



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

IMPORTANCIA DE LAS TÉCNICAS INMUNOLÓGICAS MOLECULARES
COMO APOYO AL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DIFERENCIAL
DE INFECCIÓN AGUDA POR VIH

SOLORZANO HERRERA ANDY JEFFERSON
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

MACHALA
2020



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

IMPORTANCIA DE LAS TÉCNICAS INMUNOLÓGICAS
MOLECULARES COMO APOYO AL DIAGNÓSTICO
MICROBIOLÓGICO DIFERENCIAL DE INFECCIÓN AGUDA POR
VIH

SOLORZANO HERRERA ANDY JEFFERSON
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

MACHALA
2020



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

IMPORTANCIA DE LAS TÉCNICAS INMUNOLÓGICAS MOLECULARES COMO
APOYO AL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DIFERENCIAL DE INFECCIÓN
AGUDA POR VIH

SOLORZANO HERRERA ANDY JEFFERSON
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

SILVERIO CALDERON CARMEN ELIZABETH

MACHALA, 10 DE DICIEMBRE DE 2020

MACHALA
10 de diciembre de 2020

IMPORTANCIA DE LAS TÉCNICAS INMUNOLÓGICAS MOLECULARES COMO APOYO AL DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DIFERENCIAL DE INFECCIÓN AGUDA POR VIH

por Andy Solorzano

Fecha de entrega: 19-nov-2020 09:53p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1451791070

Nombre del archivo: STICO_MICROBIOL_GICO_DIFERENCIAL_DE_INFECCI_N_AGUDA_POR_VIH.docx
(72.04K)

Total de palabras: 3230

Total de caracteres: 18133

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, SOLORZANO HERRERA ANDY JEFFERSON, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado Importancia de las técnicas inmunológicas moleculares como apoyo al diagnóstico microbiológico diferencial de infección aguda por VIH, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.


El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 10 de diciembre de 2020



SOLORZANO HERRERA ANDY JEFFERSON
0706612389

RESUMEN

Introducción: El diagnóstico clínico de infección por VIH únicamente se puede establecer por métodos diferenciales, debido a que ninguna de las manifestaciones clínicas son específicas de VIH. Los métodos de diagnóstico consideran las pruebas rápidas e inmunoensayos moleculares como: detección de p24, métodos de ELISA de cuarta generación, pruebas confirmatorias como Western Blot o Inmunoensayos en línea y PCR.

Objetivo: Investigar los métodos inmunológicos moleculares confirmatorios de VIH mediante la diferenciación de sus características para determinar la infección aguda como refuerzo al diagnóstico microbiológico diferencial.

Métodos: Se realiza un estudio descriptivo de un caso clínico, con los análisis inmunológicos moleculares que refuerzan el diagnóstico microbiológico diferencial para la determinación temprana de infecciones por VIH.

Resultados: Los métodos inmunológicos moleculares para el diagnóstico diferencial de VIH comprenden, desde técnicas de 3^{ra} generación, capaz de diagnosticar infección una vez alcanzada la fase aguda, hasta técnicas de cuarta generación que detectan infección a la tercera semana de contagio, las pruebas confirmatorias como el Western Blot y LIA presentan una sensibilidad de 98 a 99% y especificidad de 99,9. Las técnicas moleculares revisadas pueden reducir el tiempo de diagnóstico a partir del 11^{vo} día como la p24 o la Reacción en cadena de polimerasa (PCR).

Conclusión; Los métodos inmunológicos moleculares permiten la detección de infección por VIH en un tiempo de ventana reducido, esto debido a su alta especificidad y sensibilidad, ofreciendo resultados de diagnóstico y confirmación a partir de la 3 semana de contagio.

Palabras clave: VIH, diagnóstico microbiológico diferencial, técnicas de Inmunoensayo en línea, técnicas moleculares, validez de prueba diagnóstica,

ABSTRACT

Introduction: The clinical diagnosis of HIV infection can only be established by differential methods, since none of the clinical manifestations are specific to HIV. The diagnostic methods consider rapid tests and molecular immunoassays such as: p24 detection, fourth generation ELISA methods, confirmatory tests such as Western Blot or online immunoassays and PCR.

Objective: To investigate confirmatory molecular immunological methods of HIV by differentiating its characteristics to determine acute infection as a reinforcement of differential microbiological diagnosis.

Methods: A descriptive study of a clinical case is carried out, with molecular immunological analyzes that reinforce the differential microbiological diagnosis for the early determination of HIV infections.

Results: Molecular immunological methods for the differential diagnosis of HIV include, from 3rd generation techniques, layers of diagnosing infection once the acute phase has been reached, to fourth generation techniques that detect infection at the third week of infection, confirmatory tests such as Western Blot and LIA show a sensitivity of 98 to 99% and a specificity of 99.9. The revised molecular techniques can reduce diagnostic time from day 11 such as p24 or Polymerase Chain Reaction (PCR).

Conclusion; Molecular immunological methods allow the detection of HIV infection in a reduced window time, due to its high specificity and sensitivity, offering diagnostic and confirmation results after 3 weeks of infection.

Keywords: HIV, differential microbiological diagnosis, online immunoassay techniques, molecular techniques, Validity of diagnostic test.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUCCIÓN | I |
| 2. OBJETIVOS..... | II |
| 2.1 Objetivo general..... | II |
| 2.2 Objetivos específicos | II |
| 3. VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA..... | 1 |
| 3.1 Estructura y morfología | 1 |
| 3.2 Taxonomía y clasificación | 1 |
| 3.3 Infección por VIH..... | 1 |
| 3.4 Infección aguda (Síndrome retroviral agudo)..... | 2 |
| 3.5 Infección crónica o latencia clínica..... | 2 |
| 3.6 Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida o sida..... | 2 |
| 3.7 Enfermedades autoinmunes | 2 |
| 3.8 Técnicas moleculares de diagnóstico diferencial..... | 3 |
| 3.8.1 Antígeno p24 | 3 |
| 3.8.2 PCR | 3 |
| 3.8.3 ELISA..... | 4 |
| 3.8.4 WESTERN-BLOT (WB) | 4 |
| 3.8.5 LIA | 5 |
| 4. MATERIALES Y MÉTODOS | 5 |
| 4.1 Tipo de estudio: | 5 |
| 4.2 Métodos: | 5 |
| 4.3 Material de estudio: | 5 |
| 4.4 Pregunta a resolver..... | 5 |
| 4.5 Caso practico..... | 5 |
| 5. RESULTADOS | 7 |
| 5.1 Técnicas inmunológicas aplicadas al diagnóstico de infección por VIH. | 7 |

| | |
|-----------------------|---|
| 6. DISCUSIÓN..... | 7 |
| 7. CONCLUSIONES | 8 |
| 8. BIBLIOGRAFÍA..... | 9 |

1. INTRODUCCIÓN

Para el año del 2019 se reportó que aproximadamente 38 millones de personas entre niños y adultos fueron reportados como pacientes seropositivos al virus de la inmunodeficiencia humana, desde 1990 al año 2019 la prevalencia del VIH a nivel mundial ha aumentado hasta casi 4 veces.

En el año de 1984 se reportaron los primeros casos de VIH en el Ecuador, el Ministerio de Salud Pública, junto con el apoyo de ONUSIDA, reportaron que para el año 2017 la cifra de personas contagiadas llegó a 36,544 pacientes seropositivos para VIH, con edad aproximada de 15 a 49 años, presentando el mayor número de casos en hombres¹.

El diagnóstico temprano de la infección se ha convertido en el objetivo alcanzar de medicina actual, en la presente investigación se analiza la importancia del diagnóstico microbiológico diferencial para la confirmación de infección por VIH, con la finalidad de diferenciar sus características para reforzar el diagnóstico microbiológico diferencial.

La infección por VIH únicamente se puede establecer por métodos diferenciales de diagnóstico microbiológico debido a que ninguna de las manifestaciones clínicas son específicas de VIH. Se analizaron las técnicas de laboratorio para diagnosticar la infección por VIH, revisando los métodos directos como técnica inmunoenzimáticas (ELISA), métodos directos como la detección del antígeno p24 y pruebas de confirmación como Western Blot y el inmunoensayo lineal (LIA), así como las pruebas de diagnóstico agudo p24 y PCR.

El presente trabajo de investigación antes mencionado tiene como objetivo investigar los métodos de diagnóstico inmunológicos que ayudan a la determinación de infección por VIH, Se realizó una investigación bibliográfica para determinar la importancia de las técnicas inmunológicas en el diagnóstico de infección causada por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana, donde se revisó diversos métodos de detección y seleccionó los métodos inmunológicos moleculares que ayudan a mejorar el diagnóstico microbiológico diferencial, se comparó los métodos seleccionados analizando su especificidad, sensibilidad, tiempo de determinación y accesibilidad.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

- Investigar los métodos inmunológicos confirmatorios de VIH mediante la diferenciación de sus características para determinar la infección aguda como refuerzo al diagnóstico microbiológico diferencial.

2.2 Objetivos específicos

- Analizar la importancia de las técnicas inmunológicas moleculares mediante revisión bibliográfica para el refuerzo del diagnóstico microbiológico diferencial en la infección aguda de VIH.
- Seleccionar los métodos inmunológicos eficaces para determinar la infección aguda de VIH como apoyo al diagnóstico microbiológico diferencial de VIH.

3. VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

3.1 Estructura y morfología

El virus del VIH puede presentar entre 90 y 120 nm de diámetro; en este se encuentra su genoma de ácido ribonucleico (ARN) protegido por tres capas. La capa externa es una bicapa lipídica constituida por 72-80 espículas formadas por las glicoproteínas gp120 y gp41, quienes son fundamentales para que el virus pueda unirse e infectar a la célula blanco u hospedadora. En la envoltura intermedia se halla la proteína p17 formando una matriz viral icosaédrica. En la capa interior o núcleo viral, también denominado nucleocápside, se encuentra la proteína p24, la proteína p7/p9, dos hebras de ARN que contienen las instrucciones genéticas requeridas para que el virus se replique y tres enzimas necesarias para este proceso (proteasa, transcriptasa inversa e integrasa)². A su vez, el material genético está constituido por cinco genes estructurales (pol, gag, tat, rev, env) y cinco genes reguladores (nef, vpx, vpr, vif, vpu)³.

3.2 Taxonomía y clasificación

El VIH pertenece al género *Lentivirus* de la familia *Retroviridae*; orden *Ortervirales*; reino *Paravirae*; grupo VI por ser un virus ARN monocatenario retrotranscrito y dominio *Riboviria*. Existen dos tipos: VIH Tipo 1 y VIH Tipo 2⁴. El Tipo 1 se divide en tres grupos: M, O, N y P. El grupo M es el responsable del SIDA. El Tipo 2 sólo se subclasifica en 5 grupos que van desde la A hasta la E^{3,5}.

3.3 Infección por VIH

Una vez que la persona se ha infectado, si no recibe tratamiento oportuno, la infección evoluciona en fases hasta provocar el síndrome de inmunodeficiencia adquirida o SIDA⁶. Se han presentado numerosas ocasiones donde los síntomas que se manifiestan se confunden con otras enfermedades pasando desapercibidos y, en muchos casos, el diagnóstico de la enfermedad se da en la última etapa cuando el paciente ha desarrollado SIDA. En estos casos, aun con tratamiento antirretroviral, estos pacientes fallecen durante los tres primeros meses ya que su sistema inmunológico se haya destruido completamente, la carga viral es sumamente elevada y ya se han manifestado un sinnúmero de enfermedades autoinmunes y oportunistas⁷. Cabe recalcar que los tratamientos con antirretrovirales no curan la infección, pero evitan que el paciente llegue a esta fase final de la enfermedad; además de ello, reducen la carga viral reduciendo también el riesgo de contagio⁸.

3.4 Infección aguda (Síndrome retroviral agudo)

Es la etapa más temprana de la infección (2-4 semanas después del contagio). Los síntomas se presentan en un >75% de los pacientes y pueden confundirse con una influenza o mononucleosis infecciosa ya que incluyen dolor de cabeza, malestar, fiebre, erupción cutánea, diarrea leve, etc⁹. En esta etapa, el virus destruye los linfocitos CD4 impidiendo que luchen contra él, por tanto, la concentración en sangre del virus es elevada. Esta etapa es la más peligrosa ya que el riesgo de contagio es sumamente alto por la elevada carga viral¹⁰.

3.5 Infección crónica o latencia clínica

Durante esta fase, el virus se sigue replicando, esparciendo y debilitando lentamente el organismo, pero en concentraciones menores. Esta fase es también conocida como infección por VIH asintomática dada la ausencia de síntomas. En la mayoría de los casos, la persona ignora la enfermedad y omite tratamiento alguno. Obviamente sin tratamiento, la infección evoluciona a la etapa final o SIDA en un periodo de 2-20 años aproximadamente⁹. Estudios previos sugieren que una gran cantidad de pacientes detectados como seropositivos al VIH en su tercera década fueron infectados con el VIH en su adolescencia entre los 17-19¹¹.

3.6 Síndrome de Inmunodeficiencia adquirida o sida

Es la etapa final y más grave de la infección. En esta fase el virus ya ha destruido totalmente el sistema inmunológico convirtiendo al paciente en el blanco perfecto para enfermedades autoinmunes ocasionadas por patógenos oportunistas y cáncer. Si el paciente se encuentra en esta etapa y no recibe tratamiento, la estimación de vida es de hasta 3 años aproximadamente^{3,8}.

3.7 Enfermedades autoinmunes

Las enfermedades autoinmunes son un conjunto de patologías que se generan cuando el sistema inmunológico de una persona ha sido comprometido. Las personas infectadas con el virus de VIH son altamente proclives a contraer un sinnúmero de infecciones que normalmente una persona inmunocompetente no desarrollaría. En este caso el virus ataca y destruye los linfocitos CD, estas son células del sistema inmune especializadas en sintetizar los anticuerpos necesarios para combatir el daño producido por agentes externos¹².

Las lesiones cutáneas en pacientes con VIH/SIDA más prevalentes son la candidiasis, sarcoma de Kaposi, Mycobacterium tuberculosis, Pneumocystis jirovecii, citomegalovirus y el herpes zoster. Otras enfermedades autoinmunes frecuentes son el síndrome de Sjögren, toxoplasmosis cerebral, psoriasis, lupus eritematoso sistémico, síndrome antifosfolpídico, vasculitis sistémica, linfoma primario del cerebro, anemia hemolítica autoinmune, etc¹³.

3.8 Técnicas moleculares de diagnóstico diferencial

3.8.1 Antígeno p24

La proteína CA, core antigen o más conocida como (p24), es la proteína que conforma parte del cápside del virus del VIH, cada virus está formado por entre 1.500 y 3.000 moléculas de p24, siendo esta la proteína viral más abundante durante la primera y tercera semana de contagio, este antígeno es utilizado para la determinación temprana de infecciones por VIH, aun antes de que los anticuerpos para VIH sean producidos¹⁴.

Por tanto, se considera, un marcador precoz de la infección aguda por el virus del VIH y en la fase final (SIDA) determinado en suero o plasma. Esta proteína puede detectarse entre los días 11-13 después del contagio, permaneciendo en concentraciones sanguíneas elevadas durante 1-2 meses tras la infección. En la fase crónica su concentración disminuye por la presencia de los anticuerpos anti-VIH, pero, en la fase de SIDA sus niveles se elevan notablemente por la nueva replicación del virus¹⁴.

Esta prueba permite también la detección del virus en RN nacidos de madres VIH positivas. Se caracteriza por ser altamente específica (98-99%), pero su sensibilidad es relativamente baja (85%). Por lo general, esta prueba se usa en combinación con los ELISA de cuarta generación para confirmar el contagio¹⁵.

3.8.2 PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es la técnica molecular de elección al momento de diagnosticar una infección por VIH; su sensibilidad y especificidad es de 95 y 98% respectivamente¹⁶. La introducción de esta técnica en la biología molecular ha contribuido notablemente en la implementación de numerosos ensayos y métodos útiles en el manejo del paciente seropositivo¹⁷. Esta técnica detecta parte del genoma viral en una muestra sanguínea obtenida en EDTA, cuyo plasma ha sido separado antes de las 6 horas después de la toma de muestra. Finalmente, se procede a la cuantificación de la viremia plasmática o carga viral del paciente¹⁸.

Se usa frecuentemente en casos de RN de madres seropositivas a donde su sensibilidad oscila entre 75-97%, detección de mutaciones genómicas del virus como consecuencia de la terapia antiviral, entre otros¹⁶.

3.8.3 ELISA

Se encuentra en un punto medio entre las pruebas rápidas y las confirmatorias. Se caracterizan por su alta especificidad y sensibilidad. Para la detección de VIH se usan los de tercera y cuarta generación que comparten sensibilidad alta, cercana al 100%, y una especificidad del 99.5%¹⁵. Para emitir un diagnóstico presuntivo de VIH, el paciente debe haber resultado reactivo en las pruebas rápidas y reactivo en el ELISA (efectuado por duplicado). El diagnóstico definitivo debe ser determinado por pruebas confirmatorias como LIA o WB^{15,19}.

3.8.4 WESTERN-BLOT (WB)

Es una técnica analítica de electroinmunotransferencia cuyo propósito es detectar proteínas específicas en una muestra determinada usando electroforesis en gel para la separación de las proteínas contenidas en la muestra por tamaño²⁰. Una vez que las proteínas infectadas por VIH (antígenos virales) que han sido separadas y que están retenidas en el gel, se transfieren a un soporte sólido (tira de nitrocelulosa). Luego, esta tira se expone a un anticuerpo específico contra la proteína en estudio, en este caso son los anticuerpos anti-VIH. Finalmente, se lavan y se visualiza la marcación de proteínas mediante el uso de anticuerpos primarios o secundarios afines con la proteína en estudio. La unión del antígeno-anticuerpo se detecta por fluorescencia o actividad enzimática. Se recomienda comparar la tira que contiene la muestra problema, con los controles positivos y negativos para evitar resultados erróneos²¹.

Los criterios de positividad son variados pero el que se adopta internacionalmente es el criterio de la OMS el cual indica que un resultado es positivo cuando presenta reactividad frente a dos de los antígenos virales p24, pg120 y pg41; un resultado negativo no debe mostrar ninguna reactividad y un resultado indeterminado presenta reactividad frente a una o más proteínas, pero no cumple con el criterio de positividad; en este último caso, se recomienda repetir la prueba después de tres y seis meses. Actualmente se considera al Western-Blot una prueba altamente sensible (98-99%) y específica (99.9%) pero por su alto costo, se emplea como prueba confirmatoria principal cuando la prueba de Elisa ha resultado positiva para VIH^{15,22}.

3.8.5 LIA

El empleo del Line Immuno Assay o LIA está menos difundido que las otras pruebas confirmatorias ya que se trata de un ensayo sumamente costoso que requiere tiempos prolongados para su determinación y equipos altamente sofisticados²³. En comparación con el WB, presenta menos reacciones cruzadas con los componentes de fabricación. Se trata de un inmunoensayo enzimático de especificidad y sensibilidad relativamente cercana al 100% capaz de detectar Ac específicos frente al virus del VIH como gp120, gp41, p24, p17 y p31²⁴.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Tipo de estudio: Se realiza un estudio descriptivo de un caso clínico, con los análisis inmunológicos moleculares que refuerzan el diagnóstico microbiológico diferencial para la determinación temprana de infecciones por VIH.

4.2 Métodos: El presente trabajo de investigación para el diagnóstico y confirmación de VIH, se utilizó el método cuali-cuantitativo. Cualitativo en razón a los inmunoensayos en línea para detectar infección por VIH, y cuantitativo porque se determinará la carga viral que presentan los pacientes infectados.

4.3 Material de estudio: Artículos de revistas científicas y bibliografía web en base al tema abordado.

4.4 Pregunta a resolver

¿Qué análisis colaboran con el diagnóstico microbiológico diferencial en infecciones agudas ocasionadas por el VIH?

4.5 Caso practico

Mujer de 22 años, española, sin antecedentes clínicos de interés ni alergias conocidas a medicamentos, que acude al Servicio de Urgencias con un cuadro de disuria intensa, polaquiuria y dolor lumbar de 24 horas de evolución. Presentaba fiebre de 39,5°C, hiperemia orofaríngea sin exudados y puño-percusión renal derecha positiva. El valor de la proteína C reactiva era de 41 mg/L y en el hemograma tenía un recuento leucocitario de 7,2 x 10³/mL con un porcentaje de neutrófilos del 90%. En el sistemático de orina se detectaban abundantes leucocitos y proteínas en ausencia de nitritos. En el sedimento se observaban 20-50 leucocitos/campo con presencia de levaduras. Se tomaron

hemocultivos y un urocultivo. Se instauró tratamiento con amoxicilina-ácido clavulánico e ibuprofeno y fue dada de alta con el diagnóstico de infección urinaria no complicada.

Dos días más tarde la fiebre había remitido, pero vuelve a Urgencias por presentar lesiones exantemáticas en tronco, extremidades, palmas y plantas junto con lesiones vesiculares en boca y genitales, con afectación extensa. Los hemocultivos extraídos dos días antes de momento eran negativos, y en el cultivo de orina crecieron entre 104-105 ufc/mL de *Candida albicans*. La bioquímica sérica básica era normal.

La paciente se deriva al Servicio de Dermatología para valoración. En la exploración se palpan múltiples adenopatías fibroelásticas, rodaderas, generalizadas y el dermatólogo informa que el cuadro simula un exantema multiforme con sospecha de síndrome mononucleósico. Solicita un nuevo hemograma y una bioquímica sanguínea, así como una serología de los virus de Epstein-Barr (EBV), citomegalovirus (CMV) y de las hepatitis B y C. En esta analítica los parámetros bioquímicos continúan sin alteraciones, pero respecto a la anterior se observa un importante descenso de los leucocitos ($2,7 \times 10^3/\text{mL}$) y también de los linfocitos, junto con una activación linfoide moderada y trombocitopenia ($103.000/\text{mm}^3$).

Todos los marcadores serológicos solicitados fueron negativos. Se pautan corticoesteroides y se cita a la paciente en dos semanas, solicitando para entonces nuevas analíticas. Transcurridos los 14 días, el cuadro dermatológico se había resuelto. Los hemocultivos pedidos en la primera visita fueron negativos y los parámetros hematológicos y bioquímicos de ese momento se encontraban dentro de la normalidad. Respecto a los estudios serológicos, no se observó seroconversión respecto a los previos, pero uno de los estudios adicionales solicitados permitió realizar el diagnóstico etiológico. Asimismo, estudiadas en paralelo la primera muestra de suero y la segunda se pudo constatar que se trataba de una infección aguda.

5. RESULTADOS

5.1 Técnicas inmunológicas aplicadas al diagnóstico de infección por VIH.

Los métodos inmunológicos moleculares para el diagnóstico diferencial de VIH comprenden, desde técnicas de 3^{ra} generación, capas de diagnosticar infección una vez alcanzada la fase aguda, hasta técnicas de cuarta generación capaz de detectar la infección a la tercera semana del contagio, dentro de las pruebas de confirmación se revisaron técnicas altamente sensibles; Western Blot es una técnica con sensibilidad de 98 a 99% y especificidad de 99,9 %, al igual que los Inmunoensayos Lineales con especificidad y sensibilidad cercana al 100%.

Las técnicas moleculares revisadas pueden reducir el tiempo de diagnóstico a partir del 11^{vo} día como la p24 o la Reacción en cadena de polimerasa (PCR) que son métodos de diagnóstico y confirmación ideal en neonatos y gestantes menores de 18 meses.

Dentro de las técnicas inmunoenzimáticas el método ELISA de 4^{ta} generación es el ideal para diagnosticar infección por VIH debido a que reduce el periodo de ventana a una semana, mediante la detección de péptidos de VIH-1, VIH-2, VIH-1”O” más anticuerpos para detectar p24.

Los Inmunoensayos en Línea presentan mayor especificidad y sensibilidad en relación al método de Western Blot, que pueden ocasionar reacciones cruzadas por errores de fabricación en menor porcentaje, siendo capaz de detectar anticuerpos específicos frente al virus del VIH como gp120, gp41, p24, p17 y p31. La Reacción en cadena de polimerasa presenta mejor sensibilidad y especificidad en relación al diagnóstico confirmatorio de VIH, una de sus ventajas es que permite la detección de infección vertical de VIH en los recién nacidos, con una mayor sensibilidad que la p24.

6. DISCUSIÓN

Según “Matilde Arellano” la técnica de ELISA de 4^{ta} generación permite la detección del Antígeno por péptidos obtenidos mediante síntesis o recombinación genética de VIH-1, VIH-2, VIH-1”O” + anticuerpos para detectar Ag p24 (detecta Ag/Ac)²², Álvarez y Carrasco en su estudio indican que ELISA de 4^{ta} generación reduce el periodo de ventana a una semana¹⁵, y además es la más utilizada para el diagnóstico de infección en pacientes mayores de 18 meses, no siendo muy útil en RN o lactantes <18meses de madres seropositivas¹⁵.

Ortiz L, Leonardo R, y Eiros B, en su estudio indican que el método de Western Blot es el método idóneo para la confirmación de la infección por VIH, debido a su alta sensibilidad (98-99%) y especificidad de (99.9%)²². Según “Cordeiro, N, y Taroco R” estas pruebas tienen un alto costo, y puede arrojar falsos negativos en caso de exposición reciente al virus¹⁶.

La técnica de LIA tiene una especificidad y sensibilidad cercana al 100% y es capaz de detectar anticuerpos específicos frente al virus del VIH (gp120, gp41, p24, p17 y p31)²⁴. En comparación con el Western Blot, las reacciones cruzadas generadas por componentes de fabricación son relativamente menores¹⁸.

El estudio realizado por Álvarez y Carrasco indican que la técnica Antígeno p24 detecta la proteína p24 a partir de 11^{vo} – 13^{vo} días después del contagio en la fase final de la enfermedad (SIDA), y posee una especificidad de (98-99%)¹⁵. Mientras tanto García F, Álvarez M y Bernal C. proponen que el nivel de antígeno que detecta corresponde a un nivel de ARN viral de 30.000 a 50.000 copias/ml¹⁷. Aunque no es el método ideal permite también la detección del virus en recién nacidos de madres VIH positivas¹⁴.

Según Cordeiro N y Taroco R, la reacción en cadena de polimerasa es la Técnica molecular de elección al momento de diagnosticar una infección por VIH ya que su sensibilidad y especificidad son del 95 y 98% respectivamente, siendo usada frecuentemente en recién nacidos de madres seropositivas al VIH y en la detección de mutaciones genómicas del virus¹⁶.

7. CONCLUSIONES

Los métodos inmunológicos moleculares permiten la detección de infección por VIH en un tiempo de ventana reducido, esto debido a su alta especificidad y sensibilidad, ofreciendo resultados de diagnóstico y confirmación a partir de la 3 semana de contagio.

8. BIBLIOGRAFÍA

- 1) MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA. VIH – Ministerio de Salud Pública <https://www.salud.gob.ec/vih/> (accessed Nov 27, 2020).
- 2) Noé, R. E. A.; Guadalupe, H. M. P.; Israel, N. G.; Ricardo, G. P. C.; Denise, C. A. F. Características Estructurales y Funcionales Del Virus de La Inmunodeficiencia Humana. *Enfermedades Infecc. y Microbiol.* **2013**.
- 3) Boza Cordero, R. Patogénesis Del VIH/SIDA. *Rev. Clínica Esc. Med. UCR-HSJD* **2017**. https://doi.org/10.15517/rc_ucr-hsjd.v7i5.31630.
- 4) Pérez, P. Origen y Evolución Del VIH. *A Cienc. cierta* **2008**.
- 5) Sierra, J. J.; De Quevedo, G.; En, M.; Julio, C. J. Taxonomía y Virus de La Inmunodeficiencia Humana. *Rev Mex Patol Clin* **2004**, *51* (1), 37–41.
- 6) Boza Cordero, R. Orígenes Del VIH/SIDA. *Rev. Clínica Esc. Med. UCR-HSJD* **2016**. https://doi.org/10.15517/rc_ucr-hsjd.v6i4.26927.
- 7) Montalvo, R.; Mejía, J.; Ramírez, P.; Rojas, E.; Serpa, H.; Gomez, M.; Quispe, F. Mortalidad En Pacientes Con Infección Por VIH/SIDA En Tratamiento Antirretroviral En Huancayo, Perú 2008-2015. *Acta Medica Peru.* **2016**, *33* (2), 119. <https://doi.org/10.35663/amp.2016.332.61>.
- 8) INFOSIDA. Las Fases de La Infección Por El VIH | El VIH/SIDA. *11 Septiembre, 2017* **2017**.
- 9) Pintos Pascual, I.; Muñoz Rubio, E.; Ramos Martínez, A. Diagnóstico de La Infección Aguda y Crónica Por El VIH y de Sus Estados Evolutivos. *Med. - Programa Form. Médica Contin. Acreditado* **2018**. <https://doi.org/10.1016/j.med.2018.04.025>.
- 10) Esteban, C. S. VIH: Infeccion Aguda, Pesquisa y Manejo. *Rev. Médica Clínica Las Condes* **2014**. [https://doi.org/10.1016/s0716-8640\(14\)70058-6](https://doi.org/10.1016/s0716-8640(14)70058-6).
- 11) Monsalve-Arteaga, L.; Drummond, T.; Faneite, I.; Carballo, M.; Landaeta, M. E. Morbilidad, Mortalidad y Falla Al Tratamiento Antirretroviral En Adolescentes Con VIH / Sida En Un Hospital de Referencia En Caracas, Venezuela. *Infectio* **2017**, *21* (3), 160–167. <https://doi.org/10.22354/in.v21i3.673>.
- 12) Belem López-Morales, A.; Barrera-Cruz, A.; Alarcón-Morales, C.; Martínez-Ravelo, R. Evidence-Based Nursing: Care Plan for Patients with HIV / AIDS (Part 1) Enfermería Basada En La Evidencia: Plan de Cuidados Para Pacientes Con VIH/SIDA (Parte 1). *Rev Enferm Inst Mex Seguro Soc* **2016**.
- 13) Rafael Méndez, Y.; Moreno, C.; Ochoa, C. L.; Peñalosa, D. K.; Pérez, A. J.

- Diagnóstico Diferencial de Lesiones Cutáneas Infecciosas En Paciente VIH: Reporte de Un Caso. *Horiz. Médico* **2017**, 17 (4), 67–72. <https://doi.org/10.24265/horizmed.2017.v17n4.12>.
- 14) Díaz Torres, H. M.; Ribas Antúnez, M. de los Á.; Lubián Caballero, A. L.; Joanes Fiol, J.; Ricardo Fonseca, M. E. Antigenemia P24: Correlación Con Algunos Aspectos Clínicos y Epidemiológicos En 100 Individuos Cubanos Infeccionados Por VIH-1. *Rev. Cuba. med. trop* **2001**, 53 (3), 137–144.
 - 15) Álvarez-Carrasco, R. I. Interpretación de Las Pruebas Usadas Para Diagnosticar La Infección Por Virus de La Inmunodeficiencia Humana. *ACTA MEDICA Peru*. **2018**. <https://doi.org/10.35663/amp.2017.344.464>.
 - 16) Cordeiro, N.; Taroco, R. Retrovirus y VIH. *Artículo Dispon. en Internet https://docs.google. ...* **1980**.
 - 17) García, F.; Álvarez, M.; Bernal, C.; Chueca, N.; Guillot, V. Diagnóstico de Laboratorio de La Infección Por El VIH, Del Tropicismo Viral y de Las Resistencias a Los Antirretrovirales. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **2011**. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.12.006>.
 - 18) Rodríguez Iglesias, M.; Terrón Pernía, A. Diagnóstico De La Infección Por El Vih. *La Infecc. por el VIH guía práctica* **2003**.
 - 19) Jaramillo Tobón, A. Serología de Cuarta Generación, Biología Molecular Diagnóstica y El Nuevo Algoritmo Para Diagnóstico de Infección Por VIH. *Serol. cuarta generación, Biol. Mol. diagnóstica y el nuevo Algoritm. para diagnóstico Infecc. por VIH* **2013**.
 - 20) Springhorn, A.; Hoppe, T. *Western Blot Analysis of the Autophagosomal Membrane Protein LGG-1/LC3 in Caenorhabditis Elegans*, 1st ed.; Elsevier Inc., 2019; Vol. 619. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2018.12.034>.
 - 21) Matilde Arellano Gajón. Métodos de Detección Del Virus de Inmunodeficiencia Humana. *Vol-2 Num2* **2002**, 2.
 - 22) Ortiz de Lejarazu Leonardo, R.; Eiros Bouza, J. M. Pruebas de Diagnóstico Serológico de La Infección Por El VIH. *Control Calid. SEIMC* **2014**.
 - 23) Aguilera, A.; Álvarez Estévez, M.; Reina González, G.; Rodríguez, C. *Diagnóstico Microbiológico de La Infección Por El VIH*; 2014.
 - 24) Aguinaga, A.; Navascués, A.; Polo, I.; Ezpeleta, C. Comparative Study of HIV-1/2 Antibody Confirmatory Assay: Geenius™ versus INNO-LIA™. *Rev. Esp. Quimioter.* **2017**, 30 (1), 40–44.