



# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Revisión

## Diagnóstico microbiológico de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana



Marta Álvarez Estévez<sup>a</sup>, Gabriel Reina González<sup>b</sup>, Antonio Aguilera Guirao<sup>c</sup>, Carmen Rodríguez Martín<sup>d</sup> y Federico García García<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Microbiología, Hospital Universitario San Cecilio, Granada, España

<sup>b</sup> Servicio de Microbiología, Clínica Universitaria de Navarra, Pamplona, España

<sup>c</sup> Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Universitario Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

<sup>d</sup> Centro Sanitario Sandoval, Madrid, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 30 de junio de 2014

Aceptado el 2 de julio de 2014

#### Palabras clave:

Virus de la inmunodeficiencia humana

Diagnóstico serológico

Carga viral plasmática

Resistencias a antirretrovirales

### R E S U M E N

El presente documento intenta reflejar y actualizar las principales tareas y cometidos que un laboratorio de microbiología debería tener para realizar el diagnóstico y seguimiento de los pacientes infectados por el VIH. Se distribuye en 3 apartados: en el primero se trata el diagnóstico serológico, que en los últimos años ha sufrido una importante renovación, y en el que hemos procurado adecuarnos a las demandas diagnósticas y epidemiológicas actuales, para que desde los laboratorios podamos contribuir a no perder oportunidades de diagnóstico. En una segunda parte se describe la determinación de la carga viral plasmática, y se hace una exhaustiva revisión de los avances tecnológicos y de las recomendaciones actuales, además de abordar un tema de enorme interés clínico, la significación de la viremia persistente de bajo grado. Finalmente, en el tercer apartado se desarrolla el tema de las resistencias a los fármacos antirretrovirales tanto en pacientes *naïve* como en fracaso, analizando la transcriptasa reversa, la proteasa y la integrasa, e incorporando como novedades las técnicas de determinación del tropismo viral, y el papel de las variantes minoritarias.

© 2014 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Todos los derechos reservados.

### Microbiological diagnosis of human immunodeficiency virus infection

#### A B S T R A C T

This document attempts to update the main tasks and roles of the Clinical Microbiology laboratory in HIV diagnosis and monitoring. The document is divided into three parts. The first deals with HIV diagnosis and how serological testing has changed in the last few years, aiming to improve diagnosis and to minimize missed opportunities for diagnosis. Technological improvements for HIV Viral Load are shown in the second part of the document, which also includes a detailed description of the clinical significance of low-level and very low-level viremia. Finally, the third part of the document deals with resistance to antiretroviral drugs, incorporating clinical indications for integrase and tropism testing, as well as the latest knowledge on minority variants.

© 2014 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. All rights reserved.

#### Keywords:

Human immunodeficiency virus

Serological diagnosis

Plasma viral load

Resistance to antiretrovirals

### Introducción

En esta década se han cumplido los 30 años de la infección VIH-sida. Durante este tiempo los laboratorios de microbiología han tenido que hacer un gran esfuerzo para adaptarse a la demanda

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: fegarcia@ugr.es (F. García García).

clínica que requieren estos pacientes. Durante los años 80 y 90 se tuvieron que desarrollar e implantar nuevas técnicas para el diagnóstico microbiológico de las infecciones oportunistas, en la segunda mitad de los 90 se generalizó el uso de las determinaciones de la carga vírica plasmática, lo que supuso el amanecer de la microbiología molecular, y en la primera década de este siglo se implementaron las técnicas de secuenciación para la detección y análisis de las mutaciones que confieren resistencias a los fármacos antirretrovirales. El presente artículo resume la tercera edición del procedimiento del *Diagnóstico microbiológico de la infección por el VIH* y en él se han intentado reflejar y actualizar las principales tareas y cometidos que un laboratorio de microbiología debería tener para realizar la atención integral al paciente infectado por el VIH. Se han respetado algunos contenidos y el objetivo de la segunda edición, orientar de forma conceptual y práctica la metodología empleada en el diagnóstico y seguimiento de la infección por el VIH. Se mantiene su estructura en los 3 apartados anteriores: diagnóstico serológico, determinación de la carga viral plasmática (CVP) y análisis de las resistencias a los fármacos antirretrovirales. Se ha incorporado un cuadro resumen con las «ideas clave» en cada uno de los capítulos, que esperamos sean de utilidad para todos los lectores del procedimiento.

## Diagnóstico serológico

El diagnóstico serológico en la presente actualización ha sufrido una importante renovación, intentando adecuarnos a las demandas diagnósticas y epidemiológicas actuales, y a contribuir a disminuir las oportunidades perdidas en cuanto al diagnóstico. El diagnóstico de la infección por el VIH se realiza mediante la detección de anticuerpos específicos en el suero o plasma del paciente. La elección de la técnica apropiada y del algoritmo diagnóstico dependerán del objetivo a alcanzar.

### Pruebas de cribado

El diagnóstico de infección por el VIH se hace generalmente en función de la serología, es decir, la detección de anticuerpos VIH-1/2 o la detección simultánea de anticuerpos VIH-1/2 y del antígeno p24 del VIH-1. Los ensayos serológicos para esta determinación pueden ser de cribado (*screening*) o de confirmación. Los ensayos de cribado identifican las muestras reactivas y deben tener una sensibilidad superior, y los ensayos de confirmación permiten conocer si las muestras reactivas con un ensayo de cribado contienen anticuerpos específicos para el VIH-1/2 y deben tener una especificidad superior.

Como prueba de *screening* el inmunoanálisis es el más coste-efectivo para llevar a cabo en un entorno de laboratorio con un volumen importante de muestras. Debido a la diversificación de la terminología en cuanto a la denominación de los inmunoensayos (EIA, CLIA, CMIA, QIA, etc.) los englobamos a todos con dicho término. Los inmunoensayos han ido evolucionando, y se clasifican en función de la base antigénica utilizada. Los de primera generación, que incorporaban lisado viral como antígeno, eran relativamente sensibles, pero carecían de especificidad, y se detectaban los anticuerpos 40 días después de la infección (fig. 1). Posteriormente, se desarrollaron ensayos de segunda generación que utilizaban como antígenos proteínas recombinantes y péptidos sintéticos que detectaban anticuerpos frente a los subtipos del grupo M, los grupos N y O, y también frente al VIH-2. Se acortó el tiempo de detección de anticuerpos a 33-35 días. Los inmunoensayos de tercera generación o tipo sándwich detectan anticuerpos de clase IgG e IgM acortando el tiempo de detección de 20 a 25 días. Por último, se han introducido las técnicas de cuarta generación que detectan simultáneamente anticuerpos y antígeno p24, reduciéndose

el tiempo de detección a 13-15 días. Con estas técnicas de cuarta generación la sensibilidad aumenta y se reduce la posibilidad de un falso negativo, aunque hay que tener en cuenta que esta circunstancia se puede dar, sobre todo, en la primera fase de la infección hasta que se produce la seroconversión (periodo ventana), y en menor medida en estadios finales de la infección, en pacientes con tratamiento inmunosupresor, trasplantados de médula ósea y en personas con alteraciones de linfocitos B. Se está evaluando un nuevo inmunoanálisis de cuarta generación que permite la detección e identificación de forma individual de los anticuerpos del VIH-1, anticuerpos del VIH-2 y del antígeno p24 del VIH-1<sup>1</sup>.

### Infección aguda

Es la primera etapa de la infección por el VIH, inmediatamente después de esta y antes del desarrollo de los anticuerpos. El 50% de las personas pueden desarrollar manifestaciones clínicas sugestivas de un síndrome retroviral agudo. En esta fase existen niveles elevados del virus y por tanto los pacientes presentan altas tasas de transmisión, por lo que el cribado en esta fase es especialmente importante para prevenir la transmisión. Al comienzo de la infección hay un aumento de la CVP que coincide con un pico en el nivel de antígeno p24. Más tarde, la disminución de la carga viral y los niveles de antígeno p24 coinciden con el incremento de los niveles de anticuerpos. Las pruebas convencionales del VIH a veces no detectan la infección aguda, por lo que puede ser diagnosticada mediante la detección del ARN-VIH en una muestra con un inmunoensayo negativo, o cuando se detecta un inmunoensayo positivo con un test confirmatorio negativo o indeterminado y una prueba virológica positiva (ARN-VIH o antígeno p24)<sup>2</sup>.

### Pruebas rápidas de diagnóstico

Son técnicas de rápida ejecución, no necesitan aparataje, su lectura es visual y subjetiva y generan un resultado en menos de 30 min; cuando este es reactivo se considera preliminar y se debe enviar una muestra del paciente al laboratorio de microbiología para confirmar con técnicas suplementarias. Debido a su simplicidad, coste y rápida respuesta, la OMS recomienda el uso de pruebas rápidas en entornos de recursos limitados, más que para el diagnóstico en un laboratorio convencional. Las pruebas rápidas se pueden realizar a partir de fluido oral, sangre total recogida mediante punción digital, suero y plasma. En los 2 primeros casos disponen de licencia CLIA, lo que las habilita para su uso en entornos fuera del laboratorio. Estas técnicas emplean antígenos similares a los inmunoensayos, detectando la presencia de anticuerpos VIH-1, VIH-2 y/o el antígeno p24 del VIH-1. Pueden ser de inmunoaderencia inmunocromatográfica (flujo lateral) y de inmunoaderencia por inmunofiltración o inmunocentración. Estas pruebas tienen una alta sensibilidad y especificidad, pero inferior a la de los inmunoensayos utilizados actualmente en el diagnóstico convencional<sup>3</sup>, incluso las de cuarta generación, que detectan anticuerpos y antígeno p24<sup>4</sup>. Por tanto, las pruebas rápidas no son la mejor herramienta para identificar las infecciones agudas, donde aún no se han desarrollado anticuerpos específicos del VIH (falsos negativos)<sup>5</sup>.

### Detección de antígeno p24 del virus de la inmunodeficiencia humana

El antígeno p24 es una proteína del núcleo viral que aparece en sangre después de la infección por el VIH, coincidiendo con el aumento del nivel del ARN viral. El ensayo de detección de Ag p24 detecta un nivel de antígeno que corresponde aproximadamente a un nivel de ARN del VIH de 30.000 a 50.000 copias/ml y se convierte en positivo, aproximadamente, de 5 a 7 días después

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3400708>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3400708>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)