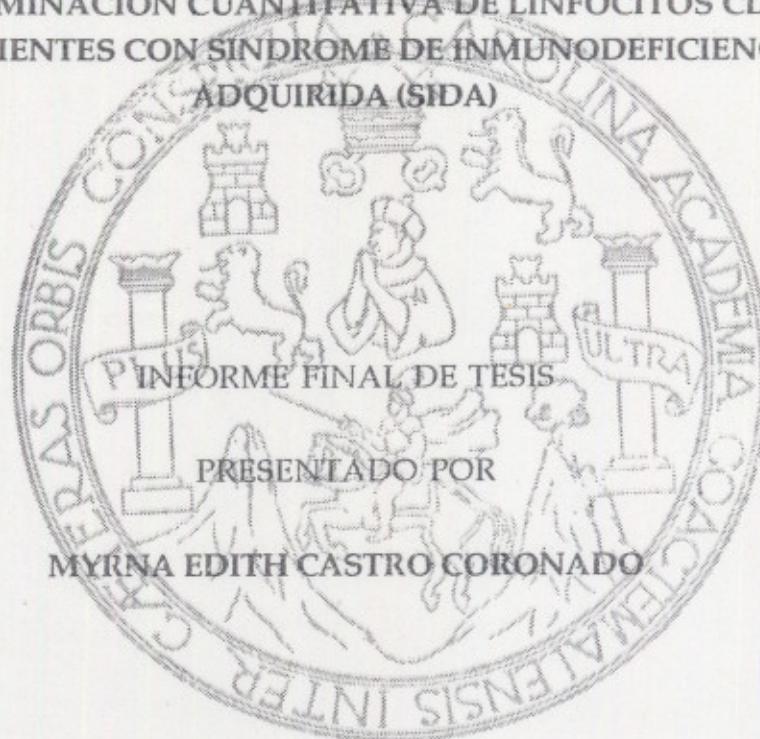




UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DETERMINACION CUANTITATIVA DE LINFOCITOS CD4+  
EN PACIENTES CON SINDROME DE INMUNODEFICIENCIA  
ADQUIRIDA (SIDA)



ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE  
QUIMICO BIOLOGO

Guatemala, agosto de 1,994.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

DL  
06  
T(1645)

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y  
FARMACIA

DECANO: Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar.

SECRETARIO: Licda. Eleonora Gaytan.

VOCAL I: Lic. Miguel Angel Herrera.

VOCAL II: Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán.

VOCAL III: Lic. Miguel Orlando Garza Sagastume.

VOCAL IV: Br. Jorge Luis Galindo Arevalo.

VOCAL V: Br. Edgar Antonio García del Pozo.

## DEDICATORIA

A DIOS TODO PODEROSO : quien hizo posible la culminación de mi carrera.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA.

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA.

A MIS PADRES: MARIA TERESA CORONADO ( por su esfuerzo y apoyo) y  
GUILLERMO CASTRO.

A MIS ABUELOS: ROBERTO CORONADO Y

MARTHA AVILA DE CORONADO (QEPD)

A MIS HERMANOS: KAREN ELIZABETH, JOSE ESTUARDO, LESLIE  
YASMINA Y ROLANDO ENRIQUE.

A MI ESPOSO: WALTER ESTUARDO ( por su amor, comprensión y apoyo)

A MI HIJA: NISSA YANEEN

A MI SOBRINA: LESLIE MARIE

A LA FAMILIA: SARAVIA AMPEREZ (en especial a Julia Ampérez de Saravia  
por su apoyo).

A MI DEMAS FAMILIA.

A MIS COMPAÑEROS DE PROMOCION

## AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento especial al Dr. Carlos Mejía, Dr. Nery Mencos, Dr. Ruben Mayorga, el Dr. Gustavo Oliva, Sra. Rosa Zut, Sra. Miriam de Corbera, y Srita. Judith Nájera por la colaboración en el desarrollo del trabajo de campo en el hospital Roosevelt. A si mismo agradezco al departamento de citohistología de la facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por la colaboración prestada en el uso de su equipo de laboratorio. También agradezco el apoyo que tuve por parte de mi asesor Lic. Gerardo Arroyo.

## INDICE

# de página

I. Resumen.....	1
II. Introducción.....	3
III. Antecedentes.....	5
A. Historia del SIDA.....	5
B. Agente causal.....	6
1. Origen del virus VIH.....	6
2. Período de Incubación.....	7
3. Características del virus VIH.....	8
4. Virus VIH-2.....	10
5. Vías de transmisión.....	11
6. Factores de riesgo.....	12
C. Linfocitos.....	13
D. Inmunopatogénesis .....	18
E. Etapas del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (Infecciones Oportunistas).....	21
F. Pruebas diagnósticas para el virus VIH.....	28
G. Marcadores indicadores de progresión a SIDA.....	33
H. Sistema de clasificación 1993 para infección por VIH y definición de caso para SIDA.....	38
I. Definición de Caracas.....	42
J. Relación de los recuentos de CD4+, profilaxis de infecciones oportunistas y manejo de los pacientes con SIDA.....	42
K. Epidemiología.....	45
L. Zidovudina.....	46
M. Bases de la profilaxis primaria y secundaria de las infecciones oportunistas.....	50
N. Estudios sobre la vacuna contra el VIH.....	51
O. Método para la cuantificación de linfocitos CD4+.....	52
IV. Justificaciones.....	54
V. Objetivos.....	55
VI. Hipótesis.....	56
VII. Materiales y Métodos.....	57

VIII. Resultados.....	63
IX. Discusión de Resultados.....	66
X. Conclusiones.....	69
XI. Recomendaciones.....	70
XII. Referencias .....	71
XIII. Anexos.....	78

## I. RESUMEN

El SIDA es un síndrome inmunológico que afecta a miles de personas en el mundo y nuestro país no es la excepción. Se ha establecido que el principal blanco de destrucción del virus VIH son los linfocitos CD4+, que conlleva a la inmunosupresión que caracteriza a la enfermedad.

Se ha establecido en varios estudios hechos en otros países que el mejor marcador biológico de progresión de SIDA, son los recuentos totales de linfocitos CD4+. La aplicación práctica de la cuantificación de linfocitos CD4+, se traduce principalmente en el inicio de tratamientos antivirales y antimicrobianos profilácticos que garanticen un mayor tiempo de sobrevivencia de estos pacientes.

En vista que cada día se detectan más y más casos de SIDA en Guatemala, se estandarizó la técnica de anticuerpos fluorescentes para la determinación de linfocitos CD4+. Para el efecto se incluyeron en el estudio a 40 pacientes VIH positivo que acudían al Hospital Roosevelt, al Hospital San Juan de Dios y clínicas privadas.

Se hicieron dos seguimientos a 11 personas y tres seguimientos a nueve personas cada 3 meses por un período de nueve meses, además estos pacientes se clasificaron según la clasificación del CDC de 1993 para definición de caso de SIDA, en donde se incluyen las categorías clínicas de la enfermedad junto con las categorías de linfocitos CD4+.

Los resultados como se dijo anteriormente se clasificaron por las categorías clínicas que describe el CDC y cada categoría se le hizo un promedio del recuento de linfocitos CD4+ / mm<sup>3</sup> con su respectiva desviación estandar, y se obtuvieron los siguientes resultados: Categoría A1:  $614 \pm 98$ , A2:  $401 \pm 82$ , B1:  $598 \pm 63$ , B2:  $347 \pm 59$ , C2:  $375 \pm 100$ , C3:  $79 \pm 34$ .

Entre las infecciones oportunistas más frecuentes encontradas en estos pacientes están: herpes zoster (con un promedio de linfocitos CD4+ / mm<sup>3</sup>



cúbico de  $416 \pm 166$ ), candidosis oral y esofágica ( $335 \pm 217$ ), sarcoma de kaposi (293), tuberculosis pulmonar ( $274 \pm 65$ ), neumonía por *Pneumocystis carinii* ( $250 \pm 87$ ), meningitis por *Criptococcus neoformans* ( $249 \pm 213$ ) y toxoplasmosis cerebral ( $119 \pm 77$ ).

En base a los resultados anteriores se encontró que efectivamente el recuento de linfocitos CD4+ es un buen parámetro para establecer el apareamiento de infecciones oportunistas y de gran utilidad para los médicos en el monitoreo terapéutico antiviral y antimicrobiano de los pacientes con SIDA.

## II. INTRODUCCION

El SIDA es y seguirá siendo un desafío para la salud pública a nivel mundial, porque es una enfermedad destructiva e infecciosa del sistema inmune, nunca antes descrita y a la cual no se le ha descubierto una terapia efectiva.

El primer caso de SIDA fue reconocido en los Estados Unidos en 1981 en un individuo homosexual. Luego más casos fueron diagnosticados en personas drogadictas y hemofílicas. Actualmente se ha encontrado que la incidencia de la infección ha aumentado en personas heterosexuales, lo que ha desarrollado una pandemia que abarca a todo el mundo y afecta a todas las condiciones sociales (1).

Guatemala no ha escapado a esta situación y se estima que existen más casos de los que en verdad se han reportado en el país.

El SIDA es una enfermedad progresiva y con un índice de mortalidad muy alto a causa de las infecciones oportunistas y las neoplasias.

Se ha establecido que el principal blanco de destrucción del virus del SIDA (VIH-1), son los linfocitos CD4+, produciendo una disminución considerable de estas células (2).

En varios estudios se ha correlacionado el riesgo y severidad de la enfermedad con el recuento absoluto de linfocitos CD4+. Este recuento ha sido utilizado como indicador del estado inmunológico de los pacientes con SIDA. También se ha utilizado para establecer el riesgo que tienen estos pacientes de desarrollar alguna infección oportunista (principalmente neumonía por *Pneumocystis carinii*) cuando estos recuentos son muy bajos (3).

Los Centros de Control de Enfermedades de Atlanta (CDC) en los Estados Unidos, en este año dio a conocer su nueva clasificación y definición de caso de SIDA en adolescentes y adultos. Esta clasificación está hecha en base a dos parámetros muy importantes como lo son:

-la condición clínica del paciente y los recuentos y/o los porcentajes de linfocitos CD4+. Al correlacionar estos dos parámetros se clasifica al paciente por categorías, lo cual hace más fácil poder identificar en qué etapa de la enfermedad se encuentra el paciente. Además, se ha determinado que conociendo los recuentos absolutos de linfocitos CD4+, el médico tratante puede instaurar una terapia profiláctica temprana a los pacientes con SIDA, para garantizarles un mayor tiempo de vida (4).

El presente trabajo pretende contribuir con el manejo de estos pacientes, evaluando los recuentos absolutos de linfocitos CD4+ de los mismos, empleando la técnica de anticuerpos monoclonales fluorescentes y correlacionarlos con su condición clínica. Las muestras serán tomadas a pacientes (VIH positivo) que acudan al servicio especial de consulta externa del Hospital Roosevelt, por un período aproximado de 9 meses. También se tomarán muestras de personas sanas como marco de referencia de los valores normales de linfocitos CD4+.

### III. ANTECEDENTES

#### A. Historia:

A principios de la década de los '80, el SIDA surgió principalmente en las ciudades de Nueva York, San Francisco y Los Angeles en personas homosexuales. Por esta razón se le llamó a la enfermedad por un tiempo "Inmunodeficiencia relacionada con Homosexuales" (Gay Related Immunodeficiency) (5).

Más tarde se encontraron otros casos en personas drogadictas en pacientes hemofílicos y en los haitianos refugiados en los Estados Unidos.

En 1983 se diagnosticaron varios casos en mujeres embarazadas, niños recién nacidos e infantes. También en ese año y parte de 1984, un grupo de Investigadores en Francia y Estados Unidos descubrieron separadamente el retrovirus considerado como causante del síndrome. Los investigadores franceses lo llamaron "Virus Relacionado con Linfadenopatía" (LAV) y los norteamericanos lo nombraron "Virus linfotrópico de células T humano" (HTLV-III) (6,7).

A consecuencia de todos estos casos descubiertos fue que cambió el nombre de la enfermedad, llamándose actualmente "Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida" (SIDA).

En 1985 se desarrolló una prueba de laboratorio que detecta anticuerpos contra ese virus (6,7).

En 1986, el Comité Internacional sobre Taxonomía del Virus recomendó un nuevo término para nombrar al virus, "Virus de la Inmunodeficiencia Humana" (VIH- 1). El comité eligió el término porque identifica el grupo afectado (el humano) y describe el efecto principal del virus (la inmunodeficiencia) (6,7).

En 1987 se hicieron varios estudios epidemiológicos que describían la incidencia de la enfermedad en los Estados Unidos, la cual era mayor en individuos de raza negra y en hispanos que en raza anglosajona. Además de la alarmante distribución en todo el mundo (7).

## **B. Agente causal:**

### **1. Origen:**

Se ha descubierto que el virus del SIDA no es único pues existen otros virus muy parecidos que infectan al hombre y a los primates. Los primeros retrovirus que se descubrieron que infectan al hombre son: HTLV -1 (causante de una forma rara de leucemia de linfocitos T/linfoma) y el HTLV- II (no se le conoce enfermedad específica, pero puede causar leucemia de células peludas) (7).

Se ha encontrado que existe un virus que infecta al simio llamado Virus de Inmunodeficiencia del Simio (STLV/ VIS) (7).

Algunos científicos han propuesto que el virus de HTLV se originó en Africa y que se esparció a las Américas por el tráfico de esclavos durante el siglo pasado (7).

Actualmente el virus del SIDA se le conoce como VIH-1. Al igual que este virus, el VIS infecta los linfocitos T del simio causando una inmunodeficiencia severa que lleva a estos mamíferos a la muerte.

Se ha demostrado que los anticuerpos de pacientes con SIDA tienen reacción cruzada con los epitopos de las proteínas del virus VIS, así mismo los anticuerpos de los simios reconocen las proteínas del virus VIH-1.

Ambos virus tienen sus secuencias proteicas muy parecidas, pero existen algunas diferencias como por ejemplo: el gen vpx del virus VIS no se encuentra en la secuencia genética del virus VIH-1 y el gen vpu del virus VIH no está en la secuencia genética del virus VIS (7).

## 2. Período de Incubación:

Se ha propuesto que el período de incubación del virus VIH oscila entre la segunda y sexta semana después de adquirir la infección. La evolución de la enfermedad en SIDA depende de como la persona haya adquirido el virus, del tamaño del inóculo, de la virulencia intrínseca de la cepa y de la capacidad de respuesta del huésped. Se estima que el tiempo para llegar a última etapa de la enfermedad puede ser de algunos años, lo cual puede variar en cada paciente (8).

El intervalo de tiempo entre la infección y el apareamiento de anticuerpos es aproximadamente de 6 meses pero puede ser variable. Existe un tiempo de seronegatividad en el paciente VIH positivo de aproximadamente tres a cuatro meses (período de ventana), pero se han reportado casos que ha llegado hasta un año y se puede demostrar la presencia del virus mediante un cultivo o por técnicas genómicas (amplificación mediante la reacción en cadena de la Polimerasa-PCR). Para explicar este fenómeno existen dos circunstancias: -el período de ventana que precede a la seroconversión y la seroconversión en sujetos que previamente tenían anticuerpos y en los que desaparecen posteriormente (8).

En varios estudios realizados en Estados Unidos se ha calculado una media de tiempo de incubación, la cual es de 4.6 años, con una proyección de 14.2 años en pacientes que se han infectado por transfusiones sanguíneas. Los modelos de infección por VIH transfusional sugieren que la seroconversión ocurre en el 90% de los receptores de sangre contaminada. Los anticuerpos pueden detectarse a las 3-6 semanas de la transfusión en la mayoría de los casos (8).

Además, la duración del período de ventana parece ser mayor cuando el inóculo viral es reducido, a diferencia de lo que ocurre en una transfusión de sangre contaminada. Sin embargo en individuos infectados por otras vías como por ejemplo la sexual, se han descrito períodos de ventana más largos (incluso de años) antes de la seroconversión (8).

### 3. Características del virus:

El virus de VIH es un retrovirus esférico de 90-100 nm de diámetro. Está cubierto por una membrana compuesta de dos capas de lípidos, la cual se deriva de la membrana de la célula huésped. Esta membrana está constituida por dos glicoproteínas, la gp 41 y la gp 120. Esta membrana protege a la región central del virus (cápside), la cual está constituida por proteínas llamadas p 24 y p 18, también contiene al genoma viral (una hebra de ARN en forma helicoidal) y a la enzima transcriptasa inversa (9).

El genoma mide aproximadamente 9 kb y tiene 3 genes estructurales localizados entre las secuencias terminales largas (LTR's), en donde existen elementos reguladores.

El gen gag codifica secuencias polipeptídicas pequeñas asociadas con la cápside del virus, esta incluye la proteína p 55, p 17, p 24 y p 15 (9).

El gen pol codifica las enzimas necesarias para la replicación e integración del genoma de la célula huésped (p 66/ 51-transcriptasa inversa, p 31-endonucleasa integrasa).

El gen env codifica una cadena polipeptídica muy larga glicosilada (gp 160), la cual es procesada para formar una proteína transmembranaria (gp 41) y una glicoproteína exterior (gp 120) (9).

El control de la replicación lo realizan ocho genes muy importantes. Cada gen regulador codifica una proteína que interactúa específicamente con fracciones de lectura (ORF's) y otros genes de respuesta sensible del mismo genoma (9).

Entre los genes reguladores están:

#### a. Gen TAT:

Es un activador responsable de la replicación inmediata (1000 veces más rápido). Este gen depende de una cadena corta de nucleótidos llamados TAR, el cual se encuentra al principio del genoma viral. Ambas secuencias unidas incrementan la transcripción del ARN mensajero (9).

Codifica un transactivador proteico (p 14), el cual interactua con un grupo específico de secuencias en alguna parte de la secuencia larga terminal del genoma, para estimular e incrementar la transcripción del ARN mensajero removiendo una elongación de éste (10).

b. Gen REV:

Este gen hace que se produzcan selectivamente proteínas reguladoras (p 19 y p 20) o componentes del virión. Esto incluye dos secuencias, una de ellas hace que no se haga la transcripción a proteína y la otra tiene un efecto represivo (trs). Estas secuencias están en el ARN mensajero que produce las proteínas de la envoltura, enzimas de replicación, etc... (rotura y transporte del ARN mensajero) (10).

c. Gen NEF (F, 3drf, B):

Sirve como un regulador negativo de la replicación. Este gen hace lenta la transcripción del genoma viral. El blanco de este gen se encuentra al principio del genoma viral, exactamente en la secuencia llamada NRE. Codifica a la proteína p27. Se cree que juega un papel muy importante en establecer el estado de latencia del virus (10).

d. Gen VIF o SOR:

Codifica a la proteína p24, la cual es requerida para la infectividad normal del virus (10).

e. Gen vpr o rap:

Este gen está situado entre los genes VIF y TAT. Actua como acelerador del ciclo de replicación. Codifica la proteína p 15 (10).



f. Gen vpu u out:

Codifica la proteína p 16, la cual afecta al ensamblaje y maduración de nuevos viriones, también aumenta la liberación de éstos reduciendo la acumulación de proteínas virales. Reduce la formación de sincitios y la muerte celular en los linfocitos CD4+. Se cree que podría aumentar el título de virus presente en la persona infectada(10).

g. Gen vpt (tev o tnv):

Codifica a la proteína p 17. No se sabe su función (10).

h. Gen vpx (X):

Este gen solo existe en los virus VIH-2 y SIV. No se sabe aún su función (10).

#### 4. Virus VIH-2:

En 1985 se identificó un patrón atípico de anticuerpos frente al virus VIH-1 en prostitutas de Senegal asintomáticas. Sin embargo, estas muestras reconocían los antígenos del virus de inmunodeficiencia de los simios (SIV) (11).

En 1986 se comunicó el aislamiento de un nuevo virus, al que le denominaron HTLV-IV/ VIH-2.

La similitud del VIH-2 con el VIH-1 se da en su morfología, su tropismo celular, su efecto citopático in vitro sobre los linfocitos CD4+ y su organización genómica (11).

Los genes gag y pol son los más conservados estructuralmente y presentan una homología de las secuencias nucleotídicas del 56% y 66% respectivamente. La homología de las secuencias de los aminoácidos es del 60% para los genes

gag y pol. El gen env muestra una homología de secuencias inferior al 40% entre ambos virus (11).

Se han descrito más de 560 casos de infección por el virus VIH-2 en Europa y alrededor de 30 casos en Estados Unidos, generalmente entre inmigrantes africanos o en nativos que han viajado a Africa.

El VIH-2 es menos virulento que el VIH-1, pero tiene los mismos mecanismos inmunopatogénicos del VIH-1. Esto quiere decir que también ocasiona SIDA (11).

##### 5. Vías de transmisión:

Existen basicamente cuatro rutas de contagio:

- a) relaciones sexuales con alguna persona infectada por el virus VIH,
- b) exposición con sangre infectada o por transfusiones sanguíneas,
- c) de madre a feto,
- d) por compartir o usar repetidamente agujas contaminadas (drogadictos).

Estudios epidemiológicos aseguran que no se transmite por contacto "casual" en el hogar o en el trabajo. De igual manera no se propaga por los alimentos y el agua, por estornudos o tosiendo ni por picaduras de insectos, piscinas o retretes (12).

Actualmente se transmite más por medio de relaciones sexuales heterosexuales. Se ha determinado que el riesgo de contagio de una mujer infectada a un hombre no infectado es menor que el de un hombre infectado a una mujer no infectada. Esto es porque los órganos sexuales femeninos son más susceptibles de sufrir pequeñas lesiones por donde el virus ingresa fácilmente a la sangre (12).

La transmisión del VIH lleva siempre aparejada el haber estado expuesto a los humores orgánicos de una persona infectada. La dosis o cantidad de virus,

la vía de exposición y su duración pueden influir sobre las probabilidades de contraer la infección. El VIH se ha aislado de varios humores orgánicos la mayor concentración viral se ha encontrado en sangre, semen, y líquido cefalorraquídeo. Con menos frecuencia se han localizado concentraciones menores en lágrimas, saliva, leche materna, calostro, orina y secreciones vaginales (13).

La tasa de riesgo de la población guatemalteca se estima que es de 58 por cada 100,000 habitantes, si se toma en cuenta que la población para el presente año y la capacidad variable de infectividad que tienen las personas con o sin manifestaciones clínicas, o quienes ya fallecieron, pudieron infectar a otras personas por cualquier vía de transmisión conocida (13).

Algunas medidas de prevención son: - el uso de condones, reducción del número de compañeros sexuales, esterilización de agujas y jeringas, medidas para evitar el embarazo en las mujeres infectadas (14).

#### 6. Factores de riesgo:

En general tres son los factores más importantes que determinan el riesgo y severidad de la infección: 1. infectividad y virulencia del virus, 2. la cantidad del inóculo, 3. susceptibilidad del huésped.

Varios estudios clínicos sugieren que algunas enfermedades de transmisión sexual, pueden facilitar la propagación de la infección por VIH, es decir pueden ser factores de riesgo (14).

Otros factores de riesgo son:

##### a) Úlceras genitales:

Se ha demostrado en varios estudios que en exudados de úlceras genitales, se observa una infiltración linfocítica, además de lesiones sangrantes, los cuales facilitan la penetración del virus VIH.

Los agentes causantes de estas úlceras son *Haemophilus ducreyi* *Treponema pallidum* y *Herpes simplex*.

El virus del herpes está relacionado con el estímulo de la replicación del virus de VIH. Existe una teoría, la cual explica como puede ayudar a lo dicho anteriormente. El virus del herpes puede transactivar al virus de VIH en su secuencia larga terminal y así empezar a replicarse (15).

b) Infección por Chlamydia trachomatis y por Neisseria gonorrhoeae:

Se observa una infiltración mononuclear (células plasmáticas, linfocitos CD4+ y CD8+, e histiocitos) en el endocervix con microulceraciones del epitelio endocervical, lo cual favorece al virus de VIH, por tener preferencia de infectar a estas células (15).

### **C. Linfocitos:**

El linfocito es la célula predominante del sistema linfoide. Los dos tejidos linfoides centrales de los mamíferos son la médula osea y el timo. Los nódulos linfáticos, el bazo, las amígdalas, el tejido linfoide intestinal (placas de Peyer) constituyen los tejidos linfoides periféricos (16).

#### **1. Morfología:**

Los linfocitos se dividen en dos grupos T y B. Se derivan de los linfoblastos presentes en la médula osea y luego penetran en el torrente sanguíneo donde representan el 20-30% de los leucocitos circulantes.

Los linfocitos se clasifican por tamaños, la variedad más pequeña mide de 6-10 um de diámetro, mientras que la mayor mide de 10-20 um. En ocasiones también se designa una clase intermedia.

Todos los linfocitos tienen un núcleo redondo o con una sola muesca. Ese núcleo es voluminoso en comparación con el citoplasma, el cual se ve como un simple halo en torno al primero (16).

En los linfocitos grandes el citoplasma constituye una porción más significativa del volumen celular total. El núcleo de estas células se caracteriza por un agrupamiento irregular de cromatina dispuesta a modo de filamentos intensamente coloreados, lo que le da un vago aspecto de rueda de rayos. El citoplasma es ligeramente basófilo porque contiene muchos ribosomas.

En las micrografías electrónicas de los linfocitos se aprecian unas cuantas mitocondrias citoplasmáticas y pocos lisosomas (17).

Los estudios sobre longevidad de los linfocitos de casi todas las especies de mamíferos los dividen en dos fracciones: -los de vida corta ( en su mayor parte linfocitos grandes), que mueren en 5 o 7 días y los linfocitos pequeños, cuya longevidad es de meses o hasta años (17).

## **2. Proceso Tímico:**

El Timo humano es un órgano plano, bilobulado, está debajo de la glándula tiroidea a lo largo del cuello y se extiende hasta el interior de la caja torácica. Se puede considerar como un saco de células epiteliales relleno de linfocitos T. Los linfocitos T migran de la médula osea a la corteza del timo. Aquí los linfocitos se dividen rápidamente y luego migran a la médula tímica donde se lleva a cabo la diferenciación sin que ocurra división celular. Luego los linfocitos son liberados a los tejidos linfoides periféricos, donde circulan libremente y nunca retorna al timo (17).

## **3. Marcadores de superficie de linfocitos T:**

Los linfocitos T inmaduros se identifican en la médula osea por la presencia de la enzima desoxinucleotidiltransferasa terminal (tdt).

La mejor manera de describir la maduración de los linfocitos T es haciendo referencia a las proteínas superficiales que sirven como marcadores en ellos, los cuales se conservan o se pierden durante las distintas fases del proceso de maduración (18).

En la actualidad están en uso varios sistemas diferentes de nomenclatura para nombrar a estos marcadores de superficie.

a) Sistema Murino:

El linfocito T murino inmaduro presente en la sangre del ratón, después de salir de la médula ósea es posible identificarla por la presencia en la superficie de proteínas Qa2 y TL o Tla. Cuando el linfocito T joven entra en la región cortical del timo pierde su enzima tdt y sus proteínas TL y Qa2, pero empieza a expresarse la proteína Qa3 y el antígeno Thy 1 (marcador universal de todos los linfocitos T del ratón).

Las proteínas marcadoras Lyt 1-2-3 se observan en todos los linfocitos Thy 1+ del timo. Los linfocitos Lyt 1+ tienden a ser células que cooperan con los linfocitos B y otros linfocitos T en contra del antígeno (linfocito T ayudador) y los linfocitos con el marcador de superficie Lyt 2+ tienen actividad citotóxica (linfocito T citotóxico) (18).

b) Sistema Humano:

Se ha utilizado una extensa batería de anticuerpos monoclonales para identificar los antígenos superficiales denominados con la letra T seguida de un número del 1 al 11.

Todos los linfocitos maduros tienen las proteínas de superficie T1, T3, T10, y T11, de las cuales sólo la T3 y la T11 tienen funciones identificadas.

Los marcadores de superficie T6 y T9 están presentes en los timocitos, aunque se pierden cuando entran al torrente sanguíneo (18).

El T4 es un marcador para los linfocitos T cooperadores y el T8 para los linfocitos T citotóxicos.

Se ha utilizado una segunda batería de anticuerpos monoclonales para la identificación de los distintos subtipos funcionales de linfocitos T a las que se denominan con la abreviatura Leu. Los linfocitos T4 equivalen a Leu 3 y los linfocitos T8 equivale a Leu 2.

Recientemente la OMS sugirió que se usara la abreviatura CD. Este término se refiere a grupos de diferenciación ( cluster of differentiation). El CD equivale al sistema T, así que los linfocitos T4 son los CD4+ y los linfocitos T8 son los linfocitos CD8+ (18).

#### 4. Hormonas Tímicas:

La diferenciación y maduración de los linfocitos T son regulados por varios péptidos llamadas hormonas tímicas, las cuales son:

##### a) Timosina alfa-1:

Es una mezcla de 15 o más proteínas, y su punto isoeléctrico es de 4.2. Se sintetiza en el timo. Es termoestable, quizá porque no contiene cisteína y carece de puentes de disulfuro. Su función más importante es elevar el número de linfocitos T4 (18).

##### b) Timulina:

Es la más pequeña de las hormonas tímicas . Tiene un peso molecular de 859 y está formada por 9 aminoácidos. Su punto isoeléctrico es de 7.3. Se sintetiza en los corpusculos de Hasall del timo. Su función es inducir la aparición del antígeno Thy 1, incrementa la formación de rosetas por los linfocitos y reduce la población de linfocitos T8 (18).

##### c) Timopoyetina II:

Es la mayor de las hormonas tímicas, tiene un peso molecular de 5,562. Es una proteína termoestable formada por 49 aminoácidos. Entre sus actividades está la capacidad de inducir la expresión de los antígenos Thy 1 y Lyt en los

linfocitos inmaduros. Estos linfocitos son positivos en lo que respecta a la actividad tdt hasta que se les une la timopoyetina, entonces maduran y pierden esa enzima al mismo tiempo que expresan los antígenos típicos de los linfocitos maduros (18).

**d)Factor del Suero:**

Es un péptido pequeño presente en la sangre humana que puede sustituir la actividad estimulante de linfocitos T del timo (18).

**e) Factor Tímico Humoral:**

Es una proteína termolábil que consta de 31 aminoácidos. Su función es subsanar el déficit de linfocitos T y aumentar la actividad de linfocitos T4. También promueve la respuesta a las lecitinas para linfocitos T (18).

**5. Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC):**

Es el conjunto de genes estructurales asociados con los antígenos de la respuesta inmune en transplantes y con las proteínas del sistema del complemento. En el humano los antígenos de histocompatibilidad humana se les denomina HLA. Está presente en todas las células nucleadas del cuerpo (18).

Los linfocitos T que reconocen los determinantes de histocompatibilidad de clase I tienen una superficie antigénica de membrana que reacciona con un anticuerpo monoclonal llamado CD8+. Los linfocitos T que reconocen al determinante de histocompatibilidad de clase II tienen la superficie antigénica de membrana que reacciona con un anticuerpo monoclonal llamado CD4+(18).

**6. Funciones generales de los linfocitos T:**

Los linfocitos T contribuyen de varias formas en el sistema inmunológico. Los linfocitos T4 o cooperadores, su función principal y esencial es activar a los linfocitos B, a otros linfocitos T, a las células Natural Killer y a los macrófagos.



Los linfocitos T4 activados producen una sustancia llamada Interleucina-2, la cual estimula la proliferación de los linfocitos T.

La cooperación de los linfocitos T ayudadores con los macrófagos está restringida al determinante de histocompatibilidad de clase II, esto hace que los macrófagos adquieran sus propiedades microbicidas. Los linfocitos T8 o citotóxicos funcionan como células asesinas (18).

#### **7. Marcadores comerciales de superficie de linfocitos T4 y T8:**

Los anticuerpos monoclonales comerciales reaccionan con epítomos específicos de los linfocitos y la unión de éstos se identifica usando un segundo anticuerpo marcado con peroxidasa o fluoresceína (conjugado).

Recientemente se han desarrollado dos anticuerpos monoclonales, los cuales permiten la diferenciación de dos subpoblaciones de linfocitos T, los cuales son:

CDW29 - (T- 4B4, anti Leu -17) ----- Inductor de linfocitos T cooperadores.

CD45R (F2H4) ----- Inductor de linfocitos T citotóxicos.

Los anticuerpos comerciales están clasificados en cinco grupos por el tipo de antígeno que reconocen: -Antígeno Pan-T (CD2, CD3, CD5).

-Antígeno de diferenciación de linfocitos T (CD1, CD6, T10)

-Antígenos inductores / linfocito T cooperador ( CD4-T4, anti-Leu-3a, OKT4, T4B4, T2H4, TQ1).

-Antígenos supresores / linfocito T citotóxico (CD8).

-Antígeno de activación (HLA-DR, CD5, T9). (18).

#### **D. Inmunopatogénesis del virus VIH:**

El blanco más importante del virus VIH son los linfocitos CD4+. Recientemente se descubrió que el receptor complementario de este virus es el complejo mayor de histocompatibilidad de clase II de los linfocitos CD4+, por esta razón el virus tiene bastante afinidad por infectar a estas células.

Es importante saber que el virus no se replica mientras los linfocitos CD4+ no se activen. El virus está en constante mutación. En varios estudios se ha demostrado que en promedio una mutación se hace por cada ciclo de replicación (19).

### 1. Ciclo de replicación del virus:

El ciclo de infección empieza cuando las partículas de VIH se asientan en la superficie celular de los linfocitos CD4+. La proteína gp 120 de la envoltura viral se une al receptor CD4 + de estos linfocitos. El virus penetra al linfocito por el mecanismo de endocitosis o por fusión directa. La enzima Polimerasa convierte la información genética viral en ADN proveniente del ARN viral.

En asociación con la enzima Ribonucleasa, destruyen el ARN original y la Polimerasa produce una segunda copia de ADN. A estas dos enzimas se le llama Transcriptasa inversa (19).

La hebra doble de ADN viral, migra al núcleo del linfocito infectado. Una tercera enzima viral, llamada Integrasa divide el genoma viral e integra la información dentro del ADN de la célula huésped. En este momento se le da el nombre de "provirus". Las nuevas partículas virales se producen por transcripción y traducción normal (19).

La segunda parte del ciclo es la producción de nuevas partículas virales y se lleva a cabo esporádicamente y no en todas las células infectadas.

Comienza cuando un nucleótido de la secuencia terminal larga (LTR's) se repite, luego se empieza a copiar el ADN viral en ARN. Los viriones son hechos en varias copias de dos diferentes proteínas. Estas dos proteínas migran a la periferia interna de la célula huésped (19).

Un ácido graso al final de cada proteína se engacha en la membrana celular y se unen unos con otros y forman una estructura esférica. Después una enzima llamada Proteasa, corta la cadena de proteínas y une otras enzimas como a la ADN -polimerasa, Ribonucleasa e Integrasa.

El virión completo se envuelve con la membrana celular. Uno de los componentes de la envoltura del virión contiene la glicoproteína 120 y la glicoproteína 41. Estas dos son indispensables para infectar a otros linfocitos CD4+.

Luego se produce la destrucción de los linfocitos CD4+ infectados. Se cree que se debe a que se forman unos microagujeros en la membrana del linfocito y por consiguiente se altera la permeabilidad del calcio, junto con la incorporación de la proteína de la envoltura dentro de la membrana del linfocito y la acumulación de ARN viral (19).

El virus de VIH no solo infecta a los linfocitos CD4+, si no que también puede infectar a los macrófagos, células de microglia y a otros linfocitos B, pero esto lo hace en menor grado.

En el siguiente párrafo se enumeran varias anormalidades inmunológicas en forma general que son secundarias a la falta de señales inductivas de los linfocitos CD4+ y de otras células inmunológicas:

\*Disminución de la relación T4/T8.

\*Aumento relativo de linfocitos T8.

\*Aumento de la Beta-2-microglobulina (proteína de la superficie de todas las células nucleadas).

\*Disminución de la respuesta Citotóxica.

\*Hipergamaglobulinemia policlonal con dos o tres elevaciones en el suero de los niveles de IgG, IgA e IgM.

\*Defectos en la función de quimiotaxis de los macrófagos.

\*Disminución de la respuesta a alfa-interferón y de receptores de Interleucina-2 (IL-2).

\*Aumento de alfa-timosina.

\*Niveles bajos de Timulina (19).

### **E. Etapas del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida:**

El paciente VIH positivo se enfrenta a varias etapas de la infección, las cuales pueden ser:

#### **1. Síndrome agudo (Infección primaria):**

Puede presentarse como una enfermedad aguda febril semejando un simple resfriado o un síndrome mononucleósico en un 30 a 40 % de los casos, aunque a menudo pasa inadvertido. Paulatinamente a los 20-30 días del contagio, en la mayor parte de pacientes se les puede detectar antígeno p 24 circulante. Luego van apareciendo los diferentes tipos de anticuerpos (1-3 meses) e inmunidad celular, lo que coincide con la desaparición del antígeno p24 y un descenso drástico del título de virus circulantes y de linfocitos infectados (20).

Los síntomas más frecuentes son: fiebre, sudoraciones, mialgias, artralgias y cefalea.

Otros pacientes pueden manifestar dolor de garganta, adenopatía, anorexia, náusea, vómitos y rash maculopapular. Es importante mencionar que este tipo de paciente es altamente infeccioso (20).

#### **2. Portador asintomático:**

La persona es positivo en pruebas de tamizaje y en Western Blot, y no presenta ningún tipo de sintomatología, pero es altamente infeccioso. Esta fase generalmente dura varios meses o años, todo depende del tipo de contagio. Por ejemplo en recién nacidos puede desarrollar la infección en unos seis meses y las madres de 1 a 3 años. Para las personas que se infectaron por transfusión desarrollan la enfermedad en unos 4 años (20).

#### **3. Paciente con complejo relacionado con SIDA (CRS):**

El concepto de CRS no está muy bien definido, algunos autores ya no lo utilizan (actualmente se incluye como caso de SIDA), pero los que sí, lo incluyen dentro de lo que es la etapa de linfadenopatía generalizada

(crecimiento de los nódulos linfáticos de un centímetro que persiste por 3 meses). Además el paciente puede manifestar diarrea, cuello rígido, dolores severos, urticaria, pérdida de peso, dolores abdominales. Cerca del 7% al 19% de los pacientes con CRS desarrollan SIDA aproximadamente al año (20).

#### 4. Fase Final (SIDA e infecciones Oportunistas):

El incremento de la actividad replicativa del virus de VIH coincide clínicamente con la aparición de una severa alteración del estado general, de infecciones oportunistas, de ciertos tipos de neoplasias y trastornos neurológicos. A partir de este momento el paciente tiene SIDA, el cual arroja un índice de letalidad hasta del 80% a los dos años de diagnóstico. A continuación se describen las infecciones oportunistas más frecuentes en estos pacientes:

##### a. Neumonía causada por *Pneumocystis carinii*:

*Pneumocystis carinii* es un microorganismo de posición taxonómica dudosa, pero está clasificado como un protozoo de clase *Sporozoea*, subclase *Coccidia*. Tiene tres estadios de desarrollo: trofozoito, prequiste y quiste, que se pueden poner de manifiesto según diferentes tinciones.

Este microorganismo causa neumonía en pacientes con SIDA. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son: fiebre, tos no productiva y disnea en reposo. Es una infección de progresión rápida (20).

El diagnóstico de laboratorio se puede hacer tomando una muestra de esputo inducido con un nebulizador ultrasónico con suero salino hipertónico, tomando una biopsia pulmonar o realizando un lavado broncoalveolar.

Las técnicas diagnósticas son:

\* Tinciones: -Plata -metenamina de Gomori ( tinte de negro a los quistes).

-Giemsa (tinte de morado a los quistes, trofozoitos y fases intermedias).

- Diff Quick o Giemsa modificado (tiñe a los trofozoítos).
- Azul de Toluidina ( tiñe de azul oscuro a los quistes).
- Gram- Wiegart ( tiñe de azul a los quistes).
- Papanicolaou (tiñe al cilindro alveolar de un color azul-grisaseo y los quistes son transparentes).
- Calco fluor blanco (tiñe fluorescente) (20).

\* Inmunofluorescencia directa (IFD) con anticuerpos monoclonales.

\* Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).

\* Detección de ADN mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR).

El diagnóstico también debe apoyarse mediante una radiografía de torax del paciente.

El tratamiento de elección es el Trimetoprin sulfametoxazol por 10 a 21 días. Si el tiempo del tratamiento se prolonga , este medicamento puede causar fiebre, rash, prurito, dolor de cabeza, nauseas, vómitos, leucopenia, nefritis , elevación en suero de las aminotransferasas, y disminuir un poco la presión arterial (20).

Una terapia profiláctica temprana es recomendable a los pacientes que tengan un recuento de linfocitos CD4+ abajo de 200 células / mm cúbico (20).

#### b. Sarcoma de Kaposi:

Es la neoplasia más frecuente en pacientes con SIDA. Se caracteriza por la aparición de máculas, placas o nódulos generalmente palpables, de distinto tamaño (de milímetros a varios centímetros), en la mitad superior del cuerpo: cabeza, cuello y la mucosa oral, principalmente palatina y en tracto intestinal. Las lesiones son dolorosas en la etapa temprana de la enfermedad (20).

El tratamiento es con alfa- interferón de 10- 20 MU por vía intramuscular / día por un período de 3 meses y luego por días alternos combinado con Vinblastina 4-8 mg /semana IV. Estos medicamentos pueden aliviar un poco y ofrecer a los pacientes una supervivencia de hasta 3 años (20).

c. Linfomas:

Se ha determinado que el virus de Epstein Barr tiene un rol muy importante en la patogénesis de estos linfomas. Se presentan en estadíos avanzados en el 60-95% de los casos, con frecuente afección extraganglionar. Las localizaciones extraganglionares más frecuentes son la médula osea, sistema nervioso central, tubo digestivo e hígado.

Las manifestaciones clínicas más frecuentes son confusión, letargia y alteraciones de la atención y de la memoria.

En la tomografía computarizada se observan como lesiones hipodensas de límites mal definidos, con edema y en general sin efecto de masa. Se localizan especialmente en los lóbulos parietal y frontal, ganglios de la base, cerebelo y protuberancia (20).

El tratamiento consiste en la administración de quimioterapia semiintensiva combinada con factores de crecimiento hematopoyético ( GM-CSF o G-CSF) para atenuar la toxicidad en médula osea( 20).

d. Toxoplasmosis:

El *Toxoplasma gondii* es un coccidio del suborden *Eimeriina* , familia *Sarcistidae*, Infecta al hombre bajo dos formas: Trofozoíto intracelular o forma proliferativa (taquizoíto), y quistes hísticos que contienen bradizoítos. Es la infección más común del sistema nervioso central de los pacientes con SIDA (20).

Los hallazgos clínicos y síntomas más comunes son: cisturas focales o difusas, nodulos múltiples o solitarios (vistos por tomografía computarizada), defectos neurológicos como ataques y trastornos cognoscitivos, fiebre, dolor de cabeza, encefalítis, letargia y confusión.

El diagnóstico se establece por medio de una biopsia cerebral para hacer una evaluación histopatológica, tinción de inmunoperoxidasa y un cultivo. También con la demostración de toxoplasmas en líquido cefalorraquídeo,

detección de antígeno con un ELISA, con inmunofluorescencia, o serología IgG e IgM.

El tratamiento es una combinación de clindamicina más Piremetamina (20).

e. Infección por *Cryptosporidium* sp.:

Es un coccidio del suborden *Eimeriina*, familia *Cryptosporidae*. Es de distribución universal. Causa enteritis, localizándose el parásito en las microvellosidades intestinales a nivel intracelular, extracitoplásmico. Los ooquistes que se excretan con las heces son infectivos. Provoca diarrea profusa que puede llevar a una mala absorción e inanición. Ocasionalmente se puede encontrar el parásito en los pulmones y vesícula biliar. El diagnóstico se hace con un exámen directo de heces mediante la técnica de flotación de sucrosa o de Sheater. Las tinciones que se utilizan son Kinyoun y Ziehl-Neelsen (20).

No se ha encontrado un tratamiento específico por lo que se les da a los pacientes un tratamiento de soporte como antidiarreicos y sueros orales.

f. Infección por *Isospora belli*:

Es un coccidio del suborden *Eimeriina*, familia *Eimeridae*. El desarrollo del parásito en el intestino es intracelular y libera ooquistes inmaduros que completan su maduración fuera del organismo.

También provoca diarrea profusa. Para facilitar la visualización de los ooquistes es preferible recoger las heces después de un período de 3 días de dieta exenta de fibras vegetales y féculas. Es recomendable efectuar análisis sobre 3 muestras, como mínimo, de heces de días diferentes. Estas heces se pueden ver en fresco o también hacerle tinciones de Kinyoun y Ziehl-Neelsen. Para una mejor muestra es recomendable efectuar la técnica de concentración de sucrosa (20).

El tratamiento de elección es cotrimoxazol y rehidratación oral (20).



g. Candidosis: (*Candida albicans*) :

La infección más común en pacientes con SIDA es la candidosis oral. Se manifiesta en forma de placas blanquecinas (muguet) sobre la mucosa oral, labial y mucosa palatina. Puede estar en el esófago en donde puede causar dolor y dificultad para tragar.

El diagnóstico se establece por medio de un cultivo en un medio de Sabouraud.

En los primeros estadíos de la enfermedad es efectivo el tratamiento con Nistatina oral, pero va perdiendo efectividad a medida que ésta progresa. En este caso se puede tratar al paciente con Clotrimazol o Ketoconazol (20).

La candidosis sistémica se puede manifestar como nódulos subcutáneos de predominio en zonas pilosas (barba y cuero cabelludo). El tratamiento de elección en estos casos es con Fluconazol o Anfotericina B por vía Intravenosa (20).

h. Meningitis Criptococcica:

Puede manifestarse con fiebre, dolor de cabeza severo y cambios mentales. El *Cryptococcus neoformans* se puede aislar de la sangre, pulmones y otros órganos.

El diagnóstico se establece extrayéndole al paciente 3 mililitros de líquido cefalorraquídeo. El sedimento se utiliza para efectuar el cultivo y las extensiones colorearlas con tinta china en una dilución 1:3. Esta tinción permite visualizar la región cápsular del hongo.

También existen pruebas serológicas donde se obtienen títulos bastante altos de antígeno capsular.

El tratamiento se inicia con Anfotericina B y luego se sigue con Fluconazol unos 10 a 15 días (20).

Existen otras infecciones fúngicas que atacan a los pacientes con SIDA y que no son tan frecuentes: -Histoplasmosis, Coccidiomicosis y Aspergellois.

i. Infección por Mycobacterias:

La infección por *Mycobacterium tuberculosis* en pacientes con SIDA , al principio puede pasar inadvertida clínicamente, la sensibilidad a la tuberculina aparece al cabo de unas semanas.

Entre los síntomas estan: tos, fatiga, fiebre, pérdida de peso, ronquera, dolores torácicos y hemoptísis (20).

El diagnóstico se puede establecer con una muestra de esputo en donde se realiza un frote y se tiñe con Zielh-Neelsen. También se emplea un poco de esputo para un cultivo en Lowenstein Jensen.

En las radiografías de torax se puede observar una infiltración pulmonar, cavernas o fibrosis.

El tratamiento de elección es con Isoniacida 300 mg / día por 9 meses o bien se puede emplear la Rifampicina 600 mg/ día por 9 meses (20).

Existe otra Mycobacteria que provoca diarrea, dolores abdominales, masas de nódulos mesentéricos palpables, anorexia, fiebre, pérdida de peso y disfunción gastrointestinal en los pacientes con SIDA. Esta es *Mycobacterium avium-intracellulare* , la cual se puede aislar de esputo, sangre, orina y heces. El diagnóstico es el mismo que para *M. tuberculosis*. Puede afectar otros órganos como el hígado, bazo, ganglios linfáticos, pulmones y médula osea.

El tratamiento de elección es Ciprofloxacina 750 mg cada 12 hrs o Etambutol 15 mg/ día más Rifampicina 600 mg/ día (20).

Entre otras infecciones bacterianas que afectan a los pacientes con SIDA son:

Gastroenteritis, sepsis-----provocado por *Salmonella sp.*

Colitis, bacteremia-----provocado por *Shigella sp*

Enterocolítis-----provocado por *Campylobacter sp.*

neumonía-----provocado por *S. pneumoniae.*

Bacteremia-----provocado por *H. influenza.* (20).

j. Infección por Herpes: (*Herpes simplex* y *Herpes zoster*):

La infección puede presentarse en distintas formas: en algunos casos en la forma clásica de vesículas arracimadas, sin embargo en otras pueden aparecer úlceras profundas y dolorosas. Estas lesiones se pueden localizar en los labios de la boca y en regiones perianal y genital (20).

El tratamiento de elección es Aciclovir 200-400 mg/día por 7 días (20).

k. Infección por Citomegalovirus:

Este virus está relacionado con la retinitis. Afecta al 20% de los pacientes con SIDA, si no es tratada a tiempo puede ser una infección progresiva y destructiva que puede llevar al paciente a la ceguera. En el examen clínico del fondo del ojo se puede observar zonas retinianas blanquecinas con bordes bien delimitados que se extienden de forma centrífuga, siguiendo los vasos sanguíneos y que se asocia con vasculitis retiniana, hemorragia y necrosis. El diagnóstico se puede establecer mediante un examen histológico y citológico (20).

Existen dos drogas para el tratamiento de esta infección: Ganciclovir 5 mg cada/12 hrs por vía intravenosa por 14 días y Foscarnet 60 mg cada 8 hrs por 14 días.

Otras infecciones virales que atacan al paciente con SIDA son: Hepatitis A, B, no A no B y virus de Epstein Barr.

**F. Pruebas diagnósticas para el virus VIH:**

Las pruebas de laboratorio son un componente esencial para el diagnóstico y manejo de los pacientes infectados con el VIH, para el tamizaje de donadores en los bancos de sangre, en estudios de vigilancia epidemiológica de la enfermedad y para la investigación de VIH y SIDA (21).

Además se han implementado exámenes que evalúan el estado inmune del paciente al momento del diagnóstico (recuentos totales de linfocitos CD4+), los cuales son utilizados para el monitoreo de la enfermedad y la terapia antiviral (21).

Los métodos utilizados para reconocer las infecciones por retrovirus pueden clasificarse en directos e indirectos, según persigan demostrar la presencia del virus o sus constituyentes, o bien la respuesta de anticuerpos específicos por parte del huésped. La elección de la prueba o de la combinación de pruebas más adecuado depende de tres criterios:

- el objetivo de la prueba.
- la sensibilidad y especificidad de las pruebas
- la prevalencia de la infección en la población en estudio (21).

La seropositividad se define por la demostración de anticuerpos frente a las proteínas virales.

Las pruebas de diagnóstico del virus VIH más comunes son:

#### 1. Pruebas de Tamizaje:

La prueba de tamizaje más aceptada y difundida es el ELISA, aunque existe gran variedad de exámenes con diferentes principios, como la aglutinación de partículas de gelatina o látex y recientemente pruebas en tiras reactivas (21).

El ELISA (Ensayo Inmunoenzimático Ligado a Enzimas) es una prueba que utiliza antígenos de un extracto del virus completo (primera generación), o antígenos recombinantes obtenidos mediante técnicas de biología molecular o síntesis química (segunda generación), o de péptidos sintéticos que reproducen epitopos muy inmunogénicos del virus (tercera generación), fijados a una fase sólida (usualmente pozos de placas de microtitulación o perlas); para luego enfrentarlos al suero del paciente y permitir la reacción antígeno-anticuerpo.

Esta reacción es evidenciada mediante la adición de un conjugado anti-globulina humana (prueba indirecta) o anti VIH (prueba competitiva),

marcada con una enzima peroxidasa o fosfatasa alcalina, la cual, es capaz de producir un producto coloreado al actuar sobre un substrato específico (21).

El color desarrollado en esta reacción, es medido en un espectrofotómetro y la densidad óptica (DO) es proporcional (directa o indirectamente de acuerdo al método), a la cantidad de anticuerpo presente en la muestra.

El ELISA que utiliza el principio de captura de antígeno, difiere únicamente en que la proteína fijada a la fase sólida es un anticuerpo monoclonal anti-VIH y el antígeno se encuentra en solución (21).

Los ELISA de segunda y tercera generación son más específicos que los de primera generación.

Las pruebas de tamizaje poseen una alta sensibilidad y especificidad. En Guatemala donde la prevalencia es menor del 1%, la posibilidad de detectar falsos positivos es mayor que en países donde la prevalencia es del 20% (22).

Las pruebas de ELISA para la detección de anticuerpos VIH-1 utilizadas en los bancos de sangre reconocen un 60 -91% de los sueros que son positivos para el virus VIH-2. Las pruebas de ELISA de tipo competitivo presentan un menor grado de reacciones cruzadas que las de tipo indirecto, y las pruebas de ELISA diseñadas con péptidos sintéticos discriminan mejor la infección por uno u otro virus (22).

Se han desarrollado pruebas de ELISA para la detección simultánea de anticuerpos frente al VIH-1 y VIH-2. Su sensibilidad y especificidad para reconocer anticuerpos VIH-1 es similar a la que tienen las pruebas de ELISA exclusivas para VIH-1, además permiten detectar todas las muestras VIH-2 positivas (23).

## **2. Pruebas confirmatorias:**

Las pruebas confirmatorias poseen un mayor grado de especificidad que las pruebas de tamizaje y permiten de esta manera demostrar los falsos positivos detectados por el ELISA.

Entre las pruebas confirmatorias estan: -Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), -Ensayo de Radioinmunoprecipitación (RIPA), Western Blot (WB).

El Western Blot es la prueba más utilizada. Los antígenos del VIH son separados por medio de electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE), subsecuentemente transferidos a papel de nitrocelulosa y luego enfrentados a los anticuerpos presentes en el suero de pacientes infectados. La última etapa es un procedimiento muy similar al ELISA, con la diferencia que los antígenos del VIH estarán separados y concentrados en una tira de papel, los que permite que este test sea altamente específico (23).

Existe consenso en que un WB negativo, es aquel en el que no existe ninguna banda positiva (ausencia total de bandas), sin embargo, se aplican diferentes criterios para la identificación de un resultado positivo o un resultado indeterminado.

Los centros de control de enfermedades de Atlanta requieren de al menos dos bandas positivas de p 24, p 41, p 43 o gp 120/ gp 160. La Administración de Drogas y Alimentos (FDA) requiere que p 24 y p 23 sean positivos y gp 41, gp43 o gp 120/gp160. La Cruz Roja requiere al menos una banda positiva de cada uno de los genes estructurales env,pol, y gag . Los criterios de positividad de la OMS para el WB del virus VIH-2 exigen la presencia de al menos dos bandas de la envoltura (23).

Los sueros de personas infectadas que salgan indeterminados, deberan hacerse otra vez la prueba despues de transcurridas por lo menos dos semanas , desde la toma de la primera muestra.

En individuos con infección confirmada por VIH-1 puede ser difícil establecer la positividad serológica para VIH-2 por la presencia de reactividad cruzada (23).

Todas las muestras corridas con ELISA repetidamente positivas deben ser analizadas mediante una prueba confirmatoria, generalmente el WB. El número de falsos positivos se han descrito en individuos con enfermedades

autoinmunes, o que tienen historia de múltiples gestaciones o de politransfusiones y por la presencia de anticuerpos frente a algunos antígenos HLA de clase II (23).

En consecuencia, un resultado positivo de ELISA, no debe informarse al paciente hasta no estar confirmado por WB u otro método confirmatorio.

### 3. Cultivo viral:

Esta técnica se ha empleado junto con la detección del antígeno p 24 en neonatos infectados con el virus de VIH. Las técnicas de ELISA y WB se utilizan en infantes de aproximadamente 18 meses de nacidos, pero se ha comprobado que no sirven para la detección del virus en el momento del nacimiento, esto es por la presencia de anticuerpos maternos. La sensibilidad y especificidad de estos métodos varía entre los 3 meses de nacidos. Se ha demostrado que el método que sí detecta al virus de VIH en el momento del nacimiento es el cultivo viral. La replicación viral se monitorea, midiendo la producción de antígeno p 24, también se observa si hay algún cambio citopático o formación de sincitios en el cultivo. Este cultivo utiliza plasma o linfocitos de sangre periférica y se correlaciona con la severidad de la infección. El cultivo es positivo en el 0, 18, 90% de los pacientes con más de 400, 200-299 y menos de 200 linfocitos CD4+ / mm cúbico., respectivamente, siendo la dosis infectiva en los pacientes asintomáticos 100 veces inferior a la de los pacientes con SIDA. Sólo se detecta antigenemia p 24 en el 45% de los pacientes con viremia (24).

Todo esto indica que el número de linfocitos infectados durante el período neonatal es bastante bajo, probablemente la transmisión se da en los últimos meses del embarazo o durante el alumbramiento. Esto se basa en dos cosas:- En algunos casos el cultivo es positivo durante los primeros 3 meses de vida y la concentración de p 24 se incrementa durante este período.

Se ha reportado que un resultado positivo con cultivo al nacimiento, es predictor de una infección severa por VIH. También se ha demostrado que los infantes infectados intraparto, tienen un curso diferente de la enfermedad, que aquellos que se infectaron in utero (24).

#### **4. Reacción de cadena de la Polimerasa:**

Es una prueba que detecta el material genético (ARN viral) en los linfocitos infectados. Es un método con poca reproductibilidad, no se usa para diagnóstico, sino que para trabajos de investigación (24).

#### **G. Marcadores de progresión a SIDA:**

Existen varios estudios que identifican marcadores que indican de forma directa o indirecta la acción que ejerce el VIH sobre el sistema inmunológico del paciente, los cuales se han utilizado en forma independiente o en combinación.

##### **1. Marcadores generales:**

Se ha observado que la infección por VIH puede progresar a SIDA cuando aparece anemia y una velocidad de sedimentación mayor de 30 mm/hr. La aparición de anergia cutánea es un factor de progresión y refleja de forma global la inmunosupresión celular del paciente (25).

##### **2. Marcadores serológicos:**

Existe una secuencia temporal de aparición de los diferentes marcadores serológicos de la infección por VIH, después de la infección primaria:

###### **a. Antigenemia:**

La presencia de proteínas virales puede reconocerse en líquidos biológicos (suero, plasma y líquido cefalorraquídeo) durante la primoinfección en ausencia de otros marcadores circulantes de la proteína p24. Se detecta más a menudo durante la primoinfección y en los estadios avanzados de la enfermedad (25).



b. IgM:

Son los anticuerpos precoces frente al VIH. No siempre sugieren infección reciente, ya que su presencia se ha reconocido asimismo en otros estadios más avanzados (25).

c. IgG anti -env:

Son los anticuerpos que aparecen tras la primoinfección y están presentes durante toda la enfermedad. Los anti gp120 pueden decrecer y desaparecer al final (25).

d. IgG anti-cápside:

Solo se pueden reconocer con la técnica de Western Blot (25).

e. Anti p24:

El título de estos anticuerpos disminuye conforme avanza la infección y su desaparición en sujetos asintomáticos puede predecir la aparición de infecciones oportunistas y SIDA (25).

f. Anti p17:

Son anticuerpos contra la matriz nuclear p 17. Su desaparición constituye el marcador serológico más precóz de progresión a SIDA (25).

g. Anti gp 120:

En estadios finales puede desaparecer. Parece existir un mayor riesgo de transmisión manterno-fetal del VIH en madres con niveles bajos de anti gp120 (25).

#### h. Anti gp41:

Son anticuerpos frente a la glicoproteína transmembranaria gp41. Son muy específicos del VIH y están presentes en todos los estadios de la infección (25).

### 3. Marcadores inmunológicos y de actividad viral:

#### a) Linfocitos CD4+:

Es el mejor marcador biológico de progresión de la infección. Refleja el efecto citopático que tiene el VIH sobre los linfocitos CD4+. El cociente de linfocitos CD4+/CD8+ y el número de linfocitos CD4+ no solo indican la progresión de esta infección, sino que indican el momento de iniciar el tratamiento antiretroviral (menor de 500 linfocitos /mm cúbico) y la profilaxis primaria de determinadas infecciones oportunistas.

En estudios seriados de las subpoblaciones linfocitarias en hemofílicos seguidos 11 años indican que en los pacientes no tratados se produce un descenso constante del número de linfocitos CD4+, aunque con fluctuaciones, con una media de pérdida de 80 linfocitos / año.

La progresión a SIDA es más rápida en los pacientes que tienen descensos más pronunciados ( superiores a 100 linfocitos CD4+/ mm cúbico) y en los que tienen una cifra absoluta inferior a 200 células / mm cúbico (25).

#### b) Antígeno p 24:

Indica la propia actividad viral del VIH y se detecta en la primoinfección y en las fases avanzadas de la infección ( menor de 200 linfocitos CD4+/ mm cúbico). Su aparición en un paciente asintomático origina un descenso más rápido del número de linfocitos CD4+ y mayor progresión a SIDA, probablemente porque refleja una mayor destrucción celular.

Recientemente se ha comprobado que al tratar el suero de estos pacientes con ácido clorhídrico y neutralizandolo con hidroxido de sodio se detecta el antígeno p24 con más frecuencia ( 12 % con el método convencional y 51% con

el nuevo método), ya que se libera el antígeno unido a los inmunocomplejos circulantes (25).

c) Anticuerpos frente a las proteínas de la cápside (p 17, p 24):

Desaparecen en estadíos avanzados de la infección por VIH. Pueden determinarse de forma cualitativa o cuantitativa (titulación). Su desaparición es un marcador biológico de progresión (25).

**4. Marcadores que indican la activación del sistema inmunológico que produce el VIH:**

a) Beta-2-microglobulina:

Proteína de bajo peso molecular, que constituye la cadena ligera del complejo Mayor de histocompatibilidad de clase I. Esta presente en la superficie de todas las células nucleadas, incluyendo linfocitos y macrófagos. Su incremento sérico refleja la activación de estas células. En los homosexuales infectados por VIH se ha observado progresión de la infección cuando los niveles plasmáticos son mayores de 5 ug/ml ( VN: menor de 3 ug/ml). Los resultados en drogadictos son variables. Los niveles séricos también aumentan en la insuficiencia renal, otras infecciones virales, enfermedades inmunológicas y procesos linfoproliferativos (25).

b) Neopterina:

Es un metabolito del trifosfato de guanosina. Es producida por los monocitos y macrófagos estimulados con interferon gamma producido por los linfocitos CD4+ activados. En los homosexuales infectados por el VIH se ha observado progresión de la infección con niveles plasmáticos mayores de 20 nmol/ml ( VN: menor de 10 nmol/ml). También puede determinarse en orina, existiendo una buena correlación con los niveles séricos. Los resultados en drogadictos son variables (25).

c) Receptores de Interleucina 2:

Los receptores de Interleucina-2 circulantes reflejan la activación de los linfocitos CD4+ y/o monocitos, y posiblemente de los linfocitos B. Guarda correlación con la Beta-2 microglobulina y la neopterinina ( VN: en seronegativos, 53 +/- 19 U/ml y en seropositivos asintomáticos 102 +/- 59 U/ml) (25).

d) Linfocitos CD8+:

Su aumento refleja la activación del sistema inmunológico (VN: 500 +/- 150 /mm cúbico, 24 +/- 5%) (25).

e) IgA:

Su incremento refleja la activación que sufren los linfocitos B ( VN: 60-290 mg/dl) (25).

f) Otros marcadores:

El incremento del título de anticuerpos frente a CMV, el aumento de interferon gamma y del factor de necrosis tumoral (TNF) son otros marcadores de progresión (25).

Al combinar 3 de estos marcadores ( Beta-2 microglobulina, antígeno p 24 y número de linfocitos CD4+) se puede saber si un paciente tiene un riesgo alto o bajo de progresión a SIDA a los 3 años.

Otros estudios indican que el desenso del número de linfocitos CD4+ y la aparición de antigenemia p 24 son altamente predictivos de desarrollo de SIDA ( incidencia a los 2 años del 67%).

Todos estos datos confirman la necesidad de utilizar de forma rutinaria, en el manejo clínico de los pacientes infectados por el VIH, la determinación de las subpoblaciones linfocitarias conjuntamente con la Beta-2-microglobulina, la neopterinina y/o la determinación del antígeno p 24 en los pacientes con menos de 600 linfocitos CD4+ / mm cúbico ( con cifras superiores no se

detecta), con el fin de conocer el estadio clínico en el que se encuentra la infección por VIH y de iniciar el tratamiento antiretroviral y la profilaxis primaria de determinadas infecciones oportunistas (25).

### **5. Marcadores Clínicos:**

Si el paciente está asintomático, los marcadores clínicos de progresión de la infección por el VIH a SIDA son el muguet oral, la leucoplaquia vellosa y los síntomas constitucionales ( fiebre, sudoración nocturna, astenia crónica, diarrea crónica y/o pérdida de más del 10% del peso). La linfadenopatía persistente que en un principio se consideró un predictor clínico, en la actualidad no se considera así, ya que las tasas de progresión en pacientes con y sin linfadenopatías son similares. Sin embargo, la desaparición de las adenopatías por foliculosis se asocia a una progresión de la infección. El herpes zoster es un marcador precoz, diagnosticado 2-7 años antes del SIDA, pero con escaso poder predictivo. La tasa de progresión a SIDA a los 2 años es baja (25%). El muguet y la leucoplaquia vellosa aparecen generalmente más tarde que el herpes zoster, y la tasa de progresión a SIDA a los dos años es del 40%. Los síntomas constitucionales son las manifestaciones más tardías, e indican una inminente progresión a SIDA. De hecho, todos los pacientes que las presentan lo desarrollan en menos de 2 años (25).

### **H. Sistema de clasificación 1993 para infección por VIH y definición de caso para SIDA en Adolescentes y adultos:**

Los Centros para el Control de Enfermedades en Atlanta (CDC), Estados Unidos ha propuesto el sistema de clasificación para la infección por VIH enfatizando la relación de los recuentos de linfocitos CD4+ y la condición clínica del paciente. Este sistema reemplaza al publicado en 1986, que solo incluía criterios clínicos.

En 1993 se ha extendido la definición de caso, el cual incluye a las condiciones clínicas: tuberculosis pulmonar, neumonía recurrente y cáncer cervical invasivo.

Varios estudios han demostrado una fuerte asociación entre el desarrollo de infecciones oportunistas y el recuento absoluto de linfocitos CD4+ o porcentaje. Por lo que cuando el número de linfocitos CD4+ disminuye, el riesgo y severidad de las infecciones oportunistas aumenta (26).

El sistema es basado en 3 niveles de recuentos de linfocitos CD4+ y 3 categorías Clínicas:

#### **1. Categorías basadas en los recuentos de linfocitos CD4+:**

Las 3 categorías de linfocitos CD4+ son:

Categoría 1: Mayor o igual a 500 linfocitos /ul (mayor o igual 29%).

Categoría 2: 200-499 linfocitos /ul (14-28%).

Categoría 3: menor a 200 linfocitos /ul ( menor del 14%).

#### **2. Categorías Clínicas:**

Las categorías clínicas de la infección por el virus VIH son definidas como sigue:

##### **Categoría A:**

Consiste de una o más condiciones enlistadas abajo en un adolescente o adulto (mayor o igual a 13 años) con infección documentada a VIH:

-Infección por VIH asintomático.

-Linfadenopatía generalizada persistente.

-Infección por VIH (primaria) aguda con enfermedad acompañante o historia de infección aguda por VIH.

##### **Categoría B:**

Consiste de condiciones sintomáticas en un adolescente o adulto infectado con VIH en las cuales se incluyen:

- Angiomitosis bacilar
- Candidosis vulvovaginal, persistente o recurrente o con pobre respuesta al tratamiento.
- Displasia cervical (moderada o severa)/ carcinoma in situ.
- Síntomas constitucionales como fiebre (38.5°C) o diarrea persistente mayor de un mes.
- Leucoplaquia vellosa o pilosa oral.
- Herpes zoster, afectando al menos dos distintos dermatomas o episodios.
- Púrpura trombocitopénica idiopática.
- Listeriosis.
- Enfermedad inflamatoria pélvica, particularmente si está complicada con abscesos tubo ováricos.
- Neuropatía periférica.

#### Categoría C:

La categoría C incluye las condiciones clínicas siguientes:

- Candidosis bronquial, tráquea o pulmones
- Candidosis esofágica
- Cáncer cervical invasivo
- Coccidioidomicosis, diseminados o extrapulmonar.
- Criptococcosis extrapulmonar.'
- Criptosporidiosis intestinal crónica (duración mayor de 1 mes).
- Citomegalovirus ( hígado, bazo o ganglios linfáticos).
- Retinitis citomegalovirus ( con pérdida de la visión).
- Encefalopatía, relaciona al VIH.
- Herpes Simple: úlceras crónicas (mayor de 1 mes); o bronquitis, neumonitis o esofagitis.
- Histoplasmosis, diseminada o extrapulmonar.
- Isosporiasis, intestinal crónica ( mayor de un mes).

- Sarcoma de Kaposi
- Linfoma de Burkitt ( o término equivalente).
- Linfoma inmunoblástico ( o término equivalente)
- Linfoma cerebral primario.
- Complejo Mycobacterium avium o kansaii diseminado o extrapulmonar.
- Neumonía por Pneumocystis carinii
- Neumonía recurrente
- Mycobacterium tuberculosis ( pulmonar o extrapulmonar).
- Leucoencefalopatía multifocal progresiva.
- Septicemia recurrente a Salmonella sp.
- Toxoplasmosis cerebral.
- Síndrome de desgaste debido al VIH (26).

Existe una clasificación del CDC en niños menores de 13 años:

La clasificación del CDC para niños infectados por VIH contiene la clase P0 ( niños de madres infectadas pero sin evidencia clara de que ellos estén infectados) y dos clases más mutuamente excluyentes, la P1 y la P2, en las que se incluyen los niños infectados asintomáticos y sintomáticos, respectivamente (27).

Clase P0: Infección por VIH-1 indeterminada.

Clase P1: Infección asintomática.

Subclase A: Función inmunológica normal.

Subclase B: Presencia de alteraciones inmunológicas

Subclase C: No hay datos acerca de la función inmunológica.

Clase P2: Infección sintomática.

Subclase A: Hallazgos inespecíficos ( fiebre, falta de desarrollo, pérdida de peso, hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenopatías generalizadas, hipertrofia parotidea o diarrea). Debe de haber un mínimo de dos y persistir más de 2 meses.



Subclase B: Trastornos neurológicos progresivos, retraso del desarrollo, retraso del crecimiento cerebral, déficit motores progresivos y simétricos.

Subclase C: Neumopatía intersticial linfoide.

Subclase D: Infecciones asociadas al VIH.

Categoría D1: Incluidas en la definición de SIDA del CDC.

Categoría D2: Infecciones bacterianas graves y recurrentes.

Categoría D3: Otras infecciones.

Subclase E: Neoplasias asociadas a VIH

Categoría E1: Neoplasias incluidas en la definición de SIDA del CDC

Categoría E2: Otras neoplasias posiblemente asociadas al VIH

Subclase F: Otras enfermedades posiblemente asociadas al VIH (puede incluir hepatitis, cardiopatías, nefropatías, anemias, trombocitopenias y dermatopatías.

#### **I. Definición de Caracas:**

En los Hospitales públicos de Guatemala se utiliza la definición de Caracas, para clasificar a los pacientes con VIH positivo. Este criterio es usado porque sólo incluye sintomatología e infecciones oportunistas, pues en el país no existe en ningún laboratorio la técnica de cuantificación de los linfocitos CD4+ para que los médicos utilicen la clasificación del CDC (Tabla No. 3).

#### **J. Relación de los recuentos absolutos de linfocitos CD4+ profilaxis de infecciones oportunistas y manejo de los pacientes con SIDA:**

El sistema de clasificación descrito anteriormente provee información sobre la condición clínica e inmunológica del paciente lo cual permite una evaluación temprana para una intervención terapéutica profiláctica temprana.

Varios estudios han demostrado una fuerte asociación entre el desarrollo de enfermedades oportunistas y el número absoluto (o porcentaje) de linfocitos CD4+.

Cuando el número de linfocitos CD4+ disminuye, el riesgo y la severidad de las enfermedades oportunistas aumentan. Determinaciones de linfocitos CD4+ son usadas para la clínica y manejo terapéutico de las personas infectadas por VIH. Profilaxis antimicrobiana y terapia antirretroviral ha demostrado ser más efectiva con ciertos niveles de destrucción inmune (28).

Existen varios factores que pueden influenciar el conteo de linfocitos CD4+, por ejemplo: la edad del paciente, el tropismo celular y la patogenicidad de la cepa.

Con la disminución de los linfocitos CD4+, el paciente adquiere una serie de infecciones oportunistas. Por ejemplo en infantes se ha demostrado que la infección pulmonar por *Pneumocystis carinii* se desarrolla en estos pacientes aproximadamente cuando el recuento de linfocitos es menor de 450 cel/ mm cúbico.

Estos recuentos sirven para predecir cuantos más infectados con VIH desarrollaran infecciones oportunistas al cabo de cierto tiempo. La realidad de éstas predicciones va a depender de varios factores: la extensión del tiempo de la medición de estos recuentos y de cuanto estos linfocitos CD4+ hayan bajado, además si estos pacientes tienen terapia antiviral instaurada en ese momento. También puede influenciar la presencia de otras infecciones oportunistas (29).

Se ha determinado que los pacientes con menos de 300 cel/mm cúbico son más propensos a desarrollar SIDA durante los primeros 12 a 36 meses del seguimiento (medición de los recuentos totales de linfocitos CD4+ cada 3 o 4 meses). También los pacientes que tienen Sarcoma de Kaposi son más susceptibles a desarrollar neumonía por *Pneumocystis carinii* dentro de los 24 meses del seguimiento, cuando los recuentos de linfocitos CD4+ son menores de 200 cel/mm cúbico (30).

Otros estudios indican que las neumonías por *Pneumocystis carinii*, citomegalovirus e infecciones pulmonares causadas por *Criptococcus neoformans* o *Mycobacterium sp.*, , ocurren cuando el paciente tiene un

porcentaje de linfocitos CD4+ menor o igual del 20-25% en los 60 días antes de la evaluación pulmonar (31).

Un estudio realizado en los Estados Unidos , muestra que en 46 de 49 episodios de neumonía por *Pneumocystis carinii*, 8 de 8 por citomegalovirus, 7 de 7 y 19 de 21 episodios por *Criptococcus neoformans* y *Mycobacterium sp.* respectivamente, tenían un recuento menor de 200 cel/mm cúbico (31).

La utilidad diagnóstica de los recuentos de linfocitos CD4+ depende de la rapidez con que cambien estos valores, durante los días cercanos al diagnóstico de la infección pulmonar.

Se ha encontrado en varios estudios que los recuentos absolutos de linfocitos CD4+ realizados en 30-60 días antes del diagnóstico, comparados con los obtenidos antes de 7 días, no son significativamente diferentes, por lo que el conocimiento de este valor en los últimos 60 días parece ser el más adecuado. En el mismo estudio se midió los niveles de antígeno viral p 24 en pacientes con neumonía por *Pneumocystis carinii* y fueron negativos, por lo que se expuso que no es un buen índice de predicción de la infección pulmonar (32).

Muchas investigaciones indican que una intervención terapéutica temprana sin que el paciente manifieste ninguna sintomatología de una neumonía causada por *Pneumocystis carinii* , puede mejorar en gran parte el pronóstico de éste, al igual para las otras infecciones oportunistas que atacan a los pacientes VIH positivo (32).

Debido a todos estos estudios los Centros para el Control de Enfermedades (CDC de Atlanta), recomienda la profilaxis anti-neumónica temprana en adultos VIH positivo, y cuyos recuentos sean menores de 200 cel/mm cúbico (20%) del número total de linfocitos . Esto contribuye a reducir el costo del tratamiento, la inconveniencia tóxica que tienen estos medicamentos. La Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos, recomienda

profilaxis secundaria en cualquier paciente VIH positivo que termine la terapia de un primer episodio de neumonía por *Pneumocystis carinii* (32).

Se asume que el declinamiento del recuento de linfocitos CD4+ es lineal al tiempo de seroconversión. Con esta información los médicos pueden vigilar estas infecciones oportunistas y saber en que momento la terapia profiláctica es efectiva contra las mismas infecciones antes que haya alguna complicación (33).

Algunos tipos de terapia, se deben tomar en cuenta porque pueden cambiar los valores de linfocitos CD4+ a la hora de medirlos. Estos pueden ser: -esplenectomía, agentes citotóxicos y corticosteroides.

Se ha demostrado que la Zidovudina afecta transitoriamente este recuento (34).

#### **K. Epidemiología:**

El Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) es sin lugar a dudas la enfermedad de transmisión sexual más importante en la actualidad. Es francamente epidémica, con una distribución universal en un corto período de tiempo.

De acuerdo a datos proporcionados por la Oficina Sanitaria Panamericana (OPS) hasta el 10 de Junio de 1993, han sido reportados en latinoamérica un total de casos acumulados de 371,086 y un total de defunciones de 217,276 personas (35).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha reportado un total de 611,589 casos de SIDA en todo el mundo (hasta el 10 de marzo de 1993). Sin embargo tomando en cuenta el subregistro y la sub-detección de casos, fenómenos que ocurren principalmente en países en vías de desarrollo, el verdadero número ha sido estimado por la OPS aproximadamente entre 5- 10 millones de personas infectadas, algunas sin saberlo aún (35).

Un informe también de la OMS y cuya fuente base es el trabajo de 40 epidemiólogos expertos que trabajan en la investigación de esta enfermedad, calculan que para el año 2000, unos ciento diez millones de personas en todo el mundo, estarán infectados por el virus VIH (35).

En Guatemala existen varias organizaciones que mantienen records de los casos de SIDA en el país, siendo las más importantes la Comisión Nacional para la Vigilancia y el Control del SIDA (CONAVISIDA), La Asociación Guatemalteca para la Prevención y Control del SIDA (AGPCS) y el centro de Orientación y Tratamiento de Enfermedades de Transmisión Sexual (CODETS). Estas organizaciones poseen programas de educación y control del SIDA, además mantienen archivos del número de casos que ocurren en el país (36).

En Guatemala, el problema crece en silencio. Las cifras oficiales resultan ser poco confiables particularmente porque el problema se trata en la sombra.

El SIDA se inició en Guatemala con el diagnóstico del primer enfermo en junio de 1984.

El área metropolitana es la más afectada, seguida por los departamentos de Quezaltenango, Suchitépéquez, Escuintla, Chimaltenango e Izabal (36).

Según el boletín de la OPS sobre la "Vigilancia del SIDA en las Américas", se han registrado 434 casos de SIDA y 148 defunciones en Guatemala (hasta el 31 de Marzo de 1993). Pero a cada caso comprobado, se le agregan unos 50 o 60 más, lo cual se calcula que la cifra de guatemaltecos potencialmente infecciosos es de 20,000 casos (36).

#### **L. Zidovudina (3-azido-3-deoxitimidina- AZT):**

##### **1. Mecanismo de acción:**

Este compuesto es un análogo de la timidina en el que el grupo 3'-OH se ha cambiado por el grupo N3 (ácido). Es fosforilada por enzimas celulares, y en forma de 5'-trifosfato actúa como inhibidor competitivo de la transcriptasa

inversa. Asimismo impide la elongación de la cadena del ADN viral al evitar (dada la sustitución de un OH por un grupo N3) la formación de uniones fosfodiéster 5'-3' entre las bases purínicas que forman el ADN viral. Los monocitos y macrófagos son menos sensibles que los linfocitos a la acción de la AZT debido a la menor fosforilación que se produce en los mismos. Sin embargo, bajas concentraciones de AZT inhiben eficazmente la replicación del VIH en monocitos-macrófagos (37).

Se absorbe bien por vía digestiva, y aunque la media plasmática es de aproximadamente 1 hora, la vida media intracelular de la forma 5'-trifosfato se acerca a las 3 horas. El AZT pasa bien la barrera hematoencefálica y la fetoplacentaria. Penetra en las células por difusión pasiva no facilitada, y una vez en el interior es fosforilada a forma trifosfatada por una serie de cinasas que usualmente fosforilan la timidina.

## 2. Eficacia:

El AZT, es el tratamiento fuertemente recomendado para los pacientes VIH positivo.

Esta droga disminuye la mortalidad y frecuencia de infecciones oportunistas en estos pacientes. Aumenta el peso, la sensación de bienestar y la calidad de vida. A nivel inmunitario mejora las pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada y los valores de CD4+. Sin embargo, esta mejoría inmunológica es transitoria (< de 4 meses) en el SIDA, siendo más prolongada en el CRS y sobre todo en fases previas (> de 10 meses). La AZT disminuye en el SIDA los niveles séricos del antígeno p24 del VIH, pero la capacidad para aislar el VIH a partir de cultivo de linfocitos no se altera, aunque se produce un retraso en la aparición del VIH en los cultivos (38).

En el SIDA la AZT resulta más beneficiosa si se cumplen los siguientes requisitos: a) inicio del tratamiento dentro de los 90 días siguientes a una infección oportunista (lo que implica una mortalidad 50% menor al cabo de 10 meses que en el grupo tratado más tardíamente).

- b) Signo de Karnofsky > 90%.
- c) Hemoglobina > 11 g/l
- d) CD4+ > 100 / mm cúbico.
- e) ausencia de neutropenia
- f) presencia de niveles normales de Vitamina B<sub>12</sub>.
- g) disminución o normalización de la B<sub>2</sub>- microglobulina en las 8-12 primeras semanas de tratamiento.

La AZT mejora también la encefalopatía y demencia asociada a la infección por el VIH, tanto en el adulto como en niños y puede prevenir su aparición, sin embargo no presenta la misma utilidad para el tratamiento de la neuropatía periférica y de la mielopatía relacionadas con el VIH. Se ha establecido que dosis de AZT entre 500 y 1,200 mg/día son bien toleradas, reducen significativamente el inicio de enfermedades oportunistas pero no el de tumores, y mantienen los CD4+ por encima de los valores basales durante aproximadamente 10 meses (38).

Estudios recientes han permitido ampliar la indicación de la Zidovudina, al demostrar que podrán beneficiarse de esta medicación pacientes asintomáticos con deterioro inmunológico.

Esta conclusión se obtuvo al analizar los resultados de dos estudios recientemente publicados en pacientes asintomáticos infectados por el VIH, en los que se evaluó la eficacia de la Zidovudina frente a un placebo. Ambos demostraron que la Zidovudina retrasaba la aparición del SIDA y aumentaba la supervivencia de los pacientes con una cifra de linfocitos CD4+ menor o igual a 500 cel/mm cúbico y algún síntoma menor ( por ejemplo: leucoplaquia vellosa, muguet, dermatitis seborreica y otras erupciones crónicas, herpes zoster, astenia crónica, pérdida de más del 10% de peso y tuberculosis pulmonar). Este beneficio clínico se obtuvo con dosis de 500 mg de Zidovudina, observandose que la toxicidad del fármaco y la aparición de

resistencias fue muy inferior a la que presentan los pacientes tratados en fases avanzadas (SIDA) (39).

Las mejores estimaciones de supervivencia son del 50-75% en 1 año, expectativas aparentemente buenas se mantienen al menos de 2-3 años, a pesar de la progresiva aparición de resistencias parciales o totales a la AZT, sobre todo a partir del año de haber iniciado el tratamiento. El pronóstico es más favorable cuando a las 8-12 semanas de haber iniciado el tratamiento asciende la cifra de linfocitos CD4+ y baja el nivel sérico de B<sub>2</sub>-microglobulina (40).

### 3. Inicio del tratamiento precoz de AZT, de la profilaxis primaria y secundaria y periodicidad de los controles:

El tratamiento de la primoinfección no está claro. Algunos autores aconsejan de mutuo acuerdo con el paciente, el tratamiento con AZT durante dos meses. Si el paciente se encuentra en un estadio inicial (mayor de 500 linfocitos CD4+/ mm cúbico) debe controlarse cada 3-6 meses. Se aconseja la vacunación contra neumococos, gripe, y el de la hepatitis B si hay riesgo de infección y tiene marcadores negativos.

Si el paciente desarrolla un deterioro inmunológico y pasa a un estadio intermedio (< de 500 linfocitos CD4+/mm cúbico y signos clínicos/biológicos de progresión) o se encuentra en un estadio avanzado, debe controlarse cada 1-2 meses. Además se inicia tratamiento con AZT en las dosis siguientes: - en la fase intermedia: 500 mg/día, en la fase avanzada: 600 -750 mg/día y si existe demencia 1,000 mg/día. Si el paciente tiene menos de 200 linfocitos CD4+/ mm cúbico se inicia profilaxis primaria contra *Pneumocystis carinii* . Asimismo se efectúa tratamiento de por vida de la infecciones que desarrolle el paciente (40).



#### 4. Efectos secundarios:

Los principales son hematológicos:

a) macrocitosis, que puede observarse al cabo de 6-8 semanas después del inicio del tratamiento y que resulta prominente después de 12-18 semanas.

b) anemia, c) neutropenia, d) leucopenia, e) trombocitopenia y f) pancitopenía grave y aplasia medular (no en todos los pacientes).

Otras reacciones adversas son: náuseas, astenia, malestar general, cefalea, mialgias, e insomnio, fiebre y erupciones cutáneas, alteración de las pruebas hepáticas.

Por todos estos efectos secundarios el paciente tiene que realizar varios exámenes de laboratorio complementarios con el fin de detectar precozmente la toxicidad del medicamento y su eficacia. Estos exámenes se pueden observar en la tabla No. 4 de anexos.

Si un paciente presenta toxicidad hematológica debe de evaluarse la posibilidad de administrar eritropoyetina (si tiene niveles séricos bajos) y/o factor estimulante de colonias de monocitos/granulocitos. En pacientes intolerantes a la AZT, puede iniciarle tratamiento con otro medicamento llamado ddi (didanosina) o Videx que el mecanismo de acción es igual al de la AZT (40).

#### M. Bases de la profilaxis primaria y secundaria de las infecciones oportunistas:

La infección por el VIH origina una inmunodepresión celular al causar una depleción crónica y progresiva del número de linfocitos CD4+, apareciendo la mayoría de infecciones oportunistas cuando la inmunosupresión es severa. Su cronología dependerá del balance entre la virulencia del microorganismo y el grado de inmunosupresión del paciente. Así, la tuberculosis y la candidosis suelen observarse por encima de los 200 linfocitos CD4+/mm cúbico, mientras que la neumonía por *Pneumocystis carinii* y la toxoplasmosis cerebral se

observan por debajo de 200 linfocitos CD4+/mm cúbico y las infecciones por *Criptococcus neoformans*, *Mycobacterium avium-intracellulare* y Citomegalovirus aparecen por debajo de 100 Linfocitos CD4+/mm cúbico. El origen de estas infecciones oportunistas es el siguiente:

- 1) Reactivación de una infección latente adquirida años antes ( es la causa más frecuente).
- 2) Infección exógena: Estos pacientes pueden adquirir infección de nuevo por los mismos mecanismos que el huésped inmunocompetente. Se adquieren por vía digestiva o por vía respiratoria.
- 3) Proliferación de microorganismos saprófitos de piel y mucosas (40).

#### N. Estudios sobre la vacuna contra el virus VIH:

La habilidad que tiene el virus de VIH de cambiar parte de sus secuencias proteicas, la virulencia del mismo, el poder que tiene de estar en una fase latente por largos períodos de tiempo y su incidioso ataque al sistema inmune han sido barreras muy importantes para que los científicos aún no hayan desarrollado una vacuna efectiva contra el virus VIH (41).

En estudios realizados recientemente se ha encontrado que hay una variación antigénica de la gp 160 ( por lo menos el 25% de los aminoácidos pueden mutar frecuentemente).

Otros estudios sugieren que hay una secuencia en gp 160 que no es variable y que es reconocida por los anticuerpos neutralizantes de personas infectadas y podría darse una respuesta inmune protectora (42).

Varios investigadores han sugerido que los anticuerpos contra gp 120 en el asa V3 podría dar una respuesta inmune protectora (42).

Todas estas investigaciones aun estan en estudios de comprobación, para lograr realizar una vacuna contra el virus del SIDA.

## 0. Método para la detección de linfocitos CD4+:

Existen básicamente dos métodos muy sensibles para la detección de linfocitos CD4+ y estos son:

### **1. Inmunofluorescencia:**

El método que se utiliza para la cuantificación de linfocitos CD4+, es bastante específico y preciso. Es una técnica que lleva varias etapas a realizar por lo que su duración es de varias horas.

La primera etapa consiste en extraer al paciente VIH positivo 5 cc. de sangre venosa, la cual se coloca en un tubo de ensayo que contenga anticoagulante (EDTA). Luego se efectúa un recuento leucocitario y una fórmula diferencial. En la segunda etapa se realiza una separación mononuclear con un gradiente de densidad (ficoll-hisopaque) y se efectúan varias centrifugaciones con sus respectivos lavados. La tercera etapa consiste en observar y calcular la viabilidad celular usando un colorante para las células muertas (eosina). La última etapa consiste en cuantificar los linfocitos CD4+ por medio de anticuerpos monoclonales fluorescentes (CYTO-STAT/COULTER CLONE T4-FITC). Los linfocitos CD4+ se observan con un halo fluorescente, en un microscopio de luz ultra-violeta. Luego se cuentan de 100-200 linfocitos entre fluorescentes y los no fluorescentes. Se puede utilizar un citómetro de flujo en lugar del microscopio. En algunos casos, al calcular el porcentaje de linfocitos CD4+, no coincide con el recuento absoluto de linfocitos CD4+, por lo que el médico tiene que darle más credibilidad a este último (42-44).

### **2. Citometría de flujo:**

Es un método moderno de estudiar las propiedades físicas y biológicas de las células. Las células en suspensión son preparadas de sangre completa o fluidos corporales. Luego son marcadas con un anticuerpo monoclonal fluorescente y son pasadas por una zona de detección, la cual es iluminada por un rayo láser. La energía excita al fluorocromo unido a la célula. En ese momento la

intensidad de la luz es medida por varias fotoceldas y el resultado de las señales electricas son amplificadas y pasadas a una computadora para su procesamiento, almacenaje y análisis (45).

La citometría de flujo permite el análisis de grandes cantidades de células. Algunas de sus aplicaciones clínicas son: - análisis de subpoblaciones de linfocitos , análisis de ADN y ARN, diagnóstico de leucemias y linfomas, detección y cuantificación de células neoplásicas, etc (46).

#### IV. JUSTIFICACIONES

La inmunosupresión que manifiestan los pacientes con SIDA, hace que contraigan infecciones oportunistas bastante severas y ésto representa la causa más común de mortalidad.

La infección oportunista más frecuente es la neumonía causada por *Pneumocystis carinii* y es a menudo difícil de establecer con certeza qué tan agresiva debe ser la terapia contra este microorganismo. No obstante varios estudios recientes indican que la intervención terapéutica temprana mejora el pronóstico de estos pacientes.

En la actualidad se han hecho varios estudios donde se asegura que la cuantificación de linfocitos CD4+ es un buen indicador del estado inmune del paciente con SIDA.

Esta cuantificación se utiliza como parámetro para estimar el riesgo a desarrollar infecciones por agentes oportunistas e instaurarles a estos pacientes, acciones profilácticas antivirales y antimicrobianas tempranas, y así poder garantizarles un mayor tiempo de vida.

En Guatemala es necesario establecer la metodología para la cuantificación de linfocitos CD4+, así como evaluar la correlación clínica de las diferentes manifestaciones patológicas en pacientes con SIDA.

## V. OBJETIVOS

- A. Estandarizar la técnica de cuantificación de la subpoblación CD4+ de los linfocitos.
- B. Realizar una determinación cuantitativa de linfocitos CD4+, cada tres meses por un período de nueve meses ( tres seguimientos), a pacientes con SIDA en el hospital Roosevelt.
- C. Establecer que el recuento absoluto de linfocitos CD4+ es un buen parámetro indicativo del desarrollo de algunas infecciones oportunistas o de la progresión a SIDA en pacientes VIH positivo.
- D. Realizar varias determinaciones de linfocitos CD4+ a personas sanas, para control de calidad de la técnica.

## VI. HIPOTESIS

Los recuentos absolutos de linfocitos CD4+ cuantificados con la técnica de anticuerpos monoclonales fluorescentes , son un buen parámetro para establecer el pronóstico clínico y terapéutico profiláctico temprano del paciente VIH positivo o con SIDA.

## VII. MATERIALES Y METODOS

### A. Universo de trabajo:

El universo de trabajo son los pacientes VIH positivo, Western Blot positivo o con SIDA que se presenten a la consulta externa especial del Hospital Roosevelt.

### B. Muestra:

- Se tomaron muestras de sangre venosa a 40 pacientes.
- Se tomaron muestras de sangre venosa a 15 personas sanas.

### C. Medios:

#### 1. Recursos Humanos:

- Tesisista: Br. Myrna Edith Castro Coronado
- Asesor: Lic. Gerardo Arroyo.
- Colaboradores: Licda. Margarita Paz de Ramírez.
  - Dr. Carlos Mejía.
  - Dr. Nery Mencos.
  - Srita. Judith Porras (enfermera).
  - Sra. Rosa Sut (Trabajadora social).
  - Sra. Miriam Ramírez (enfermera).
  - Dr. Gustavo Oliva

#### 2. Recursos Institucionales:

-Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (Departamento de Citohistología programa del Laboratorio Microbiológico de Referencia-LAMIR). -Clínica de Enfermedades infecciosas del Hospital Roosevelt.



### 3. Recursos Materiales:

#### 1. Reactivos:

- Dos galones de cloro comercial.
- 100 gramos de Azida de sodio 0.01%.
- 100 gramos de  $\text{Na}_2\text{HP0}_4$ .
- 100 gramos de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{H}_2\text{O}$ .
- 250 gramos de NaCl.
- 100 gramos de KCl.
- 16 x 100 ml. de Ficoll- Hisopaque.
- 90 ml de EDTA.
- 2 viales de anticuerpo monoclonal con flouresceína para T4, T4-FITC.
- Agua destilada.
- 1 ml de suero bovino fetal.
- 1 ml de formaldehído al 10%.
- 10 ml de ácido acético glacial.
- Alcohol al 70%.
- Acetona
- 25 gramos de colorante de Wright.
- 1 gramo de colorante de Eosina.

#### 2. Materiales:

- Seis gruesas de portaobjetos.
- 16 onzas de cubreobjetos.
- Dos cámaras de Newbauer.
- 25 tubos cónicos de vidrio de 15 ml.
- 300 pipetas pasteur.
- 50 tubos de ensayo de 13 x 100.
- piseta.
- gradillas.

- 8 pipetas de blancos.
- 200 tubos Ependorf.
- papel filtro.
- papel parafilm.

### 3. Otros:

- 300 guantes descartables.
- 3 rollos de papel mayordomo.
- algodón.
- Jeringas descartables.
- ligadura.

### 4. Equipo:

- pipetor de 10 ml.
- contador manual de glóbulos blancos.
- centrifuga.
- vortex.
- pHmetro.
- refrigeradora.
- pipetas automáticas de 20 ,100 y 200 ul.
- microscopio de luz ultravioleta.
- computadora.
- impresora.

#### D. Procedimiento:

##### 1. Reconstitución de Reactivos:

- Agregar 500 ul de agua destilada al vial que contiene el anticuerpo monoclonal.
- Hacer 100 alicuotas, colocando en un tubo Ependorf 5 ul de reactivo reconstituido y 100 ul de PBS con 2 % de suero bovino fetal.
- Antes de usar cada dilución, diluirlo más con 100 ul de PBS con suero bovino fetal.
- Extraer al paciente 5 ml de sangre venosa y colocarlo en un tubo de ensayo que contenga una gota de anticoagulante EDTA.
- Hacer una fórmula diferencial y un recuento leucocitario.

##### 2. Separación Mononuclear:

- Diluir 4 ml de sangre 1:2 con PBS a una temperatura de 2°C a 8°C.
- Colocar en un tubo cónico de vidrio de 15 ml, 8 ml de sangre diluída "SOBRE" 4 ml de ficoll-hisopaque.
- Centrifugar en frío a 1,550 rpm por 30 min.
- Aspirar con pipeta pump la capa de ficoll-hisopaque y la fase siguiente transferirla a un tubo cónico. Luego llenar con 12 o 13 ml de PBS a 2°C - 8°C y mezclar cuidadosamente.
- Centrifugar en frío por 8 min.
- Aspirar cuidadosamente el sobrenadante y descartarlo.

##### 3. Lavados:

- Resuspender la células con el "Medio de Resuspensión" (PBS + Azida de sodio 0.01%) frío y mezclar suavemente.
- Centrifugar en frío (2°C-8°C) por 4 min. a 1,550 rpm.
- Aspirar cuidadosamente el sobrenadante y descartarlo.

-Resuspender las células llenando el tubo con 12 o 13 ml de PBS frío y mezclar cuidadosamente.

- Centrifugar en frío por 3 min. a 1,550 rpm.

#### 4. Viabilidad celular:

- Resuspender las células con 2 ml de "Medio de lavado" (suero bovino fetal + Azida de sodio 10% + PBS), mezclar cuidadosamente.

- En un tubo pequeño de ensayo añadir 10 ul de la suspensión ya centrifugada y 10 ul de solución de eosina 0.5%, mezclar cuidadosamente.

- Colocar en la cámara de Newbauer 10 ul de la mezcla, dejar reposar por un minuto.

-Contar las células muertas (coloreadas de rojo) y las vivas en 5 cuadros que se usan para recuento de globulos rojos.

- Luego el porcentaje de viabilidad es igual : 
$$\frac{\# \text{ de células vivas}}{(\text{vivas} + \text{muertas})} \times 100$$

#### 5. Observación de los linfocitos fluorescentes:

- Antes de usar cada vial con anticuerpo agregarle 100 ul de PBS + suero bovino fetal en frío y mezclar bien.

- Colocar 1 ml de la preparación mononuclear en un tubo de ensayo.

- Centrifugar en frío a 1,550 rpm por 4 min.

- Aspirar y descartar el sobrenadante.

- Añadir 200 ul de anticuerpo monoclonal y mezclar suavemente.

- Incubar el tubo por 30-35 min. a 2°C - 8°C.

- Transferir 200 ul de la suspensión final a un tubo de ensayo que contenga 20 ul de PBS con formaldehído al 10%.

- Poner una gota en un portaobjetos y colocarle un cubreobjetos ( evitar las burbujas).

- Sellar rápidamente.

- Contar 100 linfocitos entre ellas las fluorescentes y las no fluorescentes.

- Calcular el porcentaje de linfocitos CD4+:

$$\% \text{ de linfocitos CD4+} = \frac{\# \text{ de linfocitos CD4+ fluorescentes}}{(\text{fluorescentes} + \text{No fluorescentes})} \times 100$$

$$\text{Recuento total de linfocitos CD4+ (cel/mm cubico)} = \frac{\text{Recuento de Leucocitos} \times \% \text{ de linfocitos}}{10,000}$$

#### E. Diseño de la investigación:

##### 1. Tipo de muestra:

El muestreo se hizo por conveniencia a 40 pacientes VIH positivo. Cada paciente tuvo un seguimiento cada 3 meses, por un período de 9 meses. Además se hizo un muestreo a 15 personas sanas como control de calidad de la técnica.

##### 2. Análisis de Resultados:

El estudio fue longitudinal y observacional. El análisis de resultados se hizo relacionando los recuentos de linfocitos CD4+ de cada paciente con su evolución clínica y el tratamiento profiláctico que el médico instauró.

## VIII. RESULTADOS

Se estudiaron 40 pacientes infectados por VIH (ELISA positivo y Western blot positivo), de los cuales 25 acudían al Hospital Roosevelt, cuatro al Hospital General San Juan de Dios y 11 a tres clínicas privadas.

Como resultado de la estandarización de la técnica de fluorescencia para la determinación de linfocitos CD4+, utilizada en el estudio, se realizaron varias modificaciones, las cuales fueron las siguientes :

1. no diluir por segunda vez el reactivo (para obtener mejor fluorescencia)
2. centrifugar a 25°C (por no tener en ese momento centrifuga refrigerante)
3. agregar cloruro de amonio (para lisar los eritrocitos)
4. no utilizar suero bovino (para que no se contaminara mucho el sedimento)

De los 40 pacientes únicamente hubo cuatro pacientes del sexo femenino y las edades oscilaron entre los 17 y 65 años con una media aritmética de 32.3 años y una desviación estandar de 10.2.

Entre los factores de riesgo para la transmisión del VIH en estas personas estaban: tres hemofílicos , un drogadicto intravenoso, un bisexual ,cinco homosexuales y 30 heterosexuales, en los que el único factor de riesgo detectado fue el tener múltiples parejas sexuales.

El diseño planificado pretendía realizar a cada paciente 3 seguimientos cada 3 meses por un período de 9 meses, pero durante el período de estudio fallecieron 12 pacientes, 10 pacientes no se supo su paradero porque no regresaron al hospital o dieron datos personales falsos y otros porque viven en provincia y no se pudieron contactar. En total se logró hacer un segundo seguimiento a nueve pacientes y con tres seguimientos a 11 pacientes.

Se hizo un control de calidad de la técnica, haciéndole la prueba a 13 personas sanas (ocho del sexo femenino y cinco del sexo masculino), en los que sus edades oscilaron entre los 18-65 años con una media aritmética de 31 años y una desviación estandar de 9.3.

La media aritmética del recuento de linfocitos CD4+ de estas personas fue de 1084 linfocitos CD4+ / mm cúbico (rango de 752 a 1,706 linfocitos / mm cúbico).

Los pacientes fueron clasificados según el sistema de clasificación del CDC de 1993 y se obtuvieron los siguientes resultados:

TABLA No. 1

CATEGORIA	# DE PACIENTES	Media aritmética de linfocitos CD4+ (linfocitos/ mm cúbico $\pm$ DS.
A1	3	614 $\pm$ 98
A2	3	401 $\pm$ 82
A3	0	
B1	6	598 $\pm$ 63
B2	14	347 $\pm$ 59
B3	0	
C1	0	375 $\pm$ 100
C2	6	79 $\pm$ 34
C3	8	

Entre las principales causas de muerte fueron: toxoplasmosis cerebral, neumonía por *Pneumocystis carinii*, neurosífilis, meningitis por *Criptococcus neoformans* y hemorragia subaracnoidea.

De los 12 pacientes fallecidos se determinó que la media aritmética del recuento total de linfocitos CD4+ fue de 179 linfocitos / mm cúbico y con una desviación estandar de 120. La media aritmética de linfocitos CD4+ obtenida en los pacientes asintomáticos fue de 661 linfocitos / mm cúbico  $\pm$  27.

Entre las infecciones oportunistas más frecuentes encontradas en los 40 pacientes están:

TABLA No. 2

# de Px	Patología	Media aritmética de linfocitoCD4+ (linfocitos/ mm cúbico +/- DS)
3	Asintomáticos	661 ± 27
9	Herpes zoster	416 ± 166
23	Fiebre, pérdida de peso, sudoraciones nocturnas	400 ± 153
13	Otras infecciones	390 ± 153
9	Candidosis oral y esofágica	335 ± 217
5	linfadenopatía generalizada	330 ± 163
1	Sarcoma de Kaposi	293
9	Síndrome diarreico	288 ± 152
3	TB pulmonar	274 ± 65
6	Neumonía por <i>P. carinii</i>	250 ± 87
2	Meningitis por <i>Cryptococcus neoformans</i>	249 ± 213
3	Neurosifilis	147 ± 159
2	linfoma	145 ± 133
5	Toxoplasmosis cerebral	119 ± 77

De todos los pacientes se obtuvo información clínica, de laboratorio y de respuesta al tratamiento por medio de una ficha clínica archivada por el médico tratante.



## IX. DISCUSION DE RESULTADOS

Los 40 pacientes que entraron en el estudio se clasificaron, según la clasificación del CDC de 1993, en donde se incluye, además de los criterios clínicos de los pacientes con SIDA, el criterio del recuento de linfocitos CD4+. Esta clasificación es de gran utilidad para el médico porque así puede saber el estado inmunológico del paciente y en que etapa de la enfermedad esta. También puede monitorear el tratamiento que el médico instaure a estos pacientes.

Con esto se puede decir que de los 40 pacientes seropositivos al VIH, 14 pacientes tienen SIDA con una media aritmetica de linfocitos CD4+ de  $203 \pm 151$ . También podemos decir que la mayoría de los pacientes cayeron en la categoría B2, lo que nos dice que estos pacientes estaban en etapas avanzadas de la enfermedad. En las categorías A3, B3 y C1 no entraron pacientea, esto significa que no se estudiaron suficientes pacientes.

También a estos pacientes se les clasificó las infecciones oportunistas más frecuentes de mayor a menor promedio de linfocitos CD4+ y se obtuvo que los síntomas convencionales como fiebre, pérdida de peso, sudoraciones nocturnas lo tenían la mayor parte de los pacientes, seguida de la institución de otras infecciones no relacionadas frecuentemente con los pacientes VIH positivo.

Se pudo observar también que los pacientes asintomáticos solo hubieron tres pacientes cuyo rango de linfocitos CD4+ estaba por debajo de los 700/ mm cúbico. Esto nos indica que posiblemente tendrían que haber entrado más pacientes al estudio para saber si el número de linfocitos CD4+ puede estar hasta el límite de los valores normales que indica la técnica, siendo como se dijo anteriormente VIH positivo asintomático. Pero al realizarle la prueba a las 13 personas sanas se obtuvieron valores de CD4+ correspondientes al rango

que indica la técnica, sólo hubo una persona del sexo masculino que se paso del límite (1,706 linfocitos/mm cúbico).

Basandose en la literatura consultada para este estudio, se puede decir que algunos valores de linfocitos CD4+ coincidieron con algunas infecciones oportunistas de los pacientes estudiados, como por ejemplo: varios estudios hechos en otros países describen que la tuberculosis pulmonar y la candidosis oral aparece en los pacientes VIH positivo, cuando estos tienen recuentos de CD4+ por encima de 200 linfocitos/mm cúbico. De alguna manera, este estudio lo confirma, porque se obtuvo un promedio de recuento de CD4+ para tuberculosis pulmonar igual a  $274 \pm 65$ . Y para la candidosis oral un promedio igual a  $335 \pm 217$ . Las infecciones por *Pneumocystis carinii* y toxoplasmosis cerebral tambien coincidieron porque la literatura reporta que aparecen cuando el recuento de CD4+ esta por debajo de 200 linfocitos /mm cúbico. En el estudio fue de  $250 \pm 87$  y  $119 \pm 77$  respectivamente.

Solo con la infección *Criptococcus neoformans* se obtuvo un resultado muy diferente, porque se obtuvo un promedio  $249 \pm 213$  y la literatura dice que aparece por debajo de 100 linfocitos /mm cúbico. Esto se pudo deber a un error técnico, ya que la técnica requiere de varios lavados, en donde se pueden ir bastantes células, también requiere mucho cuidado en la separación mononuclear en donde se queden más linfocitos, del recuento que se haga en el microscopio, de la apreciación de la fluorescencia, porque no es lo mismo que se haga con un citómetro de flujo en donde es más preciso al contar el número de linfocitos fluorescentes.

Se determinó que el recuento total de linfocitos CD4+ es más confiable que el porcentaje, porque este variaba en cada seguimiento del mismo paciente. Esto tambien se debe a que los recuentos de linfocitos totales y glóbulos blancos variaba en cada seguimiento y como es de esperarse la fórmula para calcular el porcentaje variaba también. De todas maneras la técnica advertía que esto podía suceder.

La principal causa de muerte de estos pacientes fue toxoplasmosis cerebral en donde se podía observar que los síntomas eran confusión mental, convulsiones, dolores de cabeza, fiebre.

De los 40 pacientes, 15 ya tenían instaurado su tratamiento antiviral con retrovir o DDI, porque como los médicos no podían saber en que momento de su inmunodepresión de CD4+, les podían iniciar tratamiento, solo se basaban en criterios clínicos. Pero había otro inconveniente algunos pacientes no podían comprar la medicina por ser de condición humilde, y su enfermedad como era de esperarse avanzaba mucho más rápido. Cuando los médicos se basaron en el recuento de linfocitos CD4+ para dar tratamiento profiláctico, se dieron cuenta que los pacientes respondían mejor. Según varios estudios hechos en Estados Unidos se recomienda dar tratamiento antiviral profiláctico a los pacientes VIH positivo que tengan recuentos igual o abajo de 500 linfocitos CD4+/mm cúbico, y tratamiento antimicrobiano profiláctico, cuando los valores de linfocitos CD4+ esté por debajo de 200 /mm cúbico.

En base a esto se observó que los pacientes que aun no tenían SIDA con tratamiento antiviral profiláctico respondían mejor en la prolongación del apareamiento de la enfermedad y los pacientes que ya tenían SIDA pero los que tenían tratamiento antiviral y antimicrobiano solo se les mejoraba un poco la sintomatología que tenían en ese momento.

También hubo inconveniente con darles tratamiento profiláctico anti-*Pneumocystis carinii*, porque al cabo de 2 o 3 meses de tomar el trimetoprin, los pacientes sufrían el síndrome de Stevens-Johnson (forma grave de eritema polimorfo con manifestaciones cutáneas, mucosas y oculares provocado por algún medicamento) y tenían que suspenderle el tratamiento.

## X. CONCLUSIONES

A. El sistema de clasificación del CDC de 1993, provee de información muy valiosa sobre la condición clínica e inmunológica del paciente VIH positivo, lo que permite una evaluación integral para una intervención terapéutica profiláctica temprana.

B. Se observó que cuando el recuento total de linfocitos CD4+ va disminuyendo conforme pasa el tiempo, el apareamiento y severidad del ataque de las infecciones oportunistas va aumentando.

C. Se logró establecer que el porcentaje de linfocitos CD4+, es menos confiable que el recuento total de linfocitos CD4+, porque varía mucho en cada paciente.

D. Se logró estandarizar la metodología de anticuerpos monoclonales fluorescentes para linfocitos CD4+, pero haciendo varias modificaciones para optimizar la prueba.

E. Se estableció que la mayoría de valores de CD4+ obtenidos en el estudio, coincidieron con lo que reportan varias investigaciones realizadas en otros países.

F. Se determinó que los recuentos de linfocitos CD4+ es un buen parámetro para establecer el pronóstico clínico e inmunológico de los pacientes VIH positivo, y que es un valor de gran ayuda para los médicos en el monitoreo terapéutico de estos pacientes.

## XI. RECOMENDACIONES

A. Se recomienda estandarizar otras técnicas para la determinación de linfocitos CD4+, como por ejemplo la de citometría de flujo o ELISA, para determinar después qué metodología es la más sensible, específica y la de menos costo para implementarla en los hospitales públicos o en otras instituciones que se dedican a la atención de pacientes con SIDA.

B. Continuar contribuyendo con los médicos tratantes de los pacientes con SIDA, con la determinación de linfocitos CD4+, implementando la técnica en los hospitales públicos o en otros laboratorios privados.

C. Brindar educación a todos los profesionales de la salud que trabajan con pacientes con SIDA, para que pierdan el miedo a tratar con estas personas, y que se den cuenta que ellos necesitan mucha ayuda diagnóstica y apoyo psicológico.

D. Realizar otros estudios que involucren otros marcadores inmunológicos incluyendo CD8+, B-2 microglobulina, etc, para determinar su utilidad en el monitoreo terapéutico de los pacientes con SIDA.

## XII. REFERENCIAS

1. CDC. Statistics from the World Health Organization and the Centers for Disease Control. AIDS 1991, 5: 785-90.
2. Haseltine W. Silent HIV infections. N Engl J Med 1989; 320: 1487-8.
3. Gold J. Infectious Complications in patients with HIV infection. Gowe Academic J. 1988; 2: 237-334.
4. Allain JP, et al. Serological Markers in early stages of HIV infection in hemophiliacs. Lancet 1989; 1: 1233-6.
5. Essex M, Kanki P. The Origins of the AIDS virus. Scient Amer 1988; 4: 44-51.
6. Lifson A, et al. The Natural History of Human Immunodeficiency virus infection. J Infect Dis 1988; 158: 1360-1367.
7. Moss AR, Bacchetti P. Natural history of HIV infection. AIDS 1989; 3: 55-61.
8. Auiuti F, et al. HIV infection in homosexual men who remain seronegative for prolonged periods. N Engl J Med 1989; 321: 1679.
9. Haseltine W, et al. The Molecular Biology of the AIDS virus. Scient Amer 1988; 3: 34-42.
10. Gallo R. The AIDS virus. Scient Amer 1988; 4: 47-56.

11. Clavel F, et al. HIV-2 infection associated with AIDS in West Africa. *N Engl J Med* 1987; 316: 1180-5.
12. Holmes K. Heterosexual Transmission of Human Immunodeficiency virus: Overview of a Neglected Aspect of the AIDS Epidemic. *J AIDS* 1988; 1: 602-610.
13. Henderson DK, et al. Risk for occupational transmission of human immunodeficiency virus type 1 associated with clinical exposures. *Ann Intern Med* 1990; 113: 740-6.
14. Cameron DW, et al. Female to male transmission of human immunodeficiency virus type 1: risk factors for seroconversion in men. *Lancet* 1989; 2:403-7.
15. The European Collaborative Study. Mother to child transmission of HIV infection. *Lancet* 1988; 2: 1039-42.
16. Rapaport S. Introduction to Hematology. USA. Editorial Salvat 1987; p565 (p225- 285).
17. Woods L. Understanding the Immune System. *J AIDS* 1991; 3 : 1098-2000.
18. Barret J. *Inmunología Médica*. 5 ed. Mexico Interamericana. 1990. p464. (p77-123).
19. Margolick J. The Immunopathogenesis of AIDS. *Current topics in AIDS*. *Scient Amer* 1987; 1: 119-131.

20. Gatell JM, et al. Guía práctica del SIDA: Clínica, diagnóstico y tratamiento. 2 ed. Barcelona, España. Salvat. 1992. p385. (p5-234).
21. Davey R, Lane HC. Laboratory methods in the diagnosis and prognostic staging of infection with HIV type 1. *Rev Inf Dis* 1990; 12: 912-30.
22. Arroyo G. Pruebas de laboratorio para el diagnóstico de infección por el virus de Inmunodeficiencia Humana. *Rev. Col. Med.* 1992; 2:19-22.
23. CDC. Interpretation and use of the Westen Blot assay for serodiagnosis of HIV-1 infections. *MMWR* 1989; 38 ( suppl. 7) : 1-11.
24. Busch M, et al. Evaluation of screened blood donations for HIV-1 infection by culture and DNA amplification of pooled cells. *N Engl J Med* 1991; 325: 1-5.
25. Fernandez F, et al. Immunological and serological markers predictive of progression to AIDS in a cohort of HIV-infected drug users. *AIDS* 1990; 4: 987-94.
26. CDC. 1993 Revised Classification System for Human Immunodeficiency virus Infection and Expanded AIDS Surveillance case definition for Adolescents and Adults. Atlanta, USA. 1993; 41: 1-18.
27. PHS. Classification system for human immunodeficiency virus (HIV) infection in children under 13 years of age. *MMWR* 1987; 36: 225-36.
28. McDonnell KB. Predicting progression to AIDS: Combined usefulness of CD4 lymphocyte counts and p24 antigenemia. *Am J Med* 1990; 89: 706-12.



29. Liebovitz E, et al. Pneumocystis carinii pneumonia in infants infected with the Human Immunodeficiency virus with more than 450 CD4+ / per cubic millimeter. N Engl J Med 1990; 20: 1147-1151.
30. Biggar R, et al. Effect of T4 count and cofactors on the incidence of AIDS in homosexual men infected with human Immunodeficiency virus. JAMA 1987; 257: 331-34.
31. Philips AW, et al. Serial CD4+ lymphocyte counts and development of AIDS. Lancet 1991; 337: 389-92.
32. Masur H, et al. CD4 counts as predictors of oportunistc pneumonias in Human inmunodeficiency virus (HIV) infection. Annals Intern Med 1989; 111:223-231.
33. Goedert J, et al. Effect of T4 count and cofactors on the incidence of AIDS in homosexual men infected with AIDS. J AIDS 1987; 257: 331-34.
34. Crowe SM, et al. Predictive value of CD4+ lymphocyte numbers for the developement of oportunistc infections and malignancies in HIV infected persons. AIDS 1991; 4: 770-6.
35. OPS. Boletín Epidemiológico. Estados Unidos: Organización Panamericana de la Salud, Doc. Tec. No. 2, 1993. 16p. (p. 13).
36. Comisión Nacional de Vigilancia y control del SIDA-CONAVISIDA. Infórmate sobre el SIDA, Doc. Tec. No. 10, 1992. 18p. (p. 10-14).

37. Volberding A, et al. Zidovudine in asymptomatic human immunodeficiency virus infection: a controlled trial in persons with fewer than 500 CD4 positive cells per cubic millimeter. *N Engl J Med* 1990. 332: 941-49.
38. Fischl MA, et al. The safety and efficacy of zidovudine in the treatment of subjects with mildly symptomatic HIV type 1 infection: A double blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1990; 112: 727-37.
39. The National Institute of Allergy and Infectious Diseases. State of the ART conference on AZT therapy for early HIV infection. *MMWR* 1990; 7-23.
40. Jackson G, et al. Human immunodeficiency virus antigenemia (p24) in AIDS and the effect of treatment with zidovudine (AZT). *Ann Intern Med* 1988; 108: 175-180.
41. Gordon A. Prospects for a Vaccine against HIV. *Nature* 1989; 339: 231-232.
42. Berzofsky J. Approaches and Issues in the development of Vaccines against HIV. *J AIDS* 1991; 4: 451-59.
43. Johstone A, et al. *Immunochemistry in Practice*. 3 ed. USA. Blackwell Scientific Publications. 1988; p345. (p85-95).
44. Matta V. Identificación de linfocitos T y B en pacientes con procesos linfoproliferativos. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1980; p43. (p1-23).

45. Kung P. Monoclonal antibodies defining distinctive human T cell surface antigens. *Science* 1991; 206: 347-49.
46. Landay A. Applications of flow cytometry to the study of HIV infection. *J AIDS*. 1992; 4: 479-97.
47. Liu C, et al. Flow cytometric monitoring of human immunodeficiency virus infected patients simultaneous enumeration of five lymphocyte subsets. *Amer J Clin Pathol* 1989; 92: 721-28.
48. Bricker PW, et al. Recommendations for control and prevention of human immunodeficiency virus infection in intravenous drug users. *Ann Intern Med* 1989; 110: 833-7.
49. Holmes K, et al. The Increasing Frequency of Heterosexually Acquired AIDS in the United States 1983-88. *J AIDS* 1990; 80: 858-863.
50. OMS. Control de Enfermedades transmisibles del Hombre. 1978; p 206. (p56-75).
51. Chu S, et al. Impact of the Human Immunodeficiency virus Epidemic on Mortality in women of reproductive Age. *AIDS*. 1990; 264: 225-29.
52. Moss AR, et al. Seropositivity for HIV and the development of AIDS or AIDS related condition: 3 year follow up of the San Francisco General Hospital cohort. *Br Med J* 1988; 296: 745-50.

53. OMS. programa Mundial sobre el SIDA. Recomendaciones para la elección y el uso de pruebas de detección de anticuerpos contra el VIH. Ginebra: OMS. 1992. 1-2.

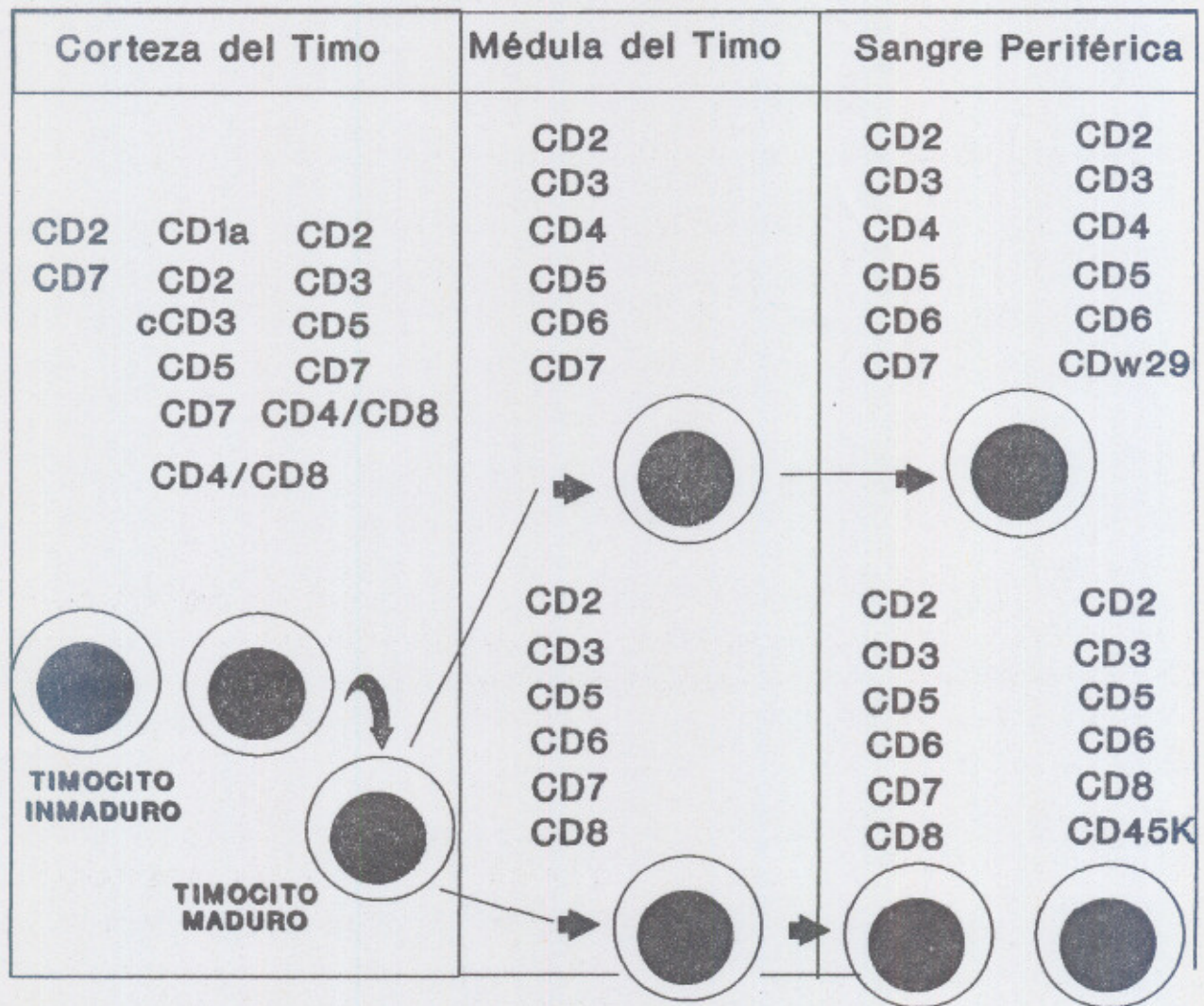
54. Saag MS, et al. High level viremia in adults and Children infected with HIV: relation to disease stage and CD4 lymphocyte levels. J Infect Dis 1991; 164: 72-80.

XIII. ANEXOS

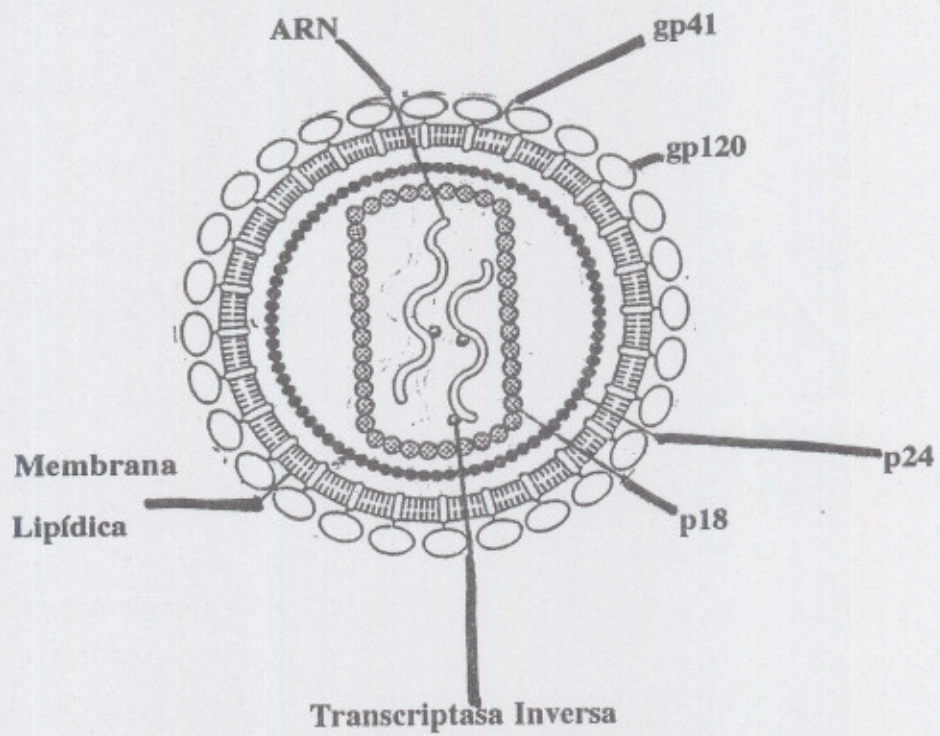
**FIGURA No. 1:**

Indica la diferenciación de marcadores de linfocitos T en el organo del Timo y cuando se encuentran en sangre periférica (Nomenclatura CD).

Referencia (49).

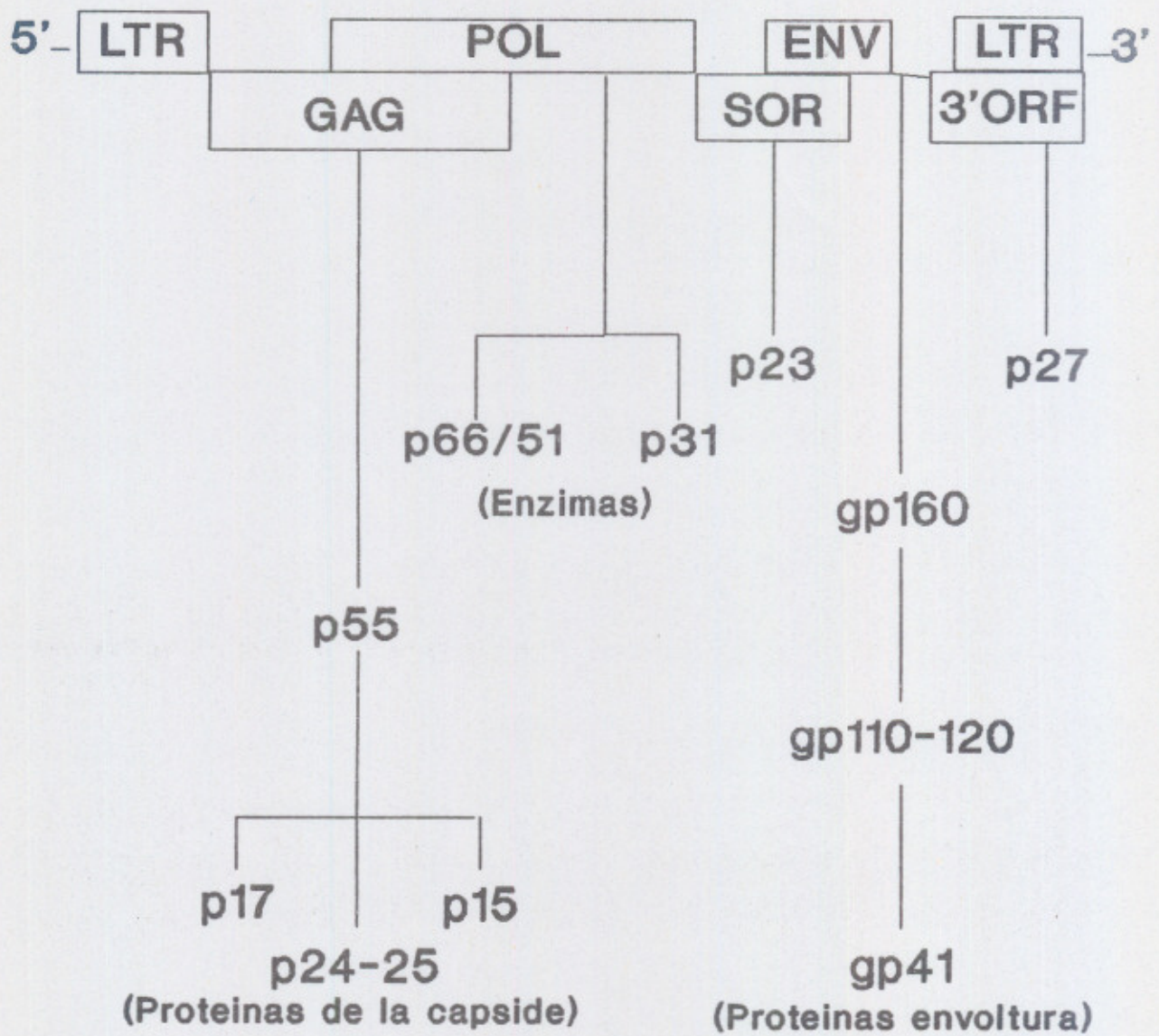


**Figura No. 2:**  
**Estructura del virus del VIH.**  
**Referencia ( 16).**



**FIGURA No.3:**

Representación general del genoma del virus VIH.  
Referencia (15).

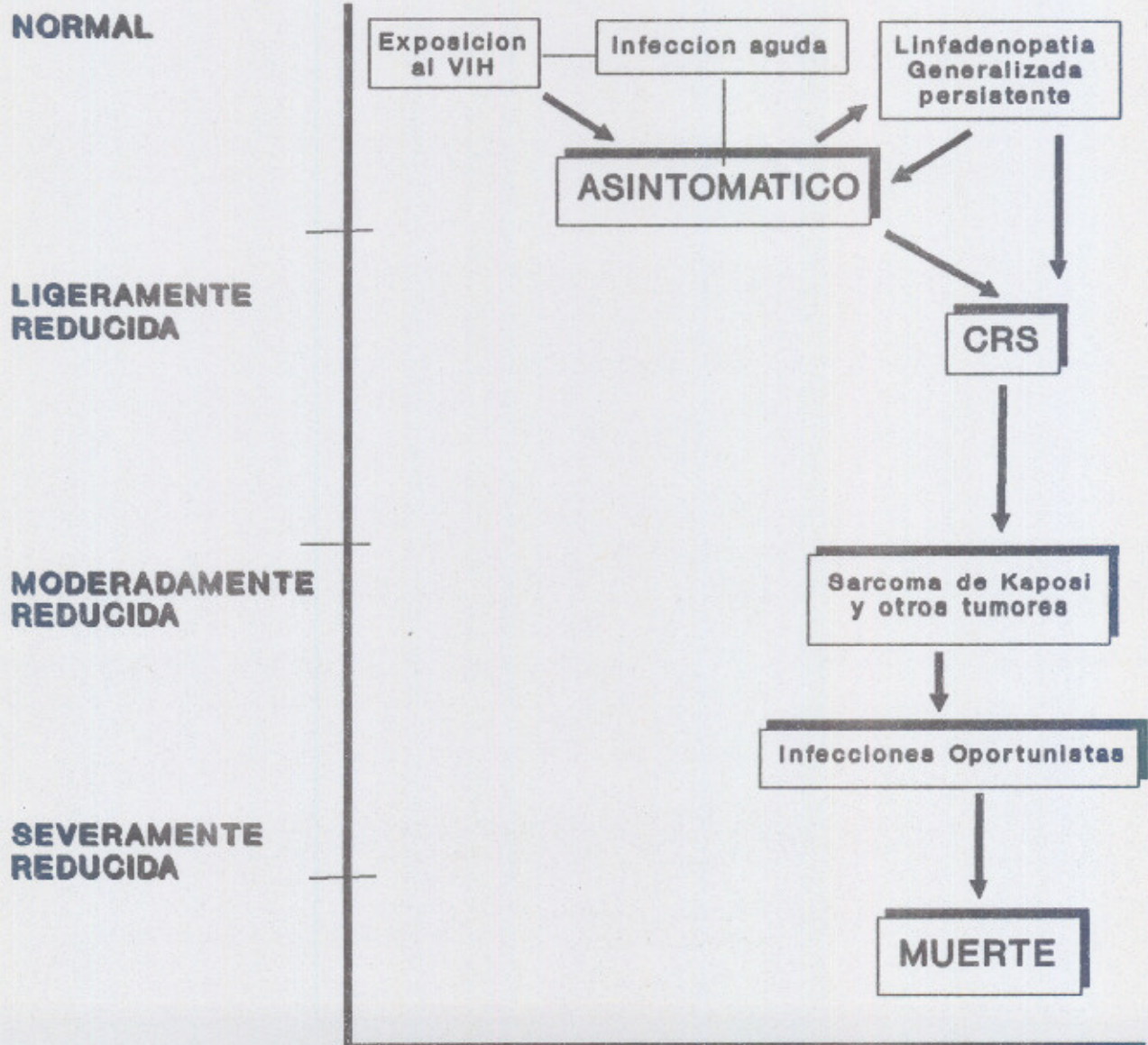




**FIGURA No.4:**

Representación grafica del declinamiento progresivo de los recuentos absolutos de linfocitos CD4<sup>+</sup> conforme pasan los meses, en hombres jóvenes infectados con el virus VIH en un estudio hecho en los Estados Unidos.

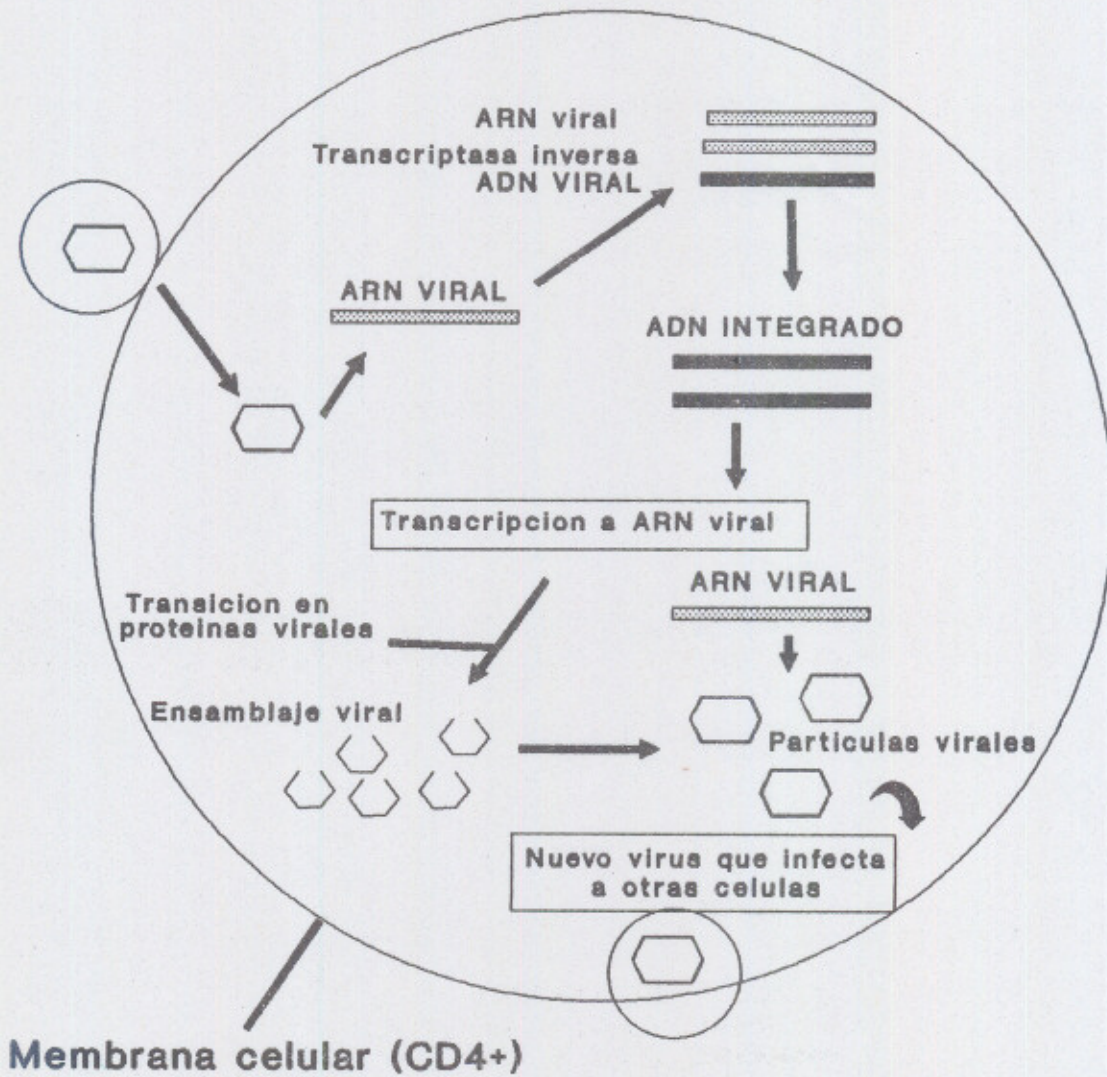
Referencia: Radfield, B. Sci. Amer. 259:82, 1988.



**FIGURA No.5**

Representación del ciclo de reproducción del virus VIH.

Referencia (15).



**Cuadro No. 1:**

Guía general sobre el manejo de los pacientes con SIDA, con base a sus recuentos de linfocitos CD4+. (Adaptado de las recomendaciones de la Oficina de Administración de drogas y alimentos y de los Centros para el control de Enfermedades de Atlanta, EEUU. Marzo 1990)

Referencia No. ( 22).

Pacientes	Tests	Tratamiento	Comentarios
Todos los pacientes	Recuento de leucocitos, Recuento totales de linfocitos CD4+, RPR, Reacción de hipersensibilidad epidémica(PPD)	vacuna contra: Influenza y Pneumococcus.	Anualmente Solamente una vez.  Un PPD positivo (induración > 5 mm) o historia de un PPD positivo. Rayos X de torax y tratamiento con Isoniacida (300 mg/día por 12 meses si no hay evidencia de infección activa de tuberculosis.
	Serología para Hepatitis (HBsAb, (HBsAg es opcional).	Serología negativa: Vacuna.	Indicación de vacuna contra hepatitis para drogadictos y homosexuales activos sexualmente.
Recuento de CD4+ > de 600 /mm cúb.	Recuentos de CD4+ cada 6 meses.		
Recuento de CD4+ de 500-600/mm cub.	Recuentos de CD4+		Recuentos de CD4+ cada 3-4 meses es recomendable en pacientes con síntomas u otro tipo de deterioro.
Recuento de CD4+ 300-500 /mm cub..	Recuento de CD4+ cada 6 meses cuentos de leucocitos cada mes.	AZT (500 mg/d)	El paciente debe ser controlado a la semana de haber iniciado el tratamiento por efectos secundarios a la droga.
Recuentos de CD4+ 200-300 /mm cub.	Recuentos de CD4+ cada 3 meses.	AZT (500 mg/d)	
Recuento de CD4+ < de 200 / mm cub.	Recuento de leucocitos cada 3 meses, mientras recibe AZT.	Profilaxis para PCP.	

**Cuadro No. 2:**

Sistema de clasificación 1993 revisado para la infección por el VIH y definición de caso sobre SIDA para adolescentes y adultos.

Categorías linfocito CD4+	Categoría Clínica		
	A Asintomáticos VIH agudo o LGP*	B Sintomáticos No condicionan A o C	C Indicadores de SIDA
(1) +/-500/ul.	A1	B1	C1*
(2) 200-499/ul	A2	B2	C2*
(3)Menos de 200/ul	A3 *	B3*	C3*

\* Estas categorías se consideran pacientes con SIDA.

**Cuadro No. 3:**  
 Definición de Caracas.  
 Vol. 3. Rev Col Med 1993.

Síntomas/Signos/diagnóstico	Puntos
<b>Grupo A</b>	
Sarcoma de Kaposi	6*
Tuberculosis:Diseminada extra-pulmonar/ pulmonar no cavitaria (pero sin Rx confirmatoria, considerada como grupo B.	6*
<b>Grupo B</b>	
Candidosis oral, Leucoplaquia Pilosa	3*
Tuberculosis Pulmonar con cavitación o inespecífica	3*
Herpes Zoster (< 60 años)	3*
Disfunción del S.N.C. indicado por Confusión Mental(Desorientación Esp.), Demencia	3*
Estupor o coma	
Convulsiones	
Meningitis o Encefalitis	
Pruebas Cerebelosas anormales	
<b>Grupo C</b>	
Diarrea > 1 mes	2*
Fiebre > 1 mes	2*
Caquexia o pérdida del 10% del peso normal	2*
Astenia > 1 mes	2*

Dermatitis Persistente	2*
Anormalidades Hematológicas ( 1 o más de las siguientes)	2*
Anemia	
Hematocrito < 30% hombres y < 25% mujeres o Hb: < 11 g/dl hombres y 10 g/dl mujeres	
Linfopenia (absoluta < 1,000/mm <sup>3</sup> )	
Trombocitopenia < 100,000/ mm <sup>3</sup> )	
Infiltrados intersticiales, difusos o Bilat	2*
Tos persistente	2*

-----

**TOTAL**

Nota: Si es igual o mayor de 6 puntos, más serología positiva, es diagnóstico confirmatorio de SIDA.

**Cuadro No. 4:**

Exámenes complementarios que se deben efectuar a un paciente infectado por el VIH, y la periodicidad de los mismos.

Referencia No. (24).

	Periodicidad de los Exámenes		
	Primera visita	pacientes asintomáticos	pacientes en tratamiento con AZT
VSG	Si	3-6 meses	3-6 meses
Hemograma y fórmula leucocitaria	Si	3-6 meses	1-2 meses
Recuento plaquetario	Si	3-6 meses	1-2 meses
Bioquímica Básica	Si	3-6 meses	2-3 meses
Glicemia, colesterol, triglicéridos, ácido úrico.			
Función Hepática, LDH, Función renal, ionograma.			
Sedimento de Orina	Si	3-6 meses	2-3 meses
Antígeno Australiano	Si	No	No
Radiografía de tórax	Si	Según la clínica del Px	Según la clínica del paciente.
PPD y multitest	Si	Anual	Anual
Serologías			
Toxoplasmosis	Si	Según la clínica del Px	Según la clínica del paciente.
Citomegalovirus	Si	"	"
Sífilis	Si	"	"
VIH:			
ELISA	Si	No	No
Antígeno p24	Si	3-6 meses	2 meses
Examen de parásitos en Heces	Si	Según la clínica del Px	Según la clínica del Paciente.
B <sub>2</sub> -microglobulina	Si	3-6 meses	3 meses
Subpoblaciones linfocitarias CD4/CD8	Si	3-6 meses	3 meses

**FICHA CLINICA DEL PACIENTE VIH POSITIVO:****Código:****Doctor:****Edad:****Sexo:****Hospital:****Fecha:****Datos de laboratorio:****Fecha:****Elisa:****Western Blot:****Recuento de leucocitos:****/mm cúbico.****Formula diferencial:****Segmentados:        %.****Monocitos:        %.****Linfocitos:        %.****Basófilos:        %.****Eosinofilos:        %.****Otros:****Reacciones Intradérmicas:****Cultivos:****Bioquímica y Serología:****Sintomatología en este momento:****Tratamiento es este momento:**



**REPORTE DE RESULTADOS:**

**L A M I R**

**Laboratorio Microbiológico de Referencia**

**código No.:** \_\_\_\_\_

**No.:** \_\_\_\_\_

**Médico:** \_\_\_\_\_

**Fecha:** \_\_\_\_\_

**Exámen Solicitado: RECUENTO DE LINFOCITOS CD4+**

**RESULTADOS:**                      **Recuento de leucocitos:**                      **/mm cúbico.**

**Fórmula diferencial:**

-Neutrofilos:	%
-Linfocitos:	%
-Eosinófilos:	%
-Monocitos:	%
-Basófilos:	%
-Otros:	

**Porcentaje de linfocitos CD4+:                      %**

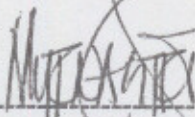
**Recuento total de linfocitos CD4+:                      /mm cúbico.**

**VALORES NORMALES:**

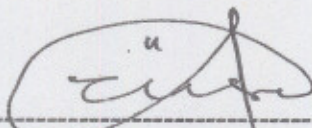
**\*Porcentaje de linfocitos CD4+: 19-54 %.**

**\*Recuento total de CD4+: 297- 1672/ mm cúbico.**

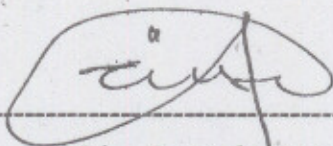
\_\_\_\_\_  
**RESPONSABLE**



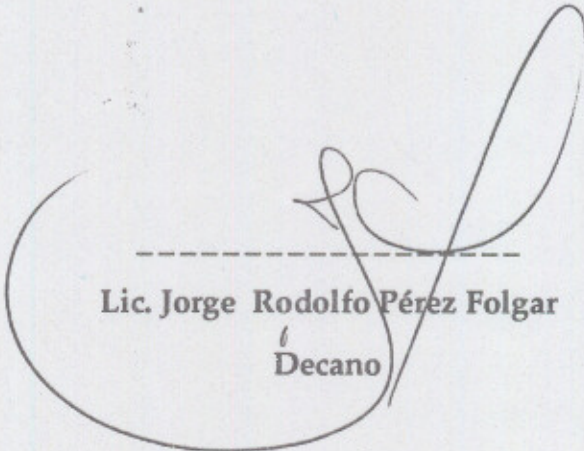
Myrna Edith Castro Coronado  
Estudiante



Lic. Gerardo Arroyo  
Asesor



Lic. Gerardo Arroyo  
Director



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar  
Decano