

Tras establecer a finales del 1983 que el VIH (virus de inmunodeficiencia humana) es el agente causal del SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida) y los síndromes relacionados, en 1984 se desarrollaron pruebas de tamizaje sensibles a la infección por VIH. Para marzo de 1985 los donadores de sangre en los Estados Unidos eran rutinariamente tamizados en busca de los anticuerpos para VIH por medio del ensayo de ELISA (por sus siglas en inglés, enzyme-linked immunosorbent assay).

Con el tiempo se desarrollaron mejores técnicas de identificación para VIH que superan al antiguo estudio de ELISA, sobre todo en especificidad. A mediados de los 90, se incurrió exitosamente en ensayos mucho más sensibles y específicos para monitorear niveles de viremia en plasma basados en los principios y haciendo uso de las herramientas del diagnóstico molecular, así como de la citometría de flujo para la identificación de subpoblaciones linfocitarias. Con estas armas es hoy posible monitorear la progresión de la enfermedad causada por el VIH de manera más cercana.

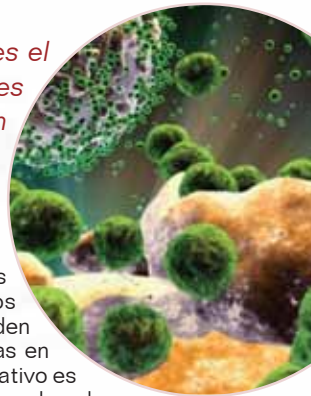
Hasta el día de hoy se acepta que el diagnóstico de la infección por VIH depende de la demostración de anticuerpos para VIH y/o la detección directa del VIH o uno de sus componentes (Las manifestaciones clínicas de la infección por VIH son, en todo caso sugerentes, sin embargo no son indicativas ya que son inespecíficas). Es vital en todo momento estar conciente que los anticuerpos contra el VIH generalmente aparecen en la circulación de 2 a 12 semanas después de la infección (El tiempo se encuentra en función de múltiples factores, por lo que hay que ser muy cuidadoso en este punto).

Las pruebas habituales para la detección de anticuerpos contra el VIH varían en sensibilidad y especificidad, desde un ELISA que ha ido cayendo en desuso, hasta una inmunofluorescencia, quimioluminiscencia o electroquimioluminiscencia. Estas pruebas se deben reportar como reactivas en caso de detectarse anticuerpos, pues no son positivas ya que esto sería equivalente a asegurar una infección por VIH. Debido a que todos estos exámenes poseen una alta sensibilidad y una especificidad que varía de media a media-alta, no es posible establecer semejante relación con total seguridad. A un par de resultados reactivos en estudios de tamizaje les deberá seguir una prueba confirmatoria cuya característica principal es que debe poseer una alta especificidad. La prueba confirmatoria más comúnmente utilizada es el Western Blot. Este ensayo aprovecha que el VIH posee antígenos de diferente y bien caracterizado peso molecular que generan la producción de anticuerpos específicos.

Estos antígenos pueden ser separados en base a su peso molecular y los anticuerpos de cada componente pueden ser detectados como bandas discretas en el Western Blot. Un Western Blot negativo es aquel en el que no se presentan bandas correspondientes a los pesos moleculares de productos génicos de VIH. En un paciente con un ELISA positivo o indeterminado y un Western Blot negativo uno puede concluir con certeza que la reactividad era un falso positivo.

La positividad o negatividad de un Western Blot se encuentra dada por una serie de criterios que no siempre son concluyentes. Por definición, los patrones de reactividad del Western Blot que no caen en las categorías positivo o negativo son considerados "indeterminados". Hay dos explicaciones posibles para un resultado de Western Blot indeterminado. La explicación más probable en un individuo de bajo riesgo es que el mismo posea anticuerpos que reaccionen cruzado con una de las proteínas del VIH. Los patrones más comunes de reactividad cruzada son anticuerpos que reaccionan con p24 y/o p55. La explicación menos probable en este marco, es que el individuo se encuentre infectado por VIH y se halle en el proceso de montar una respuesta clásica de anticuerpos. En cualquier instancia, el Western Blot deberá ser repetido tres meses después para determinar si el patrón indeterminado era una infección en evolución.

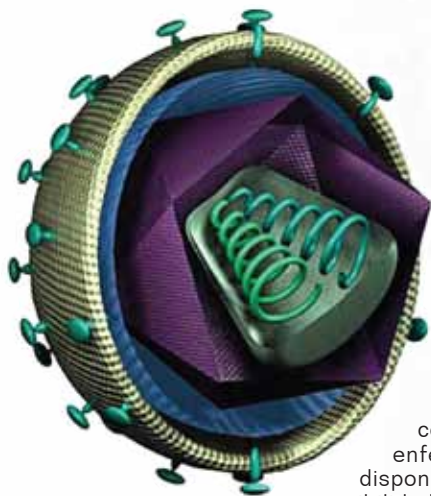
El Western Blot es una prueba confirmatoria de buen desempeño, sin embargo es una prueba de tamizaje muy pobre. Entre los individuos con una prueba negativa de PCR (por sus siglas en inglés, Polymerase Chain Reaction) para VIH, del 20 al 30% pueden mostrar una o más bandas en el Western Blot, estas bandas son usualmente falsas y representan reactividad cruzada, su presencia crea una situación en donde otras modalidades diagnósticas (tales como PCR de ADN [ácido desoxirribonucleico] o PCR de ARN [ácido ribonucleico]) deben ser empleados para asegurar que la banda no indica una infección temprana de VIH.



Apoyo del laboratorio en el diagnóstico y manejo del paciente con SIDA



Hasta ahora se ha evaluado una selección de metodologías serológicas que dependen de la respuesta del huésped (variabilidad biológica del huésped) y de la variabilidad antigénica del virus (variabilidad biológica del virus). Estas variables afectan múltiples manifestaciones como lo son el tiempo de respuesta del huésped, la virulencia del VIH y la especificidad de las reacciones de detección antígeno-anticuerpo, entre otras. Asimismo, el diagnóstico inicial no es en sí el objetivo último ya que desafortunadamente para el paciente infectado por el VIH, el SIDA es inminente y crónico. De ahora en adelante será necesario llevar un monitoreo y un control estricto sobre el virus y las respuestas del huésped para procurarle la mejor calidad y expectativas de vida



De las opciones comerciales disponibles, dos son destacables: la carga viral y el conteo de subpoblaciones linfocitarias (principalmente los linfocitos CD4+ y CD8+) (Ambos linfocitos también expresan el marcador CD3). La carga viral es un estudio en donde se cuantifica la actividad proviral (virus integrado al genoma de su huésped) en la forma de ARN proviral, lo cual es directamente correlacionable con la progresión de la enfermedad. Las pruebas comerciales disponibles de detección de ARN poseen una sensibilidad de 40 a 50 copias de ARN de VIH por microlitro de plasma. Por lo que estas pruebas son extremadamente sensibles. Una consecuencia frecuente del alto grado de sensibilidad es una pequeña pérdida en especificidad y los resultados falsos positivos han sido reportados en cada una de estas técnicas. Cabe mencionar que hoy por hoy la prueba utilizada en los Laboratorios Lister posee una especificidad mayor al 99.85%.

La carga viral no es el único estudio de diagnóstico molecular que se puede llevar a cabo en el laboratorio, también es posible hacer una primera detección solicitando una reacción de PCR para VIH. En pacientes con un estudio de tamizaje positivo o indeterminado y un Western Blot indeterminado y, en pacientes en los cuales las pruebas serológicas no son confiables (tales como los pacientes con hipogammaglobulinemia o enfermedad avanzada de VIH), una detección de VIH por PCR es una herramienta valiosa para realizar el diagnóstico de infección.

El VIH se ha clasificado primero que nada en dos grandes grupos: el VIH-1 y el VIH-2. El VIH-1 es, por mucho, el más difundido a nivel mundial, de hecho, el VIH-2 puede decirse que prácticamente sólo se encuentra en el oeste de África (aunque poco a poco ha ido extendiéndose a otros sitios del orbe). Existen tres grupos para el VIH-1: grupo M (mayor), O (alejado) y N. El grupo más importante, el grupo M, consta de once clades, de la A a la K y de cuatro formas recombinantes mayores. En México la clade predominante es B (VIH-1, grupo M, clade B). Es importante clasificar correctamente al virus porque las variaciones genéticas utilizadas para clasificarlos tienen repercusiones en la severidad de la enfermedad, virulencia de la cepa, respuesta a tratamientos o propensión al desarrollo de diversos cuadros clínicos. Muchos estudios ahora confirman que la incidencia del VIH-1 de subtipos no B está incrementando en todo el mundo. Esto hace que hoy día sea más crítico que los laboratorios y los médicos asesoren a sus pacientes con las cargas virales de VIH-1 independientemente de la diversidad genética del VIH-1. Una vez más, el estudio que se lleva a cabo en los Laboratorios Lister evalúa de manera certera los subtipos de VIH-1 A-G, y de esta manera permite el asesoramiento confiable de la prognosis de la enfermedad y de la respuesta del paciente a regímenes de tratamiento antiretroviral.

Las medidas en los cambios de los niveles de ARN de VIH sobre el tiempo son útiles al delinear la relación entre los niveles de virus y los ritmos de progresión de la enfermedad, los ritmos de reactivación viral, la relación entre la activación del sistema inmune y la replicación viral y el tiempo a desarrollar la resistencia a drogas. Los conteos de ARN de VIH se encuentran grandemente influenciados por el estado de

activación del sistema inmune y pueden fluctuar considerablemente en el establecimiento de infecciones secundarias o inmunización. Por estas razones, no se recomienda tomar decisiones basadas en los niveles de ARN de VIH con posesión de un valor aislado. Se recomienda que las medidas de los niveles de ARN de VIH en plasma se hagan en el momento del diagnóstico del VIH y cada 3 a 4 meses de ahí en adelante en el paciente no tratado.

En general, la mayoría de las guías sugieren que la terapia debe ser iniciada en pacientes con más de 20.000 copias de ARN de VIH por mililitro. Seguida de la iniciación de la terapia o de cualquier cambio en la misma, los niveles de ARN de VIH deberán ser monitoreados aproximadamente cada 4 semanas hasta que la efectividad del régimen terapéutico sea determinada por el desarrollo de un nuevo estado basal estable de ARN de VIH. En la mayoría de las instancias de una terapia efectiva esto será menor a 50 copias por mililitro. Este nivel de virus es generalmente logrado después de 6 meses de la iniciación de un tratamiento efectivo. Durante la terapia, los niveles de ARN de VIH deberán ser monitoreados cada 3 a 4 meses para evaluar la efectividad continua de la terapia. La pandemia actual de SIDA se plantea para el clínico como un reto pues debe manejar e integrar una serie de datos e información tanto de laboratorio como farmacológicos en apariencia abrumadores. Afortunadamente la evaluación del estado del sistema inmunológico del paciente puede serrealizada con la ayuda de un citómetro de flujo.



La relación cercana entre las manifestaciones clínicas de la infección por VIH y las cuentas celulares de linfocitos T CD4+ ha hecho de las últimas una rutina de la evaluación de los individuos infectados por VIH. La determinación de cuentas celulares T CD4+ y la medida de los niveles de ARN de VIH en suero o plasma provee una gama de herramientas poderosa para determinar la prognosis y el monitoreo de la respuesta a la terapia. Mientras que la cuenta de células T CD4+ provee información del estado inmunológico actual del paciente, los niveles de ARN de VIH predicen lo que sucederá en la cuenta de células T CD4+ en el futuro cercano y, por lo tanto provee una pieza importante de información pronostica. La cuenta de células T CD4+ es la prueba de laboratorio

inmediato de competencia inmunológica del paciente con infección por VIH. Esta medida, que es el producto del porcentaje de células T CD4+ (determinado por citometría de flujo) y la cuenta linfocitaria total (determinada por un conteo sanguíneo de células blancas y el conteo diferencial) se ha mostrado que se correlaciona muy bien con los niveles de competencia inmunológica. Los pacientes con infección por VIH deben realizarse conteos de células T CD4+ en el momento del diagnóstico y después cada 3 a 6 meses. Se deberá hacer medidas más frecuentes en pacientes en quienes se observe una declinación en sus cuentas. De acuerdo con la mayoría de las guías, una cuenta de células T CD4+ menor de 500/ L es una indicación para la consideración del inicio de terapia antiretroviral; una declinación de la cuenta de células T CD4+ de más de un 25% es una indicación para considerar un cambio en la terapia. Una vez que el conteo de células T CD4+ es menor a 200/ L, los pacientes deberán ser colocados en un régimen de profilaxis para *P. carinii*, y una vez que la cuenta sea menor a 50/ L, la profilaxis primaria para infección por micobacterias del complejo avium (MAC) es indicada. Como con cualquier otra medida de laboratorio, en ocasiones es deseable obtener dos determinaciones antes de realizar cualquier cambio significativo en el manejo del paciente basado tan solo en el conteo de células T CD4+ (En especial porque esta determinación puede verse afectada por factores técnicos, fisiológicos o patológicos).

Los linfocitos T citolíticos (CTL) lisan las células que producen antígenos extraños, como las células infectadas por virus y otros microorganismos intracelulares. También participan en la inmunidad celular frente a células tumorales y aloinjertos. Por último, promueven la activación de los macrófagos por medio de citocinas secretadas. Estas células CTL expresan el marcador linfocitario CD8. El marcador CD3 es un marcador común para linfocitos citolíticos (CD8+, CD3+, CD4-) y para linfocitos T colaboradores (CD8-, CD3+, CD4+). Esto ha permitido a los inmunólogos identificar las células que participan en las diferentes respuestas inmunitarias, aislarlas y analizar individualmente su especificidad, patrones de respuesta y funciones efectoras. Estos marcadores también son utilizados para definir alteraciones específicas en ciertas subpoblaciones de linfocitos que actúan en varias enfermedades. Este último es el caso del SIDA. La cuenta de linfocitos T CD8+ se incrementa al inicio de la infección de SIDA y continúa incrementándose conforme progresa la enfermedad. De manera general es posible decir que la población de linfocitos que expresa el marcador CD4 es colaboradora o inductora, la que expresa el marcador CD8 es citolítica y ambas expresan el marcador CD3.

El SIDA es la enfermedad de nuestro tiempo, producto de múltiples factores entre los que destacan logros mal manejados como la globalización (de información, de tecnologías, de transporte, etcétera -con todo lo que esto implica) y algunos triunfos ideológicos como las tan peleadas libertad e igualdad. Es una enfermedad para la cual resulta infructuoso buscar culpables, todos los infectados con el VIH son víctimas. Por si una sentencia de muerte fuera poco, sabemos que psicológica y socialmente (en la familia y en su comunidad, incluso en ocasiones con el personal sanitario) el paciente de SIDA sufre de una marca que lo puede deprimir, hacer que albergue sentimientos de culpa destructivos, etcétera; un estigma que lo segrega, muchas veces aún en la cercanía familiar.

Su condición (y lo que es peor, su persona) habitualmente se vuelve el tabú del que no es recomendable hablar para evitar juicios o las consecuencias de los prejuicios de los demás.

Los profesionales de la salud tenemos ante nosotros el reto de procurarles a estos seres humanos la mejor calidad de vida y prolongar, en la medida de lo posible, la misma (Esto incluye la interconsulta con otros especialistas como lo son los mismos psicólogos). Ya hemos superado la etapa en la que procurar la supervivencia era la meta, hoy es una realidad que un paciente bien tratado vive más y mejor y, lo que es más importante, puede tener a su alcance muchos de los estímulos que normalmente nos hacen felices.

Nota: Hoy se reconoce y exige que todo estudio de VIH debe ser realizado en forma voluntaria, explícitamente autorizado por el paciente y con pleno respeto hacia su confidencialidad.

Bibliografía.

Watson J. D., Witkowski J., Gilman M., Zoller M., "Recombinant DNA". Scientific American Books, Second Edition, 1992, New York, U.S.A.

Abbas A. K., Lichtman A. H., Pober J. S., "Inmunología Celular y Molecular". Interamericana-Mc. Graw Hill, Tercera Edición, 1999, Madrid, España.

Wagner E. K., Hewlett M. J., "Basic Virology". Blackwell Science, First Edition, 1999, U.S.A.

Roitt I., Brostoff J., Male D., "Inmunología". Harcourt-Mosby, Quinta Edición, 2000, Madrid, España.

Gatell J. M., Clotet B., Podzamczar D., Miró J. M., Mallolas J., "Guía Práctica del SIDA". Editorial Masson, Sexta Edición, 2000, Barcelona, España.

Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-010-SSA2-1993, Para la prevención y control de la infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

