



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA DE HIV-2 EN MUESTRAS
DE PACIENTES CON
WESTERN BLOT INDETERMINADO PARA HIV-1

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
LESLIE HERNANDEZ MORALES

ASESORES: QFB ROBERTO VÁZQUEZ CAMPUZANO
QFB LADISLAO PALOMAR MORALES



Universidad Nacional
Autónoma de México

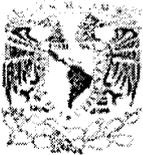


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U.N.A.M.
 FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
 EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
 DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

 Evaluación de la presencia de HIV-2 en muestras de pacientes con
 Western-Blot Indeterminado para HIV-1.

 que presenta la pasante: Leslie Hernández Morales
 con número de cuenta: 9754482-7 para obtener el título de _____
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 07 de Junio de 2005

PRESIDENTE	<u>Dr. Marco Antonio Vega López</u>	<u>[Firma]</u> <u>05</u>
VOCAL	<u>MG. Francisco López Mejía</u>	<u>[Firma]</u>
SECRETARIO	<u>QFB. Roberto Vázquez Campuzano</u>	<u>[Firma]</u>
PRIMER SUPLENTE	<u>MVZ. Angel Germán Martínez Sosa</u>	<u>[Firma]</u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Dra. Norma Laura Delgado Buenrostro</u>	<u>[Firma]</u>

AGRADECIMIENTOS

El mayor agradecimiento es para el amor, paciencia, esfuerzo y confianza que mis padres depositaron en mí, ya que en este largo camino es fácil perderse sin una luz que nos guíe.

A Dios le agradezco la oportunidad de ver mi sueño realizado.

A mi hermano e Isobel por su apoyo y consejos.

A Ashley y Kluiwert por convertirse en mi mayor motivación.

A esa persona que incondicionalmente siempre estuvo ahí para mí.

A todos mis amigos y Profesores especialmente a los de Inmunología.

Indice General

1. Resumen.....	9
2. Introducción.....	10
3. Generalidades.....	12
3.1. Epidemiología.....	12
3.1.1. Epidemiología del HIV-2.....	17
3.1.2. Aspectos importantes en la epidemiología del HIV.....	18
3.2. Etiología.....	19
3.3. Patogenia.....	24
3.3.1. Respuesta inmune a la infección por HIV.....	32
3.4. Manifestaciones clínicas.....	34
3.5. Tratamiento.....	36
3.6. Pruebas de confirmación de la infección por el HIV.....	39
3.6.1. Western- Blot.....	39
3.6.2. Criterios para la prueba del Western-Blot.....	41
3.6.3. Ventajas y desventaja de las pruebas de confirmación.....	42

3.6.4. Algoritmos de las pruebas para HIV.....	43
4. Justificación del trabajo.....	46
5. Objetivo.....	47
6. Objetivos particulares.....	48
7. Metodología.....	49
7.1. Material.....	49
7.2. Material biológico.....	49
7.3. Reactivos.....	49
7.4. Material de laboratorio.....	50
7.5. Equipo.....	50
7.6. Método.....	51
7.7. Procedimiento.....	52
7.7.1. Reconstitución.....	52
7.7.2. Realización de la técnica.....	52
8. Resultados.....	55
9. Discusión.....	60
10. Conclusiones.....	66

11. Anexos.....	67
11.1. Tabla 6. Clasificación de la infección por el HIV según el CDC.....	67
11.2. Precauciones universales.....	68
11.3. Manejo del material de desecho.....	71
11.4. Tabla 7. Características que influyen en la transmisión del HIV.....	73
11.5. Tabla 8. Agentes infecciosos más comunes en enfermos con SIDA.....	74
11.6. Tabla 9. Análogos nucleósidos inhibidores de la transcriptasa inversa.....	75
11.7. Tabla 10. Inhibidores no nucleósidos de transcriptasa inversa.....	76
11.8. Tabla 11. Inhibidores de proteasa.....	77
12. Glosario.....	78
11. Bibliografía.....	82

Abreviaturas.

- ADN..... Ácido desoxirribonucleico
- ARN..... Ácido ribonucleico
- AZT..... Zidovudina
- CD4..... Linfocitos CD4
- CDC..... Centro de control de enfermedades
- CV..... Cultivo Viral
- ELISA..... Análisis Inmunoabsorbente unido a Enzimas.
- gp..... Glicoproteína
- HIV Virus de inmunodeficiencia humana
- HIV-1..... Virus de inmunodeficiencia humana tipo 1
- HIV-2..... Virus de inmunodeficiencia humana tipo 2
- INDRE..... Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos
- IP..... Inhibidor de Proteasa
- ITRAN..... Inhibidores de la transcriptasa reversa análogos a
nucleósidos
- MAC..... **Micobacterium avium intracelular**
- ml..... mililitro

µl.....microlitro

mg.....miligramo

OMS..... Organización Mundial de la Salud

p.....Proteína

PCR.....Reacción en Cadena de la Polimerasa

SIDA..... Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

SNC.....Sistema Nervioso Central

TARAA.....Terapia Antirretroviral Altamente Activa

TI..... Transcriptasa inversa

WB..... Western Blot

Índice de figuras y tablas

FIGURA	TITULO	PAGINA
1	Distribución mundial del HIV	12
2	Estructura del HIV	20
3	Genoma del HIV	21
4	Ciclo de replicación del HIV	27
5	Esquematación del algoritmo de las pruebas para HIV en el INDRE	45
6	Western Blot para HIV-2,	56
7	Número de muestras que presentaron reactividad para alguna de las proteínas y/ o glicoproteínas del HIV-2 en el WB.	58
8	Reactividad de diferentes proteínas que relacionan la presencia de dos o más genes del HIV-2 como resultado de la prueba de WB	59

TABLA	TITULO	PAGINA
1	Casos de SIDA registrados por año de notificación y por año de diagnóstico.	15
2	Casos acumulados de SIDA, por entidad federativa	16
3	Función de las proteínas estructurales y reguladoras del HIV	22
4	Equivalencias de proteínas y glicoproteínas de los genes GAG, POL y ENV entre los virus HIV-2 y HIV-2	23
5	Resultados	57
6	Clasificación de la infección por el HIV según el CDC	67
7	Características de la transmisión del HIV	73
8	Agentes infecciosos secundarios más comunes en enfermos con SIDA	74
9	Análogos nucleósidos Inhibidores de la transcriptasa inversa	75
10	Inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa	76
11	Inhibidores de proteasa	77

1. RESUMEN

El Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), es una enfermedad mortal, producida por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), el cual es capaz de instalarse en algunas células humanas (por ejemplo: linfocitos T CD4, macrófagos, células dendríticas,) y permanecer allí durante años antes de manifestarse.

El SIDA se ha convertido en un problema de salud en el mundo entero ya que puede afectar a todas las comunidades, este virus cruza todas las fronteras, tanto geográficas como sociales, sin importar edad, raza, condición social o sexo.

Existen dos tipos de HIV, el HIV-1 y el HIV-2. El HIV-2 es un retrovirus semejante al HIV-1, con mecanismos de transmisión similares y clínica superponible, que infecta células con el receptor CD4 en superficie, y que difiere del genoma del HIV-1 en un 60%.

En este trabajo se realizó la búsqueda de la posible presencia de anticuerpos contra el virus del HIV-2 en muestras de pacientes que presentaron un resultado para HIV-1 indeterminado, **por el método de Western Blot**. El estudio se realizó en el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE), en el departamento de HIV y otras Infecciones de transmisión sexual utilizando muestras recibidas de todos los estados de la República Mexicana.

Con base en los estudios realizados, la presencia de WB indeterminados para HIV-1 no es un factor que se haya podido asociar a la presencia de HIV-2, es decir, no se detectó la presencia de HIV-2 en estas muestras, sin embargo es importante que se realicen monitoreos en la población mexicana para la búsqueda intencionada de este virus ya que su presencia es posible.

2. INTRODUCCIÓN.

El SIDA constituye, sin duda, la primera pandemia de la segunda mitad del siglo XX. Detectado por primera vez en 1981, sus orígenes hay que buscarlos en África Central, donde probablemente se produjo la primera infección de un ser humano, quizá en la década de los 50's.

Se cree que de esa zona se propagó al Caribe y posteriormente a Estados Unidos y a Europa, hasta que actualmente se encuentra en todos los países del orbe (Mariscal y Gateil, 1999).

A los tres años de haberse descrito la enfermedad ya se había identificado el agente causal, el tercer retrovirus humano descrito y actualmente conocido como HIV.

Tanto el HIV tipo 1, que es el agente causal de la gran mayoría de los casos de SIDA, como el HIV tipo 2 que es un subtipo diferente que se encuentra predominantemente en África, tienen algunas características que les confieren ventajas sobre otros patógenos en cuanto a capacidad para producir infección y daño en su hospedero. Entre estas podemos mencionar:

- La propiedad de persistir como infección crónica en el humano. Estos virus introducen su material genético en las células a las que infectan y lo integran al ADN del genoma, permaneciendo ahí hasta la muerte de la célula.

- Los HIV tienen el efecto de minar las funciones de defensa del organismo, ya que infectan directamente a las células encargadas de producir una respuesta inmune (linfocitos y macrófagos). Ya introducidos en las células del sistema inmune los HIV hacen uso de por lo menos dos mecanismos para destruir a estas células: el efecto citopático directo, que significa, que el virus al reproducirse en la célula infectada la destruye; y un sistema indirecto, en el cual la respuesta del sistema inmune del organismo infectado se dirige hacia células que están expresando algún componente viral y por lo tanto sean destruidas (Levy, 1999).
- Finalmente, en un huésped infectado existen millones de subtipos genéticos de HIV (cuasiespecies); esta gran plasticidad genética le permite su permanencia y diseminación en el organismo infectado.
- Ante la infección primaria por HIV (primera vez que un individuo se expone al virus), se producen anticuerpos, que en la mayoría de los casos aparecen en un lapso de tres meses. Se cree que estos anticuerpos están dirigidos contra la(s) cepa(s) viral(es) prevalente(s) en esta primera infección. Enseguida, se presenta una reducción considerable de la carga viral que aunque no se ha podido comprobar que sea debido a estos anticuerpos, sí se sabe que es concurrente a su presencia. Sin embargo, el aparente control que parece darse en el inicio de la infección, se pierde, ya que la infección progresa hasta que finalmente se presenta la enfermedad (Levy, 1999; Soriano y col, 1999).

3. GENERALIDADES

3.1. Epidemiología.

A 24 años de la aparición del SIDA, de acuerdo con datos oficiales de la Organización de Naciones Unidas (ONU) existen entre 34 y 46 millones de personas aquejadas por esta pandemia. Así también existen cifras que revelan que cada minuto diez personas se infectan de HIV y se estima un total de 3.1 millones de defunciones anuales por causa del SIDA. Tan solo en el año 2003 hubo 5 millones de nuevas infecciones.

El HIV/SIDA, se considera un problema universal, millones de seres humanos sufren este mal con consecuencias, económicas, sociales, políticas y culturales que ponen en riesgo el desarrollo de las naciones, ejemplo de ello es que para finales del año 2000, el 90% de las personas que vivían con HIV/SIDA eran de países en desarrollo (ver figura1) y el 75% se encontraban en África Subsahariana (ONUSIDA/OMS, 2004).

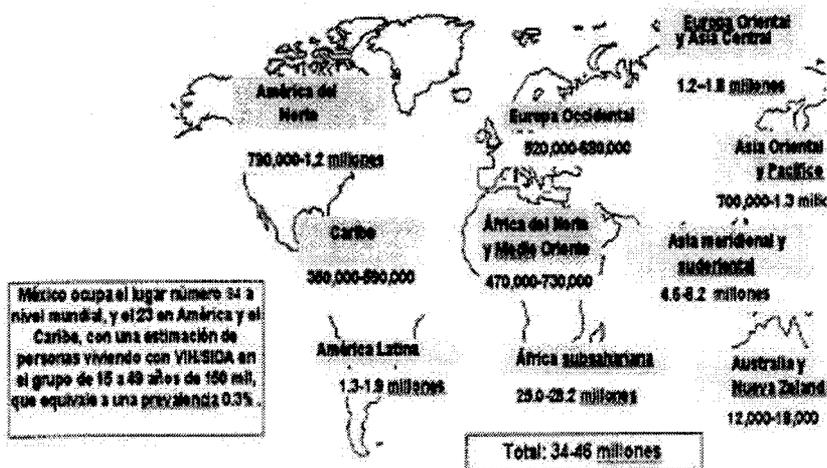


Figura 1. Distribución mundial de HIV

Fuente: ONUSIDA, resumen mundial de la epidemia de HIV/SIDA. Diciembre 2004

Más de 1,7 millones (1,3-2,2 millones) de personas están viviendo con el HIV en América Latina. En el 2004 aproximadamente 95 000 (73 000-120 000) personas fallecieron a causa del SIDA y otras 240 000 contrajeron la infección. Entre los jóvenes de 15-24 años, se estima que el 0,5% (0,4-0,9) de las mujeres y el 0,8% (0,6-1,3) de los hombres vivían con el HIV a finales del 2004.

Actualmente, México ocupa el 23° lugar en el continente Americano y el Caribe (de un total de 36 países) y el lugar 94° a nivel mundial (de un total de 198 países), en tasa de infección por HIV/SIDA. El total de casos notificados de SIDA hasta el 2 de noviembre de 2004 es de 76,311 de los cuales 35 mil han muerto y se estima que existen 180 mil personas que desconocen que viven con HIV en el país (ver tabla 1).

La relación hombre/mujer es de 6 a 1, sin embargo en los casos por transmisión sexual, esta relación aumenta a 8 hombres por una mujer. Actualmente los grupos más afectados siguen siendo el homosexual y el bisexual (ONUSIDA/OMS, 2004; Enríquez y Col., 2004; OMS/UNISIDA, 2004).

De acuerdo con los datos del Centro Nacional de Control y Prevención del SIDA (CENSIDA), en México, el SIDA es una epidemia concentrada, la principal vía de transmisión es la sexual y en mayo del 2004, el porcentaje más alto de transmisión sexual se presentó en hombres homosexuales y bisexuales (51.2%) y después en heterosexuales (39%).

El HIV/SIDA es considerado como el problema más complejo de salud pública en la población joven pues es la cuarta causa de muerte en hombres de entre 25 y 34 años y la sexta entre mujeres de la misma edad (OMS/ONUSIDA, 2004).

En México, la prevalencia nacional en la población adulta se ha mantenido muy por debajo del 1%, pero con notables variaciones regionales. En los estados de Baja California, Distrito Federal, Quintana Roo y Yucatán, la prevalencia permanece estable alrededor del 0,5%, mientras que en Hidalgo, San Luis Potosí y Zacatecas es mucho menor, con un promedio del 0,1%. En los últimos años se han observado tasas mucho mayores de HIV entre consumidores de drogas intravenosas (hasta el 6%) y varones que tiene relaciones sexuales con varones (hasta el 15%). Según los registros de SIDA en éste país, la transmisión heterosexual ha aumentado en los últimos años (Vidal ,1997).

Es difícil determinar hasta qué punto los comportamientos de alto riesgo, como el consumo de drogas intravenosas y las relaciones sexuales entre varones, están contribuyendo a la propagación del HIV en el país (Centers for Disease Control, 2000; Enríquez y Col., 2004).

Sin embargo, hay un patrón común y preocupante que enmascara la notable propagación de las epidemias en América Latina. En diversos países, las prioridades del gasto en prevención no se corresponden con las características epidemiológicas más destacadas de sus epidemias. La mayoría de los países dirige el grueso del gasto en prevención a los programas para profesionales del sexo. Pero el gasto en prevención no refleja todavía el hecho de que las relaciones sexuales entre varones constituyen una fuerza impulsora de la epidemia de toda la región, salvo la excepción significativa del Perú. La discrepancia es más acusada aún en América Central. Mientras tanto, entre los países en los que el consumo de drogas intravenosas es una característica destacada de sus epidemias, sólo Argentina y Brasil parecen haber priorizado en consonancia sus esfuerzos de prevención.

Puede hacerse un uso mucho mejor de los datos epidemiológicos y de otros datos pertinentes con el fin de preparar programas de prevención del HIV adaptados (ONUSIDA/OMS, 2004).

Tabla 1
Casos de SIDA registrados por año de notificación
y por año de diagnóstico

4to. Trimestre del 2002

Año	Notificados en el año*	Diagnósticos en el año
1983	6	62
1984	6	200
1985	29	367
1986	246	720
1987	518	1599
1988	905	2224
1989	1605	2875
1990	2587	3719
1991	3155	3904
1992	3210	4318
1993	5058	4306
1994	4111	4577
1995	4310	4934
1996	4216	5311
1997	3670	5827
1998	4758	5965
1999	4372	6998
2000	4855	5650
2001	4297	3015
2002	16231	1574
1983-2002	68145	68145

*Estos casos fueron publicados en su mayoría en los boletines de CONASIDA en los años respectivos.

FUENTE: DGE. Notificación inmediata de casos de SIDA.

Tabla 2. Casos acumulados de SIDA, por Entidad Federativa

Al 15 de noviembre del 2004

Lugar	Entidad Federativa	Población 2004	Casos acumulados de SIDA	Tasa acumulada
1	Distrito Federal	8,814,123	18,742	212.6
2	México	14,447,120	9,617	66.6
3	Jalisco	6,758,852	8,298	122.8
4	Veracruz	7,274,772	7,659	105.3
5	Puebla	5,480,844	4,480	81.7
6	Baja California	2,867,630	4,007	139.7
7	Guerrero	3,249,559	3,210	98.8
8	Chiapas	4,357,301	2,629	60.3
9	Oaxaca	3,693,497	2,616	70.8
10	Michoacán	4,213,737	2,539	60.3
11	Nuevo León	4,178,145	2,384	57.1
12	Yucatán	1,784,267	2,191	122.8
13	Chihuahua	3,373,391	2,111	62.6
14	Morelos	1,698,232	2,072	122
15	Guanajuato	5,027,179	2,004	39.9
16	Tamaulipas	3,106,529	1,913	61.6
17	Sinaloa	2,747,467	1,293	47.1
18	Coahuila	2,511,114	1,213	48.3
19	Sonora	2,448,839	1,198	48.9
20	Tabasco	2,045,537	1,151	56.3
21	Nayarit	991,142	1,021	103
22	San Luis Potosí	2,398,690	969	40.4
23	Quintana Roo	1,053,084	936	88.9
24	Hidalgo	2,370,735	904	38.1
25	Durango	1,549,309	779	50.3
26	Querétaro	1,572,772	749	47.6
27	Tlaxcala	1,055,648	649	61.5
28	Campeche	763,037	568	74.4
29	Aguascalientes	1,028,279	501	48.7
30	Zacatecas	1,415,269	466	32.9
31	Baja California Sur	489,669	439	89.7
32	Colima	584,068	384	65.7
-	Extranjeros	-	298	-
	Se desconoce	-	53	-
	Nacional	105,349,837	90,043	85.1**

* Tasas por 100,000 habitantes.

** La tasa nacional calculada no incluye a los extranjeros y a la categoría se desconoce.

3.1.1. Epidemiología del HIV tipo 2

La mayoría de los enfermos son originarios de África Occidental; de hecho los casos descritos en Europa y Estados Unidos son inmigrantes africanos, nativos europeos que han vivido en África Occidental, o personas que han mantenido relaciones sexuales con sujetos de la región. El país considerado como el principal foco endémico es **Guinea-Bissau**; desde él se ha difundido a los países colindantes (Senegal, Costa de Marfil), y desde todos ellos principalmente a través de marineros y comerciantes se ha extendido a zonas más distantes. Los países europeos con mayor incidencia de HIV-2 son Portugal (donde constituye el 10% del total de casos de SIDA) y Francia. En España existen actualmente alrededor de 50 casos, localizándose la mayoría en Barcelona, Madrid y Galicia (Mariscal y Gateil, 1999; Soriano y Col., 1999).

En casi todo el Caribe la transmisión heterosexual ha sido la vía de transmisión predominante por lo menos durante un decenio. Estudios efectuados en el contexto de programas nacionales para embarazadas tratadas de 1990 al 2003, en dispensarios de atención prenatal revelaron tasas de prevalencia de HIV-2 cercanas a 3% en las Bahamas y de más de 1 % en Santo Domingo (República Dominicana). En Haití, la prevalencia de HIV-2 en mujeres atendidas en dispensarios de atención prenatal en el 2002 fue de 2.5 % en zonas urbanas, y de 1.5 % en zonas rurales, y la tasa de seropositividad más alta se registró en los grupos más jóvenes (ONUSIDA/OMS, 2004; Soriano y Col., 1999).

3.1.2 Aspectos importantes en la epidemiología del HIV

Es importante destacar que una medida de salud pública que se encuentra disponible desde abril de 1985 y ha resultado de gran utilidad para hacer seguro el suministro sanguíneo es la detección de anticuerpos contra el HIV en los donadores de sangre y plasma.

Entre los varones homosexuales los factores epidemiológicos que se relacionan con un mayor riesgo de SIDA incluyen: promiscuidad, receptor de coito anal, antecedentes de sífilis, hepatitis con infecciones parasitarias intestinales y el uso comunal de drogas intravenosas (Vázquez y Col., 2000).

Existen evidencias de que entre más comprometida se encuentre la función inmunológica del individuo más eficaz es la transmisión del virus a los contactos íntimos. Aún más la presencia de lesiones cutáneas ano-genitales y úlceras mucosas causadas por infección de virus herpes simple, sífilis o chancroide puede aumentar el porcentaje de adquisición y transmisión del HIV.

El virus sí puede transmitirse a través de un órgano transplantado obtenido de un donante infectado (Soriano y Col., 1999; Estévez, 2005; Vázquez y Col., 2000).

3.2. Etiología

El HIV es un miembro de la familia de los retrovirus los cuales causan enfermedades de evolución lenta, invariablemente mortal, caracterizada por una afección neurodegenerativa y/o inmunodeficiencia evolutiva. Los retrovirus son virus que contienen ácido ribonucleico (ARN), como material genético y se replican mediante una enzima llamada ADN polimerasa dependiente de ARN, más comúnmente llamada transcriptasa inversa (TI) que realiza la retrotranscripción de ARN a ADN. Este mecanismo es el que hace distinta a la familia Retroviridae, a la que pertenece el HIV, que se relaciona, por criterios tanto genéticos, como morfológicos y en la manera en que provoca las enfermedades, con el género o grupo taxonómico Lentivirus, que se caracterizan por ser "lentos", lo que significa que, entre el momento en que entran a un organismo y el momento en que se manifiesta la enfermedad en la persona infectada, transcurre un periodo largo, de varios años (Vidal,1997; Estévez, 2005).

El HIV tiene forma esférica y su tamaño es de aproximadamente de 150 a 180 nanómetros de diámetro. Tiene una membrana externa, denominada envoltura y una región central (nucleocápside) en la que se encuentran dos copias lineales idénticas de ARN envueltas por dos proteínas p7 y p9, (el número se refiere al peso molecular de la proteína en miles de daltones) la TI y otras enzimas que cumplen funciones importantes para la replicación. El centro del virus está rodeado por la cápside, que es un conjunto de proteínas entre las que se encuentran la proteína 24(p24) como el antígeno principal. La envoltura se compone de 72 glicoproteínas (gp), que se proyectan como espículas hacia el medio externo, las gp120, y el mismo número que se encuentran dentro de la membrana, las gp41 (Figura 2).

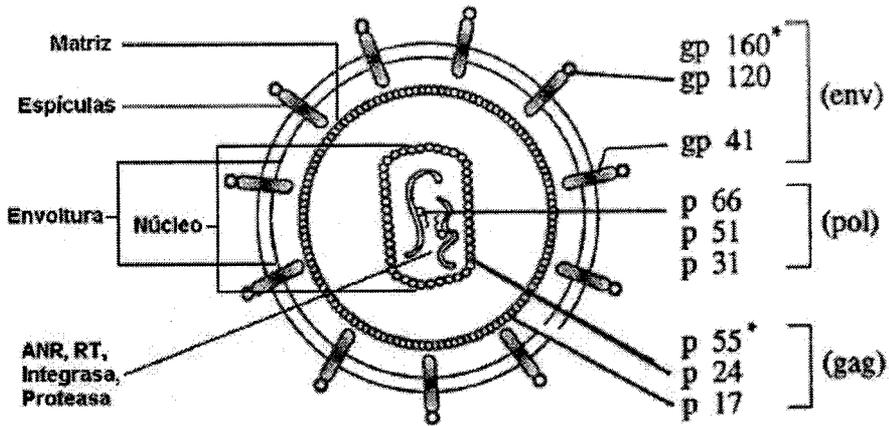


Figura 2. Representación esquemática del virus de la inmunodeficiencia humana (HIV), sus principales componentes estructurales y la ubicación de sus antígenos. *Moléculas precursoras (Constantine y Col., 2005).

El genoma del HIV se compone de tres genes que conservan todos los virus que pertenecen a la familia Retroviridae, gag, pol y env, y, además, de cinco genes con actividad reguladora (tat, tet/tnv, rev, nef) y tres con funciones accesorias (vif, vpu, vpr) los que, en conjunto, con otras enzimas y algunos factores de transcripción de la célula infectada, son imprescindibles para la activación del virus. (Figura 3, y tabla 3), (Louwagie y Col., 2003; Gao y Col., 1999).

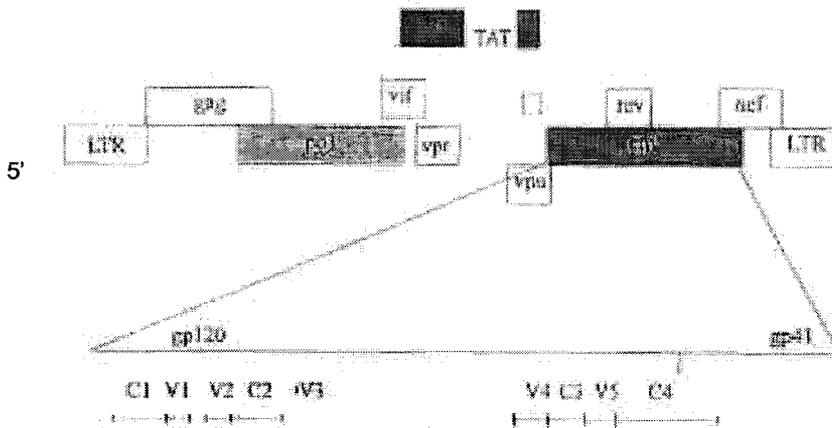


Figura 3. Genoma del HIV. Se muestra el genoma completo del HIV que se encuentra integrado como ADN. Se indican los genes estructurales: gag, pol y env; las regiones LTR que se encuentran en ambos extremos, estas cadenas largas de secuencias repetitivas terminales, se unen al ADN vecino; sirven para iniciar la regulación de la expresión de otros genes virales. Se muestran también los genes reguladores que controlan la replicación, se amplifica el gen env y se muestran las distintas regiones que lo forman (Louwagie y Col., 2003).

Tabla 3. Función de las proteínas estructurales y reguladoras del HIV

(Abbas y Col., 2002)

Proteínas estructurales del HIV

- **Gen gag** (gen del antígeno de grupo): codifica diferentes proteínas:
 - .Proteína de la cápside
 - .Proteínas de la nucleocápside
 - .Proteínas del ARN
 - .Proteína miristilada de la matriz
 - .Proteína rica en prolina
- **Gen pol** (gen polimerasa): codifica diferentes enzimas:
 - .Transcriptasa inversa
 - .Proteasas (que separan las proteínas generadas por el gag)
 - .Integrasa
 - .RNasa H
- **Gen env** (gen envoltura): regula la síntesis de proteínas de envoltura:
 - .Proteínas de superficie
 - .Proteínas transmembranarias

Proteínas reguladoras del HIV

- **Gen Q o VIP**: proteína asociada a la infección del virión
- **Gen TAT**: gen transactivador de las proteínas capaz de actuar a distancia
- **Gen TRS/ART o REV**: gen regulador de la expresión de proteínas virales
- **Gen F o NEP**: de función desconocida, aunque se piensa que puede tratarse de un factor de regulación negativo
- **Gen VPR**: acelera el ciclo de replicación, incrementando la síntesis protéica
- **Gen VPT**: de función desconocida
- **Gen VPU**: incrementa la liberación de viriones, disminuyendo el acúmulo protéico. Solo existe en HIV-1.
- **Gen VPX**: Proteína viral X (Sólo en los HIV-2), Permite la infección de los macrófagos y la diseminación viral.

Tanto el mecanismo de acción, como las células diana y la respuesta frente a la infección que hemos de referir en apartados sucesivos al HIV-1, son superponibles en esencia a todos los virus de inmunodeficiencia humana, es decir, incluye al HIV-2.

Tabla 4. Equivalencias de proteínas y glicoproteínas de los genes gag, pol y env entre los virus de HIV-1 y HIV-2 (Constantine y Col., 2005).

DENOMINACIÓN	GEN	NATURALEZA
GP140	ENV	Glicoproteína precursora DE GP 105 Y GP 36
GP105/110	ENV	Glicoproteína de la envoltura
P68	POL	Transcriptasa inversa
P56	GAG	Precursora de proteínas internas
GP36	ENV	Glicoproteína transmembranaria
P34	POL	Endonucleasa
P26	GAG	Proteína interna
P16	GAG	Proteína interna

HIV-1

Los antígenos más inmunogénicos para HIV-2 son GP 140, GP 105/110 y GP 36.

Y para HIV-1 son GP 110/120, p 68/66 y GP 41 (Constantine y Col., 2005).

HIV-2

DENOMINACION	GEN	NATURALEZA
Gp160	ENV	Glicoproteína precursora de la GP110/120
GP110/120	ENV	Glicoproteína de la envoltura
P68/66	POL	Transcriptasa inversa
P55	GAG	Precursora de proteínas internas
P52/51	POL	Transcriptasa inversa
GP41	ENV	Glicoproteína transmembranaria
P40	GAG	Precursora de proteínas internas
P34/31	POL	Endonucleasa
P24/25	GAG	Proteína interna

3.3. Patogenia.

Existen dos tipos de células humanas que son blanco principal de la infección por HIV, los linfocitos T CD4⁺ y los macrófagos de los tejidos; para que el HIV penetre en la célula se debe producir la fusión de las membranas viral y celular. La entrada del HIV-1 en la célula se produce por la interacción del virus con al menos dos tipos de receptores, el receptor específico y común a todos los HIV-1 es una proteína que se encuentra en la superficie de las células diana y que se denomina molécula CD4, se cree que esta molécula CD4 es específica y eficiente, y que la afinidad de la gp120 viral por la CD4 es mayor que la afinidad de ésta por su ligando natural, una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad clase II. Las principales células que poseen este receptor son los linfocitos y los monocitos/macrófagos (CD4⁺), (Markovitz, 1998).

Más recientemente se han caracterizado otros correceptores del virus como son los receptores celulares del tipo CC o CXC de ciertas quimiocinas. El correceptor CCR5 es fundamentalmente utilizado por las cepas del HIV con tropismo por los monocitos (monocitotrópicas), mientras que el CXCR4 lo es por las que presentan linfotropismo; este receptor CXC también se denomina fusina y su ligando natural es el SDF-1. Se cree que las cepas inductoras de sincicios pueden utilizar ambos correceptores, aunque fundamentalmente utilicen los CXCR4. Otros receptores como el CCR3 podrían ser utilizados por las cepas en las personas que no expresan los anteriores receptores.

Las células dendríticas inmaduras que expresan CCR5 son atraídas por las quimiocinas CC RANTES, MIP-1 alfa y MPI-1 beta, que se liberan a partir de los linfocitos T citotóxicos cuando encuentran el antígeno viral. Las células dendríticas capturan el HIV por medio de una proteína de superficie DC-SIGN y migran al tejido linfoide donde forman un sincicio de características singulares con las células T, que de manera explosiva dirigen la replicación de los viriones que proporcionan los dos factores de transcripción necesarios: SP1, derivado de las células T no estimuladas y las proteínas NFkB, expresadas por las células dendríticas (Damond y Apetrei, 2001).

Se cree que existen algunas sustancias, que se han denominado intracinas, que son capaces de bloquear la expresión de los correceptores a nivel intracelular. También pueden actuar como receptores los fragmentos Fc de las inmunoglobulinas y receptores del complemento utilizados por complejos antígeno-anticuerpo. La presencia en la superficie viral de material celular como los antígenos HLA o la beta 2-microglobulina permiten que al ponerse en contacto virus y células la unión se realice a través de zonas de adhesión que permiten la unión gp120-CD4 en los linfocitos o de la gp120-fusina en células del epitelio rectal e incluso al receptor Gal-C de algunas células del sistema nervioso, células que probablemente presenten más receptores.

La existencia en el virión de algunas enzimas como la ciclofilina se piensa que permite la interacción con las proteínas de la cápside facilitando la desnudación viral (Abbas y Col., 2002; Estévez, 2005).

Una vez que tiene lugar la interacción entre la gp120 y los receptores se produce la fusión de las membranas de la célula y el virus, entonces la gp41 se insertará en la membrana celular permitiendo la internalización de la nucleocápside del virus y la desencapsidación de su genoma.

Tras la entrada se inicia la reproducción del virus (replicación) por transcripción inversa o retrotranscripción mediada por la transcriptasa inversa del virión y que conduce a la formación de la primera cadena del ADN a partir del ARN viral. La segunda cadena del ADN requiere la acción de la ribonucleasa H. La doble cadena así generada es integrada en el ADN de la célula por medio de la integrasa viral, aunque parte del ADN formado puede persistir en el citoplasma de la célula sin integrarse dentro del genoma celular.

La integración del ADN proviral en el genoma celular puede depender del estado de activación de la célula, pero parece ser inespecífica. Se cree que en los linfocitos este ADN no integrado podría producirse por la entrada de múltiples viriones en la célula; se sabe que la copia del material genético del HIV como ADN se almacena en el citoplasma de la célula (latencia preintegración) y se va integrando en los cromosomas de la célula a medida que pasa el tiempo y como consecuencia de estímulos sobre la célula (Levy, 1999; Estévez, 2005).

Una vez integrado en el material genético de la célula el provirus puede permanecer latente o empezar a replicarse de una forma controlada o masiva, en cuyo caso ocasionará efectos citopáticos sobre la célula mientras que en la latencia, producida tras la integración del provirus, no se producen alteraciones patológicas. La activación celular por diferentes factores, como antígenos, mitógenos, citocinas o virus heterólogos producen una cascada de acontecimientos que llevan a la expresión del genoma viral; estos factores, entre los que el NF- κ B es el principal factor regulador de la transcripción del HIV a partir de su estado de latencia, llevan a una nueva transcripción que suponen la síntesis de ARN del virus a partir del ADN proviral integrado en la célula. Este ARN se sintetiza como un único transcrito que debe volver al citoplasma de la célula para procesarse en transcritos de diferente tamaño y en los que son fundamentales las proteínas tat y rev (Pieniazek y Col., 2000).

El ensamblaje del core ocurre en la membrana celular y parece comenzar con la asociación de la proteína p17 de la matriz con el dominio citoplasmático de la proteína gp41. También parece que las proteínas del core se producen a partir de poliproteínas precursoras durante la formación de la partícula y después de ella. La síntesis de las proteínas de la envoltura viral se producen en el retículo endoplásmico de la célula hospedera a partir de la gp160; ésta es cortada en el aparato de Golgi por una proteasa para producir gp120 y gp41 antes de transportarlas a la superficie de la célula.

El virión maduro está compuesto por una membrana, que incluye las proteínas virales gp120 y gp41, además de varias proteínas celulares, un core que contiene ARN viral, ADN polimerasa dependiente de ARN (transcriptasa inversa) e integrasa (figura 4), (Pieniazek y Col., 2000).

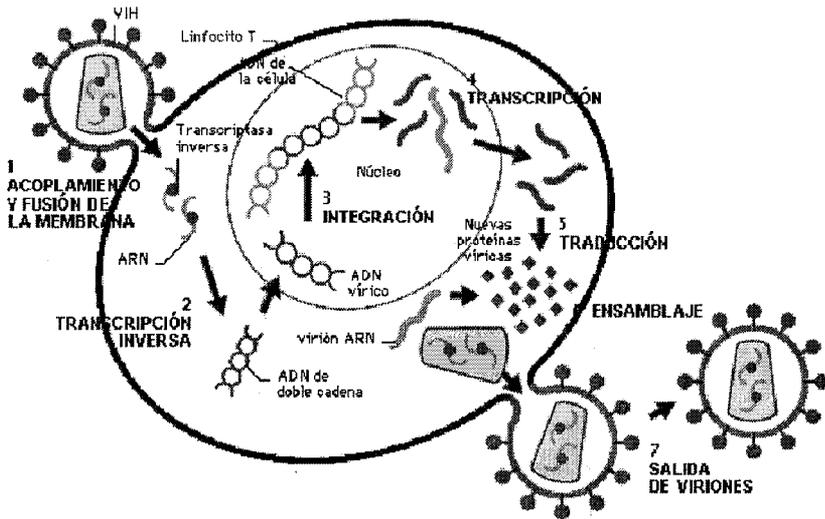


Figura 4. Ciclo de replicación de HIV. (1) Una vez que tiene lugar la interacción entre la gp 120 y los receptores, se produce la fusión entre las membranas de la célula y del virus que tiene como responsable a la gp 41 que se insertará en la membrana celular permitiendo la internalización de la nucleocápside del virus y la desencapsidación de su genoma. (2) en el interior de la partícula viral ocurre el proceso de retrotranscripción mediada por la enzima ADN polimerasa dependiente de ARN (transcriptasa inversa). Este evento convierte al ARN viral original en una molécula de ADN viral que constituye el provirus. (3) el provirus es introducido al núcleo celular y a continuación ocurre la integración del provirus al genoma celular. (4) el provirus integrado es transcrito por la enzima celular ARN polimerasa II, los transcritos virales (ARN mensajeros), son llevados al citoplasma. (5) la traducción de algunos ARN mensajeros virales conduce a la producción de proteínas virales regulatorias, mismas que estimulan la síntesis de las llamadas proteínas de maduración viral y de las proteínas estructurales del virión. (6) la acumulación de proteínas estructurales en la membrana celular permite el ensamble de nuevas partículas virales. (7) la maduración y salida de nuevas partículas virales ocurre entre 36 y 48 horas después del inicio de la infección (Chaisson y Col., 2000).

Se piensa que la vida libre de los viriones es muy corta, aproximadamente de 0,3-0.5 días (8-12 horas), y que en 2,6 días se realiza un ciclo viral completo con salida desde la célula infectada, infección productiva, vida libre, infección de otro linfocito, replicación intracelular y salida de nuevos viriones. De este modo se producirían unos 140 ciclos de replicación al año, y en situaciones de equilibrio se estima que se producen y se destruyen del orden de 10^{12} viriones renovándose cada día alrededor del 30% de las partículas circulantes.

Del mismo modo se estima que del orden de 10^9 linfocitos $CD4^+$ se producen y se destruyen diariamente, probablemente a partir de la estimulación y proliferación de clones periféricos, lo que puede suponer un índice de recambio de 10 a 100 veces superior al fisiológico, en estas condiciones de equilibrio se piensa que cada 15 días se renueva la totalidad de los $CD4^+$ circulantes, siendo la vida media de un linfocito infectado por el HIV de 1,2 a 2,2 días (Soto y Estrada, 2004).

También se ha calculado que cada célula infectada produce del orden de 10^4 a 10^5 partículas virales muchas de las cuales son defectivas, estimándose que un 1% del total de los linfocitos del organismo se infectan de novo cada día. Con esta dinámica poblacional y estimando la tasa de mutaciones del orden de 10^{-4} a 10^{-5} sustituciones por nucleótido copiado, se regeneran rápidamente distribuciones mutantes que podrían alcanzar los 10^{12} partículas virales circulantes en un individuo infectado. Por lo tanto, en el organismo infectado el HIV se encuentra como una mezcla de variantes genéticas estrechamente relacionadas que se denominan cuasiespecies.

Las familias de virus desarrollan una serie de complejos mecanismos, llamados de escape, en el caso de los retrovirus estos mecanismos corresponden básicamente al desarrollo de variabilidad genética debida a la alta tasa de error de la transcriptasa inversa en la retrotranscripción y a la posibilidad de permanecer en estado latente en determinados reservorios. La transcriptasa inversa del HIV tiene una tasa de error similar a la de otros virus ARN y se estima del orden de 10^{-3} a 10^{-5} sustituciones por nucleótido copiado (de cada 1000 a 100 000 nucleótidos copiados uno es erróneo); consecuencia de esta variabilidad se producen gran cantidad de virus defectivos pero también se da lugar a una alta diversidad de las proteínas virales que teóricamente puede permitirles "escapar" a los controles inmunitarios específicos y a la presencia de fármacos antirretrovirales (Levy,

1999; Rodes y Holguín, 2000).

En sangre periférica sólo están infectados entre el 1 y el 10% de los linfocitos T CD4 circulantes, sin embargo, en los órganos linfoides, especialmente los ganglios linfáticos, se piensa que pueden estar infectados más del 40% de los linfocitos T CD4 presentes y que sólo una pequeña porción de ellos, alrededor del 1%, replican activamente el genoma proviral que contienen produciendo del orden de 10^{10} viriones productivos al día y representarían a la población celular destruida (alrededor de 10^8).

Se sabe por otro lado que el porcentaje de macrófagos infectados es muy pequeño, del orden de 1 por cada 15,000-100,000 en los órganos linfoides, a pesar de que la infección de células de las mucosas, las células de Langerhans o de los macrófagos de la microglia cerebral suponen probablemente un reservorio muy pequeño del HIV, pueden jugar un papel trascendental en la transmisión sexual del virus y en la afectación del sistema nervioso central (Rodes y Holguín, 2000).

La disminución de linfocitos T es la anomalía más notable que presentan las personas infectadas por el HIV, pero se trata de un hecho tardío que se produce en etapas muy avanzadas de la infección. Es el mecanismo final mediante el cual el HIV causa inmunodeficiencia y constituye la base crítica del desarrollo de la enfermedad. Sucede en las etapas conocidas como CRS (complejos relacionados con el SIDA) y SIDA propiamente dicho. Cabe señalar que la función de estos linfocitos también se encuentra severamente alterada, aún en el caso de aquellos que no alojan al virus; este funcionamiento defectuoso (por ejemplo, las células no reconocen a los antígenos solubles) se produce desde etapas tempranas de la enfermedad (Gougeon, 1999).

Podría ser que el virus tenga la capacidad de modificar el comportamiento de las células que no ha infectado, de modo que parte del déficit del sistema inmunológico pueda deberse a efectos indirectos de la infección, tales como:

- Cualitativamente hay un defecto funcional de proliferación de células T y de producción de IL-2. Así se encuentra perjudicada la inmunidad mediada por células. Esto se manifiesta en el defecto cuantitativo. O sea, la eliminación de los CD4.

- La eliminación celular también puede ocurrir por estimulación de las vías apoptóticas ya que el virus del HIV expresa moléculas capaces de inducir mecanismos apoptóticos en estas células T. Una de estas moléculas es la proteína viral tat, la cual es secretada por las células infectadas por HIV y puede penetrar en las células no infectadas incrementando así la expresión de CD95L (FasL) en las células afectadas facilitando así la apoptosis vía el receptor CD95 (Fas). Además la gp120 sensibiliza a las células T a través de la vía de apoptosis mediada por CD95.
- Se incrementa la producción de IL-4 e IL-10, que estimulan exageradamente la inmunidad humoral. Al incrementarse la activación de células B se manifiesta una hipergamaglobulinemia en quienes presentan una rápida progresión a la enfermedad (Ruibal y Col., 1999, Gougeon, 1999; Lange y Goudsmith, 1999).

Los linfocitos B manifiestan una hiper reactividad espontánea en su funcionamiento y a la vez, resultan incapaces de producir inmunoglobulina M (IgM) frente al desafío de los antígenos. Este hecho tiene consecuencias más severas en los niños, que no han tenido contacto previo con la mayoría de los agentes patógenos y carecen por lo tanto de defensas adquiridas (Boom y col, 2000).

Los monocitos, macrófagos y células dendríticas manifiestan anomalías funcionales vinculadas con su actividad inmunológica y una vez infectadas por el HIV dan lugar a la replicación viral tanto *in vivo* como *in vitro*. Pueden funcionar incluso como un reservorio viral, diseminando el HIV por diferentes órganos, por ejemplo, los pulmones y el cerebro (Brun-Vezinet y Col., 1999).

Si los monocitos constituyen un importante reservorio viral en el organismo es porque, como hemos mencionado, son relativamente resistentes al daño que el HIV puede ocasionar en las otras células que invade. La presencia del virus en ellos podría explicar en parte la incapacidad del sistema inmunológico para eliminar el virus el organismo. Nos limitaremos aquí a destacar tres hallazgos vinculados con la infección de los monocitos por el HIV. El primero es que se observa una alteración en la capacidad de presentar los antígenos microbianos por parte de esta célula fagocítica, el segundo es la comprobación de que existe una deficiencia progresiva en la capacidad de destruir intracelularmente a esos agentes durante el curso de la infección y el tercero consiste en un defecto de la quimiotaxis de estos fagocitos sanguíneos (Mariscal y Gateil 1999).

La infección primaria por HIV puede ser asintomática o manifestarse como un síntoma gripal de resolución rápida. Posteriormente hay un largo periodo de latencia que dura varios años y que es asintomático, hasta que aparecen las primeras manifestaciones clínicas del SIDA que se presenta como una inflamación de varios grupos de ganglios linfáticos (linfadenopatía), acompañada de pérdida de peso, diarrea persistente y posteriormente, se presentan una o varias infecciones oportunistas (causadas por microorganismos que tienen un bajo potencial patogénico) o la reactivación de antiguas infecciones latentes como la tuberculosis o el herpes. En algunos casos se desarrollan tumores malignos como el sarcoma de Kaposi o ciertos linfomas y manifestaciones neurodegenerativas que terminan en la demencia (Markovitz, 1998)

El HIV puede infectar a los LT CD4 activados o en reposo, pero la replicación sólo se produce en las células activadas, ya que las que se encuentran en reposo (Go) tienen un bloqueo a la incorporación nuclear del complejo que contiene al ADN viral producto de la transcriptasa inversa (Damond y Apetrei, 2001).

3.3.1. RESPUESTA INMUNE A LA INFECCION POR HIV

La infección por HIV desencadena respuestas específicas de los dos brazos del sistema inmune: celular y humoral, ambas de gran importancia.

La inmunidad celular consiste en una proliferación de los LT CD4 y CD8.

Los linfocitos T CD8 tienen una expansión predominante de los LT citotóxicos virus específicos (LTc); estos LTc generados en respuesta a la infección inhiben la replicación viral a través de dos mecanismos:

1. Involucra la **destrucción directa de las células infectadas**. El LTc reconoce a través de su receptor (TCR) la presencia de antígenos virales (fragmentos proteolíticos de la partícula viral) unidos a la molécula de clase I del HLA sobre la membrana de la célula infectada. La destrucción de la célula infectada se produce por la liberación de granzimas y perforinas localizadas en los gránulos secretorios de los LTc. Los LTc son capaces de reconocer las células infectadas antes de que se produzca progenie viral. Este es un punto muy importante, ya que en este momento el virus no se encuentra aún recubierto y es particularmente vulnerable. Si la célula infectada es destruida antes de producir la progenie, entonces el virus sería eliminado (Lange y Goudsmith, 1999).

2. Los LTc también producen **factores solubles que inhiben la replicación del HIV**. La liberación de estos factores, se desencadena cuando el TCR reconoce una célula infectada. Estos inhiben la infección de nuevas células compitiendo con el virus por ciertos co-receptores presentes en la superficie celular necesarios para la fusión viral. Los factores solubles incluyen las quimiocinas RANTES, MIP-1 alfa y MIP-1 beta que son activos contra el CCR5 de virus M-trópicos, así como otros factores solubles inhibitorios aún no totalmente definidos activos para el CXCR4 de virus T-trópicos. Si los LTc llegan enseguida que se produce progenie viral, entonces la liberación de estos factores solubles podría inhibir que estos virus infecten otras células (Abbas y Col., 2002).

Los LT CD4 reconocen las proteínas virales que han sido procesadas en los lisosomas de las células presentadoras de antígeno a pequeños péptidos de 12 a 17 aminoácidos, y presentadas en la superficie celular unidas a una molécula de clase II del HLA. Este reconocimiento desencadena una respuesta de los LT CD4 que se activan y producen una respuesta inmune que consiste en interacciones directas célula-célula así como liberación de citocinas que actúan a distancia. Las quimiocinas RANTES, MIP-1alfa y MIP.1 beta tienen también propiedades antivirales y pueden por tanto ejercer un efecto antiviral directo. Pero el efecto fundamental de los LT CD4 es la potenciación de la respuesta de los LTc (Roitt, 2002).

Además de la respuesta inmune celular, el sistema inmune humoral puede contribuir al control de la viremia. Los anticuerpos neutralizantes actúan directamente contra los virus libres y están dirigidos contra epítomos en la envoltura glicoprotéica. La limitación de la respuesta de anticuerpos neutralizantes es que es tipo específica.

El sistema inmune de las personas con infección por HIV, no tratadas, se caracteriza por inmunodeficiencia y activación policlonal. La inmunodeficiencia es el resultado de la destrucción de los LT CD4. El mecanismo de la activación policlonal parece correlacionarse con el nivel de replicación viral y sería el reflejo de la infección crónica (Pieniazek y Col., 2000).

3.4. Manifestaciones clínicas.

Las manifestaciones clínicas del SIDA pueden dividirse en cuatro categorías generales: aquellas causadas por los efectos directos del HIV, las relacionadas con las infecciones oportunistas como consecuencia de la inmunosupresión inducida por el HIV, las causadas por el sarcoma de Kaposi y las que se originan de los efectos combinados de la inmunosupresión inducida por el HIV y los efectos promotores de malignidad de otros virus.

Con mucha mayor frecuencia, las manifestaciones clínicas iniciales del SIDA se relacionan con algún síndrome causado por una infección oportunista. El más común es la neumonía por P. carinii, que es el trastorno clínico inicial en alrededor del 50 por ciento de los casos a nivel mundial, pero en México es debido a Mycobacterium tuberculosis (Ortiz de Lejarazu, 1998).

Cuatro problemas diagnósticos deben atenderse cuando se estudia un paciente con probable infección por HIV y con manifestaciones clínicas quizá ocasionadas por ésta: el diagnóstico de infección por HIV, el diagnóstico del SIDA en sí, los indicadores pronósticos del estado clínico e inmunológico del paciente infectado con HIV con o sin SIDA (ver Anexo 11.5), y el diagnóstico de las diversas infecciones y neoplasias malignas que ocurren en pacientes con infecciones por HIV. Es importante resaltar que el diagnóstico de infección por HIV no implica el diagnóstico del SIDA. Como se describe en el sistema de clasificación clínica del Centro de Control de Enfermedades (CDC) americano (ver Anexo 11.1). La infección por HIV produce una serie de manifestaciones y la clasificación exacta de cada paciente se realiza con base en el síndrome clínico, más que en las pruebas de laboratorio. Sin embargo las pruebas específicas de laboratorio refuerzan ciertos aspectos de la evaluación clínica y del tratamiento del SIDA (Vázquez y Col., 2000).

El principal adelanto diagnóstico ha sido el desarrollo de pruebas para determinar la presencia de anticuerpos contra el HIV. Más del 90% de los individuos con SIDA presentan anticuerpos contra el virus y más del 95% de los portadores asintomáticos del virus son seropositivos. Para fines prácticos, debe considerarse que toda persona que presente anticuerpos contra el virus puede transmitirlo por la sangre y secreciones corporales.

Los **marcadores pronósticos** más relevantes que indican progresión de la enfermedad hacia el SIDA son:

- 1) N° total de linfocitos CD4⁺. Si la cifra es menor a 400/μl, existe un 50% de posibilidades de evolución a SIDA en los 3 años siguientes.
- 2) Incremento de los niveles del antígeno p24 en sangre periférica.
- 3) Descenso en los niveles de anticuerpos anti-HIV en sangre periférica.

En el SIDA pediátrico las manifestaciones clínicas obedecen a tres mecanismos diferentes:

1°) *Lesiones inducidas por el propio HIV*. Explicables por el linfotropismo y neurotropismo del virus, con alteraciones a nivel de los ganglios linfáticos (hiperplasia, etc.) y del SNC (encefalopatía con atrofia cerebral y calcificaciones).

2°) *Lesiones secundarias a la inmunodeficiencia inducida*. Entre ellas se encuentran las infecciones oportunistas -menos frecuentes en adultos-, y las infecciones bacterianas graves -más frecuentes en adultos-.

3°) *Lesiones de patogenia no bien conocida actualmente*. Como la arteriopatía, cardiomiopatía, nefropatía, trombopenia y neoplasias (Vázquez y Col., 2000).

3.5. Tratamiento

Los objetivos de la terapia antirretroviral de inicio son: Reducir la carga viral (CV), hasta un nivel no detectable basado en las técnicas moleculares actuales y disminuir el grado de inmunosupresión, mediante la elevación de las cuentas de células CD4, ambos durante el mayor tiempo posible. Esto con el fin de mejorar la expectativa y calidad de vida de las personas infectadas.

El tratamiento antirretroviral ofrece claros beneficios a los individuos infectados por el HIV que lo reciben. Cuando se utiliza una combinación potente denominada antirretroviral altamente activa (TARAA), que implica generalmente dos análogos nucleósidos (fármacos inhibidores de transcriptasas) y un inhibidor de proteasa (IP), (ver anexos 11.6, 11.7, 11.8) se ha logrado mejorar la calidad y lapso de vida, así como disminuir la frecuencia de algunas infecciones oportunistas y el número de hospitalizaciones, con el consecuente ahorro en costos de atención. Con este tipo de terapia (TARAA), los objetivos ideales son mantener la CV en niveles no detectables con incremento progresivo de las cuentas de linfocitos CD4, por el mayor tiempo posible. Hasta el momento se desconoce la verdadera eficacia del TARAA en tratamientos más allá de los tres años (Soto y Estrada, 2004).

El tratamiento doble, con dos inhibidores de la transcriptasa inversa análogos a nucleósidos (ITRAN), logra los objetivos ideales sólo en un número limitado de pacientes y por un tiempo mucho más corto (promedio de 12 a 18 meses), que lo demostrado hasta la fecha para triples combinaciones. Sin embargo, los tratamientos dobles han demostrado, aún en aquellos pacientes con enfermedad avanzada, algunos beneficios, prolongando la vida y mejorando su calidad, no obstante, su uso limita en forma importante las opciones de tratamiento futuro, debido al desarrollo de resistencia. Es por esta razón que la terapia antirretroviral debe de individualizarse siempre con una perspectiva futura. En algunos casos será mejor esperar que dar un tratamiento no altamente activo y en ocasiones una terapia doble podría considerarse la única opción para el paciente (Smith y Shaw, 2001). 20

Indicaciones para iniciar tratamiento antirretroviral

Depende básicamente del estado clínico del paciente evaluado de acuerdo a la presencia de manifestaciones asociadas al HIV/SIDA, a las cifras de linfocitos CD4, así como a la determinación de CV. Se recomienda iniciar tratamiento en:

- A) Pacientes con infección primaria sintomática
- B) Pacientes sintomáticos (ver manifestaciones de “categorías clínicas” B ó C de acuerdo a la clasificación del CDC –anexo 11).
- C) Individuos asintomáticos con cuenta de linfocitos CD4 menor a 500/ μ l o con cifras de CV mayores a 10,000 copias/ml por bDNA o de 20,000 por RT-PCR (Schutten, 2000).

El HIV-2 es sensible a los inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos in *vivo* e in *vitro*, aunque parece que lo es en menor medida que el tipo 1. Se ha comprobado que el uso del tenofovir intravenoso dentro de las primeras 36 horas después de la exposición intravaginal al HIV-2 (en un modelo animal), es una medida eficaz de profilaxis post exposición. Sin embargo, este virus no es sensible a los inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos, debido a la presencia de mutaciones específicas localizadas en el sitio de unión de estos fármacos con la enzima transcriptasa inversa (Vázquez y Col., 2000).

En cuanto al desarrollo de posibles vacunas específicas contra el HIV, cabe mencionar que la mayoría de los proyectos para el desarrollo de estas vacunas fueron iniciados con base en una apreciación incorrecta y apresurada de los mecanismos causales del SIDA. La mayoría se dirige a estimular la producción de anticuerpos específicos contra componentes del HIV, por medio de la inoculación en animales (o de personas voluntarias) de proteínas o fragmentos de proteínas virales que actúen como antígenos que estimulen al sistema inmune para producir anticuerpos específicos contra estos componentes virales (Kunasol, 2002).

Los esfuerzos actuales para obtener la vacuna incluyen:

1. **Proteínas recombinantes**, producidas en *E. coli*, en levaduras o en células de mamíferos. Probablemente la más estudiada es la proteína recombinante soluble gp120, producida en células de mamíferos. La proteína soluble es razonablemente buena para desencadenar una aceptable respuesta inmunitaria, pero da pobres resultados para generar una respuesta de las células T.
2. **Vacunas DNA**. Vectores de expresión de DNA recombinante purificado que codifican proteínas HIV-1, se pueden poner en la piel por medio de una pistola génica la cual coloca perlas de DNA recubiertas de oro a una alta velocidad, o por medio de una inyección intramuscular o subcutánea. Dichas vacunas parecen bastante buenas para producir una respuesta de células T pero muy mala en inducir la producción de anticuerpos (Fynan y Col., 2003).
3. **Vacunas que usan vectores vivos** (bacterias o virus); estas vacunas son capaces de expresar los antígenos recombinantes HIV-1 dentro de las células infectadas. Ejemplos de vectores ya probados, incluyen el virus *vaccinia* ó el "*canarypox*", los cuales expresan los genes del HIV-1. El nuevo vector es el virus de la encefalitis equina de Venezuela (VEE), el cual tiene la propiedad de infectar las células dendríticas (es el mayor grupo celular del cuerpo que presenta los antígenos a las células inmunitarias circulantes). Típicamente las vacunas que usan vectores vivos son buenas para estimular la respuesta de las células T, pero muy malas en inducir la producción de anticuerpos (Kunasol, 2002).

Cada una de las estrategias descritas están siendo ensayadas en humanos y algunos de estos experimentos han entrado en la fase dos de los ensayos clínicos.

Un importante obstáculo para el desarrollo de vacunas contra el HIV es que no se conoce ninguna especie animal que desarrolle el SIDA como consecuencia de la infección por HIV (Fynan y Col., 2003),

3.6. PRUEBAS DE CONFIRMACIÓN DE LA INFECCIÓN POR EL HIV

Se recomienda realizar pruebas de confirmación de las muestras que, en las pruebas de detección (por ejemplo, ELISA o Dot Blot), aparecen repetidamente como reactivas para los anticuerpos anti HIV. La mayoría de los protocolos (ver más adelante), requieren el uso de pruebas muy específicas tales como el Western-Blot, la prueba de Inmunofluorescencia indirecta (IFA) o la de Radioinmunoprecipitación (RIPA). Estas pruebas son extremadamente específicas y si se realizan e interpretan correctamente, no deben producir resultados falsos positivos (Goeder, 1999).

Las pruebas de confirmación no siempre producen resultados definitivos, es decir, no siempre resultan en un positivo o en un negativo y por lo tanto, se necesitarán pruebas suplementarias antes de llegar a una conclusión. El propósito principal de las pruebas de confirmación es el de asegurar que los individuos reactivos en las pruebas de detección no sean identificados incorrectamente como infectados por el HIV (Lejarazu y Ortiz, 2004).

3.6.1. WESTERN-BLOT

La prueba Western-Blot (WB), es probablemente la prueba de confirmación del HIV más aceptada. La técnica había sido desarrollada hace ya muchos años y era reconocida como una técnica muy específica para detectar anticuerpos contra muchos agentes infecciosos. Muchas autoridades la consideran "el patrón de oro" para la validación de los resultados del HIV.

La técnica WB debe su especificidad a dos factores: la separación de componentes y la concentración de los mismos. La mezcla de los componentes virales se separa en "bandas" específicas, cada componente se vuelve relativamente puro.

Además, la separación de los antígenos permite la identificación de anticuerpos específicos contra cada uno de estos antígenos. En principio se realiza en tres pasos:

1. Separación de los antígenos de lisado viral con dodecil sulfato de sodio (SDS) y electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE).
2. Transferencia de los antígenos separados a papel de nitrocelulosa; y
3. Prueba de la muestra del suero desconocido directamente en la membrana absorbente utilizando una técnica similar al ELISA (reactividad enzima-sustrato).

La mayoría de los WB utilizados en la actualidad para la detección del HIV son suministrados por las compañías comerciales en forma de estuche (equipo), y sólo el tercer paso se realiza en el laboratorio encargado del diagnóstico (Ortiz de Lejarazu, 1998; Dacey y Lane, 1999).

Los estuches comerciales para WB se suministran con tiras individuales de nitrocelulosa que ya contienen antígenos separados. Como en todas las pruebas serológicas, debe aplicarse el control apropiado para esta prueba, en particular, se utiliza un control positivo débil como base de positividad, es decir, que produce una reactividad de intensidad mínima necesaria para que una muestra sea considerada positiva. Los controles deben usar la misma partida de tiras que las muestras, pues la precisión relativa de los antígenos en las tiras puede variar de una partida a otra (ver figura 6).

Estos equipos incluyen una banda de control interno anti-IgG que debe hacerse presente con una coloración fuerte en la parte baja de la tira de nitrocelulosa. Su presencia permite validar la adición de la muestra y de los reactivos, así como el buen desarrollo del método. La ausencia o la escasa intensidad de coloración de la banda del control interno anti-IgG indica la ausencia de depósito de la muestra o de los reactivos, o bien un incumplimiento del método (Constantine y Col., 2005).

3.6.2. CRITERIOS PARA LA PRUEBA DE WESTERN-BLOT

La interpretación de los resultados de WB es generalmente definitiva. Está universalmente aceptado en la actualidad que un resultado negativo es la ausencia de todas las bandas en la tira de nitrocelulosa (blot). Dos organizaciones, incluyendo la OMS, sugieren que los resultados pueden ser considerados negativos si sólo hay una muy débil franja p17 para el caso de HIV-1 y p16 para HIV-2. Lamentablemente, los sueros de algunos individuos no infectados mostrarán alguna reactividad ante uno o más antígenos. Esto puede ocurrir en hasta un 15 % de personas normales no infectadas y muchas veces en personas que son negativas en las pruebas de detección. Por lo tanto, si seronegativos de ELISA son analizados con WB, muchos pueden obtener un resultado indeterminado. La mayoría de los resultados indeterminados muestran sólo reacciones débiles ante las proteínas del gen GAG (principalmente p17, p24, y/o p55 para HIV-1, y p16, p26 y/o p56 para HIV-2). Cualquier reactividad de Western-Blot que no llena los requisitos para ser positiva o negativa debe ser considerada indeterminada (Jackson y Balfour, 2000).

El significado de un resultado indeterminado de WB varía de acuerdo a los factores de riesgo y el estado clínico del paciente, muchos resultados inicialmente indeterminados que con posterioridad se vuelven negativos, o permanecen indeterminados, son probablemente resultado de :

- Error técnico (contaminación de la muestra por traspaso de pipetas o salpicado)
- Reacciones no específicas debido a la presencia de anticuerpos que reaccionan contra los componentes de las células infectadas (autoanticuerpos que reaccionan contra los epítomos de las células humanas).
- Infección con un retrovirus allegado, tales como el HTLV I o HTLV II e incluso virus de Influenza.

Algunos pacientes pueden estar infectados por el HIV-2 y producir resultados indeterminados en pruebas para el HIV-1; por lo tanto, también hay que realizar pruebas para detectar el HIV-2 de manera específica (Constantine y Col., 2005; Lejarazu y Ortiz, 2004).

Las infecciones por el HIV-2 resultan en respuestas de anticuerpos similares a las de la infección por el HIV-1, y aunque los pesos moleculares reales de las proteínas y glicoproteínas pueden diferir ligeramente, ambos virus pueden tener estructura y composición química similar, por ello, no es inusual esperar que ocurran reacciones cruzadas. Los anticuerpos que más comúnmente producen reacción cruzada entre los dos virus, son aquellos que se dirigen hacia las proteínas del núcleo (por ejemplo: p24 y p55 para HIV-1, y p26 y p56 para HIV-2). Del mismo modo, los anticuerpos a los antígenos POL pueden también producir reacciones cruzadas.

Los antígenos ENV están menos emparentados y en consecuencia, no producen, generalmente anticuerpos que entrecrucen reacciones (De Vita y Col., 1999).

Se estima que entre el 30 y 50 % de los pacientes infectados por el HIV-2 tendrán sueros que reaccionarán cruzados con antígenos del HIV-1.

Cualquier resultado indeterminado para HIV-1 con una reacción contra los antígenos de polimerasa o antígenos ENV constituye una razón para hacer una prueba de infección por el HIV-2 (Constantine y Col., 2005).

3.6.3. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LAS PRUEBAS DE CONFIRMACIÓN

Las pruebas de confirmación para detectar anticuerpos anti-HIV son, en general, más costosas y llevan más tiempo de realización que las pruebas de detección. Además, la mayoría de las pruebas aceptadas como pruebas de confirmación eficaces se leen de manera subjetiva, y por lo tanto, requieren un cierto nivel de pericia técnica (Jackson y Balfour, 2000).

La mayor ventaja de las pruebas de confirmación es su excelente especificidad, si las pruebas se realizan correctamente y sin errores técnicos, debe haber pocos falsos positivos. Algunas pruebas de confirmación como el WB pueden usarse como indicadores predictivos. Por ejemplo, perfiles que muestran una disminución de anti-p24 a lo largo del tiempo, pueden indicar la progresión de la enfermedad (Goeder, 1999).

Aunque la prueba WB tiene la ventaja de ser capaz de indicar los anticuerpos precisos que reaccionan con los antígenos específicos del HIV, es también la más costosa, la que más tiempo consume, y la prueba serológica más difícil de interpretar. Además, es una prueba técnicamente muy dependiente, dado que la contaminación puede ocurrir fácilmente.

Hay varias desventajas con la prueba de WB, pero es la que produce mayor información y es considerada por muchos como la mejor prueba de confirmación y la más confiable para detectar la infección por el HIV (Ortiz de Lejarazu, 1998; Dacey y Lane, 1999).

3.6.4. ALGORITMOS DE LAS PRUEBAS

Los algoritmos se refieren a la secuencia en las que las pruebas deben realizarse, aunque cada laboratorio debe determinar sus propios algoritmos basados en las pruebas de que dispone, hay algunas pautas generales para las pruebas del HIV. Los dos puntos importantes son:

- Las pruebas de detección deben hacerse por duplicado en todas las muestras reactivas iniciales. La situación óptima sería repetir las pruebas con el suero del tubo original. Para que la muestra sea considerada verdaderamente reactiva, debe serlo en por lo menos dos de las tres pruebas.
- Todos los resultados repetidamente reactivos en las pruebas de detección deben ser confirmados por una prueba admitida.

La algoritmia más comúnmente utilizada para las pruebas es, detectar usando el ELISA y confirmar especímenes repetidamente reactivos usando el Western-Blot. Esta estrategia convencional tiene algunas desventajas tecnológicas, prácticas y de costo, por lo que varios laboratorios han probado algoritmos alternativos a los convencionales ELISA-Western-Blot y están siendo actualmente evaluados por la OMS; esas alternativas incluyen:

1. El uso de ELISA (ensayo inmunoenzimático) y la IFA (ensayo de inmunofluorescencia).
2. El uso de las dos pruebas ELISA (es decir, de tipo competitivo y no competitivo, o una prueba que utilice un antígeno de lisado viral combinado con una que utilice un antígeno recombinante)
3. La combinación de una prueba de dot-blot o de aglutinación con ELISA
4. Cualquiera de las pruebas de detección complementada con un inmunoensayo en línea
5. La combinación de dos pruebas rápidas, simples.

Cuando se establece un algoritmo, la prueba de detección debe ser la más sensitiva. La prueba de confirmación debe ser sensitiva y extremadamente específica con un alto valor predictivo positivo. Es mejor elegir pruebas basadas en diferentes principios o antígenos.

La presencia del HIV-2 debe tenerse en cuenta en el momento de adoptar un algoritmo de las pruebas.

A continuación se muestra el algoritmo que se utiliza en el INDRE y aceptado por la OMS y por ende en este trabajo (Constantine y col; 2005).

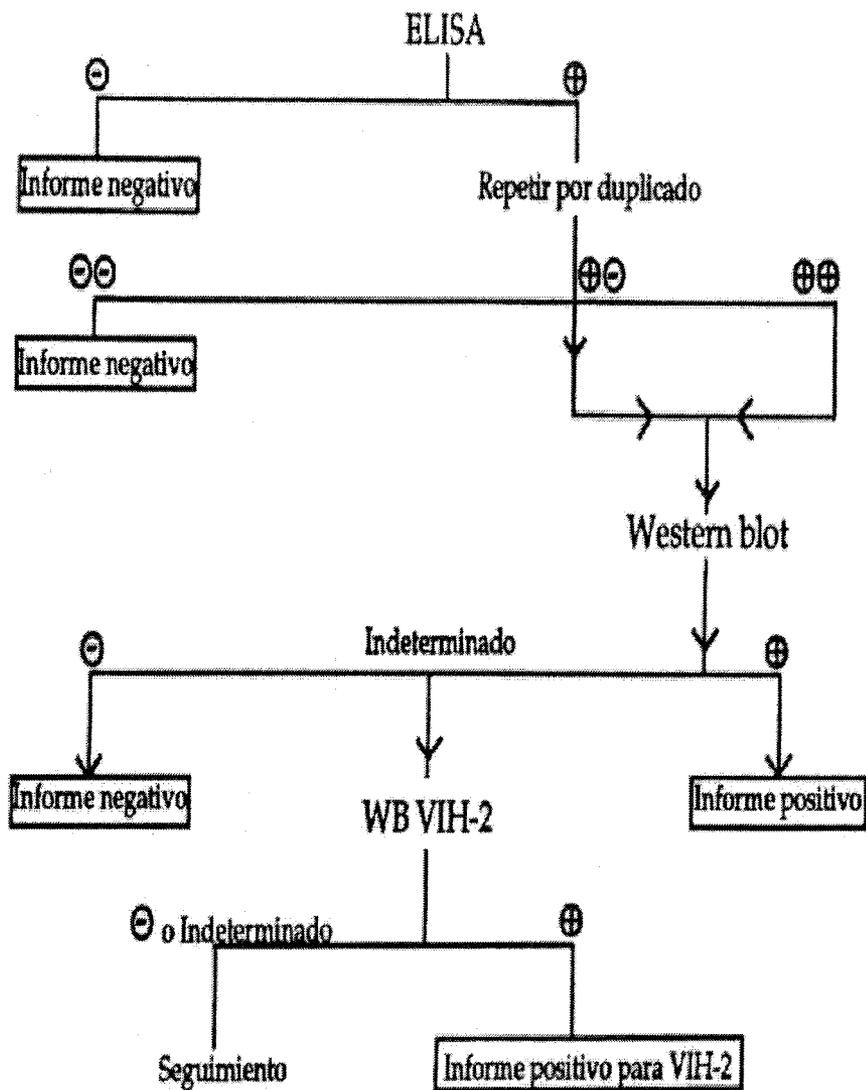


Figura 5. Esquematización del algoritmo de las pruebas en el INDR

4. JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO.

El presente trabajo nace de la inquietud por comprobar si las muestras que dan resultado indeterminado o dudoso para HIV-1 pudieran presentar reactividad a HIV-2 en el Western-Blot para HIV-1, y con esto agilizar el diagnóstico de este virus encaminando las pruebas hacia su detección.

5. OBJETIVO

Identificar la posible presencia del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 2 (HIV-2), mediante la determinación de anticuerpos contra este virus, utilizando Western-Blot específico para HIV-2 en muestras que presentaron un Western – Blot indeterminado para HIV-1.

6. OBJETIVOS PARTICULARES.

- Determinar si existe reactividad de proteínas y/o glicoproteínas que relacionen la presencia de genes GAG, POL y ENV del virus del HIV-2 por medio del Western-Blot en sueros de pacientes que presentaron un resultado indeterminado para HIV-1 con el mismo método.
- Determinar si la prueba de Western-Blot es capaz de arrojar resultados que nos permitan diferenciar el virus HIV-1 del HIV-2.

7. METODOLOGÍA

7.1 MATERIAL

El material utilizado fue proporcionado por el Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE).

7.2 MATERIAL BIOLÓGICO

- Muestras (suero de pacientes que acuden a solicitar diagnóstico para HIV en los diferentes laboratorios estatales de la República Mexicana); se trabajaron un total de 234 muestras correspondientes a los años 2002 y 2003; excluyéndose los sueros lipémicos, hemolizados y de volumen menor a 1 ml. Obteniéndose un subgrupo de 200 muestras para realizarles el WB para HIV-2.

7.3 REACTIVOS

- Hipoclorito de sodio al 5% marca Monterrey, lote ZX 08568.
- Agua destilada marca Sigma, lote 49129 AD.
- NEW LAV BLOT II (18 determinaciones).
Equipo para la determinación de anticuerpos anti HIV-2 humanos en suero o plasma. Equipo de confirmación. Marca BIO-RAD, catálogo 72251.

7.4 MATERIAL DE LABORATORIO

- Probetas graduadas de 100 y 500 ml.
- Pipetas graduadas de 2 y 10 ml.
- Pipeta semiautomática ajustable de 20 microlitros.
- Guantes desechables de látex.
- Gasas.
- Cubre bocas.
- Lentes de seguridad.
- Trampa de vacío con trampa de seguridad.
- Papel filtro.
- Pinzas de disección de plástico.
- Perilla de tres vías (bulbo de seguridad).
- Puntas amarillas de 2-20 microlitros.
- Pipeta Pasteur.

7.5 EQUIPO

- Agitador bidimensional rotatorio marca Abott
- Bomba de vacío.

7.6 MÉTODO

Los expertos de la OMS han recomendado como método suplementario para confirmar la infección, la electroinmunotransferencia (Western-Blot, Inmunoblotting), en lo que concierne al HIV-1 y HIV-2. Esta técnica permite caracterizar los anticuerpos dirigidos contra cada una de las proteínas virales y por tanto, confirmar la seropositividad en el cuadro diagnóstico del SIDA. Es necesario para la caracterización de la infección por el HIV-2 la determinación de anticuerpos junto con el aislamiento y la secuenciación genómica

El NEW LAV BLOT II, es un equipo para la determinación confirmatoria de anticuerpos anti HIV-2 humanos en suero o plasma, que se basa en el principio del ELISA indirecto sobre una tira de nitrocelulosa que contiene todas las proteínas constituyentes del HIV-2 y un control interno anti-IgG humana.

Las proteínas del HIV-2 inactivado se separan en función de su peso molecular mediante electroforesis en gel de poliacrilamida en medio disociante y reductor (SDS-PAGE), y posteriormente se transfieren a una membrana de nitrocelulosa mediante la aplicación de una corriente eléctrica (electro transferencia).

7.7 PROCEDIMIENTO

7.7.1. RECONSTITUCIÓN

Solución de lavado/diluyente concentrada 5 veces.

Preparación: homogenizar la solución antes de usarla. Diluir la solución de lavado/diluyente 1/5 en agua destilada (ejemplo: para una caja ó equipo completo se utilizan 30 ml de solución de lavado + 120 ml de agua destilada). Homogenizar cuidadosamente, procurando no hacer espuma.

7.7.2. Realización de la técnica

1. Quitar la tapa transparente de la bandeja a utilizar. Asegurándose de que el lado de las tiras que llevan la marca de inicio y la numeración sean visibles para que las proteínas virales presentes en este lado sean recubiertas por los diferentes reactivos a lo largo de la manipulación.

2. Agregar 2 ml de la solución de lavado/diluyente reconstituida a cada compartimiento de la bandeja. Incubar 5 minutos en agitación lenta y a temperatura ambiente.

3. Añadir 20 microlitros de cada muestra (suero) y de los controles positivo y negativo en el pocillo del compartimiento correspondiente.

Incubar 2 horas a temperatura ambiente en el agitador rotatorio con agitación lenta.

4. Aspirar completamente el contenido de cada compartimiento, procurando no tocar las tiras, con ayuda de la bomba de vacío provista de un frasco que contenga hipoclorito de sodio al 5%.

Lavar con agua entre cada aspiración la punta de aspiración en contacto con las muestras para evitar contaminación cruzada.

Agregar a cada tira 2 ml de solución de lavado/diluyente reconstituida y eliminarla inmediatamente por aspiración. Realizar este proceso 2 veces más, pero en estas ocasiones dejar la solución de lavado/diluyente 5 minutos con agitación lenta antes de aspirarla, es decir, tres lavados en total. Eliminar la solución del último lavado.

5. Colocar 2ml de conjugado a cada compartimiento, habiendo equilibrado previamente la solución a temperatura ambiente.

Incubar 1 hora a temperatura ambiente con agitación lenta.

6. Proceder a realizar 3 lavados tal como se describe en el punto 4.

7. Agregar 2 ml de la solución de revelado a cada uno de los compartimientos.

Si existiesen partículas en suspensión en la solución de revelado, dejar que se sedimenten en el fondo del frasco antes de pipetear (estas partículas no interfieren en el ensayo).

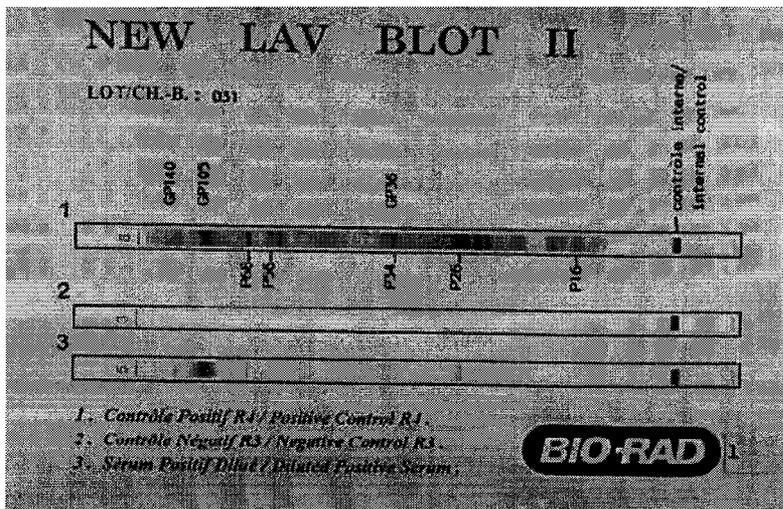
Incubar en agitación lenta y vigilar la aparición de color. Se deben visualizar todas las bandas correspondientes a las proteínas virales en el suero de control positivo. El tiempo de revelado es aproximadamente de 5 minutos.

8. Parar la reacción eliminando la solución de revelado y realizar 3 lavados con agua destilada.

9. Secar las tiras entre dos hojas de papel filtro a temperatura ambiente.

Montar las tiras alineándolas respecto a la marca de inicio.

Nota: No pegar el plástico adhesivo sobre de la parte de las tiras correspondientes a las proteínas virales.



Referencia de controles incluida en el kit NEW LAV BLOT II

8. RESULTADOS

Se tomó un lote de 234 muestras de sueros de pacientes con un WB indeterminado para HIV-1, de los cuales se rechazaron 34 por estar lipémicas, hemolizadas y/o ser de volumen menor a 1 ml, obteniéndose un total de 200 muestras para la realización de este trabajo.

A cada una de estas muestras se les realizó por duplicado la prueba de WB específica para HIV-2 con el equipo comercial BIO-RAD, el cual se utilizó por cumplir con los requerimientos que marca la OMS (especificidad y sensibilidad alta), y además por ser el único que se comercializa en México.

Después de realizada la técnica se procedió a la lectura de las tiras de nitrocelulosa (ver figura 6), de la cual se obtuvo que:

La banda que más se presentó en las tiras es la que corresponde a la proteína p26, la cual es una proteína del core, y pertenece al gen GAG, es decir, proteína capsídica.

La proteína p68 estuvo presente en 64 de las muestras; dicha proteína pertenece al gen POL, que son proteínas enzimáticas, en este caso, corresponde a la presencia de transcriptasa inversa.

Las bandas correspondientes a los genes ENV, es decir, gp140 que a su vez es precursor de gp105 (glicoproteína de envoltura) y gp36 (glicoproteína transmembranaria) estuvieron presentes únicamente en 8 de las muestras.

Cabe mencionar que p56 (precursor de proteínas internas), sólo estuvo presente en 6 muestras; y que gp36; que es una glicoproteína transmembranaria, no se encontró en ninguna muestra.

Por último, está la proteína p16, (la cual pertenece al gen GAG; es una proteína interna), y estuvo presente en 57 muestras.

Sólo hubo cuatro muestras que fueron negativas al no presentar ninguna banda (no hubo reactividad). Estos resultados se muestran más claramente en la tabla 5 y la figura 7.

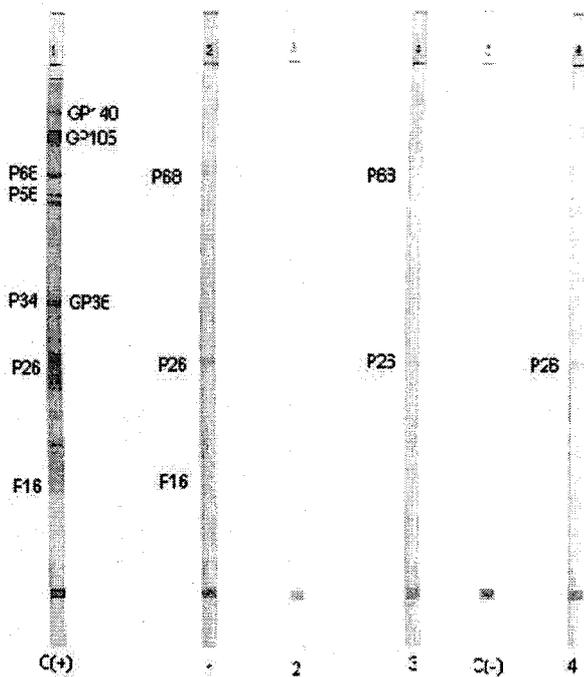


Figura 6. WB para HIV-2 sueros con un WB indeterminado para HIV-1. De izquierda a derecha, se muestra el control positivo (C+), 1, 3, y 4 son tiras con resultados indeterminados para HIV-2; la tira 2 muestra un resultado negativo y C(-), es la tira del control negativo. También se muestran las posiciones de las proteínas y glicoproteínas de acuerdo a su peso molecular en la tira de nitrocelulosa.

Tabla 5. Resultados. Se observa el nombre de las proteínas y glicoproteínas del virus HIV-2, el tipo de genoma, así como el número de muestras que presentaron reactividad contra dichas proteínas y/o glicoproteínas en la prueba de Western-Blot.

NOMBRE	GENOMA	No. DE MUESTRAS QUE LA PRESENTARON
gp140	ENV	4
gp105	ENV	4
p68	POL	64
p56	GAG	6
p34	POL	2
gp36	ENV	0
p26	GAG	170
p16	GAG	57
MUESTRAS NEGATIVAS (NO PRESENTARON NINGUNA BANDA)		4

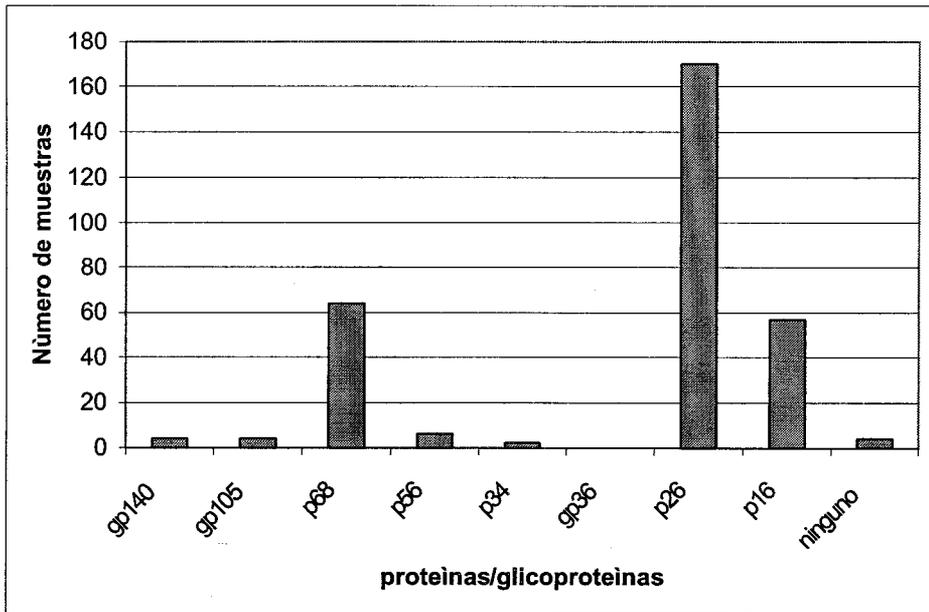


Figura 7. Número de muestras que presentaron reactividad para alguna de las proteínas o glucoproteínas del HIV-2 en el WB

Algunas muestras presentaron bandas que corresponden a proteínas y/o glicoproteínas que pertenecen a diferentes genes. Así, 66 muestras tienen una combinación de proteínas que relacionan la presencia de genes POL y GAG; 8 combinan proteínas del gen GAG y el gen ENV y 3 muestras tiene combinación de los genes POL y ENV.

Ninguna muestra presentó una reactividad a las proteínas que relacionen la presencia de los genes GAG, POL, y ENV al mismo tiempo (ver figura 8).

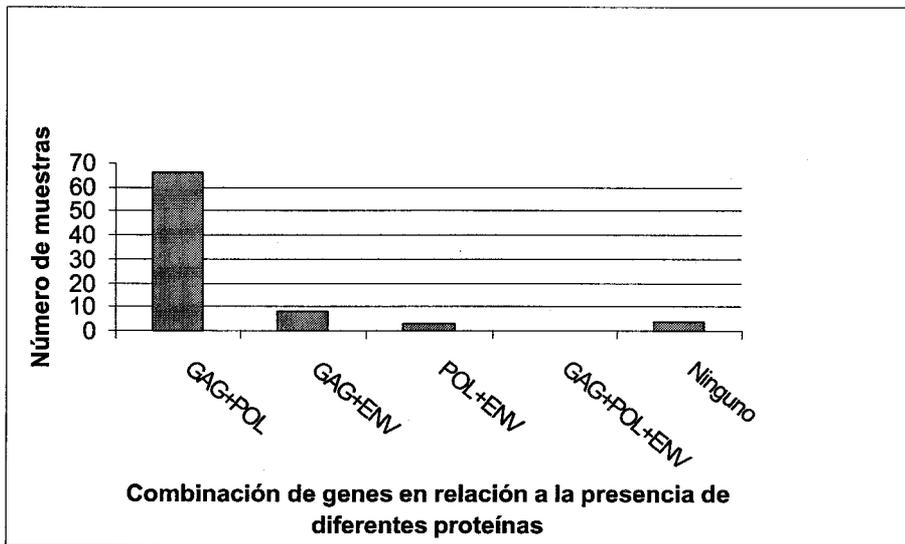


Figura 8. Reactividad de diferentes proteínas que relacionan la presencia de dos o más genes del HIV-2 como resultado de la prueba WB.

9. DISCUSIÓN

La prueba de WB contiene los antígenos del propio HIV, 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 HIV-2 (gp36), como en el caso del equipo de BIO-RAD utilizado, que facilita el diagnóstico de la infección por el HIV-2 en aquellos WB indeterminados para el HIV-1. Debido a que las tiras de nitrocelulosa en las que se depositan los antígenos del HIV contienen proteínas de la célula huésped en la que se ha cultivado el virus (células humanas), a menudo se observan bandas de reactividad contra dichas proteínas, estas bandas se ubican entre pesos moleculares de 18 a 23 mil daltones o por debajo de 14,000 daltones (que se consideran no significativas), de ahí la necesidad de adiestramiento en la lectura e interpretación de las bandas de origen viral (Lejarazu y Ortiz, 2004).

Para que una muestra sea considerada como positiva según la OMS y en el equipo utilizado, se requiere de reactividad contra una proteína codificada por el gen GAG, el gen POL y una de ENV; porque esto nos indica la presencia de un virus que codifica proteínas internas, precursoras y de envoltura además de la presencia de transcriptasa inversa y endonucleasas. Y si estas proteínas son específicas del HIV-2, la posibilidad de tener un diagnóstico erróneo es muy baja.

De no ser así, la muestra se considera negativa o indeterminada para HIV-2, para lo cual basamos la interpretación de los resultados en el siguiente esquema que se proporciona en el equipo de BIO-RAD.

INTERPRETACION	PERFIL
POSITIVO	ENV + GAG + POL
INDETERMINADO	ENV + GAG ENV + POL GAG + POL GAG POL ENV
NEGATIVO	NINGUNA BANDA BANDAS NO SIGNIFICATIVAS

La OMS considera de suma importancia la presencia de bandas correspondientes al gen ENV (glicoproteínas transmembranarias y de envoltura) para considerar que una muestra es positiva para HIV-2; también que los resultados pueden ser considerados negativos si hay sólo una muy débil franja p16 (proteína interna), a diferencia del equipo que se utilizó que consideraría este resultado como indeterminado con la finalidad inmediata de que se realice otra prueba (Constantine y Col., 2005).

Tomando en cuenta los criterios anteriores tenemos:

159 muestras indeterminadas, 4 muestras negativas y 37 muestras que pueden considerarse negativas dados los criterios de la OMS ya que pertenecen sólo a p16; esto es, 79.5% de muestras indeterminadas para HIV-2 y 20.5% de muestras negativas para el mismo.

Los resultados indeterminados de la prueba de WB son la mayor fuente de ansiedad en pacientes y los que pueden llegar a generar desconcierto en los responsables del diagnóstico, más aún cuando el WB es una prueba de confirmación.

Este estudio se realizó con la finalidad de descartar que las muestras eran indeterminadas para HIV-1 por razones como:

- Respuesta de anticuerpos incompleta
- Tiras no bien estandarizadas
- Sueros que crucen con proteínas del core de otros retrovirus
- muestras con reactividad antigénica pobre

y que en realidad dicha indeterminación se debiese a la presencia del HIV-2 ya que en países en donde este virus es endémico se ha encontrado que un importante número de indeterminaciones para HIV-1 en realidad se debe a que el virus infectante es el HIV-2. Aunque también se han descrito resultados indeterminados en personas con factor reumatoide en el suero, lupus eritematoso, hiperbilirrubinemias, o parasitosis. Si se tiene en cuenta que en la cubierta del HIV están presentes antígenos HLA se puede entender que hasta el 30% de los multitransfundidos presenten reactividades en el WB y que incluso se puede describir en ellos falsos positivos con dicha técnica (Estévez, 2005).

En la figura 8, se muestra que la combinación de genes más frecuente es la de GAG + POL, es decir, que las proteínas internas, transcriptasa inversa y endonucleasas están presentes en un número importante de muestras y aún con ello no pueden ser consideradas como positivas para HIV-2; la presencia de estas proteínas puede deberse a otro retrovirus no necesariamente envuelto puesto que para ello habrían de presentarse proteínas que codifiquen para el gen ENV. Otros estudios han revelado que todas las pruebas para diagnosticar al HIV presentan errores, principalmente falsos positivos, estos debidos a la presencia de bacterias, parásitos e incluso algunos hongos (Estévez, 2005).

En los casos en donde se presentan combinaciones de genes GAG+ENV o POL+ENV, es clara la presencia de transcriptasa inversa y envoltura dejando ver con ello, una alta posibilidad de seroconversión incompleta.

En cuanto a los virus HTLV I y II que tanto se mencionan como probables causantes de reacciones cruzadas por la similitud de transmisión y de la producción de enfermedades después de largo tiempo, se sabe que los HTLV tienen efecto inmunoproliferativo más que inmunodeficiente y por lo tanto se les conoce como virus transformadores; además contienen distintos antígenos en lo que al HIV se refiere, por consiguiente no presentan un problema de diagnóstico en las pruebas de detección de anticuerpos contra el HIV. Si acaso puede haber una pequeña reacción cruzada entre los antígenos nucleicos p24 y p26. Los principales antígenos del HTLV incluyen las proteínas gag p19 y p 24, y las glicoproteínas gp 61/ 68 (Constantine y Col., 2005).

En cuanto a los resultados aquí presentados, un 79.5% de indeterminación para una prueba de este tipo (de confirmación), es demasiado elevado; esto puede deberse en gran parte a que los pesos moleculares reales de las proteínas y de las glicoproteínas de los virus HIV-1 y HIV-2 sólo difieren ligeramente entre uno y otro, y por tanto, se sabe que no es inusual esperar que ocurran reacciones cruzadas que arrojen resultados indeterminados.

Esto cuestiona la utilidad del WB como prueba de confirmación para HIV-2. Como ya se ha mencionado (sección 3.6), el WB ofrece una ventaja muy importante, que es la capacidad de indicar de manera específica contra qué antígenos se está presentando reactividad; de esta manera es posible demostrar que hubo muestras que presentaron reactividad a proteínas de diferentes genes, tales como POL y ENV en tres de ellas, para GAG y POL 66 y ocho para GAGA y ENV.

En el caso particular de las muestras con reactividad para el gen ENV se puede referir que su indeterminación se debe a una seroconversión incompleta más que a una reacción cruzada, porque los antígenos ENV están menos emparentados entre uno y otro virus y en consecuencia, no producen generalmente anticuerpos que entrecrucen reacciones.

Los anticuerpos que más comúnmente producen reacción cruzada entre los dos virus son aquellos que se dirigen a proteínas del núcleo por ejemplo: p24 y p25 para HIV-1, y p26 y 56 para HIV-2, tal como se puede observar en la tabla 5, p56 y p26 están presentes en un gran número de muestras lo que lleva a no descartar una reacción cruzada de estos virus en esta prueba (Constantine y Col., 2005, Estévez, 2005).

Además, con los datos que proporciona el WB, es posible saber qué tan importante es hacer un seguimiento del paciente ó la realización de una segunda prueba meses después, más aún si se está presentando reactividad contra proteínas del gen ENV.

Desde el punto de vista serológico, en la infección por el HIV ocurren cambios en la dinámica de producción de anticuerpos desde el momento de la seroconversión. El periodo ventana de dos a cuatro semanas de duración se caracteriza por la ausencia de anticuerpos y la presencia del antígeno p24 (en caso de HIV-1 y p26 para HIV- 2), proteína mayoritaria de la nucleocápside (core) del HIV. En estadios finales de la infección desaparecen los anticuerpos contra algunas de las proteínas estructurales internas del virus. En ciertas personas se ha observado la ausencia de criterios diagnósticos de positividad por WB en la etapa final de la enfermedad, como consecuencia del intenso deterioro del sistema inmune (Mariscal y Gateil, 1999).

Con respecto al equipo utilizado, aunque es aceptado por la OMS, tal vez la especificidad que ofrece no es tan alta como se espera cuando se trata de diferenciar estos virus de estructura y composición química tan parecida, lamentablemente no se pudieron comparar los resultados obtenidos con este equipo utilizando otro de diferente casa comercial ya que éste es el único que se comercializa en México.

Aunque existen varias desventajas con la prueba de WB, hasta el momento es la que proporciona mayor información y es considerada por mucho como la mejor prueba de confirmación y la más confiable para detectar la infección por el HIV.

Esta prueba se seguirá utilizando de manera importante en este país ya que la mayoría de los laboratorios no cuenta con la tecnología para realizar una secuenciación genética, mucho menos un cultivo viral, que les permita ofrecer un diagnóstico más preciso.

Con base en estos estudios, la presencia de HIV-1 indeterminados por WB no es un factor que se haya podido asociar a la presencia de HIV-2 de manera clara; sin embargo, es importante que se realicen monitoreos en la población mexicana para la búsqueda intencionada de este virus, ya que su presencia futura es posible.

Tal vez, dichos resultados eran esperados desde el principio, ya que México es considerado un país con una posibilidad muy baja de presentar casos positivos para HIV-2, ya que dicho virus es endémico en países del Oeste de África y el Caribe.

Pero hay que recordar que la geografía no es un factor totalmente determinante para que dicho virus no se presente en México, ya que países cercanos a éste (como EE. UU:), han presentado casos positivos, aunque muy pocos, pero no por ello menos importantes, esto debido principalmente a la migración.

Los costos de dicha prueba es una de las principales causas por las que no es incluida como un método de rutina en los laboratorios, aunado a que no parece ser justificable su realización por el bajo número de personas infectadas con este virus, en comparación con las que sí lo están por el HIV-1; por lo que esta prueba sólo está indicada en:

- Personas que sugieran una infección por HIV, es decir, por la presencia de infecciones oportunistas que se presentan en este caso y cuya prueba para HIV-1 haya sido negativa.
- Personas con una indeterminación inusual en su WB para HIV-1; es decir, presencia de GAG (p55, p24, o p17) + POL (p66, p51, o p32) y la ausencia de ENV (gp160, gp120, o gp41).

Por último, cuando se quiera hacer una diferenciación entre virus que presentan una composición química y estructural tan similar entre ellos, tales como el HIV-1 y el HIV-2, es necesario recurrir a diferentes métodos incluso más específicos que el Western-Blot tales como : cultivo viral y/o PCR para así obtener un diagnóstico más preciso.

El PCR también es útil para vigilar la terapia anti-viral, diagnosticar la infección en niños y diferenciar las infecciones HIV-1 y HIV-2, además de ser una técnica altamente sensitiva y específica.

10. CONCLUSIONES

- No se pudo comprobar que las indeterminaciones en el Western-Blot para HIV-1 en estas muestras estén relacionadas con la presencia del virus HIV-2.
- No se pudo comprobar la presencia del virus HIV-2 en México con el método utilizado.
- El Western-Blot es un método útil cuando se quiere saber de manera específica contra qué proteínas del virus se está presentando reactividad.
- Sería necesario emplear pruebas moleculares en estos pacientes para hacer un diagnóstico más preciso por el laboratorio,

11. Anexos

11.1. Tabla 6. Clasificación de la infección por el HIV según el CDC (Vázquez y Col., 2000).

Categorías Clínicas

A	B	C
<ul style="list-style-type: none"> • Infección por HIV asintomática. • Linfadenopatía generalizada persistente (LGP) (nódulos en dos o más lugares extrainguinales, por lo menos de 1 cm de diámetro por tres meses o más) • Enfermedad aguda (primaria) por HIV 	<p>Condiciones asintomáticas, no enlistada, ni en A ni en C y que :</p> <p>a) son atribuibles a la infección por HIV a un defecto en la inmunidad celular, o</p> <p>b) tienen una evolución clínica o manejo específico por estar complicados por el HIV.</p> <p>Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Angiomatosis bacilar. • Candidiasis Vulvovaginal persistente (mayor a un mes), con mala respuesta al tratamiento. • Candidiasis orofaríngea • Displasia cervical grave o carcinoma in situ. • Síndrome constitucional, ejemplo, fiebre (38.5) o diarrea mayor a un mes. • Leucoplaquia pilosa bucal. • <u>Herpes Zoster</u> • Púrpura trombocitopénica idiopática. • Listeriosis. • Neuropatía periférica • Enfermedad pélvica inflamatoria (específicamente si está complicada por abscesos tubo-ováricos). 	<ul style="list-style-type: none"> • Candidiasis: esofágica, traqueal, bronquial. • Coccidiomicosis extrapulmonar. • Carcinoma cervical invasor. • Criptococis. • Criptosporidiasis intestinal crónica (mayor a un mes) • Retinitis por CMV o cualquier otra infección por CMV que no sea en hígado, bazo ni ganglios linfáticos • Encefalopatía por HIV. • <u>Herpes simple</u> con úlceras muco cutáneas mayor a un mes, bronquitis o neumonía. • Histoplasmosis diseminada, extrapulmonar. • Isosporidiasis crónica mayor a un mes. • Sarcoma de Kaposi. • Linfoma Burkitt; linfoma inmunoblástico, linfoma primario del cerebro. • MAC ó <u>M.kansassi</u> extrapulmonar. • <u>M. tuberculosis</u> pulmonar o extrapulmonar. • Micobacterias, otras especies, diseminadas o extrapulmonares. • Neumonía por <u>P. carinii</u> • Neumonía recurrente (dos o mas episodios en un año). • Leucoencefalopatía multifocal progresiva. • Bacteremia por salmonella recurrente. • Toxoplasmosis cerebral. • Síndrome de desgaste debido al HIV.

11.2. Precauciones Universales.

Bajo el concepto de Precauciones Universales se incluyen las medidas necesarias que deben tomarse en cuenta con el fin de prevenir la transmisión de aquellos patógenos cuya vía principal de contagio es a través de sangre o secreciones (por ejemplo, Hepatitis "B", Hepatitis "C" o HIV). Estas medidas avaladas por las OMS y recomendadas por CONASIDA deben ser implementadas para todos los pacientes independientemente del diagnóstico de ingreso o motivo por el cual hayan entrado al hospital o clínica (Vázquez y Col., 2000).

Algunas precauciones se mencionan a continuación:

- a) Lavarse las manos: siempre antes y después de tener contacto con los pacientes.
- b) Uso de bata: las batas así como otro tipo de protección (delantales o ropa impermeable) deberán usarse cuando exista la posibilidad de contaminar la ropa con líquidos de alto riesgo.
- c) Máscara o lentes: deberán usarse siempre y cuando exista la posibilidad de salpicaduras.
- d) Prevenir heridas punzocortantes: las agujas y otros instrumentos cortantes deberán ser desechados en recipientes rígidos.
- e) NUNCA deberá recolocarse el capuchón de la aguja. Si es indispensable deberá, hacerlo con unas pinzas de kelly, los recipientes para objetos punzocortantes deberán estar disponibles en todos los servicios. (Considérese que las heridas con objetos punzocortantes constituyen la causa más frecuente de accidentes en el trabajo.

Estos métodos de control de infecciones tienen por objeto:

1. Reducir la transmisión de microorganismos de un paciente a otro por las manos del personal de salud.
2. Proteger al personal de salud que trabaja con pacientes expuestos a agentes infecciosos transmisibles mediante contacto directo con sangre y secreciones.

Deben considerarse como potencialmente infectantes a las secreciones y fluidos corporales que se mencionan a continuación: sangre, semen, secreción vaginal, leche materna, líquido cefalorraquídeo líquido sinovial, líquido pleural, líquido amniótico, líquido peritoneal, líquido pericárdico (Estévez, 2005).

Las heces, orina, secreción nasal, esputo y vómito se incluyen cuando estén contaminados con sangre visible. La saliva se considera infectante sólo en cirugía dental o en otros procedimientos de odontología donde es muy probable que se encuentre mezclada con sangre.

Recordamos que el uso de los guantes de vinil o látex está indicado cuando se va a tener contacto directo con sangre o secreciones, tomando en cuenta las siguientes reglas:

1. Para procedimientos que implican contacto con áreas del cuerpo normalmente estériles,
2. Para los procedimientos que implican contacto con membranas mucosas y durante otros procedimientos de diagnóstico y cuidado. En pacientes en que exista riesgo de contacto con sangre o secreciones. Los guantes deben cambiarse después de manejar a cualquier paciente y hay que lavarse las manos después de quitárselos, aunque éstos se encuentren intactos.
3. También se usarán guantes en las venopunciones, en la extracción de sangre o cuando existan soluciones de continuidad en la piel de las manos del personal.

Cuando exista riesgo de salpicaduras de sangre en las membranas mucosas de la boca. Ojos o nariz, se utilizarán cubreboca y lentes o protectores oculares. Cuando se prevé una gran exposición de sangre a todo el cuerpo se deberá utilizar una bata impermeable, por ejemplo, en la atención del parto, en la autopista de un accidentado (Estévez, 2005).

Otro tipo de situaciones donde se aplican las Precauciones Universales son las siguientes:

- En los procedimientos invasivos como los quirúrgicos (cirugía mayor o menor, partos y cesáreas).
- En los consultorios médicos y clínicas donde se realicen cirugías menores o procedimientos como biopsias, punciones lumbares y,
- En los servicios de imagen donde se realicen estudios invasivos de gabinete como la angiografía o caterismo cardiaco.

En resumen los métodos de control seleccionados se llevarán a cabo dependiendo de los procedimientos que se estén realizando con el fin de minimizar las posibilidades de contagio durante la exposición ocupacional (Soto y Estrada, 2004).

11.3. Manejo de material de desecho.

1. El material punzocortante como agujas, hojas de afeitar y hojas de bisturí deberá colocarse en un contenedor rígido, el cual contenga previamente hipoclorito de sodio al 5% en una dilución 1:10. En caso de no contar con algún tipo de contenedor comercial de materiales rígidos se podrán utilizar como recipientes latas vacías de alimentos o medicamentos. Posteriormente este material se incinerará si es posible o se introducirá en el autoclave para su esterilización. Con el material ya estéril se tapa el contenedor o lata y se le coloca una etiqueta que diga "Material Punzocortante potencialmente Contaminante" y se tira a la basura. Recuerde que una vez introducido el material al autoclave (u olla express) o incinerado, aunque se tire a la basura general, las personas dedicadas a la recolección o a la separación de la misma que no tuvieran la precaución de leer la leyenda o no supieran leer, no correrían ningún riesgo, ya que el material está completamente esterilizado.

Para reducir el riesgo de pinchazos o lesiones al estar realizando estos procedimientos es importante recordar que los instrumentos punzantes y cortantes deberán manejarse con el cuidado necesario. Hay que evitar reencapuchar las agujas o doblarlas para inutilizarlas y disminuir al máximo la manipulación de estos instrumentos (Constantine y Col., 2005).

2. Los desechos sólidos contaminados con sangre, semen o secreciones vaginales tales como gasa, algodón, residuos anatomopatológicos y de laboratorio deben considerarse como Potencialmente Contaminantes. Este material deberá colocarse en bolsas impermeables impregnado en cloro a una dilución 1:10 posteriormente incinerarse o meterse en el autoclave u olla express para su esterilización. El material ya esterilizado puede ser desechado en la basura común sin ningún riesgo para persona alguna.

Es importante recordar que para realizar estos procedimientos siempre se debe utilizar guantes y lavarse las manos después de terminar el procedimiento.

3. Los desechos de material líquido como sangre entera, excreciones y secreciones (orina, líquido amniótico y secreciones respiratorias) deberán depositarse en una tarja o lavabo conectado directamente a un sistema que tenga el tratamiento adecuado. Si el sistema no cuenta con el tratamiento para desinfectar los líquidos potencialmente infectantes, se deberá agregar algún desinfectante a la secreción antes de tirarla en la tarja o lavabo (Constantine y Col., 2005).

11.4. Tabla 7. Características de la transmisión del HIV (Vázquez y Col., 2000).

Ruta	Características
Sexual	Homosexual o Heterosexual
Parenteral	Uso de drogas intravenosas, transfusión de sangre y hemoderivados, picadura con agujas contaminadas, procedimientos médicos/dentales y trasplantes de órganos.
Madre a hijo	Perinatal, alimentación con leche materna.
Cutánea	Membrana, mucosa, piel.
Cofactores	Características
Estilo de vida	Muchas parejas sexuales y promiscuas (contacto con sexoservidoras). abuso de drogas, compartir agujas contaminadas.
Hábitos de vida	Desnutrición, fumar, no dormir, consumo de alcohol, no usar preservativo
Prácticas sexuales traumática	Abrasión pene-vagina, pene-ano, boca-ano.
Lesiones genitales ulcerativas	Inóculo de otros microorganismos que faciliten la infección por el HIV.
Infectividad	Características
Cepa viral	Antigenemia y tamaño de inóculo.
Susceptibilidad del hospedero	Factores genéticos, cuenta baja de CD4, estado inmune, raza, grupo étnico.

11.5. Tabla 8. Agentes infecciosos secundarios más comunes en enfermos con SIDA (Vázquez y Col., 2000).

AGENTE INFECCIOSO	ORGANO INFECTADO
Virus	
<i>Cytomegalovirus</i>	Pulmón, ojo, sangre, intestino, cerebro
<i>Herpes simple</i>	Ano, recto, ojo
<i>Herpes Zoster</i>	Pie, ojo, diseminado (todo el cuerpo)
<i>Hepatitis B</i>	Hígado
<i>Epstein-Barr</i>	Ganglios linfáticos
Bacterias	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pulmón
<i>Salmonella ssp</i>	Intestino, sangre
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pulmón
<i>Treponema pallidum</i>	Genitales, sangre (diseminación)
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Sangre
<i>Haemophilus influenzae</i>	Cerebro
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Sangre, tracto gastrointestinal, Pulmón
<i>Mycobacterium avium intracelular (MAC)</i>	Sangre, Pulmón
Hongos	
<i>Candida ssp</i>	Boca, esófago, sangre, ano, vagina
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Extrapulmonar; Pulmón
<i>Penicillium mameffeii</i>	Pulmón
<i>Cryptococcus meningitidis</i>	Meninges, sangre, pulmón
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Sangre
<i>Aspergillus ssp</i>	Pulmón
Parásitos	
<i>Pneumocystis carinii</i>	Pulmón
<i>Cryptosporidium ssp</i>	Intestino
<i>Toxoplasma gondii</i>	Cerebro, pulmón, ojo, corazón, hígado, páncreas, sangre
<i>Toxoplasma encephalitis</i>	Cerebro, pulmón, ojo, corazón, hígado, páncreas, sangre
<i>E. histolytica</i>	Intestino
<i>Isospora belli</i>	Intestino

11.6. Tabla 9. Análogos nucleósidos inhibidores de la transcriptasa inversa (Vázquez y Col., 2000).

Nombre genérico	Lamivudina	ddl	DdC	D4t	AZT	Adefovir dipivoxil	Abacavir
Nombre comercial	Epivir	Videx	HIVID	Zerit	Retrovir	Preveon	1592u89
Dosis recomendada	150 mg	60 kg 300-400 mg<60kg 125 mg	0.75 mg	60 Kg 40 mg,<60kg 39 mg	200 o 300 mg	60 mg	300 mg
Biodisponibilidad	86 %	40 %	85 %	86 %	60 %	40% con comida	95 %
Vida media (suero)	86 %	1.6 hrs	85 %	86 %	1.1 hrs	40% con comida	95 %
Vida media intracelular	12 hrs	25-40 hrs	3 hrs	3.5 hrs	3 hrs	-	-
Penetración SNC	10 %	20 %	20 %	30-40 %	60 %	No conocido	Buena
Eliminación	Renal	Renal 50 %	Renal 70 %	Renal 50 %	Renal	Renal	Renal
Reacciones adversas	Minima	Pancreatitis, neutropatia	Neuropatía periférica	Neuropatía periférica	Neutropenia, anemia	Falla renal, glucosuria, proteinuria	Hipersensibilidad

11.7. Tabla 10. Inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa (Vázquez y Col., 2000).

Nombre genérico	Nevirapina	Delavirdina	Efavirenz
Nombre comercial	Viramune	Rescriptor	Sustiva –(DMP-226)
Dosis recomendada	200 mg	400 mg	600 mg
Biodisponibilidad oral	Más del 90 %	85%	50-60 %
Vida media (suero)	25-30 hrs	5-8 hrs	40-52 hrs
Eliminación	Metabolizado por el citocromo P450, 80% orina, 10% heces	Metabolizado por citocromo P450, 51% en orina, 44% heces	Induce e inhibe al citocromo P450
Reacciones adversas	Salpullido, hepatitis, casos de Stevens-Johnson	Dolor de cabeza, salpullido	Salpullido no serio, mareos

11.8. Inhibidores de proteasa (Vázquez y Col., 2000).

Nombre genérico	Indinavir	Ritonavir	Saquinavir	Nelfinavir
Nombre comercial	Crixivan	Nervir	Invirace y Fotorvace	Viracept
Dosis recomendada	800 mg c/8 hrs	600 mg c/12 hrs	600/1200 mg	750 mg
Biodisponibilidad	65% (con estómago vacío)	70-90% (con alimento)	4% (con alimento)	20-80% con la comida
Almacenamiento	25° C	2-8° C	2° C	25° C
Vida media (suero)	1.5-2 hrs	3-5 hrs	1-2 hrs	3.5-5 hrs
Penetración SNC	moderada	Pobre	pobre	moderada
Eliminación	Metabolismo biliar	Metabolismo biliar	Metabolismo biliar	Metabolismo biliar por el complejo citocromo P450
Reacciones adversas	Nefrotóxico, bilirrubinemia	Incrementa triglicéridos y transaminasas	Dolor de cabeza, incrementa transaminasas	Diarrea
Interacción con otros fármacos	Inhibe enzimas del complejo citocromo P450	Inhibe enzimas del complejo CP450	Inhibe enzimas del complejo CP450	Inhibe enzimas del complejo CP450

12. GLOSARIO

Ácido nucléico: Molécula constituida de carbono, hidrógeno, nitrógeno y fósforo, son polímeros de nucleótidos, constituidos por: azúcar (ribosa (RNA), o desoxirribosa (DNA)), base nitrogenada (púricas y pirimídicas).

Los ácidos nucléicos están cargados negativamente.

ADN: Las moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN) se conocen como los elementos fundamentales de la vida almacenan la información genética necesaria para crear células y asegurar su función apropiada.

Anticuerpos: Los anticuerpos o inmunoglobulinas son los mediadores de la respuesta inmune humoral y son secretados por las células plasmáticas y sus precursores, los linfocitos B.

Antígeno: Cualquier molécula que puede ser reconocida específicamente por cualquiera de los componentes del sistema inmune , es decir, cualquier molécula capaz de inducir la respuesta de anticuerpos específicos.

ARN: Una molécula de función bioquímica similar al ADN que transmite información genética del ADN a otras partes de la célula y controla ciertos procesos químicos dentro de la célula misma.

Carga viral: La cantidad de HIV en la sangre, medida en el número de copias del virus por mililitro de plasma sanguíneo.

Enzimas: Proteínas que catalizan ciertas reacciones bioquímicas.

HLA: ("human leukocyte antigens"), Estas moléculas son glucoproteínas presentes en la superficie de las células nucleadas, linfocitos B, células dendríticas y macrófagos.

Infeción oportunista: Una infección que sucede en personas con sistemas inmunológicos defectuosos y que es ocasionada por un organismo que generalmente no afectaría a individuos con sistemas inmunológicos sanos.

Inhibidores de fusión: Un tipo de fármaco que evita que el HIV penetre la célula huésped. Actualmente solo hay un inhibidor de fusión disponible en el mercado, Fuzeon.

Inhibidores de integrasa: Fármacos en etapa experimental que interfieren con la enzima integrasa del HIV. La integrasa juega un papel clave en el proceso donde el HIV deposita su propio material genético en la célula huésped para obligar a la célula a fabricar nuevas partículas de virus.

Inhibidores de proteasa: Una clase de medicamentos antirretrovirales, diseñados para interferir en la actividad de la enzima proteasa del HIV. La proteasa funciona como una "tijera química" que corta las recién creadas cadenas de proteína en pequeños trozos. Estos trozos son utilizados para fabricar nuevas partículas de HIV.

Inhibidores de transcriptasa inversa: Medicamentos que interfieren con la enzima llamada transcriptasa inversa que el HIV necesita para elaborar copias de sus genes dentro de la célula hospedera y así replicarse. Estos son los tipos más antiguos de terapias antirretrovirales y viene en tres tipos, de acuerdo a su manera de actuar. Los tres tipos son: inhibidores de transcriptasa inversa de nucleósidos, inhibidores de transcriptasa inversa de nucleótidos, e inhibidores de transcriptasa inversa no homóloga de los nucleósidos.

Macrófago o histiocito: Grandes células que fagocitan, procesan los antígenos y los presentan a otras células del sistema inmune.

Medicamentos antirretrovirales: Sustancias utilizadas para eliminar o inhibir la multiplicación de retrovirus como el HIV.

Nucleósido: Es la unión de una base nitrogenada más un azúcar (ribosa o desoxirribosa).

Nucleótido: Es la unión de una base nitrogenada más un azúcar, más un H_3PO_4

No-progresador de largo plazo: Un individuo que ha vivido con el HIV por lo menos 7 a 12 años y que tiene un conteo estable de células CD4+ a pesar de no haber recibido una terapia antirretroviral.

Proteína: Una molécula grande compuesta de una o más cadenas de moléculas llamadas amino ácidos. Las proteínas son necesarias para la estructura, función y regulación de las células del cuerpo, los tejidos y los órganos. Ejemplos de éstas son las hormonas, las enzimas, y los anticuerpos.

Replicación: Proceso por el cual cada cadena del ADN original, es copiada exactamente mediante el apareamiento de bases con nucleótidos complementarios. Si la replicación es sin error, el producto son dos moléculas de ADN de doble cadena.

Retrovirus: se les llama retrovirus a los virus que tienen la particularidad de integrar su material genético (ARN del genoma) en el ADN celular del hospedero transcribiendo primero este genoma a ADN por medio de la enzima ADN polimerasa dependiente de ARN o transcriptasa inversa.

Sarcoma de Kaposi: Es un tumor multifocal originado en las células endoteliales, es muy frecuente en enfermos con SIDA y suele afectar ampliamente la piel, las mucosas, las víceras y los ganglios linfáticos. Es causado por el virus herpes humano 8 (VHH8).

Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA): Es el resultado más severo de una infección del virus de inmunodeficiencia humana (HIV). Ocurre cuando el sistema inmunológico queda efectivamente inhabilitado. Las personas con SIDA frecuentemente padecen de infecciones que afectan los pulmones, el cerebro, los ojos y otros órganos. También pueden experimentar pérdida de peso severa, diarrea y algunos tipos de cáncer.

Sistema inmunológico: Protege al organismo de una amplia variedad de agentes

infecciosos (bacterias, hongos, parásitos, virus y otros) que pueden causar en el organismo que los recibe diferentes enfermedades. Para ello es capaz de reconocer a los componentes del agente patógeno e iniciar una serie de respuestas encaminadas a eliminarlo cuyas características son la especificidad y la memoria.

Terapia antirretroviral altamente activa (TARA): Una combinación de tratamiento con tres o cuatro medicamentos diferentes que ha resultado ser efectiva en la manera que obstaculiza el progreso del HIV y en la forma de reducir la cantidad del virus hasta el punto en que se vuelve indetectable en el torrente sanguíneo.

Terapia combinada: Dos o más medicamentos antirretrovirales o terapias, usados conjuntamente para obtener resultados óptimos contra la infección de HIV y/o SIDA. La combinación de fármacos prueba ser más efectiva en la reducción del HIV en el cuerpo que la aplicación de una sola droga. Un ejemplo de la terapia combinada sería el uso de dos fármacos análogos a los nucleósidos con un inhibidor de proteasa o un inhibidor de transcriptasa inversa no análogo.

Traducción: Proceso complejo mediante el cual la información que ha sido transcrita del DNA al RNA dirige la polimerización ordenada de aminoácidos específicos para la síntesis de proteínas.

Transcripción: Proceso por el que la información contenida en el DNA es copiada, mediante el apareamiento de bases, para formar una secuencia complementaria de ribonucleótidos, una cadena de RNA.

Transmisión: El proceso mediante el cual el virus pasa de un individuo a otro. El HIV es transmitido a través de fluidos corporales, en particular la sangre, el semen, secreciones vaginales y leche materna. Las formas más comunes de transmisión ocurren mediante la actividad sexual desprotegida, el intercambio de agujas o jeringas y de una madre lactando a su bebé.

Virión: Partícula infectiva, con acción biológica y capacidad de infectar.

Virus: Partícula constituida de material genético que se multiplica en células vivas y sintetiza un aparato llamado virión para su transferencia a otras células.

Virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1): El virus que se cree causa la mayoría de los casos del SIDA. La infección ocurre cuando el virus deposita su propio material genético en la célula huésped, dañando su función natural y convirtiéndola en una fábrica de HIV.

Virus de inmunodeficiencia humana tipo 2 (HIV-2): Un virus estrechamente relacionado al HIV-1 que también puede ocasionar SIDA. Fue aislado por primera vez en África Occidental.

BIBLIOGRAFIA

Abbas A, Lichtman A, Robert J. Cellular and molecular immunology, 10a ed. W. Sanders and Company, EE. UU. 2002; 213-230, 249-277, 278-296.

Boom MK, Míguez MJ, Shor-Posner G. Immunoglobulin E levels in relationship to HIV-1 dease. *Allergy*. 2000; 50: 157-161.

Brun- Vezinet F, Rey MA, Katlama C. Lymphadenopathy -associate virus type 2 in AIDS. *Lancet*. 1999; 1: 128-132.

Centers for Disease Control. Update: Human immunodeficiency virus type 2. *MMWR*. 2000; 36: 833-836.

Chaisson RE, Keruly JC, More RD. Association of initial CD4 cell count and viral load with response to highly active antiretroviral therapy. *JAMA*. 2000; 284: 3128-3129.

Constantine NT, Callahan JD, Watts DM, Mitchell S, Gringle R. Test for detection of HIV and quality control. 3rd , ed. AIDSTECH, EE. UU. 2005; 5-13, 24-43, 45.54, 64-77.

Dacey RJ, Lane HC. Laboratory methods in the diagnosis and prognostic staging of infection with human immunodeficiency virus type 1. *Rev. Infec Dis*. 1999; 12: 912-943.

Damond F, Apetri C. Variability of human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) infecting patients living in france. *Virology*. 2001; 280: 13-30.

De Vita VT, Hellmans S, Rosenberg SA. AIDS: etiology, diagnosis, treatment and prevention, 3rd , ed. Lippincott Company, EE. UU. 1999: 84-128.

Enríquez A, Hernández L. García G. Esbozo general sobre la discriminación de los pacientes con SIDA. *REDSIDA*. 2004: 12-15.

Estévez ME. El virus de la inmunodeficiencia humana. Revista de divulgación científica y tecnológica de la asociación ciencia hoy. 2005; 4(21): 38-43.

Fynan EF, Webster RG, Fuller DH. DNA vaccines: a novel approach to immunization. Int J. Immunopharmac. 2003; 17: 79-83.

Gao F, Yue L, Robetson DL, Hill SC, Hui H, Biggar RJ. Genetic diversity of human immunodeficiency virus type 2. Virol. 1999; 68: 7433-7447.

Goeder JJ. Testing for human immunodeficiency virus. Ann Intern Med. 1999, 105 : 514-522.

Gougeon ML. T cell apoptosis as a consequence of chronic activation of the immune system in HIV Infection. Medical Biologic. 1999; 374: 121-127.

Jackson JB, Balfour H. Practical diagnostic testing for human immunodeficiency virus. Clin Microbiol. Rev. 2000; 1: 124-138.

Kunasol P. International HIV/AIDS vaccine trials: expectations of this countries. AIDS Res Hum Retrovir. 2002; 9: 5135-5136.

Lange J, Goudsmith. Decline of antibody reactivity to HIV core protein secondary to increased production of HIV antigen. Lancet. 1999; 1: 44-56.

Lejarazu L, Ortiz R. Test serologic diagnosis of the HIV infection. J Inf Dis. 2004; 36: 138-156.

Levy JA. Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. J Infect. 1999; 57: 183-298.

Louwagie J, Janssen W, Mascola J. Genetic diversity of the envelope glycoprotein from human immunodeficiency virus type 1 isolates of African origin. J Virol. 2003; 69: 263-272.

Mariscal D, Gateil JM. Evaluación de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV). *Inmunología*. 1999; 7: 9-17.

Markovitz D. Infection with the human immunodeficiency virus type 2. *Ann Intern Med*. 1998; 118: 218- 222.

ONUSIDA/OMS. Informe de la epidemia mundial del HIV/SIDA. ONUSIDA, Suiza 2004; 75-81.

OMS/ONUSIDA. Situación de la epidemia de SIDA en América Latina. 2004 ; 36 : 57-61.

Ortiz de Lejarazu R. Microbiological diagnosis of HIV infection. 1998 ; 12 : 189-234.

Pieniazek O, Baggs J, Hu D, Matar G, Abdelnoor AM, Makhbat JE, Uwaydah M, Bisir A, Ramos A, Janini L, Heneine W. Introduction of HIV-2 and multiple HIV-1 subtypes . *Infec Dis*. 2000; 4: 320-333.

Rodes B Holguín A. Emergence of drug resistance mutation in human immunodeficiency virus type 2 infected subjects undergoing antiretroviral therapy. *J Clin Microbiol*. 2000; 38: 1370-1374.

Roitt MI. *Inmunología fundamentos*, 10 ed.; edit. Panamericana, México, 2002; 357-360.

Ruibal A, Riera N, Bracco MM. Apoptosis in HIV infection. *Medicina Buenos Aires*. 1999; 54 (6): 661-670.

Schutten M. Development of a real time quantitative RT-PCR for the detection of HIV-2. *J Virol Methods*. 2000; 88: 81-87.

Soto LE, Estrada H. Guía de manejo antirretroviral de las personas que viven con el HIV/SIDA, edt. Obelisco, México, 2004 ; 19-33, 63-74.

Soriano V, Gutiérrez M, Caballero E. Infection with human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) in Spain. *J Infect Dis.* 1999 ; 105 : 241-245.

Smith N, Shaw T. Antiretroviral therapy for HIV-2 infected patients. *J Infect.* 2001; 42: 126-133.

Vázquez R, Uribe P, Ponce de León S. Guía para la atención médica de pacientes con infección por HIV/SIDA en consulta externa y hospitales, 4ª ed, edit. Obelisco, ISBN, México. 2000; 14.32, 134-152.

Vidal J. Retrovirus. *Med Clin.* 1997; 100: 132-136.