer uso de los diferentes hemocomponentes.¹⁻³ En 1981, el Instituto Pasteur de Francia y el Centro de Control de Enfermedades (CDC) de Atlanta se dedican a investigar quién es el agente causal de la enfermedad. En 1983 fue declarado el SIDA como una enfermedad causada por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH).⁴

Estructura del virión: Es la partícula infectante del VIH, difiere en su estructura de los retrovirus previamente conocidos, mide unos 120 nm de diámetro y es aproximadamente esférico. Su genoma se basa físicamente en

dos copias de ARN monocatenario positivo (su secuencia es como la del ARN mensajero correspondiente) cubiertas por proteínas que forman la nucleocápside y encerradas de una cápside troncocónica, ésta rodeada a su vez por una envoltura de bicapa lipídica tomada de la membrana plasmática de la célula huésped, pero conteniendo proteínas propias. Dentro de la envoltura hay también enzimas propias del virus, incluidas una transcriptasa inversa, una integrasa (dentro de la cápside) y una proteasa. La primera es necesaria para la retrotranscripción, la síntesis de ADN tomando el ARN vírico como molde y la segunda para que el ADN fabricado se integre en el genoma humano convirtiéndose en provirus.

Genoma: El genoma del VIH-1, está integrado en el ADN del huésped, el *provirus*, mide 9.8 kpb (9,800 pares de *nucleótidos*). Ambos extremos aparecen flanqueados por secuencias repetitivas (LTR, por *long terminal repeats*), contiene 9 genes. Tres de ellos codifican para proteínas estructurales comunes a todos los retrovirus (los genes *gag*, *pol* y *env*), siendo los seis restantes genes no estructurales, que codifican para dos proteínas reguladoras (genes *tat* y *rev*) y cuatro para proteínas accesorias (genes *vpu*, *vpr*, *vif* y *nef*). El genoma del

* Coordinador del Sistema en Calidad, Banco de Sangre del Instituto Nacional de Cancerología, México, D.F.

VIH-2 es algo más largo (10.3 kpb) y le falta el gen *vpu*, presentando en su lugar otro llamado *vpx*.^{5,6}

Transmisión: Hasta el momento, sólo se han demostrado y documentado tres formas:

- **Sexual** (Acto sexual sin protección).
- **Parenteral** (por sangre, tatuaje, agujas contaminadas, etc.).
- **Vertical** (de madre a hijo).

Ciclo de replicación del VIH

Las células que el VIH invade son esencialmente los linfocitos T CD4+, pero también en menor medida los monocitos/macrófagos, las células dendríticas, las células de Langerhans y las células de microglia del cerebro. La replicación viral tiene pues lugar en tejidos diversos (de ganglios linfáticos, intestino, cerebro, timo). Los órganos linfoides, sobre todo los ganglios linfáticos, constituyen la principal sede de su replicación. El virus está presente en numerosos líquidos del organismo, en particular la sangre y las secreciones genitales.⁶

La búsqueda de anticuerpos (Ac) en muestras de suero es el método más comúnmente empleado para el diagnóstico de laboratorio de la infección por VIH. Las pruebas están basadas en distintos principios técnicos que han ido evolucionando con el tiempo, la experiencia adquirida y las recomendaciones nacionales e internacionales. A pesar de los avances logrados en el desarrollo de estas pruebas, se siguen produciendo casos de falsos positivos y, con menor frecuencia, falsos negativos. La importancia de estos errores es obvia, pudiendo provocar situaciones que generan ansiedad en los pacientes y desconcierto en los profesionales encargados de dicho diagnóstico.

Los laboratorios que realicen el diagnóstico de los Ac anti-VIH en suero deben observar

normas de bioseguridad. Todas las muestras deberán considerarse como potencialmente infecciosas. Esto supone trabajar con guantes en todos los procesos, pipeteado mecánico, utilización de contenedores de seguridad biológica para los desechos, así como la observación de aquellas normas y precauciones consideradas como buenas prácticas de laboratorio.

Los sueros se deben recoger en la forma habitual y evitar mantenerlos más de 24 horas (h) a temperatura ambiente. Para minimizar las contaminaciones microbianas que podrían alterar las muestras, se recomienda usar tubos estériles y no conservarlos a +4°C más allá de 72 h, sobre todo si las muestras van a ser utilizadas para detectar antígeno (Ag) p24 u otros componentes estructurales. Es importante considerar que la fase pre-examen es fundamental y que casi el 50% de errores en resultados finales se deben a esta fase; además hay que recordar que se requiere del consentimiento informado de la persona para realizar la prueba de diagnóstico de VIH. Estas condiciones son el primer paso para evitar errores en la ejecución de la fase examen, en la cual se debe considerar la validación de la técnica, así como el uso de controles internos y externos para tener parámetros de validación de la misma, así como en la fase post-examen la validación de los resultados obtenidos para concluir con la emisión y entrega de resultados.

¿Cuál es el rol del banco de sangre en la realización de las pruebas de detección de Ac anti-VIH?

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido cuáles son los objetivos de las pruebas de tamizaje (detección de Ac):

- Seguridad biológica (tamizaje de donadores de sangre, órganos, etc.)
- Diagnóstico de la infección
- Vigilancia seroepidemiológica
- Investigación

De acuerdo al giro que se tenga del laboratorio será la elección de la prueba diagnóstica a utilizar, entendiéndose por prueba diagnóstica la que se emplea de forma individualizada en el suero de una persona bajo los principios clínicos del consentimiento informado, sirviendo para detectar o descartar la infección por este virus. Cuando el uso es para seguridad biológica se denominan pruebas de detección de Ac. anti-VIH. Indistintamente, la prueba de detección de Ac es la primera de tamiz utilizada para el VIH.

Características de las pruebas: La sensibilidad y especificidad son los parámetros más importantes para valorar una prueba, y en la clínica es muy importante el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN). En la actualidad, estas pruebas han alcanzado una sensibilidad del 99%, considerando no tener el 100% por la seroconversión que ocurre en un lapso de 2 a 4 semanas en la mayoría de los casos y hasta varios meses en algunos, considerando el periodo de ventana, además de recordar que pueden haber individuos infectados que son seronegativos debido a causas orgánicas o defectos inmunes (falso negativo). Cuando aumentamos la sensibilidad en la mayoría de las pruebas estamos sacrificando la disminución de la especificidad (aumentando los falsos positivos).⁷

La evolución misma en la investigación nos lleva a evolucionar también en las técnicas teniendo en el mercado pruebas con la sensibilidad y especificidad casi del 99%, además

de ofrecer la detección de anticuerpos frente a tipos y subtipos del VIH que escapaban a los equipos de diagnóstico habituales.

Técnica	Antígeno
EIA 1 ^º generación	Lisado viral VIH-1
EIA 2 ^º generación	Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2
EIA/ELFA 3 ^º generación	Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2 y antígeno VIH-1 del grupo O (<i>outlayer</i> o marginal)
EIA/ELFA 4 ^º generación	Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2 y VIH-1 «O», y anticuerpos para detectar el antígeno p24

El principio técnico de estas pruebas en su gran mayoría son las distintas modalidades del enzoinmunoanálisis (EIA), sufriendo variaciones tecnológicas, siendo una de ellas la utilización de sustratos fluorescentes, quienes han dado lugar a las pruebas denominadas ELFA (enzyme-linked fluorescent assay), y lo último ha sido la detección simultánea del Ag p24 y de Acs acortando el periodo de ventana.⁶⁻⁸

La historia de la infección por VIH hace necesaria la confirmación de los resultados positivos obtenidos en las pruebas de detección de Ac, siendo inexcusable en el caso de utilidad como prueba diagnóstica. Existen diferentes pruebas confirmatorias entre las que se pueden mencionar las de inmunoelectrotransferencia o western blot (WB), inmunofluorescencia indirecta (IFI e inmunoblot con Ag recombinantes (LIA), siendo la más utilizada el WB, considerada el estándar de confirmación de la presencia de Ac anti-VIH.

El WB contiene los antígenos del propio VIH, algunas de sus proteínas precursoras y antígenos de origen celular. Existen sistemas que incorporan en un extremo diferenciado de la tira un péptido sintético específico del VIH-2 (gp36), que facilita la sospecha de la infección por el VIH-2 en aquellos WB indeterminados para el VIH-1. Las tiras de nitrocelulosa pueden contener proteínas de la célula huésped en la que se ha cultivado el virus. Frecuentemente se observan bandas de reactividad contra di-

chas proteínas, de ahí la necesidad de adiestramiento en la lectura e interpretación de las bandas de origen viral. Es muy conveniente adoptar una disciplina metodológica en la lectura e interpretación de bandas, que deberá ser uniforme y sistematizada para cada laboratorio. Así se debe considerar la identificación y valoración específica de las bandas virales de reactividad, la anotación individual de cada muestra, los criterios establecidos de positividad y la emisión del resultado e informe.⁹

Causas de falsos positivos en las pruebas de detección de Ac ANTI-VIH

Relacionados a suero	Relacionados a auto-Ac	Relacionados a otras causas
Congelaciones y descongelaciones repetidas de suero	Personas con anticuerpos anti-HLA-DR4, DQw3	Síndrome de Stevens-Johnson
Aspecto lipídico o turbio del suero	Enfermedades reumatoides	Suero postvacunados (gripe hepatitis B)
Contaminación microbiana	Lupus eritematoso, poliomiositis	Administración de inmunoglobulinas
Errores de extracción o identificación	Multitransfundidos, trasplante renal	Enfermedad hepática alcohólica grave
Conservación inadecuada	Múltiparas	Infecciones agudas por virus DNA

Causas de falsos negativos

Periodo ventana que precede a la aparición de anticuerpos.	Transplante de médula ósea.
Tratamiento de inmunosupresores prolongado.	Disfunciones de los linfocitos B.
Plasmaféresis, exanguinotransfusión.	Infecciones por tipos de VIH no detectables.
Respuestas anómalas ante la infección	Errores de identificación.
Falla técnica o en el reactivo diagnóstico.	Neoplasias.

Este tipo de causas genera alarma cuando el objetivo en la determinación de Ac anti-VIH es la seguridad biológica (bancos de sangre, donaciones de órganos), motivo por el cual en algunos países ya se están adoptando las técnicas de EIA/ELFA de 4ª generación, con el fin de reducir el periodo de ventana. Además pueden presentarse situaciones clínicas que obliguen al seguimiento serológico del paciente durante algún tiempo y/o a la utilización de otros marcadores serológicos de la infección por el VIH (antígeno p24, anticuerpos anti-p24), si no se dispone de técnicas sensibles de biología molecular (PCR). A pesar de la sensibilidad de estas pruebas, el diagnóstico definitivo deberá confirmarse en suero una vez se produzca la seroconversión; por eso es altamente recomendable la adopción de pruebas de 4ª generación.¹⁰

Referencias

1. Smith DM, Dodal RY. Transfusion transmitted infections. American Society of Clinical Pathology. Chicago USA 1991: 53-65.
2. Ennio CR, Tobi IS, Moss SG. Principles of transfusion Medicine. 2nd edition. Williams & Wilkins, USA Baltimore 1991.
3. Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993. Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. Secretaría de Salud. Diario Oficial. Julio 1994.
4. Gallo RC, Montagnier L. AIDS in 1988. Journal Scientific American 1988; 259; 24-32.
5. ABBOTT Científica, S.A. Retrovirus División Diagnósticos. 1993 1-95.
6. Clinical virology manual, Steven Specter, Third Edition, ASM PRESS. 2000. Cap. 9, 37.
7. Anónimo. World Health Organization. Global Programme on AIDS. Recommendations for the selection and use of HIV antibody test. Weekly Epidemiol Record 1992; 67: 145-52.
8. Hammer S, Crumpacker C, D'Aquila R, Jackson B, Lathey J, Livnat D, Reichelderfer P. Use of virological assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: recommendations of AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. J Clin Microb 1993; 31: 2557-64.
9. Anónimo. World Health Organization. AIDS. Proposed WHO criteria for interpreting results from western blot assays for HIV-1, HIV-2 and HTLV-I/HTLV-II. Weekly Epidemiol Record 1990; 65: 281-3.
10. Kenny DF, Garsia RJ, Gatenby PA, Basten A. Identification of biological false positives in anti-HIV antibody tests. AIDS 1987; 1: 63-4.

Correspondencia:

QFB Elizabeth Guzmán Vázquez
Instituto Nacional de Cancerología
Av. San Fernando #22
Col. Sección16 Tlalpan CP. 14080
Tel: 56 28 04 00 Ext.344
E-mail: lisguzvaz@yahoo.com.mx