



ISSN: 1697-090X

Inicio Home

Índice del volumen
Volume indexComité Editorial
Editorial BoardComité Científico
Scientific
CommitteeNormas para los
autores Instruction
to AuthorsDerechos de autor
Copyright

Contacto/Contact:



PACIENTE INFECTADO POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA, CON WESTERN BLOT NEGATIVO. CASO CLÍNICO.

Sandra Delgado Cuesta, Elsa Briones Cuesta, Sara Casáis Muñoz,
Isabel Peña Pérez, José Luis Barba Cermeño, M^a Victoria Poncela García.

Servicio Análisis Clínicos, Hospital Universitario de Burgos
Burgos, España

[sdelgadoc @ saludcastillayleon.es](mailto:sdelgadoc@saludcastillayleon.es)

Rev Electron Biomed / Electron J Biomed 2015;2:42-47

RESUMEN

Introducción: El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), es el agente causal del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. Han sido identificados hasta la fecha dos tipos de virus VIH-1 y VIH -2, y varios subtipos. La técnica Elecsys HIV Combi PT del COBAS e 602 de Roche permite detectar simultáneamente anticuerpos anti-VIH y el antígeno p24. El kit bioblot HIV-1 plus es un ensayo inmunoenzimático cualitativo, que se diseñó como análisis complementario más específico para muestras que presentan reactividad repetida. La cuantificación de viremia por VIH se puede realizar mediante la determinación indirecta del ARN viral con el aparato COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1, versión 2.0.

Caso clínico: Varón de 70 años de edad, ingresa en medicina interna por afectación respiratoria. En las pruebas realizadas se objetiva neumonía por *Pneumocystis jiroveci* y gastritis por citomegalovirus. Al paciente se le realizó la prueba de VIH en dos ocasiones y tanto el COBAS e 602 como el kit bioblot dieron un resultado negativo. No fue hasta la determinación del ARN viral, cuando se encontró la verdadera infección por este virus.

Discusión y Conclusión: La marcada inmunodepresión del paciente dio lugar a un falso negativo, ya que las técnicas utilizadas para diagnosticar VIH se basan, fundamentalmente, en la búsqueda de anticuerpos.

PALABRAS CLAVE: VIH. Inmunoensayo. ARN viral. Falso negativo.

SUMMARY

Introduction: The Human Immunodeficiency Virus (HIV) is the causative agent of the Acquired Immunodeficiency Syndrome. Two types of virus, called HIV-1 and HIV-2, and several subtypes have been identified to date. The Elecsys HIV Combi PT Roche COBAS e 602 technique can simultaneously detect anti-HIV antibodies and p24 antigen. The bioblot HIV-1 plus kit is a qualitative enzyme immunoassay. It was designed as a more specific supplementary test for samples with repeatedly reactive results. Quantification of HIV viraemia can be conducted by the indirect determination of the RNA viral load by means of the COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 apparatus, versión 2.0.

Case report: 70 year-old man is admitted in Internal Medicine with respiratory impairment. Tests conducted show pneumonia by *Pneumocystis jiroveci* and gastritis by cytomegalovirus. The patient underwent HIV test twice and

both COBAS e 602 and the bioblot kit were negative. It was not until the determination of the RNA viral load that the genuine HIV infection was found.

Discussion and conclusion: The severe immunosuppression of the patient resulted in a false negative due to the fact that the techniques used to diagnose HIV are based on the search for antibodies.

Key words: HIV. Immunoassay. RNA viral. False negative.

INTRODUCCIÓN

La familia de los retrovirus es un grupo grande de virus. Uno de los miembros de esta familia, que infecta al ser humano son los virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). El virus de la inmunodeficiencia humana, es el agente causal del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), enfermedad viral caracterizada por la ausencia de respuesta inmunológica. La transmisión vírica tiene lugar por contacto sexual, exposición a sangre, hemoderivados y exposición perinatal. El sitio de latencia del virus son los linfocitos TCD4 causantes de la disfunción inmune¹.

Dos tipos de virus han sido identificados hasta la fecha VIH -1 y VIH -2. Además, varios subtipos han sido descritos, cada uno de ellos con una distribución geográfica diferente. El VIH-1 grupo M subtipo B es el más frecuente en América del Norte y Europa Occidental, el subtipo A es más común en Europa del Este y Asia Central, y el subtipo C en la India. VIH-2 es menos infeccioso y generalmente se limita a áreas del oeste africano.

VIH-1 puede ser dividido en 3 grupos: Grupo M ("main" master), grupo O ("outlier" atípico) y el grupo N (no M, no O). En el grupo M se han identificado al menos 9 subtipos diferentes (A, B, C, D, F, G, H, J, K) basándose en su relación genética. Además existen algunas variantes, resultantes de la combinación de dos o más subtipos diferentes y un nuevo grupo, el grupo P, ha sido recientemente identificado².

Normalmente de 6 a 12 semanas tras contraer la infección se pueden encontrar en el suero los anticuerpos frente a proteínas del VIH, anticuerpos que indican la presencia de una infección por este virus³.

En las proteínas de envoltura del VIH -1 grupo M, el VIH -1 grupo O y VIH-2 la secuencia de epítotos inmodominantes difiere, por lo tanto es necesario que las técnicas de inmunoensayo sean dirigidas contra la detección de antígenos específicos para evitar errores en los resultados.

La técnica Elecsys HIV Combi PT del COBAS e 602 de Roche (4ª generación) es una prueba de screening que permite detectar simultáneamente el antígeno p24 del VIH 1, anticuerpos anti VIH-1 y anti VIH-2, detecta todas las subclases de anticuerpos y no solo la IgG. Debido a la detección del antígeno p24, es posible determinar el VIH alrededor de 6 días antes que con los ensayos de anticuerpos tradicionales. Así se consigue una mayor sensibilidad para reconocer la primoinfección y una ventana diagnóstica más corta⁴⁻⁶.

Esta prueba utiliza antígenos recombinados derivados de las regiones env y pol, del VIH-1 (incluyendo el grupo O) y del VIH 2. Por otro lado para detectar el antígeno p24 se emplean anticuerpos monoclonales específicos. Este método ha sido estandarizado frente al VIH-1 (antígeno p24 del VIH 1) primer reactivo de referencia internacional de 1992, código 90/636 del Instituto Nacional de Estándares Biológicos y Control (NIBSC)⁷.

Con el reactivo HIV Combi PT de Roche las muestras con un índice de corte (IC) < 0.90 son no reactivas, se consideran VIH negativo y no requieren más análisis. Las muestras con un IC dentro del intervalo ≥ 0.90 a < 1.0 se consideran limítrofes. Las muestras con un índice de corte ≥ 1.0 se consideran reactivas, es decir, VIH positivo. Las muestras limítrofes hay que redeterminarlas y si son repetidamente reactivas deben confirmarse según los algoritmos confirmatorios recomendados⁷.

Otro método diagnóstico de VIH es el kit bioblot HIV-1 plus (western blot), un ensayo inmunoenzimático cualitativo para la detección de anticuerpos frente VIH-1 y VIH-2. Se diseñó como análisis complementario para la confirmación de los resultados obtenidos con las pruebas de screening, es más específico y se utiliza en el caso de muestras que presentan reactividad repetida por otros métodos más sensibles pero menos específicos, como el HIV Combi PT del COBAS e 602 de Roche. Consiste en antígenos víricos específicos de VIH-1 y un péptido sintético específico de VIH-2, que se adhieren a las tiras mediante procedimientos de electroforesis y electrotransferencia, lo

que le confiere mayor exactitud. Aun así, un blot negativo no constituye una garantía de la ausencia del agente causal del SIDA⁸.

Por otra parte, y dejando a un lado las técnicas inmunoenzimáticas como pruebas diagnósticas de VIH, ha surgido la cuantificación de viremia por VIH, que se puede realizar mediante la determinación indirecta del ARN viral por medio de técnicas de amplificación de ácidos nucleicos o por amplificación de señales como la reacción en cadena de la polimerasa⁹. La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1, versión 2.0 es una prueba de diagnóstico in vitro mediante amplificación de ácidos nucleicos totales para la detección cualitativa de ADN y ARN del VIH-1 en muestras de plasma humano. Este aparato utiliza técnicas de PCR para conseguir la máxima sensibilidad en la detección cuantitativa de ARN del VIH-1 en plasma¹⁰.

CASO CLÍNICO

Acude a nuestro centro un varón de 70 años de edad con antecedentes personales de hipertensión, no fumador y bebedor moderado. El paciente ingresa en medicina interna por síndrome general y afectación respiratoria. Desde hace 4 meses tiene disnea de esfuerzo, opresión torácica, astenia e hiporexia. Ha perdido 10 Kg en 5 meses. No ha tenido fiebre. Muy discreta tos con expectoración blanquecina. La radiografía de tórax y abdomen eran normales, en la analítica sólo destacaba alteraciones menores en la serie blanca (neutrófilos absolutos 7,3 mil/microlitro, 79,9%, linfocitos absolutos 1,2 mil/microlitro, 13%), y serología positiva de Hepatitis B con Anti-HBc: Positivo, HBs-Ag: Negativo, Anti HBs 7934 UI/l. Los marcadores tumorales fueron negativos.

Progresivamente la disnea fue aumentado hasta ser II/IV siempre con opresión torácica y se ha acentuó la pérdida de peso. Se le pidió una batería de pruebas y se objetivó neumonía por *Pneumocystis jiroveci* con afectación intersticial bilateral, insuficiencia respiratoria aguda secundaria y gastritis por citomegalovirus (múltiples úlceras agudas). Se trataba de un paciente con una inmunodepresión severa por lo que se inició un estudio por parte de Hematología y además se pidió una nueva analítica para la determinación de VIH. En el laboratorio se realizó la serología anti-VIH en 2 ocasiones con la técnica Elecsys HIV Combi PT que resultaron negativas. Los valores obtenidos por esta técnica fueron 0,8 en la primera determinación y 0,3 en la segunda, por lo tanto no sería necesario continuar el algoritmo diagnóstico de VIH ni realizar análisis complementarios. En el estudio hematológico se observaron:

- Linfocitos totales: 4.9% (19-48%)
- Poblaciones linfocitarias:
 - Linfocitos CD3: 472.3 cells/microlitro (1292-2004)
 - Linfocitos CD4: 3.5 cells/microlitro (656-1245)
 - Linfocitos CD8: 444 cells/microlitro (360-881)
 - Cociente CD4/CD8: 0%

Es por ello, que en caso de no conocer ningún dato clínico, probablemente hubiéramos realizado solo el cribado habitual sin ir más allá, informándolo como resultado negativo. Sin embargo, al poseer un resultado tan ajustado (0,8) y a la vista de la información clínica, se decidió ampliar el estudio y realizar una nueva determinación usando el kit de bioblot, encontrando igualmente un resultado de western blot negativo.

Ante la discordancia entre las pruebas serológicas y el resto de pruebas de laboratorio y la situación clínica del paciente, con (infección por *Pneumocystis* y citomegalovirus, ambas enfermedades definitorias de SIDA según el grupo de estudio del SIDA-SEIM (GeSIDA)¹¹ se decidió realizar la determinación de carga viral de VIH mediante PCR con el equipo COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1, version 2.0, que objetivo que el paciente poseía 353000 copias/ml (valor de Referencia: < 20 copias/ml), con lo que se diagnosticó definitivamente la infección por VIH estadio C3⁶ (Tabla 1).

Tabla 1: Categorías clínicas para la codificación del VIH en mayores de 13 años

Categorías clínicas			
Categorías Inmunológicas	A Infección aguda asintomática o LPG	B infección sintomática no A no C	C Procesos incluidos en la definición de SIDA
1	A1	B1	C1
2	A2	B2	C2
3	A3	B3	C3

Categoría 1. Linfocitos CD4 mayor o igual a 500/mm³ en número absoluto o bien CD4 mayor o igual al 29%

Categoría 2. Linfocitos CD4 entre 200 y 499/mm³ o bien entre 14-28%

Categoría 3. Linfocitos CD4 menor de 200/mm³ o bien CD4 menor del 14%

Por ello se inició el tratamiento antirretroviral y dada la buena evolución se decide alta y control ambulatorio.

DISCUSIÓN

Disminuir el diagnóstico tardío de la infección por VIH es uno de los principales retos de la respuesta a la epidemia por este virus, el diagnóstico precoz de la infección reduce la morbilidad y la mortalidad de los pacientes⁶. De ahí la gran importancia que tiene poseer técnicas de alta sensibilidad y especificidad.

Como se puede observar en nuestro caso en un principio las determinaciones iniciales de VIH por inmunoensayo dieron como resultado un falso negativo. Con las técnicas de cuarta generación, más sensibles que las que utilizan anticuerpos convencionales, se reduce la posibilidad de estos falsos negativos. Aun así, este hecho puede darse en ciertas situaciones como son el periodo ventana previo a la seroconversión, y en menor medida, en estadios finales de la infección, trasplantados de médula ósea etc.

Por otra parte hay que tener en cuenta que los falsos negativos se dan en menor proporción que los falsos positivos, ya que los resultados negativos no son confirmados a no ser que exista una indicación clínica precisa que nos oriente.

Dentro de las causas de falsos negativos se encuentran también:

- Error técnico, fallos en el proceso de fabricación del equipo diagnóstico.
- Infección por tipos de VIH no detectables o no descritos.
- SIDA terminal con profunda inmunodepresión.
- Respuestas anómalas ante la infección VIH
- Tratamiento inmunosupresor prolongado y/o agresivo
- Disfunciones de linfocitos B
- Plasmaféresis, exanguinotrasfusión
- Neoplasias
- Errores de extracción o identificación
- Sujetos que inician tratamiento antirretroviral en el periodo agudo de la infección y/o mantienen carga viral indetectable largo tiempo.

Actualmente el desarrollo de las técnicas diagnósticas ha disminuido la posibilidad de falsos negativos, ya que los nuevos métodos permiten salvar ciertos problemas como son las respuestas de anticuerpos subóptimas generadas por las infecciones que tienen lugar debido a ciertos subtipos o grupos marginales del VIH^{6,12}, y por otra parte estas técnicas evolucionadas permiten a su vez detectar ciertos antígenos como el p24. Pero la detección de la antigenemia depende de varios factores como son⁶:

- El estadio de la enfermedad: solo el 10-20% de los infectados asintomáticos presentan antigenemia detectable, en cambio más del 70% de los pacientes con SIDA la revelan.
- Los pacientes de raza negra presentan con menor frecuencia antigenemia
- La administración de antivirales disminuye la antigenemia como consecuencia de una menor replicación viral.
- Las infecciones por patógenos oportunistas estimulan de un modo indirecto la producción de antígenos.

En el caso del estadio final de la infección por VIH o SIDA pueden desaparecer los anticuerpos contra proteínas estructurales del virus como son la: p24, p17, p55, etc. En algunos pacientes se ha observado la ausencia de criterios diagnósticos de positividad mediante western blot en esos meses finales de la enfermedad, como consecuencia del intenso deterioro inmunitario ¹³⁻¹⁴.

CONCLUSIÓN

Concluimos por nuestra parte, que probablemente la marcada inmunodepresión del paciente por encontrarse en un estadio muy avanzado de la enfermedad enmascarase ambas técnicas analíticas usadas (Elecys HIV Combi PT del COBAS e 602 de Roche y el kit bioblot HIV-1 plus), ya que se fundamentan en la búsqueda de anticuerpos, que en el paciente han desaparecido.

En segundo lugar, es posible que nuestro paciente pertenezca a ese porcentaje minoritario de enfermos en los que la antigenemia no se detecta, a pesar de que las técnicas de inmunoensayo de cuarta generación estén preparadas para ello.

Siendo por estas dos razones que nos encontramos ante un falso negativo. Resolviendo este problema con la detección directa del RNA viral en plasma.

REFERENCIAS

- 1.- Bailey and Scott. Diagnóstico Microbiológico, 11º edición, Buenos Aires (Argentina). Editorial Médica Panamericana, 2004, capítulo 54, Métodos de Laboratorio en Virología Básica, p. 832-899.
- 2.- Laperche S, Leballais L, Ly TD, Plantier JC. Failures in the detection of HIV p24 antigen with the Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo rapid test. *J Infect Dis.* 2012; 206(12):1946-1947.
- 3.- Meier T, Knoll E, Henkes M, Enders G, Braun R. Evidence for a diagnostic window in fourth generation assays for HIV. *J Clin Virol.* 2001; (1-2):113-6.
- 4.- Rosenberg NE, Kamanga G, Phiri S, Nsona D, Pettifor A, Rutstein SE, Kamwendo D, Hoffman IF, Keating M, Brown LB, Ndalama B, Fiscus SA, Congdon S, Cohen MS, and Miller WC. Detection of Acute HIV Infection: A Field Evaluation of the Determine® HIV- 1/2 Ag/Ab Combo Test. *J Infect Dis.* 2012; 205(4): 528–534.
- 5.- Lewis JM, Macpherson P, Adams ER, Ochodo E, Sands A, Taegtmeier M. Field accuracy of fourth-generation rapid diagnostic tests for acute HIV-1: a systematic review. *AIDS.* 2015; 29(18):2465-71.
- 6.- Gatell JM, Cloet B, Podzamczar D, Miró JM, Mallolas J. Guía práctica del SIDA. Clínica diagnóstico y tratamiento. 12º edición, Zamora (España). Editorial Escofet Zamora S.L, 2013, capítulo 3, Diagnóstico de laboratorio de la infección por VIH-1, p55-72.
- 7.- HIV combo PT. HIV-1 antigen and total antibodies to HIV-1 and HIV-2.
http://www.rochecanada.com/content/dam/roche_canada/en_CA/documents/package_inserts/HIVCombiPT-05390095190-CAN-V7-EN.pdf
- 8.- Bioblot HIV-1 Plus. Available in: <http://www.biokit.com>.
- 9.- Cogswell HA, Ohadi E, Avila C. Viral-load point-of-care technologies to achieve an AIDSfree generation. *Future Microbiol.* 2015;
- 10.- Conway DP, Holt M, McNulty A, Couldwell DL, Smith DE, Davies SC, Cunningham P, Keen P, Guy R. Multi-centre evaluation of the Determine HIV Combo assay when used for point of care testing in a high risk clinic-based population. *PLoS One.* 2014; 9(4):e94062.
- 11.- Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, Plan Nacional sobre Sida, Guía de recomendaciones para el diagnóstico precoz de VIH en el ámbito sanitario, 2014.

12.- Vetter BN, Orłowski V, Niederhauser C, Walter L, Schüpbach J. Impact of naturally occurring amino acid variations on the detection of HIV-1 p24 in diagnostic antigen tests. *BMC Infect Dis.* 2015; 15:468

13.- Ellenberger DL, Sullivan PS, Dorn J, Schable C, Spira TJ, Folks TM, Lal RB. Viral and immunologic examination of human immunodeficiency virus type 1-infected, persistently seronegative persons. *J Infect Dis.* 1999;180(4):1033-42.

14.- Zhang Y, Wang J, Wilson GJ, Tang YW, and Lu HZ. Negative Results of a Rapid Antibody Test for HIV in a 16-Month-Old Infant with AIDS. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, vol. 38, no. 3, 2008.

CORRESPONDENCIA:

Sandra Delgado Cuesta
Servicio Análisis Clínicos
Hospital Universitario de Burgos
09006 Burgos
[sdelgadoc @ saludcastillayleon.es](mailto:sdelgadoc@saludcastillayleon.es)