

El diagnóstico serológico del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) trasciende en importancia a otros diagnósticos de laboratorio por la gravedad de la enfermedad que este virus produce, la existencia hoy en día de tratamientos mucho más eficaces que los iniciales y el conocimiento que tienen los médicos y sanitarios sobre esta infección. Además, buena parte de ese conocimiento ha tenido una gran difusión entre la población general, sobre todo el referido a los mecanismos de transmisión y a las posibilidades diagnósticas.

El cribado de anticuerpos en muestras de suero es el método más comúnmente empleado para el diagnóstico de laboratorio de la infección por VIH. Las pruebas están basadas en distintos principios técnicos que han ido evolucionando con el tiempo, la experiencia adquirida y las recomendaciones nacionales e internacionales. A pesar de los avances logrados en el desarrollo de estas pruebas, se siguen produciendo casos de falsos positivos y, con menor frecuencia, falsos negativos. Estos errores son atribuibles, en parte, al enorme crecimiento de esta demanda analítica dentro de la asistencia clínica hospitalaria y extrahospitalaria. La importancia de estos errores es obvia, pudiendo provocar situaciones que generan ansiedad en los pacientes y desconcierto en los profesionales encargados de dicho diagnóstico.

En este artículo se pretende dar orientaciones conceptuales, sugerencias y recomendaciones prácticas sobre los métodos de detección serológica de la infección por VIH, con el fin de evitar o reducir al mínimo los errores en la determinación de anticuerpos frente al VIH.

CONDICIONES DEL LABORATORIO Y PRECAUCIONES CON LAS MUESTRAS

Los laboratorios que realicen el diagnóstico de los anticuerpos anti-VIH en suero deben observar las normas de seguridad de nivel 2. Todas las muestras deberán considerarse como potencialmente infecciosas, para evitar la manipulación de algunos sueros con precauciones menos estrictas. Esto supone trabajar con guantes en todos los procesos, pipeteado mecánico, utilización de contenedores de seguridad biológica para los desechos, así como la observación de aquellas normas y precauciones consideradas como de buena práctica. Las superficies de trabajo deberán ser descontaminadas con desinfectantes activos contra el VIH, tales como ciertos detergentes, incluido el jabón, alcohol-acetona al 70% v/v, lejía diluida, etc.

Los sueros se deben recoger en la forma habitual y evitar mantenerlos más de 24 horas a temperatura ambiente. Para minimizar las contaminaciones microbianas que podrían alterar las muestras, se recomienda usar tubos estériles y no conservarlos a +4°C más allá de 72 h. Para períodos de conservación más prolongados, hay que utilizar temperaturas de -20° y -70°C, sobre todo si se prevé la necesidad de detectar el antígeno p24 u otros componentes estructurales del VIH, ya que estos últimos se desnaturalizan paulatinamente a temperaturas superiores a -70°C. Los sueros no deberían ser inactivados con calor, por las razones expuestas.

Existen centros que realizan la extracción de sangre en el mismo laboratorio por personal entrenado para ello; en otros se confía dicha tarea a equipos de extracción comunes para todos los laboratorios y, en casi todos, se reciben muestras que han sido obtenidas sin que el laboratorio que realiza las pruebas diagnósticas del VIH tenga posibilidad de supervisar los métodos y pautas de extracción, la conservación o el tratamiento previo de los sueros. A este respecto, cabe señalar la importancia de una correcta y cuidadosa identificación de los pacientes que son objeto del análisis y de su correspondiente suero. La relación de confianza entre los pacientes y el personal sanitario hace que, en ocasiones, no se verifique de forma fehaciente la identidad de la persona que acude a realizarse el análisis. Este proceder cuando se refiere a las pruebas de diagnóstico de VIH, basadas en el consentimiento informado por parte del paciente, tiene gran trascendencia para evitar lo que denominamos errores en la extracción e identificación de sueros y pacientes. Los laboratorios que reciben y almacenan gran número de sueros para realizar determinaciones de anticuerpos anti-VIH deben asegurarse de tener un sistema de registro que evite coincidencias y confusiones.

Todas estas condiciones y precauciones, observadas de forma sistemática, constituyen el primer peldaño para evitar errores en la ejecución de las pruebas para el diagnóstico de la infección por el VIH.

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-VIH

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha definido de manera clara y sucinta cuáles son los objetivos de las pruebas de detección de anticuerpos frente al VIH. La mayoría de casos o situaciones en la práctica diaria del laboratorio puede ser incluida en uno de los objetivos contemplados en la tabla 1.

Tabla 1. Objetivos de las pruebas de detección de anticuerpos anti-VIH

- Seguridad biológica (cribado de donantes de sangre, órganos, semen, óvulos, etc.).
- Diagnóstico de la infección por el VIH.

- Vigilancia seroepidemiológica
- Investigación.

Los objetivos que persigamos con el diagnóstico van a influir en la elección de la técnica apropiada, en la actitud del profesional de laboratorio ante un resultado y en la estrategia o algoritmo de confirmación. De forma conceptual, se denominan pruebas diagnósticas las que se emplean de forma individualizada en el suero de una persona bajo los principios clínicos del consentimiento informado, y sirven para detectar o descartar la infección por este virus. Cuando las pruebas se aplican en virtud de criterios de seguridad biológica, vigilancia epidemiológica o investigación y el objetivo principal no es el diagnóstico clínico de la infección por el VIH, las denominamos pruebas de detección de anticuerpos anti-VIH en sentido estricto. Como veremos más adelante, esta distinción, aparentemente semántica, condiciona la utilización de las pruebas de detección de anticuerpos VIH de una forma coordinada y secuencial.

En todo caso, las pruebas habituales de detección de anticuerpos frente al VIH constituyen un primer escalón en el diagnóstico de la infección por este virus y se aplican en la práctica clínica a un gran número de sueros. Así, la sencillez y la posibilidad de automatización son cualidades que deben tenerse en cuenta a la hora de elegir un prueba en particular.

CARACTERÍSTICAS OPERACIONALES DE LAS PRUEBAS DE ANTICUERPOS ANTI-VIH

La sensibilidad y la especificidad son los parámetros más importantes para valorar una prueba y, en el caso de la aplicación clínica de las pruebas VIH, son muy importantes el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN). La sensibilidad de los equipos actuales ha alcanzado límites máximos; es frecuente leer artículos en los que se mencionan sensibilidades de un 99-100% para el conjunto de muestras ensayadas. Conviene señalar, sin embargo, las dificultades de alcanzar una sensibilidad real del 100% en una infección en la que la seroconversión ocurre en un lapso de tiempo de 2 a 4 semanas en la mayoría de los casos y, a veces, hasta varios meses (*período ventana*). Cabe recordar a este respecto la posibilidad de encontrar individuos infectados por el VIH que son seronegativos debido a causas orgánicas o defectos inmunes (falsos negativos).

Es bien conocido que el incremento de la sensibilidad lleva aparejado un descenso de la especificidad (falsos positivos); aunque las técnicas actuales ofrecen cifras de especificidad en torno al 99%, el aumento espectacular que ha experimentado la demanda analítica posibilita que los resultados falsos positivos sean más frecuentes, a pesar de las mejoras técnicas introducidas en las pruebas primarias de detección de anticuerpos frente al VIH.

Otro aspecto importante a la hora de valorar las características operacionales de una prueba diagnóstica para el VIH es la prevalencia de la infección entre la población estudiada. A menor prevalencia, el VPP disminuye o, dicho de otra manera, mayor es la probabilidad de que se produzcan resultados positivos falsos en una población con tasas de infección VIH bajas. En muchos hospitales o laboratorios en los que se realizan las pruebas del VIH el porcentaje de sueros positivos ha descendido en los últimos años hasta 2 y 4 veces respecto a los encontrados hace 12 ó 14 años cuando se inició el diagnóstico de este virus. Las causas de este fenómeno son variadas y cabría citar la mayor sensibilización respecto de la infección por parte de los sanitarios y la existencia de protocolos específicos de cribado serológico en los enfermos renales, hemodializados, exposición accidental, control de la gestante e, incluso, en las pruebas analíticas preoperatorias, estrategia esta última de cuestionable utilidad. Todas estas situaciones clínicas han propiciado un aumento sustancial de la demanda analítica de estas pruebas y un descenso en la tasa de positividad total, por lo que el riesgo de tener resultados falsos positivos en el escalón primario del diagnóstico del VIH es más elevado que antes. Por ello, cualquier laboratorio que ponga en marcha este tipo de técnicas deberá contar entre sus procedimientos de laboratorio con una estrategia o estrategias de confirmación.

PRUEBAS DE CRIBADO DE ANTICUERPOS FRENTE AL VIH

Las pruebas de detección habituales han experimentado un considerable desarrollo y mejoras desde su desarrollo inicial. Básicamente las mejoras han afectado, principalmente, al antígeno o antígenos utilizados en el ensayo y al principio técnico en el que se fundamentan dichas reacciones. La mayoría de las primeras técnicas utilizaron antígenos virales crudos más o menos purificados, denominados lisados virales. Estos antígenos contenían gran cantidad de proteínas procedentes del sistema celular en el que se había cultivado el virus. La posibilidad de una reacción inespecífica del suero con algunos de estos componentes constituyó un problema que hizo obligado el empleo de pruebas de confirmación. En la tabla 2 aparece la evolución de los antígenos que se han ido incorporando a los equipos de detección de anticuerpos VIH.

Tabla 2. Antígenos empleados en las pruebas de detección primaria de anticuerpos frente al VIH.

Técnica	Antígeno
EIA 1ª generación	Lisado viral VIH-1
EIA 2ª generación	Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2
EIA/ELFA 3ª generación	Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2 y antígeno VIH-1 del grupo O (<i>outlayer</i> o <i>marginal</i>)
EIA/ELFA 4ª generación	Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2 y VIH-1 "O", y anticuerpos para detectar el antígeno p24

La evolución de los antígenos incluidos en las pruebas de detección ha permitido, por una parte, incrementar la sensibilidad sin merma de la especificidad y, por otra, ha hecho posible la detección de anticuerpos frente a tipos y subtipos del VIH que escapaban a los equipos de diagnóstico habituales. A pesar de las mejoras introducidas en los equipos actuales, debe tenerse en cuenta la posibilidad real de encontrar sueros de infectados por subtipos inusuales del VIH, sobre todo en pacientes africanos o en personas con estancias prolongadas en ese continente.

Respecto al principio técnico que emplean, cabe mencionar que la gran mayoría están basados en las distintas modalidades del enzoinmunoanálisis (EIA): indirecto, en *sandwich* y de captura. Existen EIA competitivos que tienen una gran especificidad, aunque adolecen de cierta falta de sensibilidad en algunos momentos de la infección por el VIH, como al inicio de la seroconversión y en los pacientes que se encuentran en estadios terminales. Sin embargo, combinadas con otras pruebas de mayor sensibilidad en forma secuencial, pueden proporcionar excelentes resultados en la estrategia diagnóstica. Estos tipos de pruebas han sufrido también variaciones tecnológicas, siendo una de las más empleadas la utilización de sustratos fluorescentes que han dado lugar a las pruebas denominadas ELFA (*enzyme-linked fluorescent assay*). La última aportación ha sido la detección simultánea del antígeno p24 y de anticuerpos, lo que acorta el *período ventana*. Diversos trabajos publicados y nuestra propia experiencia ponen de manifiesto un adelanto entre una a dos semanas en la detección serológica de la infección, aspecto a considerar si tenemos en cuenta que en ese período la infectividad es más elevada.

Existen pruebas basadas en la técnica de aglutinación pasiva que ofrecen ventajas por su sencillez y simplicidad de ejecución así como por la posibilidad de realizar titulaciones de forma sencilla. La dificultad de automatización las hace poco adecuadas para procesar gran número de sueros, estando menos extendidas. Estas técnicas permiten detectar tanto anticuerpos de la clase IgG como IgM.

Entre las pruebas de cribado de anticuerpos VIH, las denominadas pruebas rápidas han experimentado un desarrollo importante; los antígenos que emplean son similares a los EIA y ELFA y el tiempo en el que se puede obtener un resultado oscila entre 5 y 20 minutos. Aunque las características operacionales son inferiores a los EIA y ELFA, deben tenerse en cuenta para situaciones de urgencia. Combinadas con otras pruebas de detección de anticuerpos constituyen una estrategia que mejora la especificidad de los resultados de forma asequible en términos de costes laborales y de tiempo. En la tabla 3 se exponen algunas de las más utilizadas; son preferibles aquellas que permiten detectar anticuerpos frente al VIH-1 y VIH-2 de forma separada. Su mayor inconveniente reside en la lectura, que siempre es subjetiva, lo que puede generar dudas de interpretación de la reactividad de ciertos sueros. En los últimos años, han aparecido pruebas rápidas basadas en el principio de la inmunocromatografía capilar que han mejorado de forma importante la sensibilidad y la especificidad de éstas respecto a las de *Dot*-EIA. Se deben elegir aquéllas que tengan controles internos que verifiquen el correcto funcionamiento de la reacción.

Tabla 3. Pruebas rápidas para la detección de anticuerpos frente al VIH.

Técnica	Antígeno
<i>Dot</i> -EIA 1ª generación	Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2 en un único <i>spot</i>
<i>Dot</i> -EIA 2ª generación	Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1, VIH-2 y VIH-1"O" en " <i>spots</i> " diferenciados para VIH-1 y VIH-2
Látex/Agglutinación pasiva	Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1, VIH-2 y VIH-1"O"
Inmunocromatografía capilar	Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1, VIH-2 y VIH-1"O"

PRUEBAS DE CONFIRMACION DE ANTICUERPOS

La trascendencia de la infección por el VIH hace necesaria la confirmación de los resultados positivos obtenidos en las pruebas de detección primaria de anticuerpos; este paso es **inexcusable cuando el objetivo de las pruebas sea el diagnóstico** (Tabla 1) y puede ser obviado cuando aquéllas se realicen para seguridad biológica. Sin embargo, en el ámbito hospitalario es cada vez más frecuente que se confirmen todos los resultados positivos de sueros u otras muestras, incluidos aquéllos en los que el objetivo principal no es el diagnóstico de la infección. Existen diferentes pruebas de confirmación; entre ellas cabe citar las basadas en la inmunoelectrotransferencia o *western blot* (WB), inmunofluorescencia indirecta (IFI), radioinmunoprecipitación (RIPA) e *immunoblot* con antígenos recombinantes (LIA).

La técnica más ampliamente utilizada es el WB. Las técnicas de IFI y RIPA, por razones distintas (subjetividad de la lectura, requerimientos de laboratorio, etc.), se emplean cada vez menos, de tal forma que los resultados del WB son considerados el estándar de confirmación de la presencia de los anticuerpos anti-VIH. Existen distintos criterios de positividad propuestos por organismos o sociedades involucrados en el diagnóstico del VIH (tabla 4). De ellos, el de la Organización Mundial de la Salud (OMS) es el más específico cuando se manejan sueros de diversa procedencia poblacional.

Tabla 4. Criterios de positividad de la prueba *western-blot*

Criterio	Reactividad frente a:
OMS	Dos glucoproteínas cualquiera de: gp160, gp120, gp41
Cruz Roja Americana	Una proteína de cada gen estructural (<i>env</i> , <i>pol</i> y <i>gag</i>)

FDA ^a	p24 + p32 + (gp41 o gp120 o gp160)
CRSS ^a	p24 + (gp41 o gp120 o gp160) o p32 + (gp41 o gp120 o gp160)
CDC/ASTPHLD ^a	p24 + (gp41 o gp120 o gp160) o gp41 + (gp120 o gp160)

^aFDA: Food and Drug Administration; CRSS: Consortium for Retrovirus Serology and Standardization; CDC/ASTPHLD: Centers for Disease Control/Association of State and Territorial Public Health Laboratory Directors

El WB contiene los antígenos del propio VIH, algunas de sus proteínas precursoras y antígenos de origen celular. Existen sistemas que incorporan en un extremo diferenciado de la tira un péptido sintético específico del VIH-2 (gp36), que facilita la sospecha de la infección por el VIH-2 en aquellos WB indeterminados para el VIH-1. Debido a que las tiras de nitrocelulosa en las que se depositan los antígenos del VIH contienen, en mayor o menor cantidad, proteínas de la célula huésped en la que se ha cultivado el virus, a menudo se observan bandas de reactividad contra dichas proteínas, de ahí la necesidad de adiestramiento en la lectura e interpretación de las bandas de origen viral. Es muy conveniente adoptar una disciplina metodológica en la lectura e interpretación de bandas (Tabla 5), que deberá ser uniforme y sistematizada para cada laboratorio.

Tabla 5. Pautas de lectura de la prueba *western blot*

- Identificación de bandas específicas virales de reactividad
- Valoración de la reactividad de cada banda
- Anotación individualizada de los resultados en cada muestra
- Aplicación del criterio de positividad
- Emisión del resultado e informe

Los sueros se consideran positivos cuando cumplen **el criterio de positividad** adoptado por el laboratorio, negativos cuando no se observa **ninguna banda de reactividad**, e **indeterminados** cuando se observan reactividades distintas a las del criterio de positividad.

Los resultados indeterminados de la prueba WB son la mayor fuente de ansiedad en pacientes y los que pueden llegar a generar desconcierto en los responsables del diagnóstico. Las causas de estas reactividades anormales en la prueba WB son muy variadas y no están totalmente explicadas. Se han descrito resultados indeterminados en personas con factor reumatoide en el suero, lupus eritematoso, hiperbilirrubinemias, infección por otros retrovirus, parasitosis y por otras causas. Si tenemos en cuenta que en la cubierta del VIH están presentes antígenos HLA podemos entender que hasta el 30% de los individuos multitransfundidos presenten reactividades en el WB y que se hayan descrito en ellos falsos positivos con dicha técnica.

Para minimizar los problemas debidos a resultados indeterminados observados en el WB se han desarrollado técnicas de *immunoblot* con péptidos recombinantes o pruebas de LIA. Éstas tienen una lectura más estructurada que se puede hacer por densitometría en algunos casos, obviando los problemas de subjetividad en la apreciación de la intensidad de las bandas. En nuestra opinión, pueden ser empleados por laboratorios que precisen confirmar un gran número de muestras (automatización) y en los que importe menos el conocimiento de las causas de la falsa positividad obtenidas en las pruebas de cribado de anticuerpos.

Por lo general, estas pautas se utilizan para confirmar sueros positivos pero, en determinados casos, pueden usarse para confirmar sueros negativos, debido al amplio contenido de antígenos del VIH que tiene el WB respecto a las pruebas de detección primaria de anticuerpos. Los informes clínicos de los resultados de estas pruebas deben expresar de forma clara si la persona es positiva o negativa para los anticuerpos anti-VIH, o si se aconseja un seguimiento o la realización de pruebas adicionales; cualquier cambio que haga el laboratorio respecto a los criterios de positividad adoptados deberá comunicarse a los clínicos que atienden a los pacientes infectados por el VIH.

ESTRATEGIAS DE CRIBADO Y CONFIRMACION DE LOS ANTICUERPOS ANTI-VIH

La OMS hizo unas recomendaciones hace años que pueden servir de base para establecer la estrategia de confirmación, siempre teniendo en cuenta el objetivo para el que se realiza la prueba de anticuerpos anti-VIH y la prevalencia de éstos observada o estimada en una determinada población (Tabla 6).

Tabla 6. Estrategias de la determinación de anticuerpos anti-VIH

Objetivo	Prevalencia	Estrategia
A. Seguridad biológica	Cualquier prevalencia	I
B. Diagnóstico		
B.1. CRS/SIDA	Cualquier prevalencia	II

B.2. Asintomático	$\geq 10\%$	II
	$<10\%$	III
C. Serovigilancia	$\geq 10\%$	I
	$<10\%$	II

Cuando el objetivo de la prueba de anticuerpos anti-VIH es el diagnóstico y la prevalencia es $<10\%$ se recomienda el uso de tres técnicas con un principio o antígeno distinto y parece obligado que figure entre aquéllas el WB u otra técnica que identifique de forma individualizada las distintas reactividades frente a los antígenos del VIH. Para diagnosticar a una persona como positiva e infectada por el VIH las tres pruebas deben ser positivas. Es probable que en muchos laboratorios sólo se disponga de una prueba de detección de anticuerpos (EIA o ELFA) y una segunda de confirmación (WB, LIA o IFI); en este caso pueden producirse, por las razones mencionadas en la primera parte de este artículo, situaciones problemáticas respecto al diagnóstico del VIH, sobre todo en las personas asintomáticas. Por ello es altamente recomendable que en el laboratorio, o en el hospital al menos, se disponga de dos pruebas primarias de detección de anticuerpos anti-VIH de distinto fabricante o que empleen un principio técnico distinto. Esta precaución permite fácilmente cumplir con la recomendación mencionada en la estrategia III y aumenta la fiabilidad diagnóstica. Además de poner de manifiesto antes la existencia de posibles discrepancias, la adopción de esta medida permite no tener que depender de un único proveedor comercial, lo cual soslaya los fallos temporales debidos a lotes concretos de reactivos. En todo caso, la técnica utilizada en primer lugar, en cualquiera de las estrategias, debe ser la que posea la máxima sensibilidad, y las siguientes deben ser las de mayor especificidad.

PROBLEMAS EN EL CRIBADO Y CONFIRMACIÓN DE LOS ANTICUERPOS ANTI-VIH

Los problemas que se presentan con estas prueba son similares a los de otras pruebas de diagnóstico serológico aunque, en este caso, adquieren una importancia mayor por las posibles consecuencias y la transcendencia clínica de la infección.

Desde el punto de vista serológico, en la infección por el VIH ocurren cambios en la dinámica de producción de anticuerpos desde el momento de la seroconversión. El *período ventana* de dos a cuatro semanas de duración se caracteriza por la ausencia de anticuerpos y la presencia del antígeno p24, proteína mayoritaria de la nucleocápside (*core*) del VIH. En estadios finales de la infección desaparecen los anticuerpos contra algunas de las proteínas estructurales internas del virus (p24, p17, p55, etc.). En ciertas personas se ha observado la ausencia de criterios diagnósticos de positividad por WB en los meses finales de la enfermedad, como consecuencia del intenso deterioro inmunitario.

En el laboratorio de virología tienden a preocupar más los resultados falsos positivos, tanto en las pruebas de cribado como en las de confirmación (menos frecuente), sobre todo cuando éstos se producen en personas sin ningún factor de riesgo como ocurre generalmente. Las causas de los falsos positivos son variadas (Tabla 7) y dependen básicamente de dos elementos, la técnica (antígenos y principio técnico empleado) y las condiciones derivadas del paciente.

La evolución de las técnicas y antígenos utilizados ha reducido la aparición de falsos positivos que en la actualidad es inferior al 1%. A pesar de ello hay causas de falsos positivos relativas a la extracción, conservación y procesamiento del suero que pueden ser minimizados con las precauciones comentadas al principio de este artículo. Entre las causas debidas a las condiciones del paciente se apunta repetidamente en la literatura la reactividad por autoanticuerpos; a este respecto cabe señalar la presencia, en la cubierta del VIH, de antígenos del sistema HLA procedentes de la célula huésped que explican, en parte, las falsas reacciones observadas en sueros de individuos transplantados, multitransfundidos u otros con enfermedades autoinmunes. Por último, existen otras condiciones que se han señalado como causa de falsas positividades listadas en la Tabla 7; la peculiaridad y complejidad de las mismas ilustran la necesidad de realizar una anamnesis para identificar la existencia de esas condiciones ante un caso en el que se sospeche una falsa positividad.

Tabla 7. Causas de falsos positivos en las pruebas séricas de detección de anticuerpos anti-VIH

Relativas al suero

- Congelaciones y descongelaciones repetidas
- Almacenamiento a temperatura subóptima
- Aspecto lipídico o turbio del suero
- Contaminación microbiana
- Sueros tratados con calor ($\geq 60^\circ\text{C}$)
- Errores de extracción o identificación

Relativas a la presencia de autoanticuerpos

- Personas con anticuerpos anti-HLA-DR4, DQw3
 - Enfermedades reumatoideas
 - Polimiositis
 - Lupus eritematoso
 - Multitrasfundidos
 - Trasplantados renales
 - Multíparas
-

Relativas a otras condiciones

- Hemodializados, fracaso renal crónico
 - Síndrome de Stevens-Johnson
 - Administración previa de inmunoglobulinas
 - Sueros postvacunales (gripe, hepatitis B)
 - Infecciones agudas por virus DNA
 - Enfermedad hepática alcohólica grave
-

Los criterios de confirmación están basados en la experiencia y conocimientos de los expertos, pero no son infalibles. El laboratorio deberá evaluar el criterio de positividad empleado para el WB (si es la técnica que se utiliza para confirmar) ya que algunos de los criterios recogidos en la Tabla 4 son menos restrictivos que otros y pueden propiciar falsas confirmaciones. En nuestra experiencia, el criterio propuesto por la OMS es el que se adapta mejor a nuestra realidad hospitalaria, y las pruebas LIA que utilizan dicho criterio son las que dan menos errores en la confirmación.

Finalmente es necesario alertar sobre la posibilidad de falsos negativos en el diagnóstico y determinación de los anticuerpos frente al VIH, circunstancia que probablemente se percibe con menos frecuencia debido al principio, generalmente admitido, por el que los resultados negativos no son reconfirmados si no existe una indicación clínica precisa al respecto. Las causas de falsa negatividad son también variadas (Tabla 8). Los falsos negativos pueden constituir sólo una rareza o excepción entre los afectados por el VIH. Recientemente se ha publicado la existencia de ocho pacientes infectados por el VIH pero seronegativos, debido a causas orgánicas derivadas de una respuesta aberrante o anormal a la infección por el VIH. En el pasado hemos podido también observar falsos negativos causados por fallos de los equipos de detección de anticuerpos VIH o por la incapacidad de detección y confirmación en individuos infectados por tipos o subtipos marginales del VIH.

Tabla 8. Causas de falsos negativos en las pruebas de detección de anticuerpos anti-VIH

-
- Período ventana que precede a la aparición de anticuerpos
 - Infección por tipos de VIH no detectables por los antígenos incluidos en la prueba
 - Tratamiento inmunosupresor prolongado
 - Trasplante de médula ósea
 - Disfunciones de los linfocitos B
 - Plasmaféresis, exanguinotrasfusión
 - Neoplasias
 - Errores de extracción o identificación
 - Fallos en el principio técnico o en el proceso de fabricación del equipo diagnóstico
 - Respuestas anómalas ante la infección VIH
-

Algunas de estas situaciones provocan la alarma cuando el objetivo perseguido en la determinación de anticuerpos anti-VIH es la seguridad biológica (bancos de sangre, hemoderivados, donaciones). Por ello, la adopción de técnicas de EIA/ELFA de cuarta generación se utiliza ya en algunos países con el fin reducir al mínimo el *período ventana*; por otra parte, aunque el valor predictivo negativo sea elevado, se debe insistir en descartar el diagnóstico de infección por el VIH mediante pruebas complementarias cuando la anamnesis revele factores de riesgo, síntomas u otros datos de laboratorio o indicaciones clínicas sugestivas de la infección por el VIH. El algoritmo de decisiones propuesto para la serología del VIH (Figura 1, al final de esta revisión) pretende tener en cuenta las diferentes situaciones y contexto clínico en los cuales se produce diariamente la demanda de una prueba de detección de anticuerpos anti-VIH y las consecuencias que los resultados y el informe de la misma deben tener en nuestra manera de proceder.

CONCLUSIONES

En el momento actual, el cribado de los anticuerpos anti-VIH desborda por su trascendencia la mera oferta diagnóstica. Las aplicaciones hospitalarias de esta prueba han hecho que, en la mayoría de los hospitales, las solicitudes de esta prueba analítica hayan crecido de forma exponencial en los últimos años. A consecuencia del aumento de peticiones y del descenso consiguiente de los porcentajes de positividad, se producen resultados falsos positivos en situaciones clínicas complejas (candidatos a trasplantes, pacientes hemodializados, embarazadas, etc.) que obligan a una diversificación de las estrategias diagnósticas y de los métodos de cribado. En este contexto es aconsejable disponer al menos de dos técnicas de cribado de anticuerpos anti-VIH y utilizar un método de confirmación con muestras del mismo paciente tomadas en momentos diferentes. La colaboración entre los laboratorios de un mismo hospital que realicen este tipo de pruebas con distintos objetivos (Virología y Hematología), o de una misma área sanitaria, puede minimizar el coste y facilitar la implantación de estas recomendaciones, coordinando las técnicas que cada laboratorio asume y organizándose en protocolos de actuación concretos.

Hoy en día pueden producirse situaciones clínicas que obliguen al seguimiento serológico del paciente al menos durante dos o tres semanas y a la utilización de otros marcadores serológicos de la infección por el VIH (antígeno p24, anticuerpos anti-p24), si no se dispone de técnicas sensibles de biología molecular (PCR). A pesar de la sensibilidad de estas pruebas, el diagnóstico definitivo deberá confirmarse en suero una vez se produzca la seroconversión; por eso es altamente recomendable la adopción de pruebas EIA/ELFA para la detección simultánea de anticuerpos y antígeno p24 del VIH cuando exista probabilidad de detectar seroconversiones (clínicas de desintoxicación, centros de metadona), o en aquellos casos en los que haya riesgo de transfundir o donar un órgano de un paciente en el período de seroconversión.

Finalmente, cuando el objetivo de las pruebas sea el diagnóstico, se debe tener en cuenta que los pacientes rara vez entienden, como lo hacen los profesionales, expresiones tales como: "falso positivo", "indeterminado", "positivo dudoso", etc. y, en consecuencia, extremar el cuidado al emitir los informes del laboratorio. Del conjunto de pruebas realizadas deberá resultar la emisión de un diagnóstico claro y concluyente, o bien la formulación de recomendaciones precisas para el seguimiento y el diagnóstico definitivo.

BIBLIOGRAFÍA

Anónimo. Centers for Disease Control. Interpretation and use of the western blot assay for serodiagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infections. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1989; 38:1-7.

Anónimo. World Health Organisation. AIDS. Proposed WHO criteria for interpreting results from western blot assays for HIV-1, HIV-2 and HTLV-I/HTLV-II. *Weekly Epidemiol Record* 1990; 65:281-283.

Anónimo. World Health Organisation. Global Programme on AIDS. Recommendations for the selection and use of HIV antibody test. *Weekly Epidemiol Record* 1992; 67:145-152.

Hammer S, Crumpacker C, D'Aquila R, Jackson B, Lathey J, Livnat D, Reichelderfer P. Use of virological assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: recommendations of AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J Clin Microb* 1993; 31:2557-2564.

Jackson JB, Balfour HH. Practical diagnostic testing for human immunodeficiency virus. *Clin Microbiol Rev* 1988; 1:124-138.

Kenny DF, Garsia RJ, Gatenby PA, Basten A. Identification of biological false positives in anti-HIV antibody tests [Letter]. *AIDS* 1987; 1:63-64.

Ortiz de Lejarazu R, Cisterna R, Eiros JM, González A, Maroto MC, Pumarola T, Romero J. Diagnóstico Microbiológico de la infección por VIH. En: Picazo JJ (ed). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Madrid, 1998, número 6B.

Van Binsbergen J, Keur W, van der Graaf M, Siebelink A, Jacobs A, de Rijk D, Toonen J, Zekeng L, Afane-Ze E, Gurtler LG. Strongly enhanced sensitivity of a direct anti-HIV-1/2 assay in seroconversion by incorporation of HIV p24 Ag detection: a new generation Vironostika HIV Uni-Form II. *J Virol Methods* 1998; 76:59-71.

Weber B, Fall EH, Berger A, Doer HW. Reduction of diagnostic window by new fourth-generation human immunodeficiency virus screening assays. *J Clin Microbiol* 1998; 36:2235-2239.

Zaaijer HL, van Rixel GA, Kromosoeto JN, Balgobind-Ramdas DR, Cuypers HT, Lelie PN. Validation of a new immunoblot assay (LiaTek HIV III) for confirmation of human immunodeficiency virus infection. *Transfusion* 1998; 38:776-781.

Figura 1. Algoritmo de decisiones para el diagnóstico serológico del VIH

