

DETECCIÓN ESPECÍFICA DE ANTICUERPOS ANTI HIV-1 Y ANTI HIV-2 POR ANTÍGENOS CON INMUNOREACTIVIDAD MEJORADA

SPECIFIC DETECTION OF ANTI HIV-1 AND ANTI HIV-2 ANTIBODIES BY ANTIGENS WITH IMPROVED IMMUNOREACTIVITY

¹Martínez-Romero, A., ¹Villa-Cedillo, SA., ¹Bustamante-Gómez, JB., ²Ortega-Sánchez, JL.,
¹García-Luján, C., ¹Alba-Romero, JJ.

¹Facultad de Ciencias Químicas-UJED. ²Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. Universidad Autónoma Chapingo.

RESUMEN. La investigación en años recientes evidencian que el comportamiento epidemiológico de la pandemia por el HIV ha tenido un incremento en la población a nivel mundial. En México la situación no ha sido distinta, pues en los últimos cinco años en Coahuila, a pesar de que las autoridades indican un porcentaje a la baja en cuanto a diagnóstico del virus, la realidad es que en la región continua ocupando el primer lugar en el estado en cuanto a prevalencia de HIV y representa el 40% del total de los casos de Coahuila. El objetivo fue detectar anticuerpos anti HIV-1 y anti HIV-2 por antígenos con inmunoreactividad mejorada de casos positivos al HIV en el laboratorio del Hospital General de Torreón, Coahuila. Se realizó una recopilación de datos de dicho laboratorio, donde se obtuvieron el total de las pruebas de HIV realizadas mediante un ensayo inmunoenzimático (microelisa) durante el periodo de agosto del 2004 a diciembre del 2008; los cuales se analizaron los casos positivos y se determinó una prevalencia del 2.69%. También se evaluó la efectividad de las pruebas de microelisa empleadas comparadas con la prueba confirmatoria del Western blot, con el cual se obtuvieron 2 falsos positivos lo cual representa el 1.834% del total de las pruebas realizadas.

Palabras clave: HIV, diagnóstico, microelisa, Western Blot, prevalencia.

SUMMARY. The researches in recent years show that the epidemiological behavior of the HIV pandemic has tended to increase in the population worldwide. In our region the situation is not different, despite the fact that in the past five years the authorities show a low percentage in terms of diagnosis of the virus, the reality is that our region is the first place in the state of prevalence of HIV, representing 40% of all cases of Coahuila. The objective was to detect antibodies anti-HIV-1 and anti-HIV-2 by antigens with improved immunoreactivity of positive cases the HIV in the laboratory of the Hospital General Torreón, Coahuila. A recompilation of data of this laboratory was made, where were obtained the total number of HIV tests performed using an enzyme immunoassay (microelisa) during the period of August 2004 to December 2008, the positive cases were analyzed and a prevalence of 2.69% was determined, also the effectiveness of tests used microelisa compared with Western blot confirmatory test was evaluated, in which 2 false positives were founded representing 1.834% of all tests performed.

Key words: HIV, diagnosis, microelisa, Western blot, prevalence.

INTRODUCCIÓN

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (AIDS, por sus siglas en inglés) es una entidad nosológica reconocida desde hace poco tiempo (1981), que ocurre en individuos previamente sanos y que se caracteriza por alteraciones inmunitarias profundas, infecciones bacterianas recurrentes a gérmenes oportunistas y la aparición de formas poco comunes de ciertas neoplasias malignas. La enfermedad es causada por el virus de la

inmunodeficiencia humana (HIV, por sus siglas en inglés), el cual comprende dos subtipos: el HIV-1 de amplia distribución en América, Europa, el Caribe y parte central del este de África, y el HIV-2 limitado principalmente a partes de oeste de África (Kumate *et al.*, 2001). El AIDS ocasiona la destrucción del sistema inmunitario de la persona que lo padece (Fajardo, 2001). El esquema del ciclo de vida del HIV durante la infección a una célula humana, se muestra en la **Figura 1** (Wainberg y Jeang 2008).

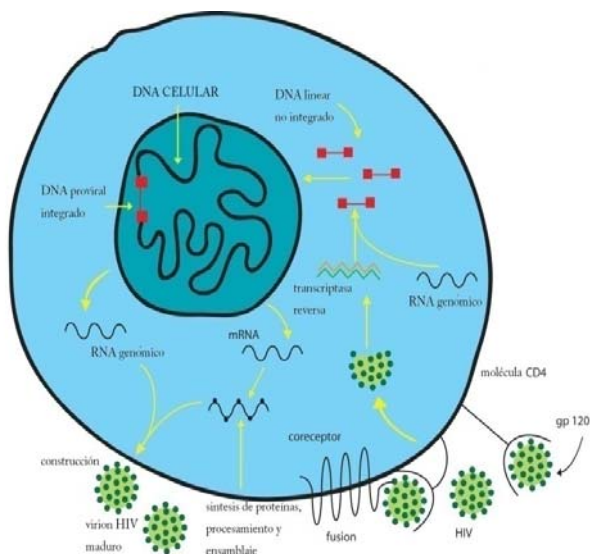


Figura 1. Esquema del ciclo de vida del HIV durante la infección a una célula humana (Wainberg y Jeang 2008).

Aproximadamente, la mitad de todas las personas que contraen el HIV se infectan antes de cumplir los 25 años y de forma característica, fallecen a causa de las enfermedades potencialmente mortales que conforman el AIDS antes de llegar a los 35 años de edad (Fajardo, 2001). El AIDS, fue reconocido como una nueva entidad clínica en junio de 1981 en EUA. En 1984, se demostró que la enfermedad estaba ligada a un retrovirus linfocito trópico de las células T cooperadoras, al que se denominó HIV-1 (Muñoz y Orietta, 2008). Poco tiempo después se identificó un segundo HIV, el HIV-2, con un ensayo inmunoenzimático (EIA), Genie II HIV-1/HIV-2, de reconocimiento dual. La prueba incorpora una combinación de inmunocromatografía e inmunocentración.

En diciembre del año 2000, se estimaba que habían fallecido en el mundo desde el inicio de la epidemia 21.8 millones de personas y que 36.1 millones estaban infectados con HIV o padecían el AIDS. Alrededor de 16 millones corresponden a mujeres y 1.4 millones a personas menores de 15 años de edad (Muñoz y Orietta, 2008). Por arriba de 60 millones de personas han sido infectadas con este retrovirus y 25 millones ya han muerto de AIDS. Las infecciones por HIV es el mal más duro en el mundo en desarrollo. Trágicamente, 1600 bebés continúan adquiriendo cada día el HIV de sus madres infectadas. Más de 12 millones de niños han quedado huérfanos por el AIDS y es probable que este número se duplique al 2010. Estas estadísticas alertadoras muestran un futuro devastador con la pandemia de HIV/AIDS (Greene 2007).

Las investigaciones en años recientes evidencian que el comportamiento epidemiológico de la pandemia por el HIV ha tendido a un incremento en la población a nivel mundial. En la región la situación no ha sido distinta, pues en los últimos cinco años a pesar de que las autoridades indican un porcentaje a la baja en cuanto a diagnóstico del virus, la realidad es que esta región continua ocupando el primer lugar en el estado en cuanto a prevalencia de HIV y representando el 40% del total de los casos de Coahuila.

Conocer tempranamente el grado de riesgo de vulnerabilidad, fundamentalmente en la atención primaria en salud pública, permitiría realizar acciones preventivas educativas y consejería que podrían incidir en la disminución del riesgo. Este fenómeno puede ser explicado por el concepto de vulnerabilidad, definido en el contexto del HIV/AIDS como: "tener poco o ningún control sobre el propio riesgo de adquirir la infección o para aquellos que ya viven con el virus el no tener o tener acceso limitado a una asistencia o apoyo adecuado" (Urzúa y Zúñiga, 2008). La preocupante situación epidemiológica y la actual crisis socioeconómica internacional, resulta indispensable desarrollar un compromiso social. Es importante tener un sistema de vigilancia especializada para la identificación temprana de riesgos para la adopción de medidas inmediatas de prevención y control, es primordial conocer los niveles y tendencias de la infección por el HIV, se tiene que saber quien se está infectando, para conocer cuál es el impacto de la epidemia por medio de contar con una base de datos

de los pacientes con HIV -que no cuentan con ningún servicio médico como el ISSSTE o el IMSS y que acuden a realizarse la prueba para la detección del HIV en un laboratorio accesible ya que la mayoría de estas personas son de escasos recursos, lo cual nos permite tener un mejor panorama de la epidemia en un sector específico de la sociedad. La clasificación de ONU/SIDA/OMS, sobre los estadios epidémicos: Nivel bajo: la prevalencia de HIV no ha excedido consistentemente el 5 % en algún subgrupo poblacional. Concentrada: la prevalencia de HIV consistentemente es superior al 5% de prevalencia en al menos un subgrupo de población, pero es inferior al 1% en mujeres embarazadas en áreas urbanas. Generalizada: la prevalencia del HIV ha superado consistentemente el 1% de prevalencia de HIV en mujeres embarazadas. Por lo que, con esta clasificación surge la necesidad de plantear, si la prevalencia de casos positivos del HIV es menor al 5% entre la subpoblación del Hospital General de Torreón, Coahuila. Realizar la vigilancia del HIV es relativamente simple, económica, aumenta la atención y preocupación, genera respuestas, enfoca actividades y monitorea éxitos. Si no se tiene un registro confiable de casos sobre la epidemia de HIV/AIDS, tampoco se podrá caracterizar a la población afectada, ni en consecuencia, establecer medidas dirigidas a esa población para su control. El problema de salud pública de la infección por el HIV/AIDS ha impactado todos los sistemas de salud del mundo. Nuestro país no es ajeno a este problema y aunque se reconoce que México tiene una epidemia concentrada, el problema ha ido creciendo. El objetivo fue detectar anticuerpos anti HIV-1 y anti HIV-2 por antígenos con inmunoreactividad mejorada de casos positivos al HIV en el laboratorio del Hospital General de Torreón, Coahuila, México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una recopilación de datos del laboratorio del Hospital General de Torreón, Coahuila; donde se obtuvo la información, las pruebas de HIV se realizaron durante el periodo de agosto del 2004 a diciembre del 2008.

El estudio es descriptivo retrospectivo transversal. Se incluyeron en la muestra a todos los pacientes que solicitaron o se les ordenó un examen de detección de anticuerpos HIV que cumplieran con los siguientes criterios: pacientes con conductas de riesgo que solicitaron prueba para HIV, pacientes en el programa de embarazo que incluye una prueba de HIV, tener una serología confirmatoria previa positiva al HIV y pacientes con sintomatología presuntiva del HIV.

Se dispone de una historia clínica que incluye información sobre: fecha de nacimiento, fecha de diagnóstico y sexo. Categoría de transmisión: usuario

de drogas por vía parenteral, heterosexual, homosexual, receptor de hemoderivados, transmisión vertical, causa desconocida, estado civil, ocupación, nivel de estudios, domicilio, si vive o es finado, prueba de WB confirmatoria, si recibe atención y tratamiento en el CAPASISTS o en alguna otra institución.

METODOLOGIA

El cartucho de reacción Genie II HIV-1/HIV-2, contiene 2 compartimientos: uno circular A, para la adición de la muestra; y uno más grande, elíptico de reacción B. Los antígenos derivados de HIV-1 y HIV-2 son inmovilizados en dos puntos separados en la zona de reacción del compartimiento B, una tercera mancha sirve como control interno para monitorear el desempeño de la prueba (**Figura 2 y 3**).

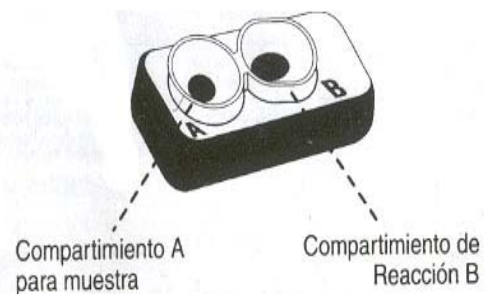


Figura 2. Cartucho de reacción Genie II HIV-1/ HIV-2.

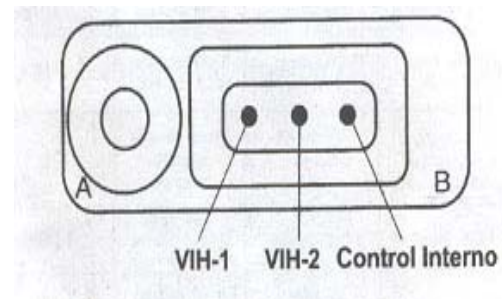


Figura 3. Identificación de puntos, en el compartimiento B del cartucho de reacción Genie II HIV-1/ HIV-2.

Al comenzar la prueba, una muestra diluida es introducida en el compartimiento A. Si están presentes anticuerpos anti HIV en la muestra, se unen específicamente a los antígenos HIV con biotina y migran a través de la membrana de cromatografía. En la zona de reacción B, los complejos antígeno-anticuerpo, se unen a los antígenos inmovilizados HIV en un paso de reconocimiento dual. El complejo resultante reacciona con el conjugado estreptavidina/ fosfatasa alcalina. La visualización de los resultados

como manchas gris azul es acompañada por la reacción de sustrato cromógeno. La solución de paro es adicionada al final de la reacción (**Figura 3**). La aparición de 2 o 3 manchas gris azul de reacción en el compartimento B, indican la presencia de anticuerpos contra HIV. En un resultado negativo sólo el control interno será visible.

Se realizó el análisis de los datos recolectados, utilizando las siguientes pruebas de estadística: promedio simple, moda y distribución porcentual para procesar la información de las plantas de trabajo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La prevalencia de casos de HIV en el Hospital General de Torreón es de 2.69% del total de pruebas realizadas en los últimos 5 años. Se realizó un estudio retrospectivo del mismo tipo en la clínica 16 del Seguro Social en la ciudad de Torreón, Coahuila. En el estudio la prevalencia de HIV-AIDS en la población adulta fue de 0.05%, cifra menor a la nacional (0.3%), por lo que se considera relativamente baja (Martínez y Esquivel, 2008).

En la presente investigación, los hombres representaron 75.23% y las mujeres 24.77 %. Prevalenciando una marcada tendencia de HIV por prácticas homosexuales del 7.3%. Al respecto, se reportó en la ciudad de México, una sobreestimación de casos heterosexuales en hombres, calculándose que 13% de los casos

notificados, correspondió a individuos con prácticas homosexuales o bisexuales (Uribe *et al.*, 2005).

El impacto de la epidemia en este estudio fue mayoritariamente en gente joven y la afección fue mayor entre las mujeres. Estos hallazgos concuerdan con un estudio similar realizado en Mérida, Yucatán por Renán *et al.*, y también concluye que los individuos afectados son preferentemente jóvenes (Renán, *et al.*, 2005). Al respecto, en un estudio realizado en Malawian la tasa anual de mortalidad se ha duplicado en todos los grupos por edad, en las mujeres mayores de 20 años y en los hombres mayores de 30 años, esto a partir de 1987 hasta el 2006 (Bello *et al.*, 2006). En este estudio prevaleció un porcentaje elevado en unión libre y en general tenían una pareja sexual estable. A similares resultados llegaron Strathdee *et al.*, (2008) en la ciudad de Tijuana, Baja California, México.

En cuanto a la distribución demográfica el 10.9% de los casos viven en zonas rurales, 44.9% en zonas urbanas y el resto se desconoce su domicilio. El 12.84% manifestaron el nivel máximo de estudios en educación primaria; el 8.25% con educación secundaria; 2.75% en escolaridad técnica, similar a la escolaridad preparatoria con 1.83%; sin embargo, el nivel de estudios a nivel profesional se encontró con el 7.33%. Este resultado coincide con Mavala *et al.*, (2006) quienes señalan que a mayor nivel educacional menor riesgo de contraer HIV/AIDS y otras enfermedades de transmisión

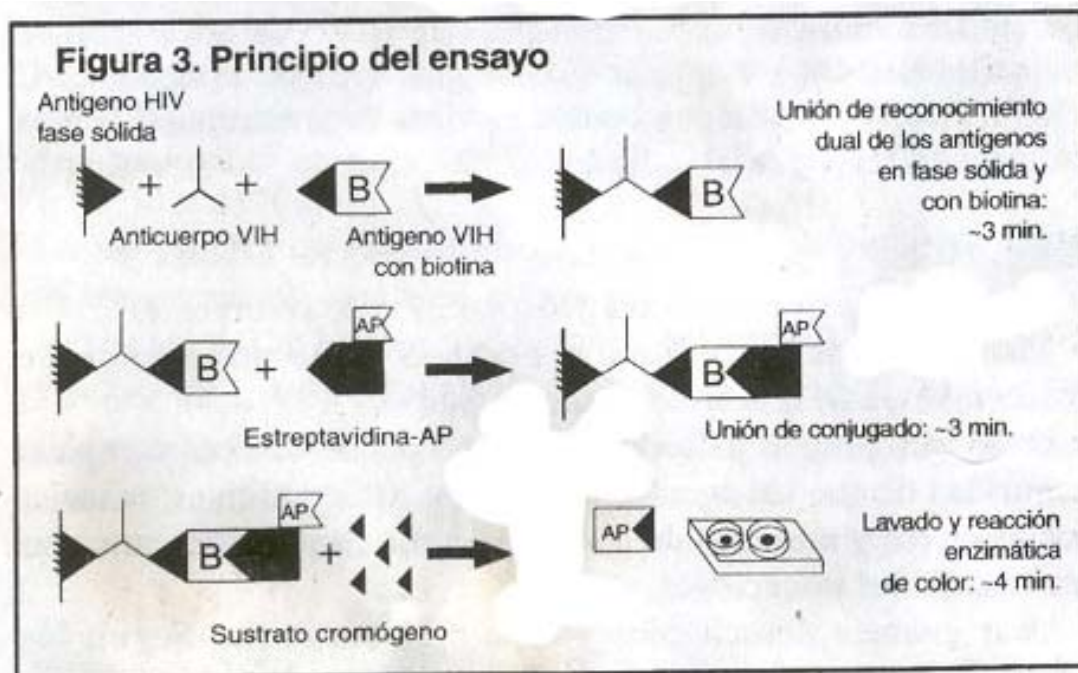


Figura 3. Descripción del proceso de diagnóstico VIH mediante anticuerpos.

sexual (ETS), ya que se retrasaría la edad de iniciación sexual, se obtendría mayor información sobre las ETS (Mavala, *et al.*, 2006). Aunado a esto, se realizó un estudio longitudinal del mes de enero del año 1998 al mes de julio de 1999, en Mérida, Yucatán, participaron 100 sexoservidoras (edad promedio de 32 años, dentro de un intervalo de 18-47 años), poniendo en evidencia que el 69% de las participantes era analfabeta (Góngora *et al.*, 2002). El 9.17 % del total de los casos había fallecido y de estos todos mayores de 30 años.

CONCLUSIONES

Con los resultados reportados en las historias clínicas analizadas se concluye que la efectividad de las pruebas de microelisa empleadas comparadas con la prueba confirmatoria del Western blot, se obtuvieron 2 falsos positivos lo cual representa el 1.834% del total de las pruebas realizadas, con lo que se deduce que como prueba tamiz la técnica de microelisa es efectiva para poder conocer un diagnóstico presuntivo de la infección por HIV.

LITERATURACITADA

- Bello G., A.; Chipeta, J. et al. 2006. Assessment of trends in biological and behavioural surveillance data: is there any evidence of declining HIV prevalence or incidence in Malawi?. *Sex Transm Infect* 82 Suppl 1: i9-13.
- Fajardo Rodríguez, A. L. 2001. Intervención Nutricional en VIH/SIDA: una guía práctica para su implementación y seguimiento. *Gac Méd Méx* 137: 489-500.
- Góngora Biachi, R., Pavía-Ruz, N. et al. 2002. Knowledge, behavior and seroprevalence towards HIV infection among female sex workers in Yucatán, Mexico. *Rev. Biomed.* 13: 257-63.
- Greene, W. C. 2007. A history of AIDS: looking back to see ahead. *Eur J Immunol* 37 Suppl 1: S94-102.
- Kumate, J.; Muñoz, O. et al. 2001. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Manual de infectología clínica. México, D.F, Mendez Editores: 591-608.
- Martínez Mendoza, J. A. y C. G. Esquivel-Molina 2008. El VIH-SIDA en un hospital de segundo nivel. *Medicina Interna de México* 24(3): 193-7.
- Mavala, R. 2006. From HIV prevention to HIV protection: addressing the vulnerability of girls and young women in urban areas *Environ Urban* 18: 407-432.
- Muñoz, P. y Orietta Gomez, H. 2008. Manifestaciones cutáneas de la infección por virus de inmunodeficiencia humana en niños de Santiago de Chile *Hospital Clínico Universidad de Chile*
- Renán, A.; Góngora-Biachi, C. et al. 2005. La epidemia del VIH y el SIDA en Yucatán, México: un enfoque basado en la investigación (1985-2004). *Rev Biomed* 16(1): 29-46.
- Strathdee, S. A.; Lozada, R. et al. 2008. Differential effects of migration and deportation on HIV infection among male and female injection drug users in Tijuana, Mexico. *PLoS ONE* 3(7): e2690.
- Uribe-Salas, F.; Conde Gonzalez, C.J. et al. 2005. VIH/SIDA informadas por el sistema de vigilancia epidemiológica del estado de Chiapas, México. Un problema metodológico. *Gac. Méd. Méx.* 141.
- Urzúa, M. A. y Zúñiga, B.P. 2008. HIV vulnerability in women at social risk. *Rev Saúde Pública* 42(5): 822-9.
- Wainberg, M. A. y Jeang, K.T. 2008. 25 years of HIV-1 research - progress and perspectives. *BMC. Med.* 6: 31.