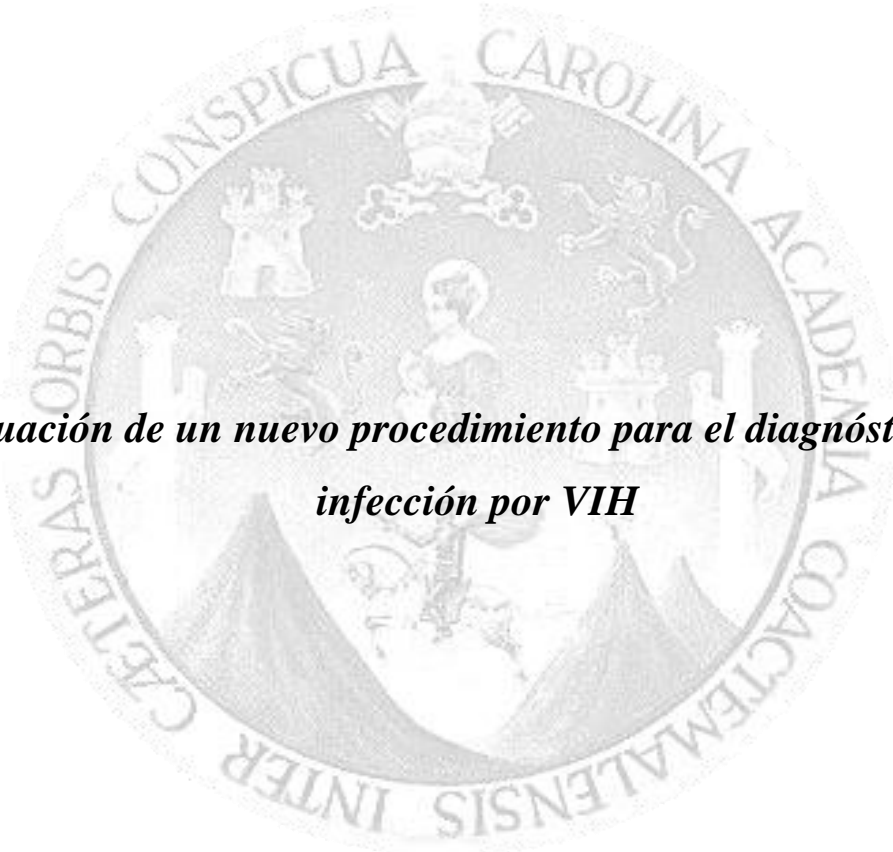


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



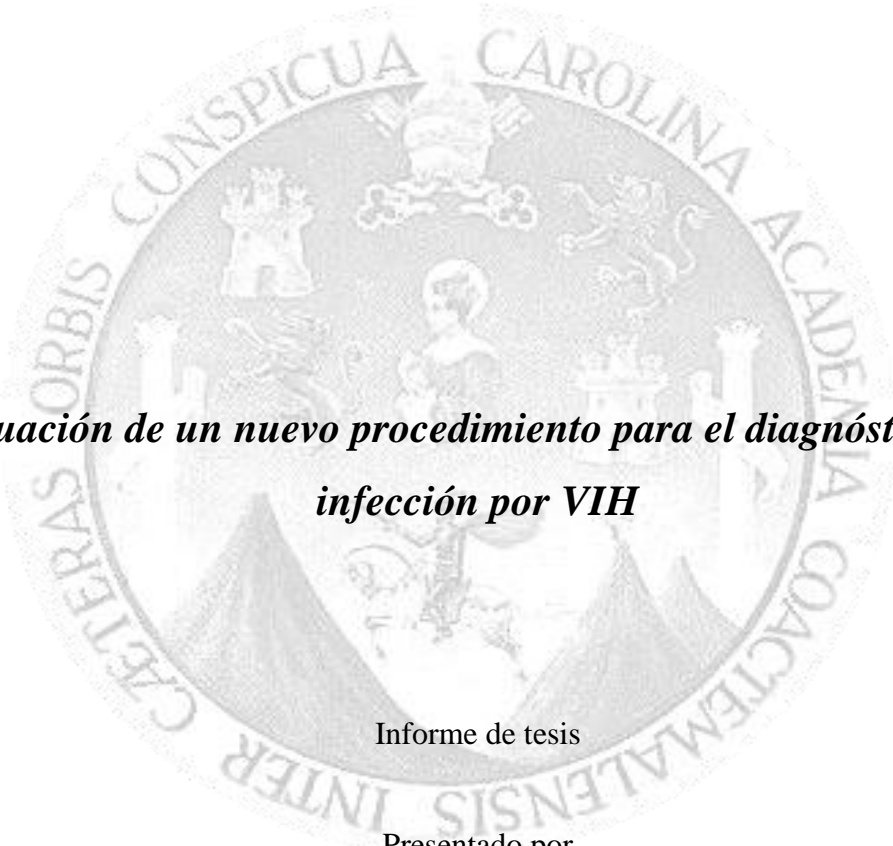
*Evaluación de un nuevo procedimiento para el diagnóstico de la  
infección por VIH*

Andrea Rocío López Bonilla

Química Bióloga

Guatemala, noviembre de 2012

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



*Evaluación de un nuevo procedimiento para el diagnóstico de la  
infección por VIH*

Informe de tesis

Presentado por

Andrea Rocío López Bonilla

Para optar al título de

Química Bióloga

Guatemala, noviembre de 2012

**JUNTA DIRECTIVA**

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. Fausto René Beber García	Vocal IV
Br. Carlos Francisco Porras López	Vocal V

## **DEDICATORIA**

A mis hijos

*Danna María y Edward André*

que son el motor que mueve mi vida

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño tan anhelado.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala por darme la oportunidad de estudiar y ser una profesional.

A mi asesor de tesis, Lic. Gerardo Arroyo, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado que pueda terminar mis estudios con éxito.

A mis padres, Carlos y Astrid por todo su apoyo durante mi carrera.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía.

Para ellos: Muchas gracias y que Dios los bendiga.

## ÍNDICE

	Pág.
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. ANTECEDENTES	4
A. Infección por VIH	4
B. Definición de Sida	4
C. Etiología	5
D. Patogenia de la infección	8
E. Epidemiología	13
F. Características clínicas	17
1. Periodo agudo	17
2. Periodo Sintomático	18
3. Sida	18
G. Tratamiento	20
H. Prevención	21
I. Importancia de la detección temprana	21
J. Diagnóstico del VIH	22
1. Pruebas de tamizaje	23
2. Pruebas confirmatorias	24
3. Pruebas de detección viral	25
4. Prueba SMARTube	26
4.1 Composición	29
4.2 Usos	30
4.3 Ensayos clínicos	30
IV. JUSTIFICACIÓN	36
V. OBJETIVOS	38
VI. HIPÓTESIS	39
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	40

VIII. RESULTADOS	46
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	50
X. CONCLUSIONES	52
XI. RECOMENDACIONES	53
XII. REFERENCIAS	54
X. ANEXOS	61

## I. RESUMEN

Con la utilización del método de enriquecimiento SMARTube se reduce el periodo de ventana de la infección causada por VIH. El método aplica la técnica denominada estimunología, la cual implica la estimulación y activación de los linfocitos cebados *in vitro* en un medio de cultivo, conduciendo a la proliferación de células y a la producción de anticuerpos por las células B. El resultado de esta activación es aumentar los niveles de anticuerpos en el plasma y poder así detectarlos por técnicas utilizadas convencionalmente (14,30,54,77).

En el presente estudio se determinó si el método comercial SMARTube reduce el tiempo de diagnóstico de infección por VIH, así como, su sensibilidad y especificidad para lo cual se analizaron 444 muestras de sangre de población militar de la Base de Paracaidismo del Puerto de San José, departamento de Escuintla y del Centro de Salud No. 2, Clínica de Infecciones de Transmisión Sexual del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Se compararon los resultados obtenidos de las pruebas Determine HIV-1/2 antes del enriquecimiento con SMARTube y Biostrip antes y después del enriquecimiento con SMARTube. Se observaron 5 casos positivos y 439 casos negativos tanto por la prueba Determine HIV-1/2 como por la prueba rápida Biostrip antes y después del enriquecimiento por medio del SMARTube, por lo que el comportamiento de ambas pruebas fue exactamente el mismo en los pacientes evaluados.

La prueba evaluada presentó una sensibilidad perfecta del 100% (IC: 98.75-100%) y especificidad perfecta del 100% (IC: 99.89-100%) a un nivel de confianza del 95%, con un valor *kappa* de 1.00, lo cual demostró que no hay diferencia entre ambas pruebas con respecto al nivel de detección de anticuerpos por lo que la prueba realizada en este estudio es válida, altamente sensible y específica para la detección del virus a los niveles de anticuerpos detectables por la prueba de referencia (Determine HIV-1/2).

En este estudio no se observaron casos positivos adicionales, debido a que probablemente en la población estudiada no se encontraba ningún individuo en período de ventana, sin embargo, se han llevado a cabo diversos estudios en Israel, Sudáfrica, Kenia, México, Estados Unidos y China en los cuales se han realizado pruebas con población de alto riesgo obteniéndose un promedio de 0,1%-4% de casos adicionales positivos después de un tratamiento previo de las muestras por medio de dicha metodología.



## II. INTRODUCCIÓN

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se identificó por primera vez en 1981. La identificación del VIH como agente causal del Sida en 1983 a 1984 fue rápidamente seguida por la caracterización del virus y de las células que infecta, así como la descripción de las múltiples consecuencias de la infección. Los estudios epidemiológicos han identificado a las principales poblaciones en riesgo de adquirir la infección y las vías a través de las cuales se transmite el virus. Se ha clasificado la enfermedad clínica relacionada por la infección por VIH y se han diseñado estrategias terapéuticas para el tratamiento o supresión del mismo. En 1985 se desarrollaron pruebas diagnósticas para la detección de anticuerpos contra VIH, se realizaron pruebas de actividad *in vitro* de ciertos compuestos potencialmente terapéuticos con actividad contra el virus, y se iniciaron estudios clínicos para establecer la seguridad y eficacia de estos posibles medicamentos (1).

Según el programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) hasta diciembre 2008 se encontraban 33.4 millones de personas viviendo con VIH a nivel mundial (2,3).

En Guatemala, el Ministerio de Salud Pública a través del Programa Nacional de Prevención y Control de ITS, VIH y SIDA, ha notificado 20,484 casos de SIDA desde 1984 hasta noviembre 2009 (4).

La infección por VIH es una epidemia que se encuentra difundida en todo el mundo. Su diagnóstico trasciende en importancia a otros diagnósticos de laboratorio debido a la gravedad de la enfermedad. Dado que la vía de transmisión es a través de la sangre y contacto sexual, uno de los medios más importantes para frenar la epidemia es su correcto diagnóstico (5-7).

La detección temprana de la infección conduce a iniciar un tratamiento que ofrece una mejor calidad de vida para el paciente, a evitar la aparición exponencial de nuevos casos, a realizar estudios epidemiológicos reales, a disminuir la morbi-mortalidad de las personas ya

infectadas, a garantizar la seguridad de los productos sanguíneos y para prevenir la infección del feto o recién nacido en el caso de mujeres embarazadas (8-12).

Los individuos asintomáticos que son seronegativos, pero que se encuentran infectados con VIH, pueden no ser identificados por pruebas serológicas comunes hasta después de un tiempo de haber adquirido la infección (7). Ésto debido al período de ventana de semanas y meses desde el momento de la infección hasta la seroconversión (5). En estos casos, el paciente es altamente infeccioso, ya que al desconocer su estado pone en riesgo a otras personas (13).

Con el surgimiento de nuevas pruebas, como el método comercial certificado en Europa SMARTube™, se puede reducir el periodo de ventana, ya que por medio de esta prueba se detectan anticuerpos a los pocos días de la infección, aun cuando sus niveles no son detectables por los métodos utilizados convencionalmente, sin tener que esperar a que el organismo produzca anticuerpos semanas o meses más tarde. Por medio de esta tecnología se activa la producción de anticuerpos a niveles que pueden ser detectados por los métodos utilizados convencionalmente reduciendo así la tasa de falsos negativos (14).

Por medio de la presente investigación se pretende evaluar si el método comercial SMARTube™ reduce el periodo de ventana de la infección causada por el VIH, para ésto se obtendrán 440 muestras de sangre total heparinizada de población de alto riesgo que asiste al Centro de Salud No. 2 del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social y población militar, con el beneficio de identificar a los portadores de la enfermedad que se consideran como no infectados y para tomar medidas necesarias para impedir la transmisión de dicho virus.

### **III. ANTECEDENTES**

#### **A. INFECCIÓN POR VIH**

La infección por VIH produce un defecto adquirido en la función inmunitaria, que afecta en especial a la inmunidad mediada por células. Los individuos infectados pueden ser asintomáticos o tener enfermedad progresiva relacionada con infecciones oportunistas recurrentes, ciertos cánceres, pérdida grave de peso y degeneración del sistema nervioso central. Desde hace algunos años el uso de combinaciones potenciales de fármacos antirretrovirales (tratamiento antirretroviral de alta actividad) aunado a la capacidad para vigilar la respuesta terapéutica al cuantificar el RNA del VIH en plasma ha alterado notablemente el pronóstico de la infección por este virus. El tratamiento antirretroviral de alta actividad ha reducido en forma notable la incidencia de infecciones oportunistas y ha mejorado la supervivencia (1).

La identificación de la causa viral del Sida ha estimulado a los inmunólogos para investigar la patogenia de la enfermedad. El desarrollo racional de compuestos antirretrovirales eficaces puede verse auxiliado por el conocimiento de los mecanismos a través de los cuales el VIH puede dañar al sistema inmunitario. Aunque la investigación sobre VIH ha proporcionado más información de la patogenia de éste que la que se dispone sobre cualquier otro virus, aún no se comprende del todo el origen de las características y la disfunción inmunitaria profunda causada por el VIH (1).

#### **B. DEFINICIÓN DE Sida**

El término “síndrome de inmunodeficiencia adquirida” (Sida) fue acuñado inicialmente por los epidemiólogos, preocupados por la aparición, en 1981, de un conglomerado de enfermedades relacionadas con la pérdida de la inmunidad celular en adultos que no mostraban una causa evidente para tales deficiencias inmunitarias (15).

En 1983, el equipo de Montagnier aisló un retrovirus que denominó Virus asociado a linadenopatía (LAV) a partir de un ganglio linfático de un paciente que presentaba una

linfadenopatía persistente generalizada y en 1984 el equipo de Gallo descubrió otro retrovirus que denominaron linfotrópico humano de células T (HTLV-III). Posteriormente se comprobó que ambos virus eran en realidad el mismo e internacionalmente se acordó denominarlo Virus de la Inmunodeficiencia Humana 1 o VIH-1 para diferenciarlo de otro retrovirus similar que fue aislado en 1986 y se denominó VIH-2 (16,17).

Más adelante se demostró que el Sida era la fase clínica tardía de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) (15).

Esta inmunodeficiencia afecta principalmente a los linfocitos T ayudadores (LT-h, o CD4), cuyas cifras disminuyen porque progresivamente se destruyen con la evolución de la enfermedad (18).

Clínicamente, en las etapas tardías de la enfermedad hay infecciones graves por microorganismos oportunistas y aparición de neoplasias, como el sarcoma de Kaposi (19,20).

A partir del momento en que el virus entra al cuerpo de la persona infectada pueden pasar de dos semanas a tres meses antes de que aparezcan anticuerpos en su sangre. En promedio, la enfermedad tiene un periodo de incubación de 10 años, lo que implica que una persona puede transmitir el virus sin saber que se encuentra infectada (15).

### **C. ETIOLOGÍA: VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA**

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) es un miembro de la familia de los retrovirus, un grupo de virus con cápsula que poseen la enzima transcriptasa inversa. Esta enzima permite que el virus sintetice una copia de ADN a partir de su propio ARN genómico (1,21).

Este virus se ha clasificado dentro del grupo de la familia de los lentivirus, un grupo de retrovirus sin transformación con un período de latencia prologando desde la infección hasta el inicio de las manifestaciones clínicas, características morfológicas similares y homología en la secuencia de nucleótidos (1,21,22).

Hay dos subtipos de VIH: VIH-1, el más frecuente en África central, Estados Unidos, Europa y Australia; el VIH-2 se encuentra en la región occidental de África, algunas partes de Europa y es menos común en otras partes, además el VIH-2 es probablemente menos citopático que el VIH-1 lo que hace que se desarrolle la enfermedad más lentamente (1,19,23,24).

Como resultado de mutación y recombinación, se han identificado diversas variantes de VIH-1 y VIH-2. Hay dos grupos de VIH-1: el grupo M (principal), el cual predomina en todo el mundo y se subdivide en al menos nueve subtipos o clases (A a I) con base principalmente en las diferencias en las secuencias *env* y *gag* y el grupo O (aislado) que consiste en un pequeño número de cepas divergentes. El VIH-2 se subdivide en una forma similar en subtipos. A nivel molecular, el VIH-2 se parece más al virus de la inmunodeficiencia en simios, apoyando datos que sugieren que el VIH se originó del lentivirus de primates. Cuando se compara el VIH-1 con el VIH-2, la homología de la secuencia de nucleótidos es de sólo el 42%, pero clínicamente se comportan en forma similar. El período de latencia clínico del VIH-2 es más prolongado desde el momento de la infección al desarrollo de los síntomas y tiene una tasa más baja de transmisión vertical que el VIH-1 (1,19).

El VIH-1 presenta una extremada variabilidad genética por lo que forma parte de una población viral heterogénea que dificulta la comprensión de algunos de los mecanismos de interacción entre el virus y su huésped (16).

El VIH es una partícula esférica con un diámetro entre 80 y 110 nanómetros. Esta partícula presenta tres capas concéntricas: la capa interna contiene una especie de nucleoide con forma de cono truncado constituido por el ARN del virus y la nucleoproteína con las enzimas; la capa intermedia es la nucleocápside icosaédrica; la capa externa o envoltura es una bicapa lipídica derivada de la célula huésped; está constituida por la inserción de glucoproteínas del virus constituidas por trímeros de gp120 (gp, abreviatura de glucoproteína) formando 72 proyecciones y por una alta concentración de proteínas

celulares entre las que destacan antígenos de histocompatibilidad de clases I y II (HLA I y II) (16).

El genoma del VIH-1 es un ARN de cadena única constituido por 2 hebras idénticas de 9.8 kb y de polaridad positiva que posee diferentes genes encargados de codificar distintas proteínas. Existen genes encargados de codificar los componentes de la partícula vírica (genes estructurales) y de regular la expresión de los mismos (genes reguladores). Los tres genes principales, que codifican las proteínas respectivas correspondientes a los antígenos internos, son comunes a todos los retrovirus y son los que se denominan *gag* (de grupo), *pol* (polimerasas) y *env* (envoltura). De los genes estructurales el gen *gag* codifica las proteínas del core y el gen *pol* codifica, fundamentalmente, las enzimas como la transcriptasa inversa y la proteasa y el gen *env* las proteínas de la envoltura vírica. Entre las funciones principales del *gag* se encuentra la de constituir la mayor parte de la estructura del virión participando en la síntesis de ADN y su integración, además de contribuir al ensamblaje de las partículas víricas y su salida de la célula, el *pol* participa en la síntesis de ADN y su integración en el genoma celular mientras que el *env* participa en la asociación y entrada del virus en la célula por lo que se considera como el antígeno de entrada. En contraposición con otros retrovirus, que sólo poseen tres genes reguladores, los VIH poseen al menos 7 genes reguladores que entre otras funciones tienen la de expresar el material genético viral integrado en la célula, lo que los une de un modo importante con la latencia del virus en ella. Entre las proteínas reguladoras las más importantes son las Tat y Rev que son esenciales para la replicación del virus; la Tat actúa como transactivadora de todas las proteínas y la Rev como procesadora del ARNm y su transporte selectivo en el citoplasma. Por lo general los genes reguladores tienen el mismo nombre que la proteína que codifican, el gen se escribe con minúsculas (p.e., *tat*) y la proteína con la primera letra en mayúscula (Tat). Entre los otros genes estructurales el *vpr* actúa como acelerador del ciclo de replicación, el *nef* puede tener una acción reguladora negativa y el papel que desempeña no es muy bien conocido en la patogenicidad del virus, el *vif* se asocia al grado de infección de los viriones extracelulares y no es esencial para la replicación, el *vpr* puede facilitar la salida de los viriones y reducir la formación de sincitios y está relacionado con la muerte de

los CD4, y el *tev* que es activador de los *tat* y *rev*. En el anexo I se resumen los principales genes del VIH y funciones de las proteínas que codifican (16).

#### **D. PATOGENIA DE LA INFECCIÓN**

La infección por VIH afecta en forma predominante al sistema inmunitario y al cerebro. La característica inmunitaria dominante de la infección por VIH es la reducción progresiva de la subpoblación CD4 de los linfocitos T, por lo que se invierte la proporción normal CD4:CD8 y en forma inexorable causa inmunodeficiencia. La reducción en los linfocitos CD4 se debe principalmente al tropismo del VIH por estas y otras células que portan CD4, porque la superficie molecular de las células CD4 funciona como receptor para el virus (1,25). Los linfocitos CD4 son necesarios para el funcionamiento apropiado del sistema inmunitario. Interactúan con las células presentadoras de antígeno, células B, células T citotóxicas y las células asesinas naturales (NK; del inglés *natural killer*) (1).

La reducción de la población de los linfocitos CD4 y la interferencia del virus con los mecanismos de activación linfocitaria provoca una inmunodeficiencia grave (1,26).

Para que el VIH penetre en la célula se debe producir la fusión de las membranas viral y celular. La entrada del VIH en la célula se produce por la interacción del virus con al menos dos tipos de receptores. El receptor específico y común a todos los VIH es una proteína que se encuentra en la superficie de las células diana y que se denomina molécula CD4. Se cree que esta molécula es específica y eficiente y que la afinidad de la gp120 viral por la CD4 es mayor que la afinidad de ésta por su ligando natural, una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad clase II. Las principales células que poseen este receptor son los linfocitos y los monocitos/macrófagos (CD4+), aunque *in vitro* otros tipos celulares pueden ser infectados por el VIH y no todos ellos poseen la molécula CD4 (CD4-). Los linfocitos CD8 no expresan en condiciones normales el receptor CD4 pero se sabe que luego de la infección de determinados virus sí pueden expresarlo (16).

Una vez que tiene lugar la interacción entre la gp120 y los receptores se produce la fusión entre las membranas de la célula y del virus que tiene como responsable a la gp41 que se insertará en la membrana celular permitiendo la internalización de la nucleocápside del virus y la desencapsidación de su genoma (1,16).

Luego de la entrada se inicia la replicación del virus por transcripción inversa o retrotranscripción mediada por la transcriptasa inversa del virión y que conduce a la formación de la primera cadena del ADN a partir del ARN viral. La segunda cadena del ADN requiere la acción de la ribonucleasa. La doble cadena así generada es integrada por medio de la integrasa viral en el ADN de la célula, aunque parte del ADN formado puede persistir en el citoplasma de la célula sin integrarse dentro del genoma celular. La integración del ADN proviral en el genoma celular puede depender del estado de activación de la célula, pero parece ser inespecífica. Se cree que en los linfocitos el ADN no integrado podría producirse por la entrada de múltiples viriones en la célula; se sabe que la copia del material genético del VIH como ADN se almacena en el citoplasma de la célula y se va integrando en los cromosomas de la célula a medida que pasa el tiempo y como consecuencia de estímulos sobre la célula, este fenómeno podría explicar en parte las infecciones silentes y ser base para la preparación de vacunas con ADN desnudo. El proceso de retrotranscripción y de integración no solo depende de los factores del VIH ya que en ellos juega un papel importante la propia activación celular (16).

Una vez integrado en el material genético de la célula el provirus puede permanecer latente o empezar a multiplicarse de una forma controlada o de una forma masiva, en cuyo caso ocasionará efectos citopáticos sobre la célula mientras que en la latencia, producida después de la integración del provirus, no se producen alteraciones patológicas. La activación celular por diferentes factores, como antígenos, mitógenos, citoquinas o virus heterólogos pueden activarla y producir una cascada de acontecimientos que llevan a la expresión del genoma viral; estos factores, entre los que el NF-kB (factor nuclear KappaB) es el principal factor regulador de la transcripción del VIH a partir de su estado de latencia, llevan a una nueva transcripción que supone la síntesis de ARN del virus a partir del ADN proviral integrado en la célula (1,16). Este ARN se sintetiza como un único transcrito que



debe volver al citoplasma de la célula para procesarse en transcritos de diferente tamaño y en los que son fundamentales las proteínas *Tat* y *Rev* (16).

Se piensa que el resto de acontecimientos requieren señales específicas sin las que sólo se forman partículas virales maduras sin ARN viral. El ensamblaje del *core* ocurre en la membrana celular y parece comenzar con la asociación de la proteína p17 de la matriz con el dominio citoplasmático de la proteína gp41. También parece que la separación de las proteínas del *core* se produce a partir de poliproteínas precursoras durante la formación de la partícula y después de ella. La síntesis de las proteínas de la envoltura viral se produce en el retículo endoplásmico de la célula huésped a partir de la gp160; ésta en el aparato de Golgi es separada por una proteasa para producir gp120 y gp41 antes de transportarlas a la superficie de la célula. El virión maduro está compuesto por una membrana, que incluye las proteínas virales gp120 y gp41, además de varias proteínas celulares, un *core* que contiene ARN viral, transcriptasa inversa e integrasa. Otras proteínas no son empaquetadas en los viriones y sólo actúan en los pasos que preceden a la liberación de los virus (16).

Los primeros estudios de hibridación *in situ* sugirieron que sólo unos cuantos de los linfocitos CD4 (casi uno de cada 10,000) contienen la replicación de VIH. En estudios más recientes de linfocitos en sangre periférica se ha demostrado que hasta 1 de 10 células se infecta con VIH, en particular en personas con enfermedad avanzada. Aunque los datos son limitados, el número de células infectadas en los tejidos parece ser mayor que en la sangre periférica (1).

Los datos sugestivos de que las moléculas CD4 se encuentran en otras células aparte de los linfocitos T cooperadores-inductores se acompañaron de pruebas, ya que el VIH puede infectar otras poblaciones celulares que expresan esta molécula en su superficie. Otras células susceptibles a la infección por VIH incluyen monocitos-macrófagos, células microgliales, células de Langerhans y otras células de la médula ósea. El que el VIH demuestre tropismo celular se encuentra determinado principalmente por la secuencia de aminoácidos de la cubierta del mismo (1,16).

Se cree que las células de la línea de los macrófagos proporcionan un reservorio importante para el VIH *in vivo* y puede contribuir a la patogenia de la deficiencia inmunitaria por funcionamiento anormal. Por ejemplo, los macrófagos infectados con VIH fagocitan a microorganismos como *Candida albicans*, *Toxoplasma gondii* y el complejo de *Mycobacterium avium* (1).

La infección por VIH, genera una respuesta inmunitaria tanto de tipo humoral como celular. Sin embargo, esta respuesta no es capaz de eliminar completamente la replicación viral. Los mecanismos por los cuales el VIH es capaz de evadir la respuesta del sistema inmunitario son múltiples. Por una parte, este virus tiene alto grado de mutabilidad, y por otra, ha desarrollado mecanismos que protegen a la célula infectada frente a los linfocitos T citotóxicos (Tc) (1,27-29).

La pérdida de linfocitos CD4, que es una característica de la infección por VIH, ocurre principalmente como resultado de apoptosis o muerte celular programada. Otros mecanismos que contribuyen a la muerte de las células T CD4 no infectadas incluyen la fusión celular con células infectadas con VIH, desarrollo de poros en la membrana celular de los linfocitos infectados conforme los virus de VIH protruyen a través de la superficie celular, la acumulación de ADN viral no integrado en el citoplasma celular y la destrucción de las células CD4 no infectadas (observadores inocentes) las cuales se han encontrado sin glucoproteína gp120 de la cubierta de VIH (1).

Además de un descenso en el número de células CD4, a la inmunodeficiencia de la infección por VIH también contribuyen trastornos funcionales en dichas células, presentes antes del descenso de los linfocitos CD4. La anomalía funcional en las células CD4 que se detecta más temprano es una pérdida en la respuesta a los antígenos de memoria, seguido por una proliferación reducida en respuesta de los aloantígenos y por último, una disminución en la respuesta a mitógenos. Una pérdida de estas tres respuestas predice un deterioro clínico mucho más rápido que en casos de conservarse todas o algunas de ellas (28).

Los datos recientes muestran que desde el momento de la infección, cada día se producen grandes números de viriones, con recambio rápido (vida media aproximada de 6 horas) así como de las células T infectadas (vida media menor de 1.5 días). Aunque las concentraciones de ARN de VIH en plasma pueden ser bajas durante la latencia clínica, algunos datos sugieren que en los tejidos se producen cantidades considerables del virus, en particular en ganglios linfáticos (1).

Los linfocitos T activados que expresan CD4, y que se han infectado con VIH son los causantes de la presencia de casi el 99% del ARN de VIH en el plasma (carga viral). Estas células son muy susceptibles a los tratamientos antirretrovirales. Las células del linaje de macrófagos contribuyen sólo con 1% de la carga viral, pero son más resistentes al tratamiento por su vida media más larga y por su localización en tejidos como el cerebro, en donde los fármacos antirretrovirales penetran en forma inadecuada. Así, estas células se consideran como un reservorio importante para el VIH en individuos infectados (1).

Durante la infección aguda la carga viral es extremadamente elevada. Una vez que se desarrollan los linfocitos T citotóxicos (Tc) y otras respuestas inmunitarias, la carga viral se reduce. Casi nueve meses después de la infección se obtiene un equilibrio entre la respuesta inmunitaria del huésped y el virus; esto se refleja por una concentración plasmática relativamente estable de ARN de VIH, a lo cual se le conoce como “punto de equilibrio virológico”. Un punto de equilibrio elevado se relaciona con un pronóstico malo y viceversa. Cada día, en situación de equilibrio se producen/destruyen unos  $10^{12}$  viriones, lo que representa la renovación diaria del 30% de partículas circulantes. Por la misma razón, cada día se producen/destruyen  $10^9$  linfocitos CD4 con infección productiva, lo que representa un índice de recambio 10 a 100 veces superior al fisiológico, generando una población de virus muy heterogénea (1,16,24,30).

La replicación del VIH en los monocitos y macrófagos ocurre con lentitud en comparación a lo que sucede en los linfocitos, con poca respuesta citopatológica, apoyando su función como reservorio viral *in vivo*. Los linfocitos T en reposo también pueden infectarse con VIH, pero se bloquea el ciclo de replicación celular en el paso de la

transcriptasa inversa. Si se activa la célula en el lapso de pocos días, se produce la infección por el virus; de otra forma, la infección se aborta. Estos linfocitos no activados proporcionan un reservorio adicional de personas infectadas con VIH (1).

Las células T CD4+ y los macrófagos han mostrado ser susceptibles a la replicación del VIH y en consecuencia dirigen a defectos cuantitativos y cualitativos en el sistema inmune. Los datos sugieren que los defectos inmunorreguladores son claramente evidentes en las células mononucleadas de sangre periférica (en inglés, PBMC) de los individuos infectados. Por otra parte, estos defectos pueden conducir al incremento de la síntesis de inmunoglobulinas por el aumento de las señales necesarias o las citocinas necesarias para el disparo de inmunoglobulina secretora de células B (7).

Otra característica importante de la infección por VIH es la afección del sistema nervioso central. Los datos clínicos varían de trastornos menores en la memoria hasta cambios en la personalidad que pueden llevar a la demencia y trastornos psiquiátricos y afectivos hasta la demencia letal. En tejido cerebral infectado se ha detectado VIH en células gigantes multinucleadas compuestas predominantemente por monocitos-macrófagos y microglia lo que sugiere una función patogénica importante para estas células. Una hipótesis alternativa es que el VIH puede inhibir en forma competitiva la unión de neuroleucina a las neuronas. Este factor neurotrófico presenta homología con una región conservada de la glucoproteína de la cubierta del VIH, gp120 (1, 19).

## **E. EPIDEMIOLOGÍA**

Se ha demostrado que la infección por VIH ocurre por contacto sexual, tanto en hombres que tienen sexo con hombres (HSH) como en heterosexuales, también por administración de sangre o hemoderivados infectados, inseminación artificial con semen infectado, exposición a agujas que contengan sangre y transmisión de una madre infectada a su hijo o a un lactante durante o después del parto (1,19,31-33).

La manera más fácil de que el virus penetre al organismo es por vía rectal, ya que la mucosa intestinal carece a ese nivel de las barreras linfoides que se presentan en la parte

inicial del tracto digestivo. La promiscuidad, habitual entre HSH, facilita la entrada del virus por vía rectal (19).

La transmisión varón-mujer se reporta con mayor frecuencia que la transmisión mujer-varón. La infección en mujeres ha tenido un incremento como consecuencia de un aumento de la transmisión heterosexual, ésto se ve reflejado en la variación que ha experimentado la razón hombre:mujer; en el quinquenio 1985-90 era de 15:1, en el quinquenio 1990-95 de 10:1 y en 1998 se redujo a 7:1 (1,34,35).

La transmisión de la madre a su descendencia ocurre por paso trasplacentario del virus al momento del parto o *in utero*, o a través de la alimentación al seno materno, con lo cual se calcula que la frecuencia de transmisión de VIH de una madre a su hijo varía de 15 a 30%. El tratamiento antirretroviral a la madre y al recién nacido pueden reducir el riesgo de transmisión vertical a 5% o menos (1,19,36).

Los trabajadores sanitarios se encuentran en riesgo de infección por VIH, pero éste es considerablemente bajo (casi 1:250 exposiciones a aguja contaminada con VIH produce infección), hay muy pocos casos hasta el presente. Los datos epidemiológicos no apoyan la transmisión de VIH por contacto casual, insectos o por compartir utensilios (mesas, cepillos dentales, etc.). No hay datos que soporten la transmisión del virus en aerosol (1,19).

El VIH puede detectarse en muestras de saliva de personas infectadas con el virus a concentraciones extremadamente bajas (menos de 1 partícula infecciosa por mililitro). De manera similar se considera poco probable que la infección por VIH se transmita por orina, heces, sudor, lágrimas y líquido amniótico, por sus títulos virales extremadamente bajos (1).

En África central y occidental así como en Asia, los casos de Sida se distribuyen de manera uniforme entre varones y mujeres y se considera que el mecanismo más común de transmisión es heterosexual, en especial de trabajadoras del sexo infectadas a sus clientes. El riesgo de factores relacionados con infección por VIH en heterosexuales incluye gran

número de parejas sexuales, prostitución, sexo con trabajadoras del sexo, antecedentes de enfermedades de transmisión sexual como gonorrea o sífilis y ulceración genital de cualquier causa. Aunque la mucosa intestinal y el epitelio cervical pueden infectarse con VIH, la posibilidad de infección se incrementa notablemente si hay abrasiones o ulceraciones. Otros factores de riesgo incluyen uso de múltiples agujas o jeringas en unidades médicas y prácticas de ritual en las cuales se utilizan instrumentos no esterilizados; éstas incluyen escarificación, tatuaje y perforación de pabellón auricular (1,19).

La exposición al VIH no siempre produce infección. Sin embargo, una exposición puede ser suficiente para causar infección, dependiendo del tamaño del inóculo, vía de entrada y quizá de factores del huésped. La dosis para infectar a 50% de los individuos expuestos ( $DI_{50}$ ) se desconoce en seres humanos, pero se calcula que es baja (<10 a 100 viriones). Los virus asociados con células o los libres son infecciosos. Casi 50% de los individuos infectados con VIH que no reciben tratamiento antirretroviral padecerán Sida en un periodo de 10 a 12 años desde el momento de la infección. El periodo de latencia (desde el momento de la infección hasta el inicio de la enfermedad) puede variar de acuerdo al inóculo viral, virulencia de la cepa infectante, vía de entrada y edad del paciente (1,35).

Según el programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) hasta diciembre 2008 se encontraban 33.4 millones de personas viviendo con VIH a nivel mundial. De estos, 31.3 millones son adultos, de los cuales 15.7 millones son mujeres y 2.1 millones son niños con edades por debajo de los 15 años (2,3).

La epidemia del VIH en América Latina se mantiene estable por lo general, y la transmisión del VIH sigue produciéndose en poblaciones de mayor riesgo de exposición, entre ellas, profesionales del sexo, hombres que tienen relaciones sexuales con hombres y usuarios de drogas inyectables. El número estimado de nuevas infecciones por el VIH en América Latina en 2008 fue 170,000 lo que eleva a 2.0 millones el número total de personas que viven con VIH en esta región (2).

De todos los países de América Latina, los del norte de América Central son los más afectados por el VIH. En Guatemala, Honduras y Belice, la epidemia tiene mayor avance debido a las relaciones heterosexuales. En Costa Rica el VIH está concentrado entre los hombres que tienen relaciones sexuales con hombres (38).

En Guatemala, el Ministerio de Salud Pública a través del Programa Nacional de Prevención y Control de ITS, VIH y SIDA, ha notificado 20,484 casos de Sida y VIH desde 1984 hasta noviembre 2009. La epidemia es concentrada, manteniéndose una prevalencia menor de 1% en población general. Geográficamente el 78% de los casos reportados se encuentra en 7 de 22 departamentos. Afecta principalmente a poblaciones más expuestas tales como hombres que tienen sexo con otros hombres y trabajadores sexuales. Los privados de libertad, jóvenes en riesgo social, los clientes de trabajadores sexuales, y los pacientes con tuberculosis, también son afectados por el VIH. La vía de transmisión más común es la sexual (94% de los casos) y la transmisión materno-infantil es del 5%. En el 2009, ocurrieron en promedio 17 nuevas infecciones VIH por día; 14,466 adultos y 1,425 niños requirieron TAR y dos terceras partes de las personas con VIH desconocían su condición seroepidemiológica (4).

En el Centro de Salud No. 2 del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social la prevalencia de casos positivos en el año 2003 fue de 1.78%, en el 2004 de 1.26%, en el 2005 de 1.84%, en el 2006 de 2.01%, en el 2007 de 1.01% y en el 2008 (hasta mayo) de 1.19% (39).

Un estudio del CDC realizado en el año 2001 en Guatemala en una población de 3,300 militares estima que la prevalencia de VIH/SIDA en esta población es del 0.7%, sin embargo, aún es escasa la información disponible para este grupo (40).

## F. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Las manifestaciones clínicas producidas por la infección del VIH se presentan de forma variada, desde la ausencia total de síntomas, ligeros malestares, hasta desórdenes neurológicos debido a enfermedades oportunistas o la muerte (41).

Después de la infección por VIH, algunas personas desarrollan una infección aguda o primaria, Seguido por un periodo de latencia clínica durante el cual no se presentan síntomas, luego por un período sintomático hasta llegar a la fase tardía o Sida (42).

### 1. Período agudo

Después de la infección con VIH, un individuo puede permanecer asintomático o desarrollar enfermedad aguda similar a la mononucleosis infecciosa (1,43,44). Este síndrome suele ocurrir en 2 a 6 semanas después de la infección, con periodos que varían de 5 días a 3 meses. Los síntomas predominantes son fiebre, cefalea, faringodinia, malestar general y exantema. Los datos clínicos pueden incluir faringitis, linfadenopatía generalizada, exantema macular o urticariforme en cara, tronco y extremidades; y hepatoesplenomegalia (1,19,21,42,45). Durante la enfermedad aguda los anticuerpos contra VIH por lo general no se detectan. Aunque la enfermedad a menudo es muy incapacitante, necesitando reposo en cama e incluso hospitalización, algunos individuos experimentan sólo síntomas leves y no buscan atención médica (1).

La infección aguda por VIH también se ha relacionado con trastornos neurológicos, entre ellos meningitis, encefalitis, parálisis de pares craneales, miopatía y neuropatía periférica. También son frecuentes las manifestaciones digestivas, como náuseas, vómitos, anorexia, diarrea y dolor abdominal (1,45).

Durante la enfermedad aguda casi nunca se detectan anticuerpos específicos frente al VIH debido a que se produce el período de ventana, en el cual no es posible detectar la presencia de éstos, a pesar de existir niveles de viremia muy elevados (13,35,46).



Seguido por un período de latencia clínica, el cual puede durar de uno a diez años, dependiendo de la magnitud del inóculo y de la capacidad de respuesta inmune del paciente (19,42). A esta fase, se le denomina periodo de “portador asintomático”, en el que la persona puede no sospechar su infección pero es capaz de transmitirla a través de su sangre y secreciones corporales. Este periodo se presenta entre las seis semanas y los seis meses posteriores al momento de adquirir el virus, en este periodo es donde se produce la seroconversión (21,30,42).

## 2. Período sintomático

El desarrollo de síntomas relacionados con VIH se debe a disfunción progresiva de la función inmunitaria (1,19). Los signos y síntomas constitucionales incluyen fiebre persistente, diaforesis nocturna, pérdida de peso, diarrea crónica inexplicable, eccema, psoriasis, dermatitis seborreica, herpes zóster, candidiasis oral y leucoplaquia vellosa de la cavidad bucal. Resultados de numerosos estudios han demostrado que la prevalencia de lesiones a nivel de la cavidad bucal es alta en los individuos infectados y estos trastornos son indicadores de un pronóstico desfavorable y anuncian la progresión hacia el Sida (47,48). La trombocitopenia relacionada con VIH (definida como un recuento plaquetario <50,000/ $\mu$ L sin otras causas conocidas) se encuentra en menos del 10% de los individuos infectados), también puede encontrarse anemia (1,43,45).

El recuento de CD4 empieza a decaer y se coloca en un nivel de 400 por mm (19).

## 3. Sida

Es un síndrome secundario a la infección por el VIH; es el resultado final de la enfermedad y se caracteriza por una severa inmunosupresión, siendo la respuesta inmunológica cada vez más deficiente, lo cual conlleva a la aparición de infecciones oportunistas, condiciones autoinmunes y neoplasmas asociados a una mayor morbilidad y mortalidad (22,24,41).

Los criterios para el diagnóstico del Sida fueron definidos por el CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) y comprenden ciertas infecciones oportunistas y cánceres,

encefalopatía relacionada con VIH y una amplia gama de enfermedades indicativas de Sida en individuos con datos de laboratorio de infección por el virus. El CDC ha modificado la definición para incluir adultos y adolescentes con infección por VIH diagnosticada que tienen recuento de linfocitos CD4 menor de 200 células/ $\mu$ L de sangre o una cantidad de linfocitos T CD4 menor del 14%, independientemente de los síntomas clínicos. Además, la tuberculosis pulmonar, neumonía bacteriana recurrente y cáncer cervicouterino invasor se han añadido a la lista de trastornos que definen al Sida (1,22,41).

La clasificación del CDC de 1993 clasifica a los pacientes según los datos clínicos (categoría clínica) y el número de linfocitos CD4 (categoría inmunológica). Ver anexo II. (49).

La infección por VIH en niños tiene algunas características clínicas, inmunológicas y virológicas distintas de las del adulto. Los niños exhiben recuentos de CD4 y carga viral significativamente más altos que los adultos, el período de incubación de la infección por VIH es más corto y las manifestaciones clínicas son multisistémicas y con frecuencia inespecíficas, caracterizándose por una mayor frecuencia, severidad, duración, refractariedad a tratamiento y recurrencia de las patologías propias de la infancia, además de infecciones oportunistas (24).

Las infecciones oportunistas más comunes encontradas son neumonitis por *Pneumocystis carinii*, criptocosis diseminada, toxoplasmosis, tuberculosis (las personas con infección por VIH tienen 100 veces más probabilidad de desarrollar tuberculosis que una persona no infectada) (50) (tanto por complejo *Mycobacterium avium* como *tuberculosis*), infección crónica recurrente, ulcerosa relacionada con el virus del herpes simple, infecciones diseminadas por citomegalovirus e histoplasmosis. Los pacientes con Sida también tienen una frecuencia elevada de bacteremia por *Salmonella*, infección por estafilococos y neumonía. Los niños con Sida pueden desarrollar infecciones oportunistas como neumonía por *P. carinii*, pero tienen una frecuencia más elevada de neumonitis linfocítica intersticial e infecciones bacterianas recurrentes que los adultos (1,19,45).

El cáncer diagnosticado con mayor frecuencia en pacientes con Sida es el sarcoma de Kaposi, una neoplasia que afecta el endotelio y el estroma mesenquimatoso. El agente causal del sarcoma de Kaposi es un herpesvirus (VHH-8) (1,19).

## **G. TRATAMIENTO**

El tratamiento de la infección por el VIH comprende diferentes aspectos entre los cuales destaca la dieta, los tratamientos de las distintas patologías infecciosas y tumorales presentes en la misma y el tratamiento antirretroviral (44,49).

En la actualidad se dispone de un total de 15 fármacos antirretrovirales (13 en la Unión Europea, ya que la delavirdina y el amprenavir no están autorizados por la Agencia Europea del Medicamento) para el tratamiento de la infección, que pertenecen a cuatro familias:

1. Análogos nucleósidos de la transcriptasa inversa (ANITI): Zidovudina (AZT), Didanosina (ddI), Zalcitabina (ddC), Estavudina (d4T), Lamivudina (3tC), Abacavir (ABA)
2. Análogos nucleótidos de la transcriptasa inversa (ANTITI) : Tenofovir (PMPA)
3. No análogos de los nucleósidos de la transcriptasa inversa (NNITI): Nevirapina, Delavirdina, Efavirenz
4. Inhibidores de la proteasa (IP): Saquinavir, Ritonavir, Indinavir, Nelfinavir, Amprenavir, Lopinavir (49). Ver anexo III.

Además de estos cuatro grupos, existen otros fármacos que también se utilizan en algunas ocasiones en el tratamiento de la infección como la hidroxiurea, el ácido micofenólico y la interleucina 2 (49).

En los adultos, el tratamiento antirretroviral de la infección por VIH con asociaciones de 3 o más drogas antirretrovirales suprime, en la mayoría de los casos, la replicación viral, con lo que la carga viral puede llegar a hacerse indetectable, se detiene el deterioro del sistema inmunológico y se recupera cualitativa y cuantitativamente la respuesta inmune, observándose una significativa disminución de la morbilidad asociada, de la progresión de

la enfermedad y la mortalidad por Sida, siendo la terapia antirretroviral (TAR) una intervención de gran costo efectividad. Desafortunadamente, no se logra erradicar el genoma viral de los tejidos reservorio, por lo que la suspensión de la TAR lleva a la reaparición de virus circulante y nuevo deterioro inmunológico y clínico. Las terapias actuales deben considerarse de por vida. Además, en muchas oportunidades, es necesario efectuar cambios de esquemas terapéuticos por toxicidad de las drogas o aparición de resistencia viral, la cual puede ser caracterizada mediante estudios de genotipificación viral (24).

En los pacientes infectados por el VIH, la indicación de profilaxis frente a las distintas enfermedades infecciosas a los que son propensos la marca fundamentalmente el nivel de linfocitos CD4 que presenta el paciente, ya que el nivel de la inmunidad es el que mejor predice el riesgo de desarrollar eventos oportunistas. Las indicaciones de profilaxis se pueden ver en el anexo III (49).

## **H. PREVENCIÓN**

Monogamia, educación sobre las prácticas de sexo seguro, realizar pruebas de tamizaje a toda sangre para transfusión, evitar contacto directo de la piel con sangre, medida especialmente importante en trabajadores de la salud, uso de antirretrovirales durante el parto lo cual evita que la infección se transmita al niño, las madres VIH+ no deben lactar al niño (1,19,35).

## **I. IMPORTANCIA DE LA DETECCIÓN TEMPRANA DEL VIRUS**

El VIH reduce la esperanza de vida por 20 años. La detección temprana del VIH es conveniente para la sociedad, tanto en términos de menos "años productivos" perdidos como en la reducción de los costos en atención a la salud. La detección temprana conduce a iniciar un tratamiento que ofrece una mejor calidad de vida para el paciente, a evitar la aparición exponencial de nuevos casos, a realizar estudios epidemiológicos reales, para disminuir la morbi-mortalidad de las personas ya infectadas, a asegurar la seguridad de los productos sanguíneos y a prevenir la infección del feto o recién nacido en el caso de mujeres embarazadas (8-12,51).

## J. DIAGNÓSTICO DEL VIH

El VIH es una epidemia que se encuentra difundida en todo el mundo. Su diagnóstico trasciende en importancia a otros diagnósticos de laboratorio debido a la gravedad de la enfermedad. Dado que la vía de transmisión es a través de la sangre y contacto sexual, uno de los medios más importantes para frenar la epidemia es su correcto diagnóstico. Esto puede garantizar que no se utilice para transfusión las unidades de sangre que se encuentran contaminadas con dicho virus, y cuando se busca en poblaciones de alto riesgo, que se detecten todos los individuos infectados, y, por tanto, la terapéutica pueda ser iniciada tempranamente y se puedan brindar medidas para educar a dicha población (5-7).

El diagnóstico definitivo de la infección por el VIH sólo puede establecerse por métodos de laboratorio, ya que en ningún caso las manifestaciones clínicas son lo suficientemente específicas (52). La identificación del VIH es de suma importancia para el control de la dispersión de Sida a nivel mundial (7).

Actualmente, la mayoría de centros de diagnóstico a través del mundo se basan en técnicas serológicas (7).

Los individuos seronegativos, asintomáticos pero que se encuentran infectados con VIH, raramente son identificados por las pruebas serológicas comunes, por lo que son muchas las personas infectadas que no son diagnosticadas correctamente (5,7,53).

Esto se debe al "periodo de ventana" de semanas y meses desde el momento de la infección por VIH hasta la seroconversión. El periodo de ventana se debe a la supresión de la respuesta inmune contra el virus (5). Durante el periodo de ventana, la serología negativa conduce a un diagnóstico falso, y el virus reside como ADN proviral sólo en los tejidos y no en la sangre, lo que dará lugar a resultados falsos negativos (54).

El lapso del periodo de ventana varía de una población a otra y está afectado por el ambiente, la genética y otros factores que afectan al sistema inmune, incluyendo la ruta de infección y el periodo de latencia. El periodo de ventana es causado por una supresión

inmune específica, por las células CD8+, también otros factores presentan un rol importante como la latencia viral y la tolerancia inmune periférica, por ejemplo, por la exposición *in utero* (54).

El serodiagnóstico del VIH es un elemento para limitar el impacto de la rápida expansión de la epidemia de VIH/Sida. El diagnóstico se basa en la detección de anticuerpos contra el VIH a través de pruebas serológicas que pueden ser pruebas de tamizaje, confirmatorias, otras se basan en la detección del virus en sí, por sus proteínas o su material genético y también por nuevas pruebas. Los anticuerpos contra el VIH aparecen en la circulación a las cuatro u ocho semanas de la infección (30).

A través de la educación directa se podrían evitar nuevas infecciones. Debido a las actuales limitaciones de las pruebas serológicas de anticuerpos, algunas unidades de sangre son transfundidas, difundiendo la propagación de la infección aún más (5,53).

En pacientes que se encuentran en el periodo agudo de la infección, la respuesta inmune está empezando a desarrollarse, por lo que los anticuerpos no se detectan por los métodos convencionales, por lo que no debe excluirse la infección. En algunos casos, el diagnóstico por infección puede ser descartado, por lo que el paciente es altamente infeccioso, ya que al desconocer su estado pone en riesgo a otras personas (13,52).

Para reducir el número de personas que no han sido diagnosticadas con la infección por VIH, el CDC recomendó en septiembre de 2006 implementar un tamizaje para VIH como parte de un examen médico rutinario para todas las personas comprendidas de los 13 a los 64 años (12,55).

Entre las pruebas para el diagnóstico de VIH se encuentran:

*1. Pruebas de Tamizaje:*

Ensayo inmunoenzimático (ELISA), DOT-BLOT (tiras de nitrocelulosa), pruebas rápidas, que permiten la detección de anticuerpos anti-VIH. En general tienen una alta

sensibilidad y especificidad (mayor 99%), sin embargo, requieren siempre ser confirmadas. ELISA es la prueba básica de búsqueda que se utiliza para detectar anticuerpos contra VIH. Se rompe todo el virus purificado y se inmovilizan las proteínas virales en esferas de plástico o en placas con múltiples pozos. El suero de prueba que contiene anticuerpos contra VIH se une a estas proteínas virales. Un anticuerpo antihumano unido a enzima añadido a la reacción se fija al complejo y se detecta por la aparición de color con la adición del sustrato enzimático, debido a una reacción enzimocromática (6,24,30,56).

En la prueba DOT-BLOT el resultado se basa en la interpretación visual de un punto o línea específica para VIH (30).

Una de las técnicas más recomendada por sus características de rapidez y sensibilidad es HemaStrip HIV que utiliza muestras de sangre total. También se encuentra la prueba biostrip (Stat Pak Dipstick) que emplea un principio inmunocromatográfico y consiste en una tira de nitrocelulosa que incorpora antígenos y un reactivo señal (56).

La mayoría incluye un punto o marca de control que indica la ejecución correcta de la prueba y otra área para el resultado (56).

Las pruebas rápidas son referidas así debido a que se pueden realizar en minutos, se necesita un mínimo de experiencia técnica para realizarlas y no se necesitan instrumentos sofisticados ya que los resultados pueden ser interpretados visualmente, éstas presentan una sensibilidad y especificidad comparable con la del método ELISA (6,24,30,56). Estos ensayos rápidos generalmente se utilizan cuando es necesario evaluar rápidamente la profilaxis medicamentosa, como por ejemplo en mujeres a punto de finalizar su embarazo o que se encuentran en trabajo de parto, las cuales no fueron estudiadas previamente para evitar la infección vertical por VIH del recién nacido (24,57).

## *2. Pruebas confirmatorias:*

Western blot (WB), Inmunofluorescencia indirecta (IFI), Enzimoanálisis lineal (LIA). Altamente específicas (cerca al 100%) pero presentan menor sensibilidad. El

criterio de positividad del WB exige la presencia de dos de las tres bandas correspondientes a genes estructurales que codifican las proteínas p24, gp41 y gp120/gp160. En ocasiones el resultado de WB puede ser “indeterminado” (presencia de sólo una banda o perfil atípico) ésto se puede presentar en las siguientes situaciones: a) infección por VIH-2, b) seroconversión, c) enfermedad avanzada, d) individuos africanos, e) hijos de madres VIH (+), y f) reactividad inespecífica o cruzada con otros anticuerpos. Cuando el WB es indeterminado se recomienda repetir la prueba tres a seis meses después (30,57).

### 3. *Pruebas de detección viral:*

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que es una técnica de amplificación génica, el antígeno P 24 y cultivo viral (30).

El cultivo viral cuantifica la cantidad de virus en sangre; es de utilidad diagnóstica sólo en sujetos en fase inicial de la enfermedad, cuando aún no se han producido niveles detectables de anticuerpos, es la técnica más específica para el diagnóstico de la infección; debido a la complejidad y riesgo que supone su realización suele reservarse para estudios básicos de variabilidad genética, epidemiología, patogénesis vírica o resistencia a fármacos. La detección del antígeno p24 es altamente específica durante el periodo agudo de la infección ya que acorta el periodo de ventana, que es cuando las pruebas utilizadas convencionalmente son negativas, debido a niveles no detectables de anticuerpos. Diversos trabajos publicados ponen de manifiesto un adelanto entre una a dos semanas en la detección serológica de la infección, aspecto a considerar si se tiene en cuenta que en ese período la infectividad es más elevada (6). Sin embargo, esta prueba es insensible durante la infección crónica y es de costo muy elevado (24,58-62).

Se considera que una persona está infectada por el VIH cuando presenta dos pruebas de diferente principio positivas, sin necesidad de realizar WB como prueba de confirmación (30).



La detección serológica de anticuerpos contra una variedad de infecciones es considerada como evidencia de la exposición o infección activa. Técnicas serológicas son usadas para el diagnóstico de VIH a nivel mundial. Las técnicas serológicas actuales, sin embargo, no identifican a individuos clínicamente asintomáticos quienes están infectados pero carecen de niveles detectables de anticuerpos VIH reactivos. La existencia de individuos seronegativos pero infectados se ha documentado usando la técnica de PCR, hibridización *in situ* y por activación policlonal de células mononucleadas de sangre periférica (PBMC) *in vitro* (7,63,64).

Actualmente, han surgido pruebas que incluyen la detección de los anticuerpos específicos del virus por medio de la saliva (56,65) y técnicas que emplean el principio llamado estimunología como la prueba SMARTube™HIV&HCV (14).

#### 4. Prueba SMARTube™ VIH&VHC

El SMARTube™ es un sistema de tratamiento previo de muestras de sangre para la detección del VIH y del virus de la hepatitis C (VHC). Las muestras de sangre completa heparinizada son incubadas por 3 - 5 días a 37° C en atmósfera húmeda y 5% de CO<sub>2</sub> (7,63,64,66-71) durante los cuales la solución del SMARTube™ estimula la producción de anticuerpos específicos contra VIH y VHC. El plasma es luego analizado usando ensayos convencionales de anticuerpos específicos para VIH (14,73).

Este tratamiento previo de la muestra se utiliza para activar la producción de anticuerpos en la muestra de sangre a los pocos días de la infección, aproximadamente una semana, sin tener que esperar a que el organismo produzca anticuerpos semanas o meses más tarde, y para impulsar la producción de anticuerpos a niveles que pueden ser detectados por medio de métodos utilizados convencionalmente, por ejemplo ELISA (14,73).

Es una técnica innovadora y simple que brinda una detección completa y temprana del VIH y del VHC en individuos que están infectados aun cuando éstos sean seronegativos y que reduce la tasa de falsos negativos (7,14,64,74).

Detectar a los portadores tempranamente, durante el período de ventana, no solamente es crítico para la provisión segura de sangre en los bancos de sangre, sino también puede afectar dramáticamente la vida de los bebés recién nacidos, por medio de un diagnóstico temprano puede prevenirse nuevas infecciones (73-75).

La recolección de sangre puede llevarse a cabo en cualquier lugar y con equipos comunes. Se utiliza sangre periférica heparinizada (63,67,70).

El método aplica la técnica denominada estimunología. La “estimunología” (*Stimunology*) o tecnología SMART implica la estimulación y activación de los linfocitos cebados *in vitro* del VIH en un medio de cultivo, conduciendo a la proliferación de células y a la producción de anticuerpos por las células B incluso en la fase activa de la represión de la infección. El resultado de esta activación es aumentar los niveles de anticuerpos en el plasma y detectar los anticuerpos por técnicas utilizadas convencionalmente que se encuentran por debajo del nivel de detección antes de la utilización de SMARTube™ (14,54).

La estimunología supera la supresión inmune específica durante el periodo de ventana y conduce a la producción de anticuerpos *in vitro*, por las células que han sido preparadas *in vivo*, incluso a partir de muestras de sangre de personas infectadas que aun son seronegativas (54).

Investigadores en Israel y Kenia han demostrado la contribución de los diversos grados de inmunosupresión tanto los debidos a infecciones crónicas existentes como parasitemias y desnutrición, en diferentes poblaciones puede influenciar y prolongar el diagnóstico serológico debido al periodo de ventana, sin embargo, este problema se puede superar por medio del enriquecimiento en la producción de anticuerpos *in vitro* con esta técnica (73,75).

Para el ensayo se utiliza sangre completa ya que el cultivo *in vitro* requiere células mononucleadas de sangre periférica (PBMC) (31). Las PBMC se cultivan en 2 ml de medio

RPMI por 5 días a 37°C en atmósfera húmeda y 5% de CO<sub>2</sub>, con una concentración óptima de mitógeno de fitolaca (del inglés, PWM) para que se produzca una activación policlonal de células B (*polyclonal B cell activation test* PBAT). Luego se centrifugan y el sobrenadante obtenido por medio de esta estimulación es ensayado con técnicas convencionales para anticuerpos de VIH, elevándose el nivel de anticuerpos presentes en la muestra (7,63,70). Se puede utilizar cualquier prueba de detección de anticuerpos VIH (p.ej. ELISA). Con esta tecnología solamente se debe tratar la sangre antes de utilizar las pruebas convencionales para el diagnóstico de la infección (14).

Las células B inducen la secreción de anticuerpos VIH *in vitro* en individuos infectados pero seronegativos. En un estudio se demostró que la especificidad del ensayo es muy alta ya que todas las muestras que eran negativas por PBAT también eran negativas por PCR (7).

El principio de la prueba es una activación policlonal de células B con un mitógeno (PWM) que activa células B, incluso fuera de los estados de tolerancia *in vitro*, que permite la producción de niveles detectables de anticuerpos específicos en el sobrenadante del cultivo aunque las células B VIH específicas se encuentren bajo supresión o baja regulación (63,64,70,76).

Técnicas como la activación policlonal de células B con PWM (estimulología) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han documentado la existencia del virus de inmunodeficiencia en simios (SIV) y el virus de inmunodeficiencia en humanos y primates infectados pero seronegativos (63).

El análisis por PCR obtenido de alícuotas de PBMC de individuos seronegativos pero por estimulología positivos revela la presencia de secuencias específicas para VIH en un número significativo de muestras. En estudios realizados en mangabeyes seronegativos, se cultivaron *in vitro* las células mononucleadas de sangre periférica (PBMC) con un mitógeno (PWM), el fluido sobrenadante obtenido contenía niveles significativos de

anticuerpos que específicamente reaccionan con SIV tanto en análisis por ELISA como WB (7).

La aplicación de esta tecnología implica un simple procedimiento mediante el cual las muestras de sangre son previamente tratadas en una fórmula que estimula la producción de anticuerpos VIH específicos. El plasma es luego analizado usando ensayos convencionales (73).

La tecnología SMARTube <sup>TM</sup> representa la culminación de más de quince años de investigación conducida por la Doctora Tamar Jehuda-Cohen y es fabricado bajo regulaciones ISO9001:2000 e ISO13485:2003. Esta prueba está certificada en Europa (CE), también ha sido registrada en algunos países como Israel, Sudáfrica, Rumania, Nigeria Rusia y Turquía (14,73). Ver anexo IV.

Este ensayo detecta la infección durante el periodo de ventana y puede identificar algunos individuos quienes están infectados pero que puede que nunca se seroconviertan. Detecta inmunidad humoral antes de la seroconversión (77).

#### 4.1 Composición

Su composición consiste en dos mililitros de medio de cultivo que contiene activadores celulares y suero fetal bovino, en un tubo de poliestireno (14).

El medio utilizado es RPMI 1640 (desarrollado por Moore y sus colaboradores del Roswell Park Memorial Institute) suplementado con penicilina, estreptomina, L-glutamina, 10% de suero bovino fetal inactivado, receptor de interleucina 2 recombinante (r-IL2) y mitógeno de fitolaca (*pokeweed mitogen*: PWM) para inducir la proliferación de una gran cantidad de clones de linfocitos (activación policlonal de células B) (7,64,66-68,69,70,72,77,78).

## 4.2 Usos

El SMARTube™ está diseñado para mejorar la detección serológica de los anticuerpos contra el VIH y el virus de la hepatitis C (VHC). El tratamiento previo por medio del SMARTube™ aumenta la sensibilidad de las pruebas que se utilizan actualmente para la detección de dichos virus, sin disminuir la especificidad de éstas (14).

La incorporación de la técnica de estimunología en las pruebas básicas de los bancos de sangre y en los protocolos de diagnóstico puede disminuir la transmisión de esta enfermedad (74).

El ensayo identifica individuos quienes se seroconvertirán y las técnicas de ELISA y WB no son lo suficientemente sensibles para detectar los bajos niveles de anticuerpos VIH reactivos (7).

## 4.3 Ensayos Clínicos

Se han llevado a cabo estudios clínicos utilizando el SMARTube™ en Israel, Sudáfrica, Kenia, México y China. En los diferentes países se realizaron pruebas con población de alto riesgo obteniéndose un promedio de 0.1%-4% de casos adicionales positivos después de un tratamiento previo con el SMARTube™, todos éstos fueron seronegativos por serología convencional y por lo tanto se perdieron por medio de las pruebas actuales, sin dejar de ser potencialmente infecciosos (14,53).

SMARTube™ ha sido utilizado en ensayos clínicos con un número de pacientes que suman alrededor de 10,000 en total (73).

La infección indetectable por el VIH en los bancos de sangre representa un problema serio para la salud pública. Las donaciones de sangre de los estudiantes de secundaria son preferidas a las muestras de adultos en los bancos de sangre en Kenia, debido a la baja

prevalencia de infección entre esta población, la cual ha sido determinada por medio de serología convencional. Sin embargo, el número de individuos infectados recientemente continúa siendo difícil de identificar, debido al período inmunológico de ventana que puede durar meses (74).

En estudios recientes se realizaron pruebas para anticuerpos de VIH en las muestras de los donadores de sangre del hospital de Kenia (Kenia) usando plasma regular y plasma obtenido después del paso de estimunología. Se detectó un número significativo de infecciones tempranas, antes de la seroconversión tanto en población adulta como en estudiantes kenianos que no fueron detectadas por técnicas de diagnóstico convencionales. Ambas poblaciones demostraron un incremento significativo en la formación de anticuerpos específicos contra el VIH. La población más joven mostró una mayor proporción de infección temprana por VIH (0.45) que los adultos (0.27). Mientras que son preferibles las muestras de sangre de donadores jóvenes a las de adultos, estos datos demuestran un índice preocupante de portadores seronegativos entre esta población (73,74).

En una población de alto riesgo del Hospital de Kenia, se realizó serología de rutina y estimunología para la detección de VIH en 32 pacientes. Seis de las 32 muestras analizadas fueron VIH positivo, tanto por serología convencional como por estimunología. De las 24 muestras negativas por serología convencional, 12 (50%) fueron positivas por medio de estimunología. Algunas de estas muestras fueron analizadas para la presencia de genoma VIH-específico usando hibridización *in situ*. Casi todas las muestras (8 de 9) que eran seronegativas aunque positivas por estimunología, tenían ADN proviral detectable en los linfocitos. Tres muestras del sobrenadante obtenido por estimunología fueron analizadas usando antígeno p24, solamente una de estas fue positiva. El suero obtenido por serología convencional de estas muestras fue negativo para antígeno p24 utilizando el mismo kit (53).

En un estudio en Estados Unidos en población considerada de riesgo el 16% de los individuos seronegativos fueron encontrados positivos por estimunología, ya que tenían células B VIH específicas en su sangre (64).

En un estudio se incluyeron 215 pacientes de alto riesgo del Hospital Grady Memorial en Atlanta, 15 muestras de pacientes que no se consideran de alto riesgo como controles para la prueba de ELISA, Western Blot (WB) y estimunología y 20 adultos voluntarios del laboratorio. El sobrenadante obtenido por medio de estimunología fue analizado para VIH por ELISA y WB. De los 215 pacientes, 50 fueron seropositivos por ELISA y luego confirmados por WB, el resto (165) fueron seronegativos por ELISA, de éstos se detectó 30 seropositivos adicionales (25%) al analizar el sobrenadante obtenido por estimunología, mientras que solamente se obtuvo 12 seropositivos al analizar el suero de las mismas muestras por PCR. Estudios similares han sido llevados a cabo en Israel y en España. La población estudiada comprende las esposas y los niños de padres portadores de VIH. En ambos grupos se identificaron individuos quienes mostraban inmunidad específica para VIH *in vitro*, sin seroconversión (7,71,76).

En un estudio llevado a cabo en Kenia, 20 mujeres embarazadas fueron analizadas para VIH con estimunología y sin ésta. Ocho de estas fueron seropositivas. Entre las 12 mujeres seronegativas se obtuvo 5 seropositivas adicionales que se encontraban en el periodo de ventana y su infección fue detectada después del tratamiento previo de la muestra utilizando estimunología (79).

En un estudio en Etiopía se determinó que una alta proporción de esposas seronegativas de portadores seropositivos tienen células B específicas en sangre periférica y por lo menos la mitad de estas mujeres tienen también evidencia de la presencia de VIH por PCR. De 16 esposas estudiadas, 3 fueron seropositivas por estimunología y por PCR y 13 seronegativas: 2 negativas por estimunología y PCR, 3 positivas por PCR y 8 positivas por estimunología (64).

Se ha reportado la detección de infección por VIH en niños seronegativos nacidos de madres seropositivas. En Israel se ha estudiado la condición de los niños nacidos de madres seropositivas usando métodos distintos a la serología. El ensayo PBAT fue usado para detectar células B específicas en algunos de los niños seronegativos (80).

Se analizaron 332 muestras de adultos jóvenes para anticuerpos contra VIH por serología convencional y estimunología. Las muestras positivas fueron examinadas para detectar el virus y ADN proviral. Doce fueron positivos por serología convencional y se encontraron 10 muestras adicionales positivas para VIH usando el tratamiento previo de la muestra de sangre completa por medio del SMARTube™ (54).

Un total de 285 y 537 muestras aleatorias fueron sometidas a pruebas en el año 1992 y 1998, respectivamente en población inmigrante. El análisis de la prevalencia, incidencia y la duración del periodo de ventana entre los inmigrantes fue medido para comparar los resultados obtenidos en las muestras antes y después del análisis por estimunología en comparación con el ensayo ELISA. Por medio de este ensayo que promueve la estimulación *in vitro* de la síntesis de anticuerpos se llegó al diagnóstico de 2.7% en 1992 y de 0.36% en 1998 de los grupos de inmigrantes, como individuos infectados pero en periodo de ventana (81).

Estudios longitudinales en un grupo de 215 individuos alcohólicos y drogadictos mostraron una prevalencia de 5.6% de seropositividad. Hubo 5 individuos adicionales quienes fueron negativos por ELISA, pero positivos por estimunología (77).

En un estudio realizado con simios, se demostró en infecciones experimentales que los anticuerpos pueden ser detectados en el sobrenadante del cultivo semanas e incluso meses antes de la seroconversión *in vivo* (7).

Los mangabeyes fuliginosos (SM, del inglés *sooty mangabey*) son una especie de mono africano que se encuentran naturalmente infectados por SIV aunque la infección no deja



secuelas patológicas. En el centro de Yerkes para primates el 95% de los SM jóvenes (<2 años) son seronegativos, mientras que el 95% de los adultos son seropositivos. En un estudio profundo sobre inmunidad a SIV en los mangabeyes reveló que no solo todos los mangabeyes seropositivos sino también los seronegativos tienen inmunidad específica para SIV la cual puede ser detectada por activación policlonal de células B mostrando PBMC de los simios seronegativos podían producir anticuerpos SIV seguido de la estimulación *in vitro*. Cuando los macacos Rhesus (RM), que son originarios de Asia, son infectados experimentalmente con SIV de SM, se seroconvierten y luego de un periodo asintomático (1-2 años) desarrollan síndrome parecido al SIDA y mueren. En un experimento 15 hembras RM fueron infectadas durante el embarazo. De los 12 hijos nacidos vivos solo 2 permanecieron seropositivos después de la pérdida de los anticuerpos maternos. Siete más fueron positivos por estimunología indicando la presencia de inmunidad SIV específica. Algunos de estos infantes seronegativos fueron encontrados positivos por PCR. Uno de los infantes seronegativos por PCR, pero positivo por estimunología se seroconvirtió a la edad de 15 meses(54,81).

Se han realizado estudios en mangabeyes fuliginosos (*Cercocebus atys*) en la Universidad de Emory (Atlanta) donde un gran porcentaje (>75%) se encuentran naturalmente infectados con SIV, se realizó un estudio en 3 mangabeyes nacidos de dos madres seronegativas (por ELISA y WB). Los sueros de las madres fueron analizados por 3 años antes del nacimiento de los infantes, sin embargo, el análisis seriado de los 3 infantes presentaba anticuerpos contra SIV por WB. Los PBMC de las madres y de los infantes fueron cultivados *in vitro* con PWM (estimunología), los datos obtenidos demostraron que las dos madres estaban infectadas con SIV (71).

En un estudio realizado en primates se transfundió a 2 macacos con sangre completa y a otros 2 con plasma previamente cultivado de dos mangabeyes seronegativos pero positivos por estimunología. Luego de la transfusión, 3 de los 4 se seroconvirtieron y las células mononucleadas de sangre periférica de los cuatro secretaron anticuerpos SIV reactivos usando la activación policlonal *in vitro* a la semana después de la transfusión. Después de

20 semanas de la transfusión, las muestras continuaban mostrando reactividad por activación policlonal mientras que el suero se encontraba negativo (63).

En un estudio realizado con macacos Rhesus se confirmó la infección por serología convencional y por medio de cultivo en el 25% de los infantes nacidos de madres infectadas por SIV (3 de 12 infantes), sin embargo, el ensayo llevado a cabo por medio de estimunología confirmó que el 83% de los infantes (10 de 12 infantes) se encontraban infectados con dicho virus (69).

En otro estudio realizado en 37 mangabeyes de la colonia del Centro de Yerkes para primates se demostró que al igual que en los humanos la ausencia de anticuerpos HIV-1 en el suero no garantiza la ausencia de infección viral, ya que se detectaron 5 casos seronegativos por serología convencional (ELISA), pero seropositivos por estimunología (70).

En otro estudio realizado en mangabeyes del Centro de Yerkes para primates de la Universidad de Emory se obtuvieron 22 sueros de dichos animales, los cuales fueron analizados por ELISA, mostrando resultados negativo en el 100% de los casos, sin embargo, al analizar por medio de ELISA el sobrenadante obtenido por medio del tratamiento por estimunología, se obtuvo que el 77% de éstos (17 de 22) mostraban resultados ELISA positivo (77).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

El crecimiento de las infecciones por el virus del VIH, durante los últimos años es alarmante. En Latinoamérica en el año 2008 el número de personas con la infección del VIH fue de 2.0 millones y el número de casos nuevos de la infección fue de 170,000. Para diciembre de 2008 la Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó un total de 33.4 millones de adultos y niños infectados y un aumento de 2.7 millones de nuevos casos por año.

En Guatemala, el problema del Sida ha ido en aumento desde que se reportó el primer caso en 1984, la trascendencia del problema radica en el hecho de que se ha vuelto una pandemia por su letalidad y rápida expansión, según el Ministerio de Salud Pública se han reportado 20,484 casos acumulados de Sida a noviembre del 2009.

Uno de los problemas para el diagnóstico del VIH es el tiempo que una persona tarda en desarrollar los anticuerpos contra el virus; en este periodo, conocido como periodo de ventana, la persona puede estar infectada, a pesar de obtener un resultado negativo en las pruebas, y por lo tanto, transmitir el virus. Dicho periodo se extiende desde el ingreso del virus al organismo hasta el momento en que éste genera el número de anticuerpos necesarios para ser captados por las pruebas, este período puede tardar hasta 3 meses, tiempo en el que se pueden infectar más personas.

El serodiagnóstico del VIH es un elemento crítico para limitar el impacto de la rápida expansión de la epidemia del VIH y Sida y sobretodo para evitar la transmisión del virus.

Por lo anterior, en el presente estudio se utilizará una prueba (SMARTubeHIV&HCV) para la detección de VIH, dicha prueba tiene la ventaja de mejorar la sensibilidad de las

pruebas actuales para el diagnóstico de VIH, mejora la detección de individuos infectados ya que reduce el período de ventana de la infección causada por el virus, con el beneficio de identificar a los portadores de la enfermedad que se consideran como no infectados, ya que no hay suficientes anticuerpos detectables en el suero y con el beneficio para el paciente del inicio temprano de la terapéutica y para tomar medidas necesarias para impedir la transmisión de dicho virus.

## V. OBJETIVOS

### A. General

Establecer si el método comercial SMARTube™ reduce el tiempo de diagnóstico de infección por VIH al optimizar el rendimiento de las pruebas para el diagnóstico de dicha enfermedad.

### B. Específicos

1. Determinar la sensibilidad y especificidad del método de tratamiento previo de las muestras de sangre SMARTube™ para la detección del virus del VIH.
2. Determinar la validez y fiabilidad del método para la detección del virus como una opción adicional a los métodos convencionales existentes en pacientes considerados de alto riesgo.

## **VI. HIPÓTESIS**

El tratamiento previo de las muestras por medio del método SMARTube <sup>TM</sup> incrementará la proporción en la detección de pacientes infectados por VIH en un 4% respecto al protocolo establecido.

## **VII. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **A. Universo y Muestra**

#### **1. Universo de trabajo**

El universo de trabajo estuvo constituido por los pacientes que asistieron al Centro de Salud No. 2, Clínica de Infecciones de Transmisión Sexual del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social y por población militar de la Base de paracaidismo del Puerto de San José, departamento de Escuintla.

#### **2. Muestra**

Se obtuvieron 170 muestras de sangre heparinizada de pacientes que acudieron al Centro de Salud No. 2 y 270 muestras de población militar.

### **B. Recursos Humanos**

#### **1. Investigador**

Br. Andrea Rocío López Bonilla

#### **2. Asesor**

Lic. Gerardo Arroyo Catalán

#### **3. Co-asesor**

Dr. Rodolfo Solórzano

#### **4. Revisores**

Licda. Blanca Samayoa

Licda. Amanda Gálvez

Licda. Rosario Hernández

## **C. Recursos Materiales**

### **1. Equipo**

- Incubadora humidificada a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>
- Refrigerador (2-8°C)
- Centrífuga
- Campana de flujo laminar
- Congelador

### **2. Reactivos**

- Kits de inmunoensayo de anticuerpos para la detección de VIH (Biostrip)
- Pruebas Determine HIV

### **3. Materiales**

- TubosSMARTube
- Tubos de ensayo con heparina
- Tubos de ensayo sin anticoagulante
- Pipetas Pasteur de plástico desechables
- Tips azules
- Jeringas
- Guantes
- Bata de manga larga
- Algodón y alcohol
- Gradillas
- Contenedores adecuados para materiales contaminados con agentes potencialmente infecciosos



- Eppendorf
- Papel parafilm
- Pipetas automáticas de 10-1000  $\mu$ L

## **D. Metodología**

### **1. Obtención de muestras:**

La muestra se obtuvo en dos tubos: a, sin anticoagulante y b, heparinizado. Al tubo sin anticoagulante se le realizó la prueba Determine HIV-1/2. Al tubo heparinizado se le realizó la determinación de la prueba rápida Biostrip y la inoculación en el SMARTube para la posterior determinación de la prueba rápida Biostrip. Se compararon los resultados obtenidos en ambas pruebas.

#### a) Tubo sin anticoagulante (tubo rojo): Prueba Determine HIV-1/2

- i. Se centrifugó la muestra
- ii. Se separó el plasma
- iii. Se rotuló la tira
- iv. Se removió la cubierta metálica de cada tira de ensayo
- v. Con una micropipeta, se agregó 50  $\mu$ l de la muestra en la almohadilla
- vi. Se esperó como mínimo 15 minutos
- vii. Se realizó la lectura del resultado: una barra roja visible tanto en la ventana control como en la ventana del resultado fue considerado “Reactivo”; la barra roja visible en la ventana control y en la ventana del resultado del paciente no aparece, fue considerado un resultado “No reactivo”; resultado no válido si no apareció una barra roja en la ventana del control del ensayo.

viii. Este resultado se comparó con el resultado obtenido en el inciso b.1)

b) Tubo heparinizado (tubo verde):

b.1) Determinación de la prueba rápida Biostrip para la detección de anticuerpos de VIH

- i. Se centrifugó la muestra
- ii. Se separó el plasma
- iii. Se rotuló la tira
- iv. Se removió la cubierta metálica de cada tarjeta de apoyo
- v. Se retiró la tira de ensayo del vial
- vi. Se pegó la tira de ensayo en la tarjeta de apoyo, sin tocar la membrana absorbente de la tira
- vii. Con el asa, incluida en el kit, se agregaron 5 µl de muestra en la superficie absorbente de la tira de ensayo
- viii. Se agregaron 3 gotas de buffer
- ix. Se esperó 15 minutos
- x. Se realizó la lectura del resultado: una barra morada visible tanto en la ventana control como en la ventana del resultado fue considerado "Reactivo"; la barra morada visible en la ventana control y en la ventana del resultado del paciente no apareció, fue considerado un resultado "No reactivo"; resultado no válido si no apareció una barra morada en la ventana del control del ensayo.
- xi. Si el resultado de la prueba fue "Reactivo", se confirmó con la prueba Determine HIV-1/2 como es descrito en el inciso a).
- xii. Este resultado se comparó con el resultado obtenido en el inciso a).

b.2) Enriquecimiento de la muestra por medio de la inoculación en el SMARTube

- i. Se agregó 1 mililitro de sangre total dentro del SMARTube en condiciones asépticas, se cerró el SMARTube
- ii. Se ingresó la muestra en la incubadora a 37°C y al 5% de CO<sub>2</sub>
- iii. Se incubó por 5 días
- iv. Se retiró una muestra del sobrenadante, separada del resto de los elementos de la sangre durante el período de incubación
- v. Se realizó la determinación de la prueba rápida Biostrip para la detección de anticuerpos del VIH como es descrito en el inciso b.1
- vi. Se confirmaron las pruebas enriquecidas con resultado “Reactivo”: Se realizó por medio de la prueba Determine HIV-1/2 como es descrito en el inciso a). Ver anexo V.

c) Controles positivos

Para el cálculo de sensibilidad, especificidad y concordancia se incluyeron 35 controles positivos, a los cuales se les realizó la prueba Determine HIV-1/2 como se describe en el inciso a), así como la inoculación en el SMARTube y posterior determinación por medio de la prueba rápida Biostrip, como se describe en el inciso b.2).

### **E. Diseño Estadístico**

Se compararon los resultados obtenidos por medio de la prueba Determine HIV-1/2 con la prueba Biostrip mediante la prueba *kappa*. Se realizó por medio de un diseño pareado, entre los resultados obtenidos de las pruebas iniciales (sin enriquecimiento con SMARTube) y el resultado de las pruebas después del enriquecimiento por medio del SMARTube.

## **1. Diseño de muestra**

Se realizó por medio de un muestreo de tipo no probabilístico por conveniencia. Se obtuvo un total de 440 muestras de sangre heparinizada de pacientes que asistieron al Centro de Salud No. 2 del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social así como de población militar de la base de paracaidismo del Puerto de San José.

## **2. Análisis de datos**

Se evaluó el efecto del enriquecimiento con la prueba de Chi-cuadrado de McNemar y la prueba de Z para determinar si se presentaba un cambio significativo entre antes del enriquecimiento con SMARTube y después del enriquecimiento con SMARTube, así como, para determinar el incremento en el porcentaje de detección de VIH.

Los datos obtenidos fueron analizados en tablas de contingencia de 2x2 en el programa EpiDat 3.1, de las cuales se determinó sensibilidad, especificidad y concordancia por medio del índice *Kappa*; agregando muestras positivas conocidas (controles) tomando el método Determine como referencia para comparar dichas metodologías a un nivel de confianza del 95%

## VIII. RESULTADOS

En este estudio se obtuvo 173 muestras de sangre (38.96%) de pacientes que acudieron al Centro de Salud No. 2 Clínica de Infecciones de Transmisión Sexual del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social y 271 muestras (61.04%) de población militar de la Base de paracaidismo del Puerto de San José, departamento de Escuintla, con un total de muestras (n) de 444 (100%), como lo muestra la tabla 1, el mayor porcentaje de pacientes examinados fue en la población militar y el menor porcentaje en la población del Centro de Salud No. 2.

Tabla 1.  
Número de muestras analizadas en la investigación (N=444)

<b>Población</b>	<b>Número de pacientes</b>	<b>%</b>
Centro de Salud ITS Zona 3	173	38.96
Militares Puerto de San José	271	61.04
Total (N)	444	100

Fuente de datos: Experimental

A las 444 (n) muestras obtenidas se les realizaron pruebas para detectar infección por VIH por medio de la prueba Determine HIV-1/2, Biostrip, así como la inoculación en el tubo de SMARTube.

De las muestras analizadas (n=444) se detectaron 5 casos VIH positivo (1.13%) y 439 casos VIH negativo (98.87%), utilizando la prueba Determine HIV-1/2 (prueba de referencia) y la prueba Biostrip (antes y después de la inoculación en SMARTube respectivamente). En el Centro de Salud se obtuvo 2 casos positivos y 171 casos negativos y en la población militar 3 casos positivos y 268 casos negativos como lo muestra la tabla 2.

Tabla 2.

Total de casos VIH positivo y negativo detectados por las pruebas Determine HIV-1/2 y Biostrip\* (N=444)

<b>Pacientes</b>	<b>Casos positivos</b>	<b>Casos negativos</b>
Centro de Salud	2 (1.16%)	171 (98.84%)
Población Militar	3 (1.11%)	268 (98.89%)
	5 (1.13%)	439(98.87%)

Fuente de datos: Experimental.

\*Prueba Biostrip realizada tanto antes de la inoculación en SMARTube como después de la inoculación en SMARTube

Se recolectaron dos muestras del mismo paciente, la primera en un tubo sin anticoagulante para realizar la determinación por medio de la prueba Determine HIV-1/2 (prueba de referencia), y la segunda en un tubo con heparina al cual se le realizó la determinación por medio de la prueba rápida Biostrip y también a partir de dicha muestra se inoculó en el tubo de SMARTube, al cual se le realizó la determinación por medio de la prueba Biostrip. Esto con el fin de comparar los resultados en ambas pruebas, para poder determinar si al realizar el análisis por medio del método SMARTube se reduce el tiempo para el diagnóstico de la infección por VIH.

En las muestras de los pacientes del Centro de Salud No. 2 se observaron 2 resultados positivos (1.16%) y 171 resultados negativos (98.84%) tanto por la prueba Determine HIV-1/2 como por la prueba rápida Biostrip antes y después del enriquecimiento por medio del SMARTube, como lo muestra la tabla 3.

En los pacientes analizados de la población militar se observaron 3 casos positivos (1.11%) y 268 negativos (98.89%) tanto por la prueba Determine HIV-1/2 como por la prueba rápida Biostrip antes y después del enriquecimiento por medio del SMARTube, como lo muestra la tabla 3.

Tabla 3.  
Casos VIH negativo y positivo antes y después del enriquecimiento por medio de  
SMARTube (N=444)

Resultado	<b>Tubo sin anticoagulante</b>		<b>Tubo heparinizado</b>			
	<b>(a)</b>		<b>(b)</b>			
	<b>Determine HIV-1/2</b>		<b>Biostrip(b1)*</b>		<b>Biostrip(b2)*</b>	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Centro de Salud	2	171	2	171	2	171
Población militar	3	268	3	268	3	268

Fuente de datos: Experimental.

\*La prueba Biostrip(b1) se realizó en el tubo heparinizado (antes de la inoculación en el SMARTube)

\*La prueba Biostrip(b2) se realizó luego de la inoculación e incubación en el SMARTube.

Los resultados observados en (a) con la prueba Determine HIV-1/2 en el tubo sin anticoagulante, sin tratamiento previo con SMARTube, se compararon con los resultados observados en la muestra obtenida en el tubo heparinizado (b1) (ver tabla 3) sin tratamiento previo con SMARTube y con los resultados obtenidos en (b2) (ver tabla 3) luego de la inoculación e incubación en el tubo de SMARTube.

En este estudio no se observaron casos positivos adicionales con la utilización de SMARTube, ya que los resultados observados fueron iguales antes y después de su utilización.

El análisis de comparación de los resultados observados por medio de la prueba Determine HIV-1/2 con la prueba Biostrip se realizó con el programa EpiDat 3.1 utilizando tablas de contingencia 2x2, para la determinación de la sensibilidad, especificidad y concordancia por medio del índice *kappa*. Ver anexo VI.

Para los cálculos de sensibilidad, especificidad y concordancia se incluyeron las 444 muestras y 35 controles positivos para comparar los resultados observados con la prueba Biostrip tanto antes como después de la inoculación en SMARTube con los resultados observados con la prueba Determine HIV-1/2 a un nivel de significancia del 95%. Se obtuvo un coeficiente *Kappa* perfecto de 1.0 lo que demuestra una concordancia óptima entre ambas pruebas (Determine HIV-1/2 y Biostrip antes y después de la inoculación en SMARTube). Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 4.

Tabla 4.

Relación entre la prueba Biostrip y la prueba Determine HIV-1/2 (N=479)

<b>Prueba Biostrip<sup>2</sup></b>	<b>Prueba Determine<sup>1</sup></b>			<b>Índice estadístico</b>	<b>Valor</b>	<b>IC (95%)</b>
	Positivo	Negativo	Total			
Positivo	40	0	40	Sensibilidad (%)	100	98.75-100
Negativo	0	439	439	Especificidad (%)	100	99.89- 100
Total	40	439	479	Índice de validez (%)	100	99.90- 100
				Coeficiente <i>Kappa</i>	1.00	

<sup>1</sup> Prueba Determine HIV-1/2<sup>2</sup> Prueba Biostrip realizada tanto antes como después de la inoculación en SMARTube.



## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

De las 444 muestras analizadas, el 61.04% provenía de población militar y el 38.96% de población que acudió a una Clínica de Infecciones de Transmisión Sexual (ITS), con una frecuencia de infección por VIH de 1.11% y de 1.16% respectivamente, siendo la frecuencia de 1.13% entre ambas poblaciones, como se observa, la frecuencia fue muy similar en las dos poblaciones, ya que ambas son consideradas de alto riesgo. En Guatemala la epidemia se mantiene concentrada con una prevalencia menor de 1% en población general, en el Centro de Salud la prevalencia fue de 1.01% en el año 2009. En un estudio realizado en el año 2001 en población militar guatemalteca por el CDC se estimó que la prevalencia en dicha población era de 0.7% (4,39,40), por lo que la tendencia encontrada en las poblaciones estudiadas fue similar a la reportada en el país en población general.

Tomando como referencia la prueba Determine HIV-1/2 e incluyendo 35 controles positivos, la prueba Biostrip (antes y después de la inoculación en SMARTube) presentó una sensibilidad perfecta del 100% ( $IC_{95\%}=90-100\%$ ), lo que demostró que dicha prueba tiene la capacidad para detectar a los individuos verdaderamente positivos cuando el nivel de anticuerpos presente en la muestra es igual al nivel detectable por la prueba Determine y una especificidad perfecta del 100% ( $IC_{95\%}=99.89-100\%$ ), lo cual demostró que dicha prueba tiene la capacidad de clasificar correctamente a los individuos sanos, a un nivel de confianza del 95%, con un valor *Kappa* de 1.00, lo cual expresa un grado de acuerdo excelente entre ambas pruebas (Determine HIV-1/2 y Biostrip), una alta fiabilidad (repetibilidad) y validez de la prueba para la detección del virus del VIH con respecto a Determine HIV-1/2 (82,83,85).

De acuerdo a los resultados de sensibilidad, especificidad y concordancia, la prueba evaluada es funcional al detectar la infección por VIH a los mismos niveles de anticuerpos que la prueba de referencia (Determine HIV-1/2), sin embargo, el estudio no logró

demostrar la capacidad de la prueba SMARTube bajo las condiciones que sugiere el fabricante de activar la producción de anticuerpos *in vitro* para detectar la infección antes del tiempo normal en que es detectada por las pruebas convencionales.

Los resultados observados con la prueba Determine HIV-1/2 y Biostrip luego de la inoculación en SMARTube fueron los mismos que con la prueba de referencia Determine HIV-1/2 (5 casos positivos y 439 casos negativos), por lo que el comportamiento de la prueba Biostrip antes y después de la incubación en el SMARTube fue exactamente el mismo en los pacientes evaluados, por lo cual, no hubo diferencia significativa entre ambos resultados en cuanto al nivel de detección de anticuerpos (no se observaron casos positivos adicionales), por lo que no se puede concluir que la prueba SMARTube acorte el período de ventana para el diagnóstico de la infección por VIH activando la producción de anticuerpos presentes en la muestra a los pocos días de la infección, aunque esto haya sido demostrado en estudios realizados en otros países, en los cuales se observó un promedio de 0.1% a 4% de casos positivos adicionales después de un tratamiento previo de las muestras por medio de dicha metodología (7,14,53,54,63,64,70,71,73,76,77,79,80,81).

En este estudio la prueba SMARTube no logró detectar casos positivos adicionales, debido a que probablemente, en la población estudiada no se encontraba ningún individuo en período de ventana al momento de realizar el muestreo, también puede deberse al bajo número de muestras positivas encontradas (prevalencia baja en la población estudiada), como al número de casos estudiados, ya que en estudios realizados en otros países SMARTube ha sido utilizado en ensayos clínicos con aproximadamente 10,000 pacientes en total en poblaciones con prevalencia alta de infección (73), por lo que es necesario realizar estudios prospectivos en poblaciones más grandes, más heterogéneas y expuestas a mayor riesgo, en las cuales la prevalencia de la infección sea mayor para aumentar la probabilidad de encontrar individuos que se encuentren en período de ventana de la infección.

## X. CONCLUSIONES

1. La aplicación del método comercial SMARTube no incrementó el número de casos VIH positivo en la población estudiada al compararlo con el procedimiento de rutina.
2. La frecuencia de seropositividad de la población estudiada fue de 1.13%, observándose similitud con la población en general en Guatemala (<1%).
3. Para el grupo estudiado en la presente investigación, la prueba Biostrip presentó un 100% de sensibilidad y 100% de especificidad, por lo que es capaz de diagnosticar con mucha exactitud la infección por VIH a la concentración de anticuerpos que es capaz de detectar la prueba de referencia (Determine HIV-1/2).
4. El grado de concordancia (coeficiente *kappa*) entre las pruebas utilizadas en el estudio fue perfecto (1.00), por lo que la prueba en estudio es fiable para la detección del virus a la concentración de anticuerpos que fue capaz de detectar la prueba de referencia en esta población.

## **XI. RECOMENDACIONES**

1. Realizar estudios en población más grande y heterogénea, ésto con el fin de aumentar la posibilidad de detectar individuos que se encuentren en período de ventana y evaluar la prueba SMARTube.
2. Brindar información a la población sobre la infección por VIH, resaltando la importancia de la transmisión, las consecuencias y la prevención de dicha enfermedad.

## XII. REFERENCIAS

1. Stites DP., *et al.* Inmunología básica y clínica. 10 ed. México: El Manual Moderno, 2002. XVI+917p. (p.751-766).
2. Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA y Organización Mundial de la Salud. Situación de la epidemia de SIDA. 2009. 100p.
3. Programa Municipal de SIDA y Sistema Municipal de Epidemiología. Boletín Epidemiológico Municipal de VIH/SIDA. 2008;10:1-52.
4. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Centro Nacional de Epidemiología. Programa Nacional de Prevención y Control de ITS, VIH y SIDA. Informe progreso UNGASS Guatemala. 2010.
5. Feldman E., Bayer R. Blood Safety in the Age of AIDS. CIRA Working Paper. 1998;1:1-14.
6. Ortíz R.,Eiros J. Pruebas de diagnóstico serológico de la infección por el VIH. SEIMC 1992;67:145-152.
7. Jehuda-Cohen T., *et al.* Polyclonal B-Cell Activation reveals antibodies against Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) in HIV-1-Seronegative Individuals. ProcNatlAcadSci1990;87:3972-3976
8. UNAIDS. The Global HIV Challenge. Report on the global AIDS epidemic. 2008. 36p.
9. Verdejo J. La importancia del diagnóstico precoz de la infección por el Virus de la inmunodeficiencia humana. España: Centro Nacional de Microbiología Instituto de Salud Carlos III. 2000. 25p.
10. Devare S. Early diagnosis of HIV infection. J. Med. Virol 2007;79:S11-S15
11. DeHovitz J. Primary HIV infection: Why early detection matters. 2005. 2p.
12. CDC. Persons Tested for HIV—United States, 2006. MMWR 2008; 57(31):845-849
13. Schacker T., *et al.* Clinical and epidemiologic features of primary HIV infection. Ann Intern Med 1996;125(4):257-264
14. SmartBiotech Ltd. “Closing the window period”. 2004. 20 Jun 2008.<<http://www.smartube-bio.com>>

15. Heymann L., El control de las enfermedades transmisibles. Washington DC:OPS, Doc. Tec. No.613, 2005. 848p. (p.596-606).
16. Harrigan R.P., *et al.* Slow proviral reduction in patients on triple drug therapy and rapid viral rebound upon stopping therapy. AIDS 1999;13(8):59-62.
17. Muñoz P., Gómez O., Luzoro A. Manifestaciones cutáneas de la infección por virus de inmunodeficiencia humana en niños de Santiago de Chile. Rev Chil Infect 2008;25(4): 277-282.
18. Ramírez J.L., Ruiz-Argüelles A. Inmunopatología. México: Programa de Actualización Continua para Médicos Generales, 1996. 51p. (p.31-34).
19. Rojas W., Cano L. Inmunología. 12. ed. Colombia: Corporación para investigaciones biológicas, 2001. 470p. (281-292).
20. Pedrosa L., *et al.* Detección Oportuna de VIH en Mujeres Embarazadas. Retos en la Prevención de Transmisión Perinatal. I Congreso Centroamericano de ETS/SIDA, Honduras. 1999:007.
21. Laurence T., *et al.* Diagnóstico y Tratamiento clínico. 29. ed. México: El Manual Moderno, 1994. 1500p. (p. 1069-1090).
22. Tratado de Medicina Interna de Cecil. 20 ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 1996. 2585p. Vol. II (p.2,118-2,194)
23. Watkins B.A., Gallo R.C. Human immunodeficiency viruses. Estados Unidos: Churchill Livingstone, 1995. 1780p. (p.1590-1606).
24. Ministerio de Salud. Guía Clínica. Síndrome de la Inmunodeficiencia Adquirida.VIH/SIDA. 1 ed Santiago: Minsal. 2005
25. Moss A.R., Bacchetti P. Natural History of HIV infection. AIDS 1989;3:55-61.
26. CDC. Guideline for the performance of CD4+ cell determination in persons with human immunodeficiency virus infection. MMWR 1992;41:1-12.
27. Gatell J., Clotet B. Guía Práctica del SIDA; Clínica, diagnóstico y tratamiento. 6. ed. España: Masson-Salvat. 2000p. (p.51-52,161-170).
28. Shearse G.M., Clerici M. Early T-helper defects in HIV infection. AIDS 1991;5:245-254.

29. Borrow P., *et al.* Virus-specific CD8+ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 1994;68(9):6103-6110.
30. Castañeda M. VIH-SIDA; Infección Asintomática: Un seguimiento cuidadoso. *Diagnóstico*. 2005;44(4)
31. Isselbacher K., *et al.* Principios de Medicina Interna. 13. ed. España: McGraw Hill Interamericana. Vol II, 1994 (p.1802-1823).
32. Mellors J.M., *et al.* Prognosis in HIV Infection Predicted by the Quantity of Virus in Plasma. *Science* 1996;272:1167-1170.
33. Polsky B., Clumek N. HIV and AIDS. España: Mosby International Ltd, 1999. (p.1,18,21-23).
34. Garin A., Bulnes P., Bencini R. Infección por virus de inmunodeficiencia humana en mujeres. Experiencia de un hospital de Enfermedades Infecciosas en Chile. *Rev Chil Infect* 1998;15:170-178.
35. Herrera C., Campero L. La vulnerabilidad e invisibilidad de las mujeres ante el VIH/SIDA: constantes y cambios en el tema. *Salud Pública Méx* 2002;44:554-564.
36. Chávez A., Álvarez A., Wu E. Transmisión vertical de la infección por virus de inmunodeficiencia humana: Impacto de la aplicación del protocolo ACTG 076 en Chile. *Rev Chil Infect* 2000;17(4):297-301.
37. Sun D., Archibald D.W., Furth PA. Variation of secretory antibodies in parotid saliva to human immunodeficiency virus type 1 with HIV-1 disease stage. *AIDS Res Hum Retrovir* 1990;6:933-941.
38. Aguilar S., *et al.* Prevalencia de VIH en parturientas y trabajadoras del sexo en cinco ciudades de Guatemala. I Congreso Centroamericano de ETS/SIDA, Honduras, 1999. 202p.
39. Ochamogo J. Centro de Salud No. 2 del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. ITS. Guatemala.
40. Bortman M., *et al.* Reduciendo la Vulnerabilidad al VIH/SIDA en Centro América: Guatemala Situación del VIH/SIDA y Respuesta a la Epidemia. Programa global de VIH/SIDA. Banco Mundial. 2006 67p. (p.8).

41. Quan R. Desarrollo de un programa de vigilancia epidemiológica hospitalaria para pacientes con VIH/SIDA en la clínica de la Asociación Guatemalteca de control y prevención del SIDA en el Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis Graduación de Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1998. (p68).
42. Vickers I.E., Alveranga H., Smikle M.F. Características clínicas y epidemiológicas de los pacientes adultos y adolescentes diagnosticados recientemente con el virus de inmunodeficiencia humana en una clínica jamaicana para infecciones de transmisión sexual. *West Indian med j* 2005;54(6):360-363.
43. Vanhems P., *et al.* Acute human immunodeficiency virus type 1 disease as a mononucleosis-like illness: is the diagnosis too restrictive? *Clin Infect Dis* 1997;24(5):965-970.
44. Fica A. Síndrome de mononucleosis infecciosa en pacientes adolescentes y adultos. *Rev Chil Infect* 2003;20(4):235-242.
45. Niu M.T., Stein D.S., Schnittman S.M. Primary Human Immunodeficiency virus type 1 infection: Review of pathogenesis and early treatment intervention in humans and animal retrovirus infections. *J Infect Dis* 1993;168:1490-501.
46. Schnittman A., *et al.* Human Immunodeficiency Virus and Acquired Immunodeficiency Syndrome: an update. *Adv Intern Med* 1994;39:305-354.
47. Silverman S., Migliorati C.A., Lozada-Nur F., *et al.* Oral finding in people with or at high risk for AIDS: a study of 375 homosexual males. *JADA* 1986;112:187-192.
48. Mirowski G.W., *et al.* Association of cutaneous and oral diseases in HIV-infected men. *Oral Dis* 1998;4:16-21.
49. Galiana F. VIH SIDA. Guías Clínicas. España 2004;2(17).
50. Akpaka P.E., *et al.* Prevalence of human immunodeficiency virus infection in patients with pulmonary tuberculosis at the National Chest Hospital in Jamaica. *Rev Panam Salud Publica* 2006;19(1):38-43.
51. Jehuda-Cohen J. Israeli biotech to Facilitate early detection of HIV and HCV. *Smart Biotech*. 2008.



52. Beelaert G., *et al.* Comparative evaluation of eight commercial enzyme linked immunosorbent assays and 14 simple assays for detection of antibodies to HIV. *J Virol Methods* 2002;105:197-206.
53. Jehuda-Cohen T., Mumo J.M., Bwayo J.J., Pezzella M. Detection of HIV infection during window period using polyclonal B-cell activation test. *AIDS* 1997 Jan;11(1):124-125.
54. Jehuda-Cohen T., Mumo J. Stimmunology, an *in-vitro* Antibody Production Technology, Enables Exposure of “Hidden” Infections in Children. *IAS Conf HIV Pathog Treat* 2009;5:Abstract No. MOPEA004
55. CDC. Revised recommendations for HIV testing of adults, adolescents, and pregnant women in health-care settings. *MMWR* 2006;55(No. RR-14).
56. CDC. Branson, B. Point-of-Care Rapid Tests for HIV Antibody. *Atlanta: 2003;27(7/8):288-295.*
57. Calero E., *et al.* Rapid HIV-1 Diagnostic Algorithms for use in HIV Infection Screening. *International AIDS Conference* 2002.
58. Daar E.S. Virology and immunology of acute HIV type 1 infection. *AIDS Res Human Retroviruses* 1998;14(3):S229-34.
59. Niu M.T., *et al.* Zidovudine treatment in patients with primary (acute) human immunodeficiency virus type 1 infection: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Infect Dis* 1998;178(1):80-91.
60. Rich J.D., *et al.* Misdiagnosis of HIV infection by HIV-1 plasma viral load testing: a case series. *Ann Intern Med* 1999;130(1):37-39.
61. Dewar R., *et al.* Isolation of HIV-1 from plasma of infected individuals: an analysis of experimental conditions affecting succesful virus propagation. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1992;5:822-828.
62. Pascual A., Cachafeiro A., Funk M.L., Fiscus SA. Comparison of an assay using signal amplification of the heat-dissociated p24 antigen with the Roche Monitor human immunodeficiency virus RNA assay. *J Clin Microbiol* 2002;40:2472-2475.
63. Jehuda-Cohen T., *et al.* Transmission of retroviral infection by transfusion of seronegative blood in nonhuman primates. *J Infect Dis* 1991;163(6):1223-1228.

64. Jehuda-Cohen T., *et al.* 'Silent' HIV infection among wives of seropositive HIV carriers in the Ethiopian community in Israel. *Scand J Immunol Suppl* 1992;11:81-83.
65. Medina M., *et al.* La saliva como medio de diagnóstico de VIH. *Rev Cubana Estomatol* 2000;37(3):146-156.
66. Powell J., *et al.* Identification of SIV/SMM viral proteins that induce T cell response in experimentally infected rhesus macaques and naturally infected sooty mangabeys by the cellular western blot assay. *J Med Primatol* 1990;19(3-4):227-238.
67. Jehuda-Cohen T., *et al.* Comparison of SIV/SMM replication in CD4+ T cell and monocyte/macrophage cultures from rhesus macaques and sooty mangabeys. *J Med Primatol* 1990;19(3-4):251-267.
68. Powell J., *et al.* Inhibition of SIV/SMM replication in vitro by CD8+ cells from SIV/SMM infected seropositive clinically asymptomatic sooty mangabeys. *J Med Primatol* 1990;19(3-4):239-249.
69. McClure H.M., *et al.* Maternal transmission of SIVsmm in rhesus macaques. *J Med Primatol* 1991 Jun;20(4):182-187.
70. Villinger F., *et al.* Detection of occult simian immunodeficiency virus SIVsmm infection in asymptomatic seronegative nonhuman primates and evidence for variation in SIV gag sequence between in vivo- and in vitro-propagated virus. *J Virol* 1991;65(4):1855-1862.
71. Jehuda-Cohen T., *et al.* Presence of SIV antibodies in the sera of infants born to SIV-seronegative monkeys. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1991;4(2):204-206.
72. Powell J., *et al.* Inhibition of cellular activation of retroviral replication by CD8+ T cells derived from non-human primates. *Clin Exp Immunol* 1993;91(3):473-481.
73. Dichek B. Smart Biotech Provides Early HIV and Hepatitis C Detection. *Bioisrael* 2006;8(1-2).
74. Jehuda-Cohen T., Mumo J., Vansover A. Detectecting Seronegative-Early HIV Infections Among Adult Versus Student Kenyan Blood Donors, by Using Stimunology. *Exp Biol Med* 2009;234:931-939.
75. Jehuda-Cohen T., Mumo J. *In Vitro* Antibody Production Enables Detection of HIV Infection in the Window Period—A Key to Safer Blood *Exp Biol Med* 2009; 234:931-939.

76. Jehuda-Cohen T. Early and complete detection of HIV exposure. *Isr J Med Sci* 1993;10:31-33.
77. Jehuda-Cohen T., *et al.* Evidence for simian immunodeficiency virus-specific IgM and IgG response in peripheral blood mononuclear cells of serum enzyme-linked immunosorbent assay-negative nonhuman primates. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1994;7(6):539-550.
78. Ahmed-Ansari A., *et al.* Requirements for simian immunodeficiency virus antigen-specific in vitro proliferation of T cells from infected rhesus macaques and sooty mangabeys. *AIDS* 1990;4(5):399-407.
79. Tamar Jehuda-Cohen. HIV Preventing mother-to-child transmission during pregnancy. *Europ Hosp* 2008;17:1
80. Tamar Jehuda-Cohen. A new look at HIV transmission from seropositive mothers to their infants: the facts beyond serology. *Isr J Med Sci* 1994;30(5-6):364-368.
81. Jehuda-Cohen T., Novikov I. HIV type 1 infection among Ethiopian immigrants to Israel: enhanced in vitro antibody stimulation for estimating the length of the window period. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009;25(2):165-174.
82. Constantine, N., *et al.* Pruebas para la detección del VIH y control de calidad. Guía para personal de laboratorio. AIDSTECH. USA. 1991. (p. 33-34,82-83).
83. Maurice, C., *et al.* Sensitivity and Specificity of Human Immunodeficiency Virus Rapid Serologic Assays and Testing Algorithms in an Antenatal Clinic in Abidjan, Ivory Coast. May 2001. *J Clin Microbiol* (p. 1808-1812).
84. Cerda, J., Villarroel, L. Interpretación del test de Chi-cuadrado ( $X^2$ ) en investigación pediátrica. *Rev Chil Pediatr* 2007;78(4):414-417.
85. Gordis L. *Epidemiología*. 3 ed. España: Elsevier, 2005. 356p. (p.71-94).

### **XIII. ANEXOS**

	Pág.
Anexo I: Genes del VIH y Funciones de las proteínas que codifican	62
Anexo II: Clasificación CDC 1993	63
Anexo III: Tratamiento de la infección por VIH	67
Anexo IV: Generalidades del SMARTube	71
Anexo V: Metodología	75
Anexo VI: Tabla de 2x2	76

## ANEXO I

Cuadro No. 1: Genes del VIH y Funciones de las proteínas

Gen	Proteína	Función
<i>env</i>	gp160 gp120 gp41	Precursor Proteína de la envoltura Interacción con receptores y correceptores. Fusión de membranas
<i>gag</i>	p55 p24 p17 p9 p6	Precursor Proteína de la nucleocápside Proteína de la matriz Ribonucleoproteínas asociadas al ARN viral.
<i>pol</i>	Transcriptasa inversa Integrasa Proteasa	Retrotranscripción del genoma viral Actividad RNAsa H Integración del genoma viral retrotranscrito Procesamiento de las proteínas virales que forman la estructura del virión.
<i>tat</i>	Tat	Transactivación
<i>rev</i>	Rev	Regulación del transporte y procesamiento de ARN
<i>nef</i>	Nef	Retrotranscripción. Infectividad
<i>vif</i>	Vif	Infectividad viral
<i>vpr</i>	Vpr	Transactivador
<i>vpu</i>	Vpu	Liberación de viriones
<i>tev</i>	Tev	Activador tat y rev

Tomado de: Harrigan RP, *et al.* Slow proviral reduction in patients on triple drug therapy and rapid viral rebound upon stopping therapy. AIDS 1999;13(8):59-62.

## ANEXO II

La clasificación del CDC de 1993 clasifica a los pacientes según los datos clínicos (categoría clínica) y el número de linfocitos CD4 (categoría inmunológica)

Cuadro No.2: Clasificación de VIH y SIDA del centro de Prevención y Control de Enfermedades 1993

<b>CLASIFICACIÓN DE VIH Y SIDA DEL CENTRO DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE ENFERMEDADES-1993</b>				
<b>Categoría Cels CD4 +</b>	<b>por</b>	<b>Categorías Clínicas</b>		
		<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
		Asintomático, infección primaria o Linfadenopatía generalizada persistente	Sintomático pero no en condiciones A ó C	Condiciones clínicas indicadores de SIDA *
>500 cels/ $\mu$ L	A1	B1	C1	
200-499 cels/ $\mu$ L	A2	B2	C2	
<200 cels/ $\mu$ L	A3	B3	C3	

El área sombreada define el caso de SIDA.

\* Infecciones oportunistas o neoplasias

Tomado de: Castañeda, M. VIH-SIDA (Primera parte). Diagnóstico. 2005;44(4) <<http://www.fihu-diagnostico.org.pe/revista/numeros/2005/oct-dic05/169-174html>>

## Categorías clínicas

- Categoría A: Se aplica a la infección primaria y a los pacientes asintomáticos con o sin linfadenopatía generalizada persistente (LGP)
- Categoría B: Se aplica a los pacientes que presentan o han presentado enfermedades relacionadas con VIH (no pertenecientes a la categoría C) o cuyo manejo o tratamiento puedan verse complicados debido a la presencia de la infección por VIH. Como ejemplo podemos tener las siguientes patologías:
  - Angiomatosis bacilar
  - Candidiasis oral (muguet)
  - Candidiasis vulvovaginal persistente, frecuente o que responde mal al tratamiento
  - Displasia cervical o carcinoma in situ
  - Temperatura superior de 38, 5° C o diarrea más de un mes
  - Leucoplasia oral vellosa
  - Herpes zóster (dos episodios o uno que afecte a más de un dermatoma)
  - Púrpura trombocitopénica idiopática
  - Listeriosis
  - Enfermedad inflamatoria pélvica
  - Neuropatía periférica.
- Categoría C: - Se aplica a pacientes que presenten o hayan presentado alguna de las complicaciones ya incluidas en la definición de SIDA cuando el paciente tiene una infección por el VIH bien demostrada y no existen otras causas de inmunodeficiencia que pueda explicarla:
  - Candidiasis traqueal, bronquial, pulmonar o esofágica.
  - Criptococosis extrapulmonar.
  - Criptosporidiasis o isosporidiasis con diarrea más de un mes.
  - Infección por CMV en el niño de más de un mes de edad (en otra localización distinta a hígado, bazo o ganglios linfáticos).
  - Retinitis por CMV.

- Encefalopatía por VIH.
- Herpes simple que causa una úlcera cutánea de más de un mes de evolución, bronquitis, neumonitis o esofagitis de cualquier duración, que afecten a un paciente de más de un mes de edad.
- Histoplasmosis diseminada (en una localización diferente o además de los pulmones, ganglios cervicales o hiliares)
- Sarcoma de Kaposi
- Linfoma de Burkitt o equivalente.
- Linfoma inmunoblástico o equivalente.
- Linfoma cerebral primario o equivalente.
- Tuberculosis pulmonar, extrapulmonar o diseminada.
- Infección por *M. avium intracelulare* o *M. kansasii* diseminada o extrapulmonar.
- Infección por *otras micobacterias extrapulmonar o diseminada*.
- *Neumonía por P. carinii*
- Neumonía recurrente (más de 2 episodios/año).
- Leucoencefalopatía multifocal progresiva
- Sepsis recurrente por *Salmonella* sp. diferente a *S. typhi*.
- Toxoplasmosis cerebral.
- Síndrome caquético (Wasting syndrome).
- Carcinoma de cérvix invasivo.
- Coccidiomicosis diseminada (en una localización diferente o además de la pulmonar o los ganglios linfáticos cervicales o hiliares).

### **Categorías inmunológicas**

- Categoría 1.- Linfocitos CD4 mayor o igual a 500/mm<sup>3</sup> en número absoluto o bien CD4 mayor o igual al 29%.
- Categoría 2.- Linfocitos CD4 entre 200 y 499/mm<sup>3</sup> o bien entre 14-28%.
- Categoría 3.- Linfocitos CD4 menor de 200/mm<sup>3</sup> o bien CD4 menor del 14% (49).



**Cuadro No. 3:** Clasificación mixta de los pacientes en VIH SIDA

<b>Cuadro No. 3.- Clasificación mixta (clínica e inmunológica) de los pacientes en VIH/ SIDA</b>			
<b>Categorías clínicas</b>			
<b>Categorías inmunológicas</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
1 - >500 CD4 ó CD4 $\geq$ 29 %	A1	B1	C1
2 - 200 – 499 CD4 ó CD4 14 – 28 %	A2	B2	C2
3 - < 200 CD4 ó CD4 < 14 %	A3	B3	C3

Tomado de: Galiana L. VIH SIDA. Guías Clínicas. España 2004;2(17)

## ANEXO III

## Tratamiento de la infección por VIH

Cuadro No. 4- Análogos de los nucleósidos inhibidores de la T.I. (ANITI)						
Nombre Genérico	Zidovudina AZT	Didanosina ddI	Zalcitabina ddC	Estavudina D4T	Lamivudina 3TC	Abacavir ABA
Nombre comercial	Retrovir® Combivir®	Videx®	Hivid®	Zerit®	Epivir® Combivir®	Ziagen®
Dosis recomendadas	300 mg 2D	<60 kg 300 mg 1D ó 150 mg 2D > 60 kg 400 mg 1D ó 200 mg 2D	0,75 mg 3D	< 60 kg 30 mg 2D >60 kg 40 mg	150 mg 2D	300 mg 2D
Actividad	VIH-1 , 2	VIH-1 , 2	VIH-1 , 2	VIH-1 , 2	VIH-1 , 2 VHB	VIH-1 , 2 VHB
Biodisponibilidad oral	60 %	30 ? 40 % Espaciar 2 horas con algunos fármacos (1)	85 % Espaciar 2 horas con antiácidos e isoniacida	85 %	85 %	70-100%
Restricción dietética	No	Sí	No	No	No	No
Efectos adversos	Anemia y/o neutropenia Cefalea Mareo Intol G-I Lipodistrofia Acidosis láctica con esteatosis hepática (<1%)	Pancreatitis Neuropatía periférica Nauseas Diarrea Hiperuricemia Lipodistrofia Acidosis láctica con esteatosis hepática (<1%)	Neuropatía periférica Estomatitis ?GOT/GPT Trombopenia Lipodistrofia Acidosis láctica con esteatosis hepática (<1%)	Neuropatía periférica Lipodistrofia Acidosis láctica con esteatosis hepática (<1%)	Lipodistrofia Acidosis láctica con esteatosis hepática (<1%)	Hipersensibilida d ( 3 %) Lipodistrofia Acidosis láctica con esteatosis hepática (<1 %)
Asociaciones contraindicadas	D4T Ribavirina	ddC	DdI <a href="#">Disulfiram</a> Doxorrubicina 3TC <a href="#">Metronidazol</a> Pentamidina iv Vincristina	AZT Doxorrubici na	ddC <a href="#">Cotrimoxaz ol</a> (a dosis altas; no ajuste de dosis a dosis profilaxis )	

1 D: una vez al día 2D: dos veces al día 3D: tres veces al día(1) aprenavir, Cimetidina, Ciprofloxacino, dapsona, delavirdina, Digoxina, Etambutol, fluconazol, indinavir, isoniacida, Itraconazol, Ketoconazol, Metronidazol, Ofloxacino, Propranolol, Rifampicina, Tetracilinas.

Tomado de: Galiana L. VIH SIDA. Guías Clínicas. España 2004;2(17)

Cuadro No. 5 - Análogos nucleótidos de la transcriptasa inversa (ANTITI)	
Nombre genérico	Tenofovir (PMPA)
Nombre comercial	Viread®
Dosis recomendada	300 mg / día
Actividad	VIH y VHB
Biodisponibilidad oral	39 %
Restricción dietética	Administrar con comida
Efectos adversos	Cefalea Astenia Flatulencia Náuseas Vómitos Diarrea
Asociaciones contraindicadas	No hay datos

Tomado de: Galiana L. VIH SIDA. Guías Clínicas. España 2004;2(17)

Cuadro No. 6.- No Análogos de los nucleósidos inhibidores de la T. I.			
Nombre genérico	Nevirapina	Delavirdina	Efavirenz
Nombre comercial	Viramune®	Rescriptor®	Sustiva®
Dosis recomendadas	200 mg 1D x 14 días seguidas de 200 mg 2D ó 400 1D	400 mg 3D ó 600 2D	600 mg 1D
Actividad	VIH - 1	VIH - 1	VIH - 1
Biodisponibilidad oral	> 90 %	> 85 % ( retrasar > 1h antiácidos y ddI)	42 % ( ? con comida de contenido graso)
Restricción dietética	No	No	No
Efectos adversos	Rash( en algunos casos sdr. Stevens- Johnson ) ? transaminasas Hepatitis aguda	Rash Cefalea	Rash Síntomas neuropsiquiátricos ? transaminasas Teratogenicidad en monos
Asociaciones contraindicadas	Anticonceptivos orales  <a href="#">Ketoconazol</a>  <a href="#">Rifampicina</a>  Saquinavir	Antihistamínicos H2 <a href="#">Astemizol</a> <a href="#">Estatinas</a> (excepto <a href="#">Pravastatina</a> ) Carbamazepina Deriv. <a href="#">Ergotamina</a> <a href="#">Fenitoína</a> <a href="#">Fenobarbital</a> <a href="#">Ketoconazol</a> <a href="#">Midazolam</a> <a href="#">Omeprazol</a> Pimozida Rifabutina <a href="#">Rifampicina</a> Terfenadin Triazolam	<a href="#">Astemizol</a> Claritomicina Delavirdina Deriv. <a href="#">Ergotamina</a> <a href="#">Midazolam</a> Nevirapina Pimozida Saquinavir Terfenadina Triazolam

Tomado de: Galiana L. VIH SIDA. Guías Clínicas. España 2004;2(17)

Cuadro No. 7.- Inhibidores de la proteasa (IP)						
Nombre genérico	Indinavir	Ritonavir	Saquinavir	Nelfinavir	Amprenavir	Lopinavir / ritonavir
Nombre comercial	Crixivan®	Norvir®	Invirase®(I) Fortovase®(F)	Viracept®	Agenerase®	Kaletra®
Dosis recomendadas	800 mg 3D	600 mg 2 D	(I) 600 mg 3D (F) 1200 mg 3D	750 mg 3D ó 1250 mg 2D	1200 mg 3D  Evitar comidas con alto contenido graso	400 mg de lopinavir + 100 mg de ritonavir 2D  Tomar con las comidas
Actividad	VIH- 1 , 2	VIH- 1 , 2	VIH- 1 , 2	VIH- 1 , 2	VIH- 1 , 2	VIH - 1 , 2
Biodisponibilidad oral	30 - 60 %	80 %	(I) 4 - 8 %  (F) 16 - 32 %	20 - 80 %	90 %	No determinado
Efectos adversos	Nefrolitiasis Intolerancia G-I Hiperbilirrubinemia Hiperglicemia Dislipemia Lipodistrofia Posible ? sangrado en hemofílicos	Intolerancia G-I Parestesias periorales Hepatitis Hiperglicemia Dislipemia Lipodistrofia Posible ? sangrado en hemofílicos	IntoleranciaG-I Cefalea ?Transaminasas Hiperglicemia Dislipemia Lipodistrofia Posible ? sangrado en hemofílicos	Diarrea Hiperglicemia Dislipemia Lipodistrofia Posible ? sangrado en hemofílicos	Intolerancia G-I Rash Cefalea Hiperglicemia Dislipemia Lipodistrofia Posible ? sangrado en hemofílicos	Intolerancia G-I Naúseas Vómitos Diarrea Astenia ?Transaminasas Hiperglucemia Lipodistrofia Posible ? sangrados en hemofílicos
Asociaciones contraindicadas	<a href="#">Astemizol</a>  <a href="#">Estatinas</a> (excepto <a href="#">Pravastatina</a> )  Derivados de <a href="#">Ergotamina</a>  <a href="#">Midazolam</a>  Pimozida  <a href="#">Rifampicina</a>  Terfenadina  Triazolam	<a href="#">Amiodarona</a> <a href="#">Astemizol</a> <a href="#">Bupropion</a> Cloracepato <a href="#">Clozapina</a> Dextropopoxifeno Diacepam Derivados de <a href="#">Ergotamina</a> <a href="#">Disulfiram</a> Encainida <a href="#">Estatinas</a> (excepto <a href="#">Pravastatina</a> ) Estazolam Extasis Flecainida Fluracepam Meperidina Metanfetamina <a href="#">Midazolam</a> Pimozida <a href="#">Piroxicam</a> Propafenona Quinidina Rifabutina Terfenadina Triazolam <a href="#">Zolpidem</a>	<a href="#">Astemizol</a> <a href="#">Estatinas</a> (excepto <a href="#">Pravastatina</a> ) <a href="#">Carbamacepina</a> Dexametasona Dervados de <a href="#">Ergotamina</a> Efavirenz <a href="#">Fenitoína</a> <a href="#">Fenobarbital</a> <a href="#">Midazolam</a> Nevirapina Pimozida Rifabutina <a href="#">Rifampicina</a> Triazolam	<a href="#">Astemizol</a>  <a href="#">Estatinas</a> (excepto <a href="#">Pravastatina</a> )  Derivados de <a href="#">Ergotamina</a>  <a href="#">Midazolam</a>  Pimozida  <a href="#">Rifampicina</a>  Terfenadina  Triazolam	Anticonceptivos orales  <a href="#">Astemizol</a>  Derivados de <a href="#">Ergotamina</a>  <a href="#">Estatinas</a> (excepto <a href="#">Pravastatina</a> )  <a href="#">Midazolam</a>  Pimozida  <a href="#">Rifampicina</a>  Terfenadina  Triazolam	La mayoría se deben a la asociación con ritonavir (ver ritonavir)

\* El lopinavir se comercializa asociado a ritonavir( en proporción 4 : 1 ) porque éste último es un inhibidor potente de la isoenzima CYP3A ( que interviene en la metabolización hepática del lopinavir ) . Las dosis utilizadas de ritonavir son subterapéuticas

Tomado de: Galiana L. VIH SIDA. Guías Clínicas. España 2004;2(17)

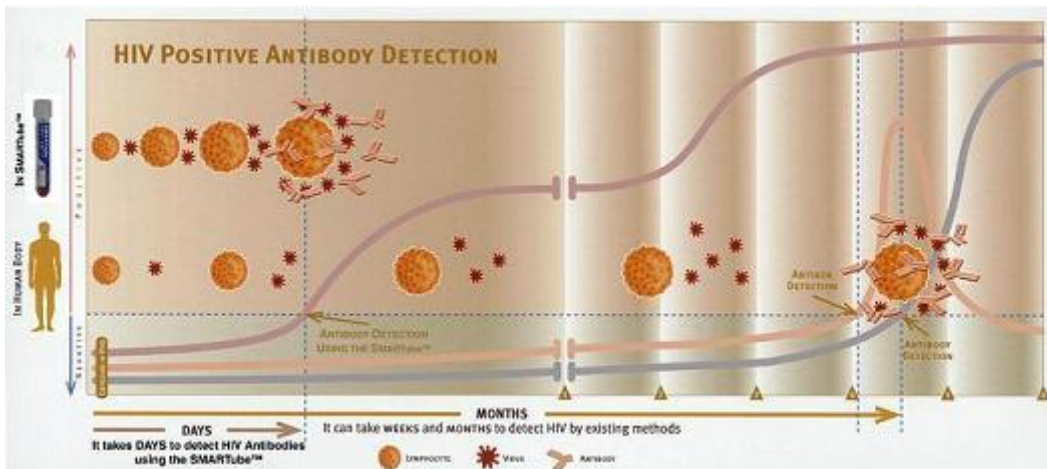
Cuadro No. 8.- Quimioprofilaxis primaria de infecciones en el paciente VIH/ SIDA			
Microorganismo Patógeno	Indicación	Primera elección	Alternativas
Pneumocystis carinii	CD4 < 200 Candidiasis orofaríngea fiebre inexplicada de >20 días de evolución o enfermedad definitiva de sida que curse con inmunodepresión	<a href="#">Cotrimoxazol</a>	Dapsona sola o con pirimetamina Fansidar Pentamidina en aerosol o iv Atavaquona
Toxoplasma gondii	Serología (IgG) + y CD4 < 100	<a href="#">Cotrimoxazol</a>	Dapsona con pirimetamina Atovaquona
Mycobacterium tuberculosis	PPD + ( $\square$ 5 mm ) PPD ? y alto riesgo (*) PPD - anérgicos Contacto con personas con TB activa	<a href="#">Isoniazida</a> 300 mg /d durante 9-12 meses <a href="#">Rifampicina</a> + <a href="#">Pirazinamida</a> 2 meses Isoniacida + <a href="#">Rifampicina</a> 3 meses	<a href="#">Rifampicina</a> 600 mg día 9-12 meses. <a href="#">Isoniazida</a> 900 mg dos días semanales 4 meses
Mycobacterium avium intracelulare	CD4 < 50 50 sin posibilidad de TARV	<a href="#">Azitromicina</a> o <a href="#">Claritromicina</a>	Rifabutina <a href="#">Azitromicina</a> semanal
CMV	Serología + y CD4 < 50 (***)	Ganciclovir oral	
Virus varicela - zoster	Pacientes susceptibles al VVZ que han tenido contacto con personas con varicela o zoster	Ig anti-VVZ en las primeras 96 h postcontacto	<a href="#">Aciclovir</a> oral
Histoplasma capsulatum	CD4 < 50/ml en regiones endémicas	Itroconazol	

(\*) contacto íntimo con enfermo bacilífero, antecedentes de PPD  $\square$  5 mm, y los que han estado mucho tiempo en centros (\*\*\*) en las directrices más recientes de la Sociedad Torácica Americana se recomiendan pautas de 9 meses , desaconsejándose las pautas de 6 o 12 meses. (\*\*\*) En la actualidad no se recomienda la profilaxis primaria en general. Sólo puede que tenga sentido en pacientes que inicien TARV con menos de 50 CD4 y con serología o PCR de CMV positiva durante un periodo de 3 o 4 meses. Tomado de: Galiana L. VIH SIDA. Guías Clínicas. España 2004;2(17)

## ANEXO IV

### Generalidades del SMARTube™

La solución a la detección temprana es la "máquina del tiempo" en el interior de la SMARTube™ VIH y VHC.



Procedimiento del Smartube:

- 1 Una pequeña muestra de sangre se transferirá en el tubo que contiene VIH / VHC detectable SMARTube™.

Se incubará a 37 ° C durante un período de tiempo hasta un máximo de cinco días.

- 2 Después de la incubación, una muestra del sobrenadante, separada del resto de la sangre, se retira para profundizar el proceso de prueba, utilizando cualquier tipo de prueba disponible ELISA.



## Advertencias y Precauciones

- Colocar el tubo a la temperatura ambiente antes de su uso.
- No utilice el SMARTube™ más allá de la fecha de caducidad indicada.
- No utilice el SMARTube™ si presenta signos visibles de deterioro como: Un cambio de color de rosa, un gran precipitado blanco en la parte inferior del SMARTube™, o el sobrenadante nublado.
- Utilice una pipeta desechable para cada muestra para evitar la contaminación cruzada. La contaminación cruzada entre muestras invalidará los resultados de las pruebas.
- No pipetear muestras con la boca.
- No fumar, comer, o beber en las zonas en las que el SMARTube™ es manipulado.
- Usar guantes de látex o polietileno y manejar todos los materiales utilizados en la recolección de muestras, y en la manipulación del SMARTube™, con cautela, ya que pueden transmitir agentes infecciosos. Consulte con un médico de inmediato en caso de que los materiales contaminados se ingieren o entran en contacto con heridas abiertas, lesiones, u otras rupturas en la piel.
- Inmediatamente limpiar el derramamiento de sangre que contiene el material con una dilución 1:10 de 5% de solución de hipoclorito de sodio y tratar el material de limpieza por un método aceptable de eliminación.
- El tratamiento antes de su eliminación:
  - Autoclave durante 60 minutos a 121 ° C
  - Incinerar o utilizar materiales desechables
  - Mezclar residuos líquidos con 5% de solución de hipoclorito de sodio para que la concentración final sea de aproximadamente 1% de hipoclorito de sodio. Dejar 30 minutos antes de la eliminación.

## PROBLEMAS EN LA UTILIZACIÓN Y PRECAUCIONES

1. Si la muestra de sangre esta coagulada (aunque sea parcialmente). Esto ocurre cuando el tubo no ha sido bien mezclado en el punto de recolección o no se utilizó suficiente heparina. No use esa muestra de sangre.
2. Si la muestra de sangre está hemolizada. Se puede usar, pero puede afectar el resultado.
3. La formulación actual sólo acepta sangre en heparina.
4. Sí después de la incubación el sobrenadante no es claro. Puede usarse con precaución, ya que esto indica un alto nivel de lípidos en el plasma o existencia de contaminación. La contaminación puede afectar el resultado.
5. Sí después de la incubación hay agregados blancos cerca de las células rojas pero el sobrenadante está claro; no hay problema.
6. En más de 5 días de incubación. El sobrenadante debe ser probado entre 3 y 5 días (mejor en el día 5). Si no se puede ver en 5 días, quite el sobrenadante de la prueba y refrigere de 2 a 10° C en un tubo estéril y vacío. Incubar por más de 5 días puede llevar a una reducción en los anticuerpos de la muestra.
7. Sí al comparar resultados de plasma y SMARTube, no se detectaron casos positivos adicionales. Depende de la incidencia, del tiempo de la prueba y de la población.
8. Factores que pueden afectar:
  - a. Contaminación de la muestra.
  - b. Fuerte Hemólisis en las células rojas.
  - c. La muestra de sangre estuvo por 24 horas a temperatura ambiente (15-30°C), o a temperatura muy caliente o fría.
  - d. Sangre muy vieja.
  - e. No se mezcló bien la sangre.
  - f. La tapa de SMARTube no se dejó medio abierta (ventilación) durante la incubación.



## INSTRUCCIONES DE USO Y PRECAUCIONES

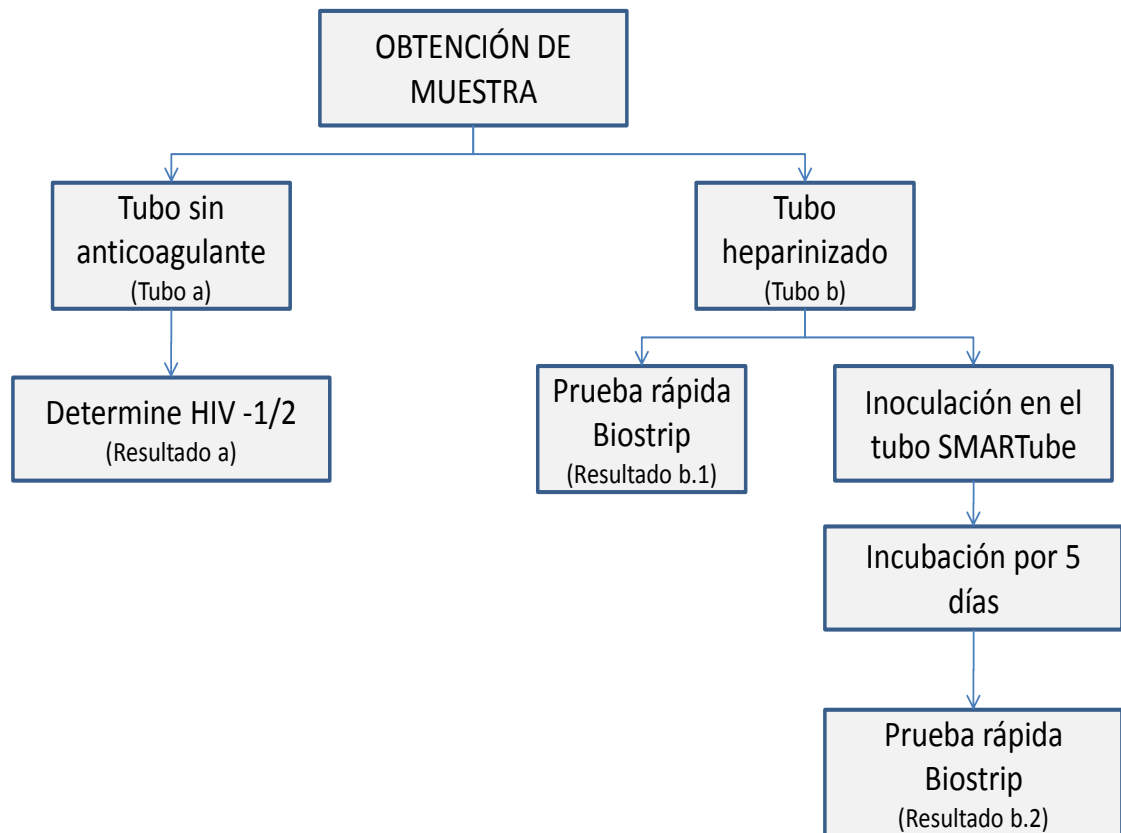
1. Absténgase de exponer el SMARTube a luces fluorescentes.
2. El SMARTube no debe ser almacenado en refrigeradores con puerta de vidrio.
3. La sangre debe ser recolectada en un tubo de ensayo con heparina y transferida al laboratorio en un máximo de 20 hrs a una temperatura de (15°-25°C)
4. Transfiera un Mililitro (ml) de sangre (mézclela bien) dentro del SMARTUBE, siempre dentro de condiciones asépticas y limpias.
5. Tape el recipiente de SMARTUBE y coloque en la incubadora (al 5% CO<sub>2</sub> y a una temperatura de 37°C.), escriba la fecha en la tira del SMARTube (también ponga la fecha de retiro).
6. Después de 3-5 días (los resultados óptimos son a los 5 días) saque el recipiente de SMARTube de la incubadora y utilice el reactivo de diagnóstico usual para realizar la prueba.
7. Guarde el SMARTube con la muestra en la refrigeradora y repita la prueba ese mismo día.

### Instrucciones de Almacenamiento

Se debe almacenar el SMARTube™ de 2-8 ° C cuando no esté en uso.

## ANEXO V

## Metodología



Comparar resultado **a** con resultado **b.1**

Comparar resultado **b.1** con resultado **b.2**

**ANEXO VI**

Tabla de 2X2 utilizada para el análisis de datos.

Prueba estándar	Prueba de referencia		Total
	Enfermos	Sanos	
Positivo	5	0	5
Negativo	0	439	439
Total	5	439	444

$p < 0.00001$

Andrea Rocío López Bonilla

Autor

Lic. Gerardo Arroyo Catalán

Asesor

MSc. Blanca Samayoa

Revisor

Licda. Rosario Hernández

Revisor

M.A. María Eugenia Paredes

Director de Escuela

Ph.D. Oscar Cobar

Decano