

# Diagnòstic de la infecció per l'HIV

T. PUMAROLA

Els virus de la immunodeficiència humana tipus 1 i 2 (HIV-1 i HIV-2) són els agents etiològics de la síndrome d'immunodeficiència adquirida (sida). Els HIV constitueixen el prototipus de membres del gènere *Lentivirus*, que pertany a la família *Retroviridae*. L'HIV-1 es classifica en tres grups diferents: M, N i O. Els grups O i N són minoritaris i només s'han descrit a Àfrica equatorial occidental i en individus procedents d'aquesta zona. El grup M es subdivideix en deu subtipus que es denominen amb les lletres de la A a la K. S'han identificat soques recombinants intersubtipus, algunes d'elles d'àmplia circulació, i recentment també recombinants entre els grups M i O. Els diferents subtipus i recombinants tenen àrees geogràfiques preferents de circulació. Així, per exemple, a Europa occidental i Amèrica del Nord el més important és el subtipus B, mentre que a Àfrica serien els subtipus A, D i C.

L'aplicació clínica de les proves de detecció directa i indirecta de l'HIV es basa, fonamentalment, a diagnosticar si una persona està infectada pel virus i, en cas afirmatiu, quina és l'activitat replicativa d'aquest, com a marcador pronòstic i d'inici, i quina és l'eficàcia del tractament antiretroviral. Un tercer aspecte el constitueix la sensibilitat vírica als fàrmacs antiretrovirals. En aquest document ens cenyirem estrictament al diagnòstic de laboratori de la infecció per l'HIV.

## **PROVES DIAGNÒSTIQUES DE LABORATORI DE LA INFECCIÓ PER L'HIV**

---

Ja que els retrovirus són causa d'infeccions que persisteixen durant tota la vida dels subjectes infectats, la demostració d'una resposta immunitària humoral específica reflecteix, invariablement, l'existència d'infecció activa. Així, la detecció d'anticossos específics (Ac-HIV) en el sèrum de les persones infectades és el mètode emprat per al diagnòstic de laboratori de la infecció per l'HIV. Tanmateix, en determinades situacions (nounsats de mares infectades i primoinfecció, entre altres) la demostració del propi virus, bé sigui mitjançant la detecció de les seves proteïnes o àcids nucleics o mitjançant el seu aïllament en cultiu cel·lular, ha demostrat ser d'una gran ajuda per al diagnòstic serològic o fins i tot tenir una eficàcia superior.

El diagnòstic de la infecció per l'HIV es basa en la utilització de reactius comercialitzats. La forta competència entre les diferents cases comercials i l'estricta control per part de les agències reguladores en els diferents països han donat com a resultat la disponibilitat de reactius d'elevada sensibilitat, especificitat i estandardització, que han aportat una gran qualitat al diagnòstic de la infecció per l'HIV, superior a les tècniques desenvolupades *in home* pels laboratoris clínics o d'investigació. En aquest sentit, en el diagnòstic de la infecció per l'HIV no han d'utilitzar-se reactius que no hagin estat prèviament homologats per al seu ús diagnòstic.

### **Proves de detecció d'anticossos específics**

#### *Proves de cribratge*

La detecció d'Ac-HIV amb tècniques d'enzimoinmunoassaig (EIA) és el mètode més emprat en l'actualitat. Aquestes tècniques tenen diferents principis: indirecte, competitiu, de captura i en *sandwich*. L'increment progressiu de la qualitat en l'elaboració dels antígens (Ag) fa d'aquest tipus de tècniques les més indicades si les condicions instrumentals del laboratori ho permeten.

Els termes primera, segona i tercera generació s'utilitzen segons la font de l'Ag i el format de la prova. Els assajos de primera generació utilitzen lisat víric obtingut en línies cel·lulars de limfòcits T humans. Les reactivitats inespecífiques degudes a anticossos enfront del substrat cel·lular obliguen, en general, a utilitzar dilucions elevades dels sèrums per evitar falsos positius, fet que disminueix la sensibilitat. Tanmateix, es veuen escassament afectades per la variabilitat genètica de l'HIV. Les proves de segona i tercera generació utilitzen com a Ag proteïnes recombinants o pèptids sintètics. Són molt sensibles i els resultats són més reproduïbles, quan s'utilitza un Ag més normalitzat i purificat. Amb les proves de segona generació i format competitiu s'ha aconseguit l'especificitat més elevada. Les proves que utilitzen els formats de captura i en *sandwich* (les proves de tercera generació) són actualment les més sensibles, ja que tenen la capacitat de detectar totes les subclasses d'anticossos i no només la IgG. Això explica la seva major sensibilitat per reconèixer la primoinfecció per l'HIV-1, quan la IgM és el primer marcador de la seroconversió, i per al diagnòstic de la infecció pediàtrica, que cursa amb IgM i IgA només si el nen està infectat. Addicionalment, l'EIA de captura té una gran especificitat.

Existeixen reactius comercialitzats amb els Ag i formats citats per a la detecció d'Ac-HIV-1 i Ac-HIV-1+2. Per a la detecció específica d'Ac-HIV-2 es disposa únicament d'EIA amb pèptids sintètics o lisat víric i format indirecte.

Les proves de cribratge poden veure's afectades per diferents variables diagnòstiques. Un possible problema és la variació antigènica. El virus infectant pot presentar proteïnes diferents a les utilitzades com antigen en els diferents formats de proves. Conseqüentment, els anticossos del pacient no s'uniran de forma eficient a l'antigen utilitzat, generant-se un resultat falsament negatiu. Aquest tipus de problemes es van descriure per primera vegada després de la descripció de l'HIV-2. Un problema similar es va observar després del descobriment del grup O. El format en *sandwich* és el que està més afectat per aquest tipus de problemes, pel fet que per obtenir un resultat positiu els anticossos han d'unir-se com a

mínim a dues molècules d'Ag, contràriament als assajos indirectes o de captura en què només és necessària la unió a una molècula d'Ag.

Un altre problema característic és el període finestra durant la primoinfecció per l'HIV. Els anticossos en aquesta fase es troben restringits enfront d'escasses proteïnes (generalment embolcall i p24), es troben en baix títol, tenen baixa afinitat i les immunoglobulines dominants pertanyen a la subclasse IgM i possiblement IgA. Addicionalment, els Ac-HIV poden veure's parcialment saturats per antigen d'HIV, que generalment hi és present en elevades concentracions durant la primoinfecció. En aquesta situació, el reactiu diagnòstic que s'ha d'utilitzar hauria de tenir una elevada concentració de l'antigen predominant en aquesta fase de la infecció, objectiu que aconseguen amb més facilitat els reactius que utilitzen recombinants enfront dels que utilitzen lisat víric. A més, aquest reactiu ha de seleccionar els escassos Ac-HIV presents en el conjunt d'immunoglobulines d'aquesta fase, això és impossible amb els assajos de captura, que uneixen immunoglobulines de qualsevol tipus d'especificitat. També ha de tenir la capacitat de detectar IgM, ja que en presència d'antigenèmia, la seva estructura pentamèrica amb un total de 100 punts d'unió d'antigen fa possible que encara existeixin àrees d'unió accessibles. En aquesta situació, la millor tècnica és la que utilitza el format en *sandwich*, ja que selecciona exclusivament els Ac-HIV i no discrimina les immunoglobulines no pertanyents a la subclasse IgG.

En conclusió, per al cribratge d'Ac-HIV han d'utilitzar-se reactius que detectin anticossos enfront de l'HIV-1 i l'HIV-2, que tinguin una bona sensibilitat als grups M i O, i un elevat rendiment en els plafons de seroconversió.

Els resultats de les proves de cribratge han d'expressar-se de forma clara i precisa per evitar situacions diagnòstiques confuses i d'angoixa innecessària en el pacient. Així, s'expressarà amb claredat si el sèrum és positiu per a Ac-HIV-1 o HIV-2, indicant el tipus i naturalesa de la prova de cribratge utilitzada. L'expressió en unitats arbitràries o en unitats de valor de tall, afegida a l'expressió qualitativa en les tècniques d'EIA, indiquen una major o menor reactivitat de la mostra respecte al valor de tall obtingut i no una expressió numèrica de la quantitat d'anticossos present

en el sèrum. En els resultats positius o dèbilment reactius s'indicarà la necessitat de confirmar aquesta reactivitat.

### *Proves de diagnòstic ràpid*

Les proves de diagnòstic ràpid són assajos de lectura visual que poden realitzar-se amb un equipament mínim de laboratori i generen un resultat en menys de 30 minuts. En l'actualitat, la majoria de proves de cribratge generen resultats en un temps inferior als 90 minuts. Així, la principal indicació d'aquest tipus de tècniques serà per a la seva utilització en laboratoris amb escassa dotació instrumental. S'haurà de tenir en compte la seva menor sensibilitat i especificitat respecte a les proves de cribratge descrites anteriorment. L'aglutinació i l'EIA de la membrana (*dot-blot*) són les tècniques més àmpliament utilitzades.

Les proves d'aglutinació utilitzen un format indirecta i es basen en l'aglutinació d'Ag-HIV que prèviament ha estat fixat a partícules que poden aglutinar en presència de sèrum que contingui Ac-HIV. Poden utilitzar partícules de gelatina o de làtex, i com Ag, lisat víric, pèptids sintètics o proteïnes recombinants.

En les proves de l'EIA de membrana, també de forma indirecta, l'Ag-HIV es troba fixat a les membranes de nitrocel·lulosa i està format per proteïnes recombinants o pèptids sintètics d'un o ambdós virus (HIV-1, HIV-2). Els Ac-HIV fixats es detecten mitjançant un mètode immunoenzimàtic.

### *Proves de detecció d'anticossos en saliva i orina*

Actualment és possible la detecció d'Ac-HIV en mostres de saliva i orina. Els seus principals avantatges són el mètode incruent d'obtenció de la mostra i la disminució del risc d'exposició accidental en el personal sanitari. L'existència de falsos negatius, derivats de la possible baixa concentració d'anticossos o d'una obtenció errònia de la mostra, especialment en el cas de la saliva, constitueix el seu principal inconvenient. Així, el seu ús s'ha recomanat, casi exclusivament, per a estudis de vigilància epidemiològica.

## *Proves de confirmació*

Tenen com a objectiu confirmar els resultats obtinguts per les proves de cribratge, utilitzant tècniques amb fonaments diferents i més específics. La prova de confirmació més freqüentment utilitzada és la immunoelctrotransferència o Western-Blot. Si bé s'ha de reconèixer que, en comparació amb les proves de cribratge que han estat evolucionant amb els anys, el Western-Blot continua essent una prova de primera generació, amb tots els problemes que això comporta, com l'escassa sensibilitat en els plafons de seroconversió o la reactivitat inespecífica davant determinades proteïnes presents en les tires de reacció. Altres mètodes de confirmació, com la immunofluorescència o la radioimmunoprecipitació, presenten una alta subjectivitat i complexitat, respectivament, que dificulta la seva utilització.

El Western-Blot permet una discriminació puntual de les especificitats de reactivitat d'anticossos davant les diferents proteïnes del virus. Les tires de nitrocel·lulosa en què s'han transferit les proteïnes víriques contenen, generalment, quasi totes les proteïnes estructurals de l'HIV, algunes proteïnes precursors de les víriques i antígens cel·lulars contaminants que procedeixen de les cèl·lules en cultiu emprades per a l'obtenció de l'antigen víric (Taula 1). Alguns reactius de Western-Blot per a l'HIV-1 incorporen, en la mateixa tira de nitrocel·lulosa, algun pèptid sintètic corresponent a glicoproteïnes específiques de l'HIV-2.

La lectura i interpretació dels resultats per Western-Blot han de fer-se seguint unes pautes concretes. En primer lloc s'identificaran, per la seva posició en la tira, les bandes específiques de reactivitat (gp160, gp120, p66, p55, etc.). A continuació pot ser útil assignar un valor de reactivitat a cada banda (2: reactivitat franca, 1: reactivitat dèbil o dubtosa i 0: absència de reactivitat) i anotar-ho de forma individualitzada. Encara que la tècnica no és quantitativa, el laboratori pot, d'aquesta manera, arxivar els resultats de manera més detallada, encara que les tires s'hagin deteriorat o eliminat.

Existeixen diferents criteris de positivitat per al Western-Blot (Taula 2), el més adequat sembla el que va proposar l'OMS, que resulta el més sen-

**TAULA 1.**

**Bandes de reactivitat enfront de l'HIV en la tècnica de Western-Blot.**

Naturalesa/Descripció	HIV-1	HIV-2	Aspecte de la banda reactiva*
gp precursora ( <i>env</i> )	gp160	gp140	Ample (3-4 mm). Lleugerament difusa
gp externa ( <i>env</i> )	gp120	gp105	Ample (3-4 mm). Lleugerament difusa
Transcriptasa inversa ( <i>pol</i> )	p66	p68	Moderadament estreta (1-2 mm) Nítides. Entre la p66 i la p55 i 51 solen existir bandes d'antigen d'origen cel·lular
Precursora ( <i>gag</i> )	p55	p55	Estretes i nítides
Transcriptasa reserva ( <i>pol</i> )	p51	p53	Estretes i nítides
Gp transmembrana ( <i>env</i> )	gp41	gp36	Ample (5-6 mm). Francament difusa
Integrasa ( <i>pol</i> )	p34	p34**	Ample (3-4 mm) Generalment nítida
Proteïna del core ( <i>gag</i> )	p24	p26	Ample (4-5 mm) Nítida
Matriu ( <i>gag</i> )	p17	p15	Ample (4-5 mm). Difusa
Matriu ( <i>gag</i> )	p9		Ample (3-4). Francament difusa**

\*Quan existeix reactivitat franca.

\*\*Pot no aparèixer en alguns equips diagnòstics.

sible quan hi ha sèrums de procedència poblacional molt variada. Adoptant aquest criteri, un sèrum és considerat positiu quan presenta reactivitat almenys enfront de dues de les tres glucoproteïnes d'embolcall que té el virus (gp160, gp120 i gp41). Els sèrums negatius no hauran de mostrar reactivitat davant cap de les proteïnes presents a la tira. Finalment, els sèrums es denominen indeterminats per Western-Blot quan, existint

**TAULA 2.**

**Criteris de positivitat per a l'HIV per la tècnica de Western-Blot.**

Criteri	Reactivitat enfront almenys
Organització Mundial de la Salut (OMS)	Dues glucoproteïnes qualsevol de gp160/gp120/gp41
Food and Drug Administration (FDA)	p24 + p32 + (gp41 o gp120 o gp160)
Creu Roja Americana	Una proteïna de cada gen estructural ( <i>env</i> , <i>gag</i> i <i>pol</i> )
Consortium for Retrovirus Serology and Standardization (CRSS)	p24 + (gp41 o gp120 o gp160) o p32 + (gp41 o gp120 o gp160)
Association of State and Territorial Public Health Laboratory Directors/ Center for Diseases Control	p24 + (gp41 o gp120 o gp160) o gp41 + (gp120 o gp160)

reactivitat davant una o més proteïnes, la tècnica no compleix el criteri de positivitat adoptat.

Els criteris de positivitat més restrictius, si bé són altament específics, provoquen una falta de sensibilitat i un increment important dels resultats indeterminats, especialment en pacients positius amb signes o símptomes de malaltia lligada a la infecció per l'HIV, ja que en els malalts de sida es produeix una desaparició de les bandes corresponents a p24, p31 i p55. Tanmateix, aquests criteris aplicats a població de baix risc no semblen ser causa de pèrdua de sensibilitat. Addicionalment, com ja s'ha comentat, el Western-Blot pot donar falsos negatius durant la primoinfecció per l'HIV, a conseqüència de la seva menor sensibilitat respecte a les proves de cribratge.

En les proves de Western-Blot indeterminades s'observen freqüentment reactivitats úniques enfront d'una banda de *core* víric (p24, p55, etc.) i en altres ocasions davant components cel·lulars contaminants de les tires de nitrocel·lulosa o epítops no vírics que apareixen en el procés de manufacturació del Western-Blot, permetent l'exposició de zones parcialment desnaturalitzades d'aquelles proteïnes. S'han descrit Western-Blot indeterminats en persones amb factor reumatoide, *lupus* eritematós, bilirubinèmies elevades, anticossos contra determinats antígens del sistema HLA i en pacients hemodialitzats. Altres causes de resultats indeterminats en el Western-Blot de l'HIV-1 són la infecció per l'HIV-2, l'inici de seroconversió durant la primoinfecció per l'HIV-1 i la sida avançada.

En els sèrums indeterminats, el seguiment ha de prolongar-se com a mínim durant 6 mesos per verificar si existeix un canvi en el patró d'anticossos cap a la positivitat o contràriament desapareixen les bandes detectades inicialment. Les persones amb resultats persistentment indeterminats després de 6 mesos, en absència de factors de risc i símptomes o troballes clíniques compatibles amb la infecció HIV, han de considerar-se negatives per a Ac-HIV.

Finalment, quan s'emeten els resultats de Western-Blot, aquests expressaran de forma inequívoca si el pacient és positiu o negatiu per a Ac-HIV. En els casos de sèrums amb resultats no interpretables o indetermi-



nats en aquestes proves, s'expressarà clarament que la presència d'Ac-HIV no ha estat confirmada, recomanant-se en aquests casos un seguiment serològic i remissió de noves mostres per a confirmació per Western-Blot o d'altres tècniques. En els casos de Western-Blot indeterminats hauran d'expressar-se les reactivitats observades amb objecte de poder interpretar correctament el seguiment.

En conclusió, la tècnica de Western-Blot és una prova de confirmació que en el moment actual és fàcilment adaptable a laboratoris d'equipament mitjà, que no tinguin un excessiu nombre de mostres a confirmar, i que requereix un cert entrenament per a la seva interpretació i lectura.

Per evitar els problemes del Western-Blot derivats de la seva complexitat, resultats indeterminats i cost econòmic, l'OMS ha recomanat estratègies alternatives basades en la utilització de dues proves de cribratge de diferent principi (per exemple, *sandwich* i indirecte o captura) i només s'utilitzaria el Western-Blot en els casos de resultats discrepants. Aquestes estratègies han demostrat tenir una especificitat almenys idèntica a la confirmació sistemàtica per Western-Blot dels sèrums repetidament reactius en les proves de cribratge. Tanmateix, aquestes, al contrari del Western-Blot, no permeten discriminar si la infecció és per l'HIV-2, fet important si tenim en compte que les tècniques d'avaluació de l'eficàcia de la teràpia antiretroviral (RNA-HIV-1/ml plasma, càrrega vírica) no són efectives en el cas de la infecció per l'HIV-2.

Recentment s'han desenvolupat proves accessòries de confirmació basades principalment en la immunoanàlisi de tipus lineal (LIA). Incorporen pèptids sintètics o recombinants de l'HIV-1 i de l'HIV-2 sobre un suport pla. Tenen una excel·lent sensibilitat i especificitat, fet que implica que s'hagi de tenir en compte el seu ús com a proves de confirmació. Tanmateix, també són causa de resultats indeterminats.

## **Proves de detecció de l'HIV**

A vegades, és necessària la utilització de proves suplementàries basades en l'aïllament de l'HIV o en la detecció dels seus propis constituents. Això sol passar en mostres de pacients amb signes i símptomes d'infecció

aguda per l'HIV i en totes aquelles mostres amb resultat d'anticossos indeterminat. A més, el diagnòstic de la infecció pediàtrica es basa principalment en aquest tipus de proves. Els components del virus que poden ser detectats inclouen l'antigen del core p24 i els àcids nucleics, DNA o RNA. La capacitat del virus per replicar-se es pot demostrar mitjançant el seu aïllament en cultiu cel·lular.

## *Antigen p24*

Actualment existeixen diverses tècniques comercials que utilitzen el principi d'EIA en triple *sandwich* per a la detecció d'Ag p24 en sèrum o plasma.

La sensibilitat dels reactius actuals permet la detecció de quantitats que oscil·len entre 10 i 50 pg/ml d'Ag p24. Es pot fer una semiquantificació d'aquest Ag utilitzant sèrums amb quantitats conegudes de p24. Les mostres poden emmagatzemar-se a 4 °C durant una setmana. Aquest Ag pot desnaturalitzar-se, per això es recomana per a cada emmagatzemament prolongat temperatures de -70 °C. Per aquest tipus d'assajos han de rebutjar-se mostres tèrboles, hemolitzades o repetidament congelades i descongelades. La sensibilitat d'aquesta tècnica és menor que la de la detecció d'Ac-HIV, oscil·lant des d'un 4% per a pacients seropositius asimptomàtics fins al 70% en els pacients amb sida.

En el curs de la infecció per l'HIV es produeix una antigenèmia primària p24 amb un aclariment posterior que es pot deure, entre d'altres factors, a la formació d'immunocomplexos per l'aparició d'anticossos circulants anti-p24. S'han descrit tècniques senzilles per dissociar aquests immunocomplexos i avaluar la quantitat lliure i combinada de p24.

Actualment, la detecció de l'Ag p24 es troba limitada al diagnòstic en període finestra en casos de presència de signes clínics sospitosos de primoinfecció o en casos d'exposició coneguda o sospitada. En aquestes situacions un resultat negatiu aporta poca informació i els resultats positius hauran de confirmar-se mitjançant una reacció de bloqueig de la mostra amb un sèrum anti-p24. Si el pacient és seronegatiu o amb Western-Blot indeterminat haurà d'indicar-se la necessitat de realitzar proves d'anticossos seriades per arribar al diagnòstic serològic definitiu.

## *Detecció dels àcids nucleics*

La base d'aquest diagnòstic resideix en la demostració de part del genoma víric a partir de limfòcits de sang perifèrica (DNA-HIV-1) o del plasma (RNA-HIV-1). Mentre que la infecció d'una cèl·lula per l'HIV-1 té un caràcter irreversible, i d'això n'és testimoni la presència del DNA proviral incorporat als seus cromosomes de manera permanent, la detecció d'RNA del HIV-1 reflecteix el grau de replicació vírica i s'ha utilitzat com a factor pronòstic i per monitorar l'eficàcia del tractament antiretroviral. Existeixen certes situacions, especialment durant la primoinfecció, en què aquestes tècniques, basades en la reacció en cadena de la polimerasa (PCR), aconseguen un diagnòstic més ràpid i precoç de la infecció per l'HIV que el diagnòstic clàssic serològic.

Existeixen reactius comercialitzats per a la detecció qualitativa de DNA-HIV-1 i quantitativa d'RNA-HIV-1. Encara que aquestes tècniques han demostrat tenir una major sensibilitat que el diagnòstic serològic en determinades situacions (per exemple, la primoinfecció), no s'ha d'oblidar que no estan homologades per al seu ús diagnòstic; que poden ser causa de falsos negatius (reduït nombre de cèl·lules portadores del virus o baixa replicació d'aquest); que no detecten ni l'HIV-2 ni el grup O de l'HIV-1; que malgrat les millores realitzades en l'última generació de reactius, no detecten adequadament tots els subtipus de l'HIV-1; i que s'han descrit fins a un 4% de falsos positius en població sense factors de risc.

Per tant, la seva aplicació i interpretació haurà de realitzar-se amb una escrupolosa consideració del context en cada cas individualitzat. Actualment, en el diagnòstic de la infecció per l'HIV-1, poden ser de gran ajuda quan la serologia no aporta un resultat definitiu, especialment quan el resultat de les proves de cribratge és dèbilment positiu, en els resultats indeterminats de les proves de confirmació, davant la sospita de primoinfecció i en els nounats de mares infectades per l'HIV-1.

## *Aïllament víric*

L'aïllament de l'HIV a partir de limfòcits de sang perifèrica segueix essent la tècnica de referència en el diagnòstic de la infecció per l'HIV. La difi-

cultat tècnica i les mesures de contenció biològica necessàries han restringit el seu ús a un nombre molt reduït de laboratoris de referència. Actualment és una tècnica de gran importància en la determinació de la resistència fenotípica als antiretrovirals en els aïllats de pacients infectats per l'HIV-1.

## **UTILITZACIÓ I SIGNIFICAT DE PROVES DE DIAGNÒSTIC DE LA INFECCIÓ PER L'HIV**

---

### **Algoritme diagnòstic de la infecció per l'HIV-1**

La demostració confirmada d'anticossos davant de l'HIV en una persona és significatiu d'infecció per aquest virus. Donades les característiques biològiques del dit virus, aquestes persones hauran de ser considerades a tots els efectes com a portadores del virus i per tant potencials transmissors de l'HIV pels mecanismes actualment reconeguts.

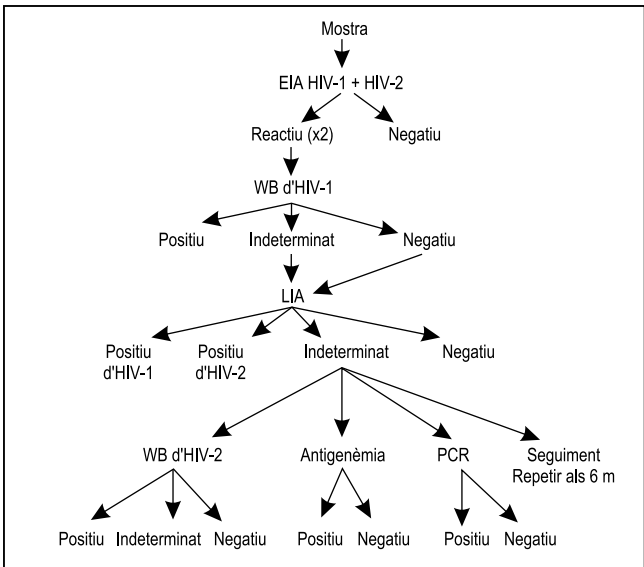
Una prova d'EIA reactiva per anticossos enfront de l'HIV-1 ha de ser repetida a la mateixa mostra abans de ser valorada com a tal. Totes les mostres amb EIA repetidament reactiu han de ser analitzades mitjançant una prova de confirmació, generalment el Western-Blot. Diversos estudis han demostrat que la sensibilitat i especificitat de les proves d'EIA comercials són superiors al 98%, si bé el nombre de falsos positius en grups amb baix risc d'infecció pot no ser negligible. Aquests falsos positius s'han donat especialment en individus amb malalties autoimmunes i en pacients amb història de múltiples gestacions o transfusions i relacionades amb la presència d'anticossos davant d'alguns antígens HLA de classe II. La utilització de proves d'EIA dissenyades amb proteïnes recombinants i pèptids sintètics han reduït considerablement les reaccions inespecífiques.

Encara que el Western-Blot és la metodologia més generalitzada per a la confirmació de la reactivitat inicial en una prova de cribratge, poden tenir-se en compte d'altres estratègies diagnòstiques. Totes han demostrat gran rendibilitat depenent del tipus de població estudiada. De mane-

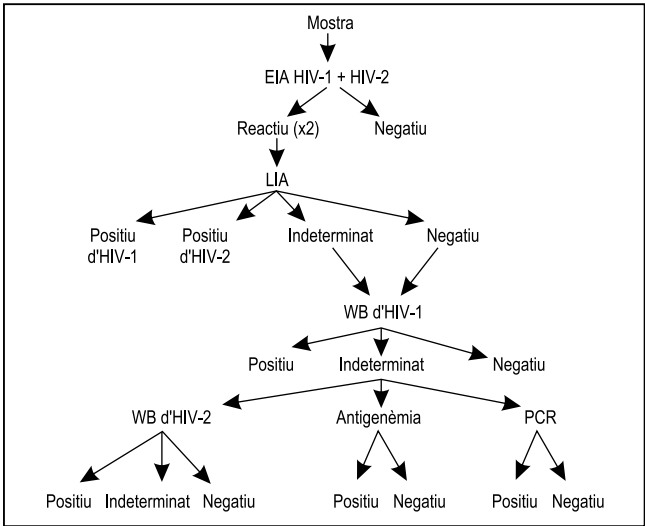
ra esquemàtica, quan s'analitzen donants de sang o poblacions de baix risc d'infecció, és recomanable l'algoritme diagnòstic de la Figura 1. En l'anàlisi de grups d'alt risc d'infecció (Figura 2), altres tècniques suplementàries com el LIA poden ser de major rendiment diagnòstic, ja que obvien molts dels resultats indeterminats del Western-Blot.

## Diagnòstic de laboratori de la infecció per l'HIV-2

El context epidemiològic ha d'orientar el diagnòstic d'infecció per l'HIV-2. A Espanya, des de fa alguns anys s'han documentat infeccions per l'HIV-2, principalment en immigrants africans i esporàdicament en persones europees que han viscut a Àfrica occidental o que han mantingut relacions sexuals amb nadius d'aquesta regió. En alguns dels sèrums d'aquests ca-



**Figura 1.** Algoritme diagnòstic de la infecció per l'HIV-1 en pacients sense factors de risc.



**Figura 2.** Algorisme diagnòstic de la infecció per l'HIV en pacients amb factors de risc.

sos s'ha observat que pot haver-hi una certa reactivitat en les proves de l'HIV-1, i una lectura superficial del Western-Blot podria confondre a persones poc habituades a aquesta prova de confirmació.

En l'àmbit de l'EIA, una bona combinació és la utilització d'un EIA indirecte (HIV-1+2) i un EIA competitiu (HIV-1). Una positivitats elevada en el primer i negatiu o dèbilment positiu en el segon és molt suggerent d'infecció per l'HIV-2.

La confirmació, mitjançant Western-Blot, d'una infecció per l'HIV-2 s'ha de realitzar amb sèrums reactius en les proves de cribratge i no confirmades o indeterminades en les proves de confirmació, seguint el criteri de l'OMS anteriorment mencionat (reactivitat davant almenys dues glucoproteïnes: gp140, gp105 o gp36).

En conclusió, la identificació d'infecció per l'HIV-2 s'aconsella només en els casos de reactivitat repetida en proves de cribratge i amb resultats

indeterminats en les proves de confirmació davant de l'HIV-1 en individus amb factors de risc d'infecció per l'HIV-2.

## Diagnòstic de la primoinfecció

La síntesi d'anticossos específics s'inicia a les poques setmanes de la infecció per l'HIV. El temps necessari per a la detecció d'anticossos en les proves serològiques dependrà de la dosi infecciosa, del mecanisme de transmissió i de la sensibilitat de la prova serològica utilitzada. En els estudis basats en proves de cribratge de primera generació s'han estimat una mitjana de 45 dies per a la seroconversió després de la primoinfecció, essent el període finestra inferior a les 20 setmanes en el 90% dels pacients. La utilització de les actuals proves de tercera generació ha aconseguit reduir en 20,3 dies (IC95%, 8-32,5) el període finestra. L'antigen p24 en sèrum i la detecció qualitativa de DNA en limfòcits de sang perifèrica ho han reduït en 26,4 dies (IC95%, 16,7-45,3).

L'estratègia diagnòstica davant la sospita de primoinfecció HIV inclourà necessàriament la detecció d'anticossos totals i antigen p24 lliure en sang amb les següents consideracions:

- 1) Un resultat negatiu davant dels marcadors citats d'infecció HIV pot ésser degut a:
  - L'absència d'infecció.
  - El pacient es troba en el període finestra.

En ambdues situacions es procedirà a la realització de determinacions seriades d'anticossos i d'antígens a les dues i 4 setmanes i als 3 i 6 mesos per confirmar l'absència o presència d'infecció HIV;
- 2) Un resultat d'anticossos negatiu amb presència d'antigen p24 lliure en sang és indicatiu d'infecció recent, probablement durant les 8 setmanes anteriors. Es procedirà a realitzar determinacions seriades d'anticossos i antigen seguint la pauta indicada en el punt anterior.
- 3) Un resultat d'anticossos positiu amb absència d'antigen lliure circulant és diagnòstic d'infecció per l'HIV completament establerta.

Ens els casos 1) i 2), la detecció qualitativa de DNA-HIV-1 en limfòcits de sang perifèrica o quantitativa d'RNA-HIV-1 en elevada concentració ( $4-6 \log_{10}$ ) en plasma és altament suggestiva d'infecció en el període finestra. Aquest resultat haurà de confirmar-se en una nova mostra per detectar un possible fals positiu.

## **Diagnòstic de l'exposició accidental**

La infecció per l'HIV en el personal sanitari, com a resultat, aparentment, d'un accident percutani amb material contaminat o d'un contacte mucos-membranós amb sang o secrecions contaminades, és un motiu de preocupació en l'àmbit sanitari. El protocol de seguiment serològic inclourà:

- 1) En el moment de l'accident: determinació d'Ac-HIV, que en cas de ser positius són indicadors d'infecció anterior no associada a l'exposició accidental.
- 2) A les 2 i 6 setmanes: determinació d'Ag p24, la positivització del qual és un marcador d'infecció. Un resultat negatiu no aporta cap informació.
- 3) Als 3 mesos: determinació d'Ac-HIV, que en cas de ser positius són indicadors d'infecció. Si el resultat anterior fos negatiu haurà de repetir-se la determinació d'Ac als 6 mesos.
- 4) Als 12 mesos: si la determinació d'Ac-HIV es manté negativa pot assegurar-se que no hi ha hagut transmissió de l'HIV a través de l'exposició accidental.

## **CRITERIS GENERALS PER A LA REALITZACIÓ DE LES PROVES DE DIAGNÒSTIC DE LA INFECCIÓ PER L'HIV**

La realització de proves HIV i les circumstàncies que l'envolten fan necessari establir uns criteris generals per a la seva utilització.



## **Críteris del centre sanitari**

- 1) Consentiment informat: cada centre sanitari haurà de disposar d'un "Document de Consentiment Informat" que hauran de signar el metge i el pacient.
- 2) Confidencialitat: els resultats hauran de transmetre's de manera que no es vulneri el principi de confidencialitat.
- 3) Consell i educació sanitària: és necessari abans i després de la indicació i realització d'una prova de diagnòstic de la infecció per l'HIV.
- 4) Indicacions legals: actualment la realització de proves HIV és obligatòria en la donació de productes biològics d'origen humà, així com també per indicació judicial en cas de violació.

## **Críteris del laboratori de microbiologia clínica**

- 1) Confidencialitat: els resultats hauran de transmetre's de manera que no es vulneri el principi de confidencialitat.
- 2) Normes de bona pràctica.