

El virus de la Sida i el seu diagnòstic

Vicenç Soriano, Rafael Rodríguez-Rosado, Ana Machuca, Juan González-Lahoz

Servicio de Enfermedades Infecciosas
Instituto de Salud Carlos III, Madrid.

Resum

El diagnòstic de la infecció pel virus d'immunodeficiència humana (VIH) pot fer-se mitjançant la demostració d'anticossos específics o seqüències genètiques del virus. Les proves serològiques (tècniques de radioimmunoanàlisi (ELISAs) i *Western blot*) són el procediment més utilitzat, encara que la major certesa correspon a les proves genètiques.

Introducció

Els retrovirus humans identificats fins el moment són quatre: els VIH tipus 1 i 2 (VIH-1 i VIH-2) i els virus limfotrops T humans (HTLV) tipus I i II (HTLV-I i HTLV-II). Tots ells tenen tropisme pels limfòcits T, contenen dues molècules idèntiques d'àcid ribonucleic (ARN) d'unes 10 Kb i tenen un enzim clau, el reversotranscriptasa (RT), que catalitza la síntesi de l'ARN províric (que s'integrarà amb els cromosomes de la cèl·lula hoste) a partir de l'ARN víric. El VIH-1 i el VIH-2 ocasionen la destrucció de les seves cèl·lules diana, els limfòcits T CD4+, mentre que els HTLV ocasionen la immortalització dels limfòcits T infectats (els CD4+ el HTLV-I i els CD8+ el HTLV-II).

Epidemiologia molecular del VIH

Els VIH (1 i 2) presenten una extraordinària variabilitat genètica, mentre que els HTLV (I i II) tenen una seqüència de nucleòtids relativament conservada. Els aïllats del VIH-1 poden classificar-se en tres grups, denominats M (majoritari), O (de *outlier*, llunyà) i el recentment identificat grup N. En el grup M es distingeixen 10 subtipus, denominats amb lletres de l'alfabetari (A-J). L'heterogeneïtat dins del grup O és semblant, però l'escàs nombre d'aïllats coneguts

només ha permès diferenciar fins el moment el subtipus A. Cada subtipus del grup M presenta una distribució geogràfica característica (Taula 1) i és possible que alguns tinguin trets biològics diferencials i una susceptibilitat diferent als fàrmacs antiretrovírics. La gran heterogeneïtat genètica del VIH no només existeix a nivell individual sinó que també es reconeix en cada subjecte infectat, on la població vírica existeix com a "quasiespècie", això és, un conjunt de molècules d'ARN semblants, agrupades al voltant d'una seqüència majoritària (o "consens"). Són tres les raons que expliquen aquesta extraordinària variabilitat genètica: a) la gran taxa de replicació del virus: cada dia es produeixen 10^{10} noves partícules víriques en cada individu infectat; b) l'elevada freqüència d'error de la RT, de l'ordre de 3×10^{-5} , que condiciona una freqüent substitució de nucleòtids en la síntesi de l'àcid desoxiribonucleic (ADN) províric a partir de l'ADN víric; c) l'enorme població vírica que existeix en cada pacient, de l'ordre de 10^{12} partícules víriques. El resultat és que cada dia es produirien totes les combinacions possibles de seqüències que permeten els 4 parells de bases (adenosina, timidina, guanosina i citosina) en una molècula d'ARN de 10.000 nucleòtids. S'ha de sumar també la possibilitat de recombinació genètica, mitjançant la presència de 2 molècules d'ARN per virió. Malgrat tot això, la majoria de molècules d'ARN produïdes seran defectuoses, és a dir, que no permetran a aquest virió realitzar un cicle de replicació complet. De fet l'estimulació de la població vírica eficient (En) és de l'ordre 10^3 virions, i restringeix substancialment la capacitat d'adaptació de la població vírica.

El diagnòstic de la infecció per VIH-1 només es pot establir de manera definitiva amb mètodes de laboratori, ja que les manifestacions clíniques, encara que suggestives, no són específiques en cap estadi de la malaltia. Les proves de laboratori utilitzades per reconèixer les infeccions per retrovirus humans poden classificar-se en directes i indirectes, segons vulguin demostrar la presència del virus o dels seus constituents (proteïnes i àcids nucleics), o bé la resposta immune (humoral o cel·lular) per part de l'hoste.

Diagnòstic serològic

La investigació d'anticossos (Ac) en sèrum és el mètode utilitzat més sovint per a la identificació dels subjectes infectats per VIH-1. La presència d'Ac anti-VIH-1, lluny

Correspondència: Dr. Vicente Soriano
Servicio de Enfermedades Infecciosas
Instituto de Salud Carlos III
Ministerio de Sanidad y Consumo
Sinesio Delgado, 6
28029 Madrid.
Tel. 91 314 08 07
Fax 91 733 66 14
Adreça electrònica: vsoriano@dragonet.es

TAULA 1. Classificació del virus d'immunodeficiència humana (VIH) i distribució geogràfica

VIH-1	Grup M: 10 subtipus Subtipus B Subtipus E Subtipus A, C, D, F, G, H, I, J	Europa i EEUU Tailàndia Àfrica
	Grup O: subtipus A	Àfrica occidental
	Grup N	Àfrica occidental
VIH-2	5 subtipus (A-F)	Àfrica occidental, Índia, Brasil, Portugal

de reflectir una exposició i eradicació immune del virus en el passat, significa l'estat de portador actual. Existeixen diferents tipus de proves per a detectar Ac davant del VIH-1. El disseny d'algunes d'aquestes proves permet realitzar un gran nombre d'anàlisis alhora; són les anomenades proves de cribratge, de les quals les més generalitzades són les proves d'ELISA. Pel contrari, altres són de realització més complexa, encara que proporcionen una especificitat més gran; s'utilitzen per a la confirmació de la reactivitat en una prova inicial de cribratge. La més utilitzada és el *Western blot* (WB), que permet reconèixer cadascun dels Ac antiVIH present en la mostra problema. La seropositivitat es defineix per la demostració d'Ac davant de proteïnes víriques, amb reactivitat repetida en les proves de cribratge i, a més a més, amb alguna de les proves de confirmació.

L'Organització Mundial de la Salut (OMS) ha establert que la positivitat en WB necessita com a mínim la presència d'Ac davant dos glucoproteïnes d'embolcall (gp41, gp120, gp160). En els estadis finals de la malaltia és freqüent reconèixer una pèrdua de reactivitat davant de proteïnes del core, en primer lloc davant p17 i, després, davant p24. No s'han confirmat casos de seroreversió completa, és a dir, desaparició progressiva de tots els Ac en persones infectades. Una situació diferent és la dels recent nascuts de mares infectades per VIH: més del 80% dels nadons no s'infecten; i durant els primers 18 mesos de vida presenten una pèrdua progressiva d'Ac antiVIH fins a la total desaparició d'aquests, ja que són Ac de la mare que havien travessat la placenta. Ocasionalment s'han descrit subjectes amb infecció per VIH i absència persistent d'Ac detectables. Aquesta és una circumstància excepcional i no desqualifica la utilitat de les proves serològiques per al reconeixement de la infecció pel VIH. També existeixen diferents proves suplementàries per a la confirmació de la infecció per VIH. D'aquestes, les més conegudes són els immunoassaigs lineals (LIA). Utilitzen antigens modificats, és a dir, proteïnes recombinants o pèptids sintètics; són més sensibles i específics que el WB, i ajuden a aclarir molts dels patrons indeterminats.

Proves genètiques

Les metodologies serològiques tenen l'inconvenient de dependre no només de la capacitat de resposta d'Ac de l'hoste, sinó també de la variabilitat antigènica del virus. En el millor dels casos existeix un interval variable de temps (període de finestra) entre l'exposició al VIH-1 i la producció d'Ac. En subjectes amb hipogammaglobulinèmia, la infecció per VIH-1 pot passar en absència d'Ac per una impossibilitat del pacient per respondre adequadament a la infecció vírica. Per altra banda, la diversitat antigènica que mostren diverses variants del VIH-1 i/o virus relacionats pot induir la producció d'Ac de diferent especificitat. S'ha de subratllar al respecte la proporció no desestimable de subjectes africans amb Sida que no reaccionen amb les proves convencionals de detecció d'Ac antiVIH-1.

Davant els desavantatges de la serologia, les proves de diagnòstic directe, com el cultiu víric, la presència d'Agp24 o les tècniques de detecció d'àcids nucleics, com l'amplificació genètica mitjançant reacció en cadena de la polimerasa (PCR), proporcionen un grau de certesa major. L'aïllament per cultiu és una metodologia complexa i, com la detecció d'Agp24, no gaudeix de gran sensibilitat. Les proves que analitzen la presència del genoma víric constitueixen el millor recurs diagnòstic de la infecció per VIH-1. Almenys existeixen tres mètodes de biologia molecular (RT-PCR, NASBA i bDNA) que permeten examinar diferents gens del VIH i estimar de forma quantitativa la concentració de virions en la circulació, amb una sensibilitat de 20-50 còpies de VIH-ARN per ml de plasma. La càrrega viral mesurada d'aquesta manera és el millor paràmetre predictiu de l'evolució de la malaltia i de resposta al tractament antiviral.

Conclusions

El diagnòstic de la infecció per VIH es realitza generalment mitjançant proves serològiques que reconeixen la presència d'anticossos específics davant del virus. La reactivitat en una prova de cribratge ha de ser corroborada amb una prova confirmatòria com el *Western blot*. Les proves de biologia molecular poden ajudar a reconèixer les diferents variants del VIH i permeten quantificar la concentració de partícules virals en la circulació. La càrrega viral és actualment el millor marcador pronòstic de la infecció per VIH i de resposta al tractament antiretroviral.

REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

1. Constantine N. Serologic test for the retroviruses: approaching a decade of evolution. *AIDS* 1993; 7: 1-13.
2. Soriano V, Gutiérrez M, Tuset C, et al. Evaluación de diferentes criterios de interpretación del *Western blot* para el diagnóstico de la infección por VIH. *Med Clin (Barc)* 1993; 100: 561-566.
3. Soriano V, Heredia A. Riesgo residual de transmisión de retrovirus por transfusiones. *Rev Clin Esp* 1995; 195: 418-424.
4. Busch M, Lee L, Satten G, et al. Time course of detection of viral and serological markers preceding HIV-1 seroconversion: implications for blood and tissue screening. *Transfusion* 1995; 35: 91-97.