

## La detección del VIH

# Técnicas de detección del VIH

## Pruebas serológicas de cribado y confirmación

La investigación de anticuerpos específicos frente al VIH-1 es la metodología más ampliamente utilizada para detectar a las personas infectadas por este virus. Aunque la muestra que se puede analizar puede ser de diferente naturaleza, en la actualidad lo más frecuente es el empleo del suero o del plasma obtenido de una extracción sanguínea del sujeto; pero también pueden emplearse diferentes líquidos orgánicos, especialmente orina y saliva, con los que también pueden realizarse pruebas confirmatorias, y que pueden ser útiles en cribados de amplios grupos poblacionales, o en los sujetos que no desean someterse a una extracción de sangre; además éstos otros tipos de muestra no suponen un riesgo adicional para el sujeto que realiza la extracción (punción accidental).

## Pruebas de cribado (screening)

Existen diferentes métodos para la realización de las pruebas de cribado para la detección de anticuerpos específicos frente al VIH. Entre ellos las técnicas ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), pruebas de aglutinación y análisis dot-blot son las más utilizadas, especialmente el ELISA que también se denomina análisis inmunoenzimático (abreviado, EIA).

## LOS ELISA O EIA

La comercialización de las técnicas EIA para la detección de anticuerpos anti-VIH arranca en 1.985 y en la actualidad se usan de un modo rutinario en todos los laboratorios de Microbiología Clínica y en los Bancos de Sangre o Centros de Transfusiones seguramente de casi todos los países desarrollados del mundo.

En ellas el antígeno puede proceder del lisado viral de un cultivo (como en los primeros EIA disponibles que se llamaron de 1ª generación) o bien de proteínas recombinantes o péptidos sintéticos de 10-50 aminoácidos específicos del VIH (que se han calificado como EIA de 2ª. y de 3ª. generación).

Prácticamente la totalidad de las empresas que ofrecen reactivos diagnósticos tienen su técnica anti VIH que, en España, es aprobada después de un estudio exhaustivo por el Instituto Carlos III.

Según su diseño para reconocer la presencia de anticuerpos se habla fundamentalmente de cuatro tipos de EIA diferentes: indirecto, competitivo, tipo sándwich y de captura. Los dos últimos suelen ser los más sensibles y específicos; dentro de los primeros los indirectos son más sensibles que los competitivos y éstos más específicos que aquellos.

Durante los últimos años se han desarrollado técnicas mixtas que permiten detectar simultáneamente anticuerpos frente al VIH-1 y frente al VIH-2, e incluso frente a otros retrovirus, y se utilizan rutinariamente en la mayoría de los centros de nuestro país. Más recientemente se han desarrollado técnicas duales que permiten la detección simultánea de antígeno y de anticuerpos frente al VIH-1.

De un modo esquemático, la muestra, suero normalmente, se enfrenta en un soporte, generalmente un pocillo de una placa de microtitulación, a un componente vírico que actúa como antígeno. Si en el suero existen anticuerpos específicos, éstos se unen con el antígeno formando un complejo que se pone en evidencia mediante una reacción enzimo-cromática que puede ser visualizada a simple vista o medida con un fotómetro. Por lo general, en las técnicas ELISA no competitivas, la muestra es positiva cuando se desarrolla color. Métodos más modernos emplean técnicas de quimioluminiscencia.

Las técnicas EIA, por lo general muy sensibles, detectan mínimas cantidades de anticuerpos por lo que pequeñas interferencias de sustancias similares podrían conducir a un resultado positivo falso. La probabilidad de un resultado falsamente positivo es mayor cuanto más baja es la prevalencia de la infección en la población estudiada.

En contraposición y en la actualidad también son técnicas muy específicas, pero la práctica habitual de los centros que obtienen resultados positivos es utilizar al menos otra técnica ELISA para reafirmar la positividad, a ser posible con un diseño de reconocimiento de anticuerpos diferente; cuando la positividad se repite con un segundo EIA se confirman los resultados con otras técnicas de alta especificidad, usualmente con técnicas de inmunoblot o IFI. Además se suele solicitar siempre una segunda muestra del paciente para evitar posibles equivocaciones en la manipulación de los sueros con lo que la probabilidad de emitir resultados erróneos queda muy reducida.

A pesar de todo hay descritas posibles causas de resultados **falsos**, positivos y negativos, de las pruebas EIA que se recogen en la tabla 1 adjunta al final de este documento.

### Otras técnicas de cribado

Las técnicas de aglutinación suelen emplear péptidos sintéticos o proteínas recombinantes del VIH como fuente de antígeno y se realizan con partículas de látex o hematíes, entre otros. Por lo general son técnicas menos complejas metodológicamente que los EIA, más rápidas y baratas por lo que en algunas situaciones, como países en desarrollo, pueden ser una alternativa válida a pesar de que también su sensibilidad y especificidad son menores.

Las técnicas de inmunoadherencia suelen ser de fácil y rápida realización técnica por lo que se han empleado algunas veces en procedimientos de urgencia ya que poseen una sensibilidad alta. Sin embargo en muchos centros han sido desplazadas por técnicas EIA que se pueden realizar con aparatos

automatizados y que permiten obtener resultados en poco menos de una hora.

### Pruebas de confirmación

Las pruebas llamadas de confirmación tienen como objeto verificar (confirmar) que los resultados obtenidos con las pruebas de cribado son correctos.

### WESTERN BLOT

El fundamento de la principal prueba confirmatoria de la actualidad, o Western blot (WB), es una discriminación de los antígenos del VIH frente a los que se dirigen los anticuerpos presentes en la muestra.

Básicamente se basa en la separación de las proteínas (antígenos) obtenidas del VIH-1 procedentes del lisado del cultivo del virus y purificadas por centrifugación. La proteína viral así obtenida se coloca en un gel de poliacrilamida en forma de láminas delgadas y luego se efectúa una electroforesis con la que las proteínas de menor peso molecular (p17, p24) emigran más lejos en el gel mientras que las de mayor peso molecular se mantienen cerca de su lugar de depósito. Después se transfieren a una tira de nitrocelulosa y se cortan en tiras de unos 5 mm de ancho. Estas son las tiras que se exponen al suero humano diluido, después de una incubación se lavan y se vuelven a incubar con una IgG antihumana marcada con una enzima que con la exposición a un revelador enzimático producirá una banda coloreada en las zonas correspondientes a los anticuerpos específicos que contenga la muestra.

Por lo general cada uno de los diferentes equipos comerciales que existen para la realización de la prueba contienen instrucciones precisas de cómo interpretar los resultados obtenidos con unos criterios de positividad más o menos restrictivos y sus tiras pueden contener un número variable de bandas; las principales bandas del WB se recogen en la tabla 2 adjunta al final del documento.

Por lo general se considera que el WB es una prueba sensible para las proteínas del core y

algo menos para las de la envoltura. Por ello durante la primoinfección por la escasez de anti-p24 o anti-gp41 es una prueba poco sensible como los EIA; algo similar ocurre en las fases terminales por la pérdida de anti-p24.

En conjunto se considera que es una prueba altamente específica con menos de 1 falso positivo (en relación a la IFI o RIPA) por cada 20.000 mientras que la tasa de falsos negativos es, en población donante de sangre, de 1 por cada 250.000 o más.

De un modo muy esquemático se puede decir que el WB puede ofrecer tres tipos de resultados diferentes:

Positivo: Cuando cumple los criterios de positividad adoptados por la técnica que se está empleando (presencia de ciertas bandas).

Negativo: Cuando ninguna de las bandas presenta reacción.

Indeterminado: Cuando no es positivo o negativo.

En general para la positividad del WB al VIH-1 se requieren al menos 2 bandas de envoltura que se consideran las más específicas y la negatividad se obtiene por la ausencia de bandas. Muchos autores consideran los criterios de la OMS como los más específicos teniendo en cuenta que: (1) la presencia aislada de p17 se suele considerar como negativa y no requiere seguimiento ulterior, (2) la presencia de una sola banda de la envoltura es un patrón infrecuente que puede observarse en la seroconversión y en la infección VIH-2 por lo que se recomienda repetir en WB y en caso de persistencia analizar una nueva muestra en 15 días, y (3) que los patrones de gag/pol sin env pueden deberse también a una seroconversión por lo que se recomienda hacer un seguimiento periódico durante 6-12 meses tras los cuales si persiste el WB indeterminado y no concurren factores de riesgo en el paciente se puede considerar negativo

El mayor problema que probablemente presentan los WB es la reactividad indeterminada de bandas p24, p55 o p66. En poblaciones con bajo riesgo de infección VIH el WB indeterminado no se asocia por lo

general con infección mientras que en las poblaciones con riesgo alto los WB indeterminados se siguen con seroconversiones en proporciones variables. Las principales causas de WB indeterminado suelen obedecer a:

- Reactividad inespecífica (ver falsos positivos)
- Infección por VIH-2 u otros retrovirus humanos
- Seroconversión al VIH-1
- Estado avanzado de infección VIH-1
- Hijo de madre seropositiva
- Divergencias genéticas de la cepa del VIH-1 (africanos)

Aunque se han descrito diferentes causas de reacciones de WB falsas positivas para antígenos del VIH-1, las principales son similares a las que acontecen en los EIA y se suelen deber a reacciones cruzadas con ribonucleoproteínas humanas, otros retrovirus, anticuerpos frente a antígenos mitocondriales, nucleares, de células T y leucocitarios, anticuerpos frente a antígenos HLA clases I y II y globulinas en una gammopatía monoclonal.

Además de ser una técnica de una complejidad variable que requiere el adiestramiento en su realización e interpretación, otra de las principales desventajas del WB es su elevado precio que lo hace inviable como prueba de confirmación en algunos países pobres.

A ello se puede sumar como inconvenientes del método la variabilidad reaccional que existe entre las bandas según el tipo de ensayo, el tipo de las muestras y las condiciones técnicas y la subjetividad de la interpretación de la intensidad de las bandas que siempre dependen del observador, aunque en la actualidad existen sistemas automatizados e informatizados que permiten optimizar las condiciones técnicas y la semicuantificación de las bandas del WB lo que contribuye a objetivar mejor la interpretación final de la técnica.

En un intento de mejorar y garantizar la sensibilidad del WB frente a los anticuerpos de

las proteínas de la envoltura algunos WB comerciales han incorporado péptidos sintéticos o proteínas recombinantes al lisado viral.

### Otras técnicas de confirmación

En la actualidad existen otras pruebas accesorias para la discriminación y confirmación de las muestras positivas en el cribado, varias de las cuales se basan en el análisis inmunoenzimático de tipo lineal (LIA) y que suelen incorporar en un soporte plano, equivalente a la tira, varias proteínas recombinantes o péptidos sintéticos correspondientes a diferentes proteínas del VIH-1 y en algunos casos del VIH-2.

Estas pruebas que son sensibles y específicas pueden considerarse como pruebas confirmatorias y en algunos sitios reemplazan al WB, aunque la presencia de péptidos sintéticos puede ocasionar resultados falsos negativos en la infección VIH aguda y en niños. En algunos países se ha considerado la posibilidad de confirmación con un segundo EIA de las muestras reactivas a otro EIA inicial diferente.

Dentro de las pruebas de confirmación el **ensayo de inmunofluorescencia indirecta (IFI o IFA)** utiliza normalmente células H9 infectadas y no infectadas por el VIH-1 fijadas en pocillos de un portaobjetos. Aplicada una dilución de la muestra y el conjugado fluorescente (una anti IgG humana con isotiocianato de fluoresceína) se observa con un microscopio de fluorescencia y se evalúa en función de la intensidad de la fluorescencia y el porcentaje entre células infectadas y no infectadas. En general se acepta que la IFI requiere menos experiencia técnica y menos tiempo y dinero que el WB frente al que presenta una sensibilidad y especificidad similar.

El **ensayo de radioinmunoprecipitación (RIPA)** es una técnica limitada a laboratorios capaces de lograr la propagación del VIH-1 en cultivos celulares. El virus que crece en células H9 se expone, al alcanzar un crecimiento exponencial, a una sustancia radiomarcada que tras el procesamiento permite detectar por

autorradiografía los inmunoprecipitados que se han formado. Se considera más sensible que el WB frente a las proteínas de alto peso molecular aunque puede detectar peor la p24. En general es una técnica limitada a los laboratorios de investigación.

### Detección de antígeno p24

La detección del antígeno del VIH-1, usualmente la proteína p24, es un marcador directo de la presencia del virus en el organismo a diferencia de las pruebas de detección de anticuerpos previamente vistas.

Aunque teóricamente el antígeno debería detectarse en cualquier fase de la infección la presencia de anticuerpos anti-p24 con los que forma inmunocomplejos suele enmascararlo, por lo que su utilidad ha quedado reducida a unas cuantas situaciones entre las que destaca la detección de la infección antes de la seroconversión.

Con los datos disponibles parece que su detección no ofrece una ventaja sustancial para minimizar el periodo ventana de la fase aguda de la infección, antes de la seroconversión y la aparición de anticuerpos, y aunque la proteína p24 es el primer marcador serológico que se positiviza después de la infección, posiblemente lo hace durante un periodo breve, que puede ser mayor en los sujetos cuyas manifestaciones clínicas de primoinfección obedecen a cuadros más graves reflejados en sus niveles altos de viremia y antigenemia.

Por lo tanto en el diagnóstico de una posible infección VIH tras una exposición, una determinación con un resultado negativo para el antígeno del VIH-1 no excluye la posibilidad de estar infectado y puede resultar más fiable la detección de anticuerpos dentro de los seis meses que siguen a la exposición.

Aunque desde 1987 existen disponibles diferentes pruebas comerciales, en la actualidad el empleo de la carga viral como marcador de progresión y control de los tratamientos ha relegado la utilización del

antígeno p24 al diagnóstico **precoz de la infección VIH** y en algunos casos al reconocimiento de la **replicación viral en cultivos celulares**; prácticamente no se utiliza como **monitorización de la respuesta a los antirretrovirales** ni para **establecer el valor predictivo de la evolución clínica** de la infección en los pacientes asintomáticos. Igualmente su utilidad es dudosa para el reconocimiento de los sujetos **seropositivos con alta infectividad** y en el **diagnóstico de la infección vertical**.

Las métodos de detección del antígeno p24 del VIH-1 son fundamentalmente técnicas ELISA con anticuerpos específicos fijados en su fase sólida y con sensibilidades diferentes. En algunas pruebas comerciales se realiza una disociación (de carácter ácido o básico) que busca la liberación del antígeno p24 de los inmunocomplejos formados con su anticuerpo y que ofrece buenos resultados, fundamentalmente con las muestras de pacientes asintomáticos con altos niveles de anti p24.

Entre los factores que se ha visto que **pueden condicionar la detección** de antígeno p24 se encuentran la sensibilidad de las diferentes pruebas comerciales, el estadio evolutivo de la infección, así como la presencia de infecciones oportunistas que indirectamente condicionan una mayor replicación viral, y la administración de antirretrovirales. No se sabe por qué pero en sujetos de raza negra se presenta antigenemia con menor frecuencia que en los de raza blanca. En general solo es posible detectar antígeno p24 entre el 10-25% de los pacientes seropositivos asintomáticos y en el 70% de los pacientes con SIDA. En la primoinfección no se detecta en más del 25% de los casos.

En algunos países es obligatorio el cribado de las donaciones de sangre frente al antígeno en un intento de detectar los donantes en el periodo ventana de la infección; sin embargo no se ha demostrado que esta medida obtenga beneficios de reducción del riesgo de transmisión por sangre contaminada.

## El cultivo viral y las pruebas de biología molecular

Las pruebas de diagnóstico directo de la infección VIH proporcionan mayor certeza que las pruebas indirectas.

El cultivo viral queda restringido a laboratorios especializados y se considera como la técnica más específica para el diagnóstico de la infección VIH aunque en la actualidad su utilización puede quedar relegada a estudios de variabilidad genética, sensibilidad a antirretrovirales y epidemiología molecular, además de que puede ser necesario en el diagnóstico de la infección en el recién nacido y en las infecciones silentes.

La principal muestra a partir de la que es posible el aislamiento del VIH-1 la constituye la sangre periférica, específicamente las células mononucleares que se extraen de ella, linfocitos y monocitos, por centrifugación en un gradiente de Ficol. Sin embargo el VIH-1 se ha cultivado a partir de otros muchos tipos de muestras diferentes (orina, semen, lágrimas, leche materna, tejidos, etc.).

Es frecuente la realización de cocultivos que básicamente consisten en la aportación de células mononucleares de sujetos no infectados a los cultivos con las células a estudio o con líquidos acelulares que podrían contener viriones; con ello se pretende, además de ser una aportación de nuevas dianas para la infección y replicación del virus, una interacción entre estímulos antigénicos.

El medio de cultivo adecuado con la línea celular seleccionada se mantiene en incubación durante un mes y el crecimiento del VIH-1 se mide indirectamente por la detección de la antigenemia p24 en el sobrenadante, la actividad de la transcriptasa inversa o mediante la detección de ARN o ADN por técnicas de amplificación genética, pero también es posible la determinación del efecto citopático del virus mediante microscopía óptica invertida (dicho efecto se caracteriza por la presencia de sincitios como resultado de la fusión de al menos dos células y que se utiliza para la clasificación fenotípica de los

VIH-1 en inductores y no inductores de sincitios) o de partículas virales por microscopía electrónica.

La detección de material genético del VIH puede hacerse a partir de moléculas de ADN o de ARN que ofrecen información diferente de acuerdo con sus características funcionales. El ADN detectado se trata de ADN proviral presente en las células infectadas (principalmente en linfocitos T), y dado que las células se infectan de un modo irreversible es traducción de la incorporación del VIH a los cromosomas de la célula, mientras que el ARN expresaría el grado de la replicación viral e indirectamente permite valorar la funcionalidad de las células infectadas en cuanto a la producción de viriones o quiescencia del virus. El material genético puede recuperarse a partir de células o tejidos y también de líquidos acelulares que contienen partículas víricas circulantes.

Las pruebas de amplificación genética permiten la multiplicación exponencial (amplificación) de una zona de ADN simulando in vitro lo que ocasiona la replicación viral in vivo. La detección de secuencias de ARN del VIH-1 requiere que previamente a la amplificación el ARN se convierta en ADN lo que se consigue por una transcripción inversa que lleva a cabo una enzima denominada retrotranscriptasa.

Bajo determinadas condiciones la presencia de una cadena de ADN diana puede permitir la síntesis enzimática de una cadena de ADN complementaria. La cadena diana actúa como molde de una enzima ADN polimerasa cuando la doble hélice se desnatura por calor y en presencia de secuencias complementarias de oligonucleótidos, que actúan como 'cebadores', deoxinucleótidos trifosfatos y ciertos elementos tampón, (como Mg++) que ayudan a estabilizar el proceso, son capaces de producir múltiples copias de la cadena original.

Para ello es necesario producir una serie de ciclos, en número variable, que agrupan tres hechos básicos que se deben desarrollar a diferentes temperaturas: desnaturación del ADN diana a 92-96 °C, hibridación de los oligonucleótidos a un sitio complementario a

45-72 °C y extensión o copia de los oligonucleótidos a 72 °C por adición de los dNTP. Las diferentes aportaciones de cada uno de los elementos necesarios, las temperaturas y los diferentes ciclos necesarios así como su duración y oscilación dan lugar a múltiples variantes de la metodología que pueden conducir a resultados no comparables y condicionar la sensibilidad y especificidad de la técnica.

Una vez amplificado el material genético se debe detectar y existen también diferentes procedimientos de detección como la electroforesis en gel y visualización con luz ultravioleta tras tinción con bromuro de etidio, la visualización por autorradiografía tras hibridación con una sonda marcada radioactivamente, o técnicas de hibridación con sondas marcadas con biotina o quimioluminiscentes que se ponen de manifiesto por metodología similar a los EIA .

Con la metodología de la PCR es posible también la cuantificación tanto de ADN como de ARN del VIH (carga proviral y carga viral) cuyo fundamento y utilidad se discute en otras [páginas](#).

En la tabla 3 adjunta se reflejan las causas más frecuentes de resultados discordantes entre la PCR y marcadores de anticuerpos específicos.

### **Infección sin anticuerpos y anticuerpos sin infección**

Aunque se presume que todos los sujetos infectados por el VIH desarrollan anticuerpos como respuesta a la infección, se han descrito casos, desde la comercialización de los primeros ELISA de detección de anticuerpos, de sujetos en los que a pesar de aislarse el virus no se podía demostrar una positividad de anticuerpos e igualmente se han documentado casos de infección a partir de la recepción de donaciones de sangre procedente de sujetos seronegativos.

Algunos de estos casos se han explicado por errores técnicos o por el empleo de pruebas

de escasa sensibilidad; sin embargo en otros casos la presencia de anticuerpos se ha excluido de un modo definitivo por lo que a pesar de que el diagnóstico de laboratorio se basa básicamente en la detección de anticuerpos específicos es posible la presencia de verdaderas infecciones por el VIH sin que sea posible demostrar la seroconversión por los procedimientos rutinarios.

La presencia de infección sin anticuerpos específicos puede obedecer a la incapacidad del sujeto para producir anticuerpos y también a la variabilidad genética del VIH. En este sentido se puede recordar la dificultad inicial para el diagnóstico de la infección por el subtipo O o más recientemente por el subtipo N o la ausencia de producción de anticuerpos en situaciones de hipogammaglobulinemia.

En estos casos es necesario recurrir al diagnóstico directo bien mediante cultivo, detección de antígeno o técnicas de detección de ácidos nucleicos, si bien todas ellas pueden plantear problemas que en algunos casos harán imposible el diagnóstico de laboratorio de la infección. En la actualidad las pruebas que determinan la presencia de genoma viral deben considerarse como el mejor recurso en el diagnóstico de las infecciones silentes del VIH (ver causas de falsos negativos de la PCR).

La situación opuesta la encontramos en los sujetos que presentan inmunidad específica frente al VIH-1 y que sin embargo no están infectados o la presencia del virus no se puede objetivar mediante los métodos de diagnóstico directos. Se ha descrito fundamentalmente en parejas serodiscordantes de heterosexuales y en receptores de transfusiones y para algunos autores es el reflejo de una transmisión pasiva de anticuerpos similar a la que ocurre entre la madre y el recién nacido, en la que solo un porcentaje de los hijos cercano al 20% desarrollan una verdadera infección a pesar de presentar todos positividad a la detección de anticuerpos específicos.

En estos casos existe una verdadera positividad en las pruebas de cribado y confirmación que con posterioridad

negativizan sin obedecer a una serorreversión que traduzca la incapacidad de mantener una respuesta sostenida de anticuerpos.

Casos diferentes lo constituyen los falsos positivos de las técnicas de cribado que evidentemente no se confirman por WB. También se ha propuesto que la exposición a ciertas cepas defectivas del VIH-1 pudiera ser la causa de una respuesta parcial de anticuerpos frente a determinados antígenos del virus e incluso en algunos casos reflejar la erradicación del virus por el propio organismo.

### **La serología en los recién nacidos**

Prácticamente desde el inicio de la epidemia la infección VIH en los niños ha constituido una constante preocupación por su trascendencia social y sus repercusiones. El primer caso de infección VIH documentada en niños se remite a 1.982.

El diagnóstico de la infección por el VIH-1 en los recién nacidos y niños menores de dos años tiene características propias determinadas en gran parte por la posibilidad de transmisión pasiva de los anticuerpos maternos, que dificulta conocer con las pruebas de cribado rutinarias si realmente el niño está infectado, y los potenciales efectos indeseables que acompañan a la terapia antirretroviral. Actualmente el diagnóstico de la infección VIH en los niños comprende una combinación de pruebas como las determinaciones seriadas de anticuerpos y detección de antígeno del VIH que son asequibles a la mayoría de los laboratorios mientras que otras como el cultivo del virus o detección de ácido nucleicos son realizadas en laboratorios más especializados o centros de referencia.

Otro de los hechos que van a caracterizar la positividad de las pruebas es el momento evolutivo del embarazo en el que se ha adquirido la infección. Alrededor del 30% de los casos se producen intrauterinamente en cualquier momento de la gestación (infección prenatal o intrauterina) pero la gran mayoría, alrededor del 70%, se adquieren en el mismo

momento del nacimiento en el parto y solo muy pocos casos se adquieren después del nacimiento (lactancia, etc.). En el primer caso va a ser posible detectar el VIH más precozmente que en el resto si bien no siempre es así por la posibilidad de quiescencia del virus en las células infectadas.

Reviste importancia pues conocer que una sola determinación negativa en niños recién nacidos o con pocos días de vida no tiene valor para descartar la infección y que una detección positiva en muestras tomadas en los primeros momentos de la vida pueden revertir a la negatividad por la presencia de un inóculo viral materno que no ha infectado al niño.

En los recién nacidos y niños pequeños suele ser un problema la obtención de volúmenes adecuados de muestra para el estudio por lo que desde un primer momento es deseable que la muestra obtenida sea sangre total recogida en un tubo con EDTA lo que va a permitir realizar cualquiera de los métodos señalados (el anticoagulante no debe ser heparina por sus interferencias con las técnicas de PCR).

La detección de anticuerpos específicos por pruebas de EIA o WB aportan pocos datos sobre la infección de los recién nacidos ya que las IgG maternas pasan a través de la placenta y se pueden mantener en el niño hasta los 18 meses de vida. La persistencia, aumento de la intensidad o aparición de nuevas bandas en el WB a través del análisis seriado en el tiempo de las muestras puede objetivar la infección del hijo, sin embargo no es útil si el fin es establecer un diagnóstico precoz para instaurar la terapia. Otros tipos de anticuerpos como la IgM o la IgA específicas al VIH no atraviesan la barrera placentaria y su presencia se puede considerar diagnóstica; sin

embargo la sensibilidad de las pruebas EIA disponibles es escasa, en torno al 10% al nacer y al 50% hacia los seis meses de vida.

La detección de la antigenemia p24 reviste en los niños los mismos problemas que en los adultos: poca sensibilidad de los EIA y presencia de antígeno solo en determinadas fases evolutivas probablemente por su fijación en inmunocomplejos con su anticuerpo. Aunque realizada de forma rutinaria en los neonatos su sensibilidad es menor del 20% al nacer y un poco más alta a partir de los 3 meses; sin embargo ya que refleja la detección directa del virus, su positividad, en ausencia de errores técnicos, es un signo inequívoco de infección vertical.

En la actualidad se consideran métodos diagnósticos más recomendables el cultivo viral (o cocultivo a partir de líquidos acelulares) y las técnicas de biología molecular como la PCR. Ésta se considera como la técnica más ventajosa en el diagnóstico de la infección perinatal. Con ella más del 50% de los casos de menores de 1 mes se pueden detectar porcentaje que se eleva entre el 75-90% en niños con edades entre 1 y 3 meses; a partir de esa edad prácticamente más del 95% de los casos pueden ser diagnosticados por PCR. En ausencia de datos concluyentes de las pruebas diagnósticas de laboratorio, o en caso de no tener acceso a ellas, se debe valorar la presencia de manifestaciones clínicas en especial de infecciones oportunistas. En niños menores de 15 meses con anticuerpos específicos la presencia de esplenomegalia, hepatomegalia, linfadenopatía o infiltrados pulmonares pueden sugerir la infección VIH.

**Tabla 1**

<b>FALSOS POSITIVOS DE LOS EIA</b>	<b>FALSOS NEGATIVOS DE LOS EIA</b>
<p>Interferencia de</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Anticuerpos como los que se dirigen frente antígenos de músculo liso, células parietales, mitocondriales, nucleares, leucocitarios y de células T.</li> <li>• Presencia de anticuerpos IgM frente al core del virus B de la hepatitis y frente al virus A de la hepatitis</li> <li>• Anticuerpos frente a antígenos leucocitarios de clase II de células H9 que pueden estar presentes en mujeres embarazadas multíparas y sujetos politransfundidos.</li> </ul>	<p>Periodo de incubación de la infección o enfermedad aguda antes de la seroconversión (periodo ventana)</p>
<p>Enfermedades del hígado como hepatopatía alcohólica grave, cirrosis biliar primaria o colangitis esclerosante</p>	<p>Tratamientos inmunosupresores intensivos o prolongados</p>
<p>Inactivación del suero por calor o positividad a RPR (reaginas plasmáticas)</p>	<p>Procesos malignos</p>
<p>Procesos hematológicos malignos, como linfomas</p>	<p>Transfusión de reposición</p>
<p>Infección por VIH-2 u otros retrovirus</p>	<p>Transplante de médula ósea</p>
<p>Infecciones agudas por virus ADN</p>	<p>Disfunciones de las células B</p>
<p>Vacunación contra la gripe</p>	<p>Interferencia de factores reumatoideos</p>
<p>Insuficiencia renal crónica y transplante renal</p>	<p>Equipos que detectan principalmente anti-p24</p>
<p>Síndrome de Steve-Johnson</p>	<p>Pérdida de estabilidad de los componentes del equipo de reactivos</p>
<p>Anticuerpos anti-VIH-1 adquiridos de forma pasiva, por ejemplo mediante inmunoglobulinas.</p>	

**Tabla 2**

Principales bandas del Western blot		
Denominación	Proteína	Gen
gp160	Precursora de la envoltura	env
gp120	Glucoproteína externa	
gp41	Glucoproteína transmembrana	
p55	Precursora del core	gag
p40		
p24		
p17	Proteína de la matriz	
p66	Transcriptasa inversa	pol
p51		
p31		

Criterios mínimos de positividad del Western blot	
<b>FDA</b>	Existencia por lo menos de tres bandas: p24, p31 y gp41 u otra glucoproteína
<b>ARC</b>	Existencia de al menos 3 bandas una por cada uno de los 3 genes estructurales
<b>CDC</b>	Al menos dos bandas: p24, gp41 y gp160/120
<b>CRSS</b>	Al menos una banda del core (gag/pol) y otra de envoltura (env)
<b>OMS</b>	Al menos dos bandas de envoltura

**Tabla 3**

PCR + en sujetos seronegativos	PCR - en sujetos seropositivos
Periodo ventana de la infección	Transmisión pasiva de anticuerpos
Infección por virus defectivos	Error técnico
Infección por cepas de virus poco replicativas	Técnicas de baja sensibilidad
Secuencias de otros retrovirus	Mutaciones de zonas críticas
Hipogammaglobulinemia	Reactividad cruzada en pacientes con lupus eritematoso, fibrosis quística o vacuna de la gripe (falsos + de los EIA)
Contaminación de laboratorio	

- La infección por el VIH requiere cuidados precisos que sólo un equipo multidisciplinario puede prestar. La información que se da sobre medicamentos tiene sólo carácter informativo, **de ningún modo** debe servir como guía para 'automedicarse'; tampoco se debe tomar la sintomatología como guía para 'autodiagnosticarse'.
- En el momento de su edición, las Hojas Informativas VIH y SIDA reproducen el contenido del sitio web "VIH y SIDA" (<http://www.ctv.es/USERS/fpardo/home.htm>). La información a la que hacen referencia cambia constantemente por lo que algunos de los datos recogidos pueden no estar actualizados. Su contenido y mantenimiento son responsabilidad exclusiva de su autor que, en la medida de su conocimiento y posibilidades, incluye información científicamente contrastada que considera puede ser de utilidad general.
- Las Hojas Informativas y por lo tanto su contenido pueden ser reproducidos con fines no comerciales ni lucrativos sin que sea necesaria ninguna autorización. Si lo desea puede ponerse en contacto con el autor mediante correo electrónico: [fpardo@ctv.es](mailto:fpardo@ctv.es)