

## Interpretación de Resultados de Pruebas Serológicas para VIH

Vinay S. Mahajan,<sup>1</sup> Christine A. Pace,<sup>2</sup> and Petr Jarolim<sup>1,\*</sup>

### CASO

Un paciente, varón de 33 años, visitó la clínica de consulta externa del Hospital Brigham para Mujeres para seguimiento de rutina por obesidad, apnea de sueño obstructiva, rinitis alérgica y depresión. Se le mantuvo durante la noche en un dispositivo de presión continua de vías respiratorias, loratadina, duloxetine y spray nasal de fluticasona. Era residente de Boston y no había viajado fuera del país. Negó uso de drogas intravenosas o conducta sexual de alto riesgo, tampoco reportó haber recibido ningún producto de sangre. Había recibido la mayoría de sus vacunas para influenza seis meses antes. Se hicieron pruebas para los dos tipos de diabetes e hiperlipidemia. Como parte del cuidado clínico de rutina, también se le ofreció la prueba de cribado (screening) para VIH de acuerdo con las recomendaciones actuales de los CDC (1). La prueba de VIH [VIH 1/O/2 Mejorada (EHIV)], que se realizó en el analizador ADVIA Centaur (Siemens Healthcare Diagnostics), arrojando un resultado reactivo. Como en el protocolo del ensayo indicado por el fabricante, la muestra inicialmente reactiva fue repetida en duplicado después de la centrifugación; ambos resultados fueron reactivos. La imagen positiva continuó con una prueba confirmatoria de Western blot (WB)<sup>3</sup>, que arrojó un resultado indeterminado. La presencia de una banda aislada p24 en la WB (GS Western HIV-1; Laboratorios Bio-Rad) fue preocupante en cuanto a un posible principio de seroconversión del VIH.

### DISCUSIÓN

El resultado plasmado a través del EHIV de Siemens en este caso es un inmunoensayo doble micropartícula antígeno-puente quimoluminométrica que detecta anticuerpos entre p24, gp41, gp120 (de VIH-1), gp36 (de VIH-2) y péptido sintético del grupo O VIH-1 (Fig. 1). Un resultado positivo indica la presencia de anticuerpos que reconocen cualquiera de estos antígenos, sin tener en cuenta si son isotipos o subclases. Aunque tales inmu-

### PREGUNTAS A CONSIDERAR

1. ¿Qué factores se conocen como causa de resultados serológicos falso positivos para VIH?
2. ¿Qué factores causan un resultado indeterminado de WB?
3. ¿Qué pruebas posteriores o historia clínica puede haber ayudado en la evaluación de un paciente con resultado indeterminado de WB?

noensayos de tercera generación VIH han sido mejorados enormemente en sensibilidad analítica y especificidad, los resultados falso positivos no han sido eliminados completamente. Una causa común de resultados serológicos falso positivos para VIH fue la vacunación reciente para influenza o una infección viral incidental (2, 3). Además de la vacunación por gripe e infecciones virales, los resultados de inmunoensayo falso positivos para VIH-1 se han reportado en una variedad de condiciones, como una enfermedad autoinmune, falla renal, fibrosis quística, embarazos múltiples, transfusiones de sangre, daño al hígado, abuso de sustancias parenterales, hemodiálisis y vacunaciones contra hepatitis B y rabia (4). En consecuencia, cuando exista un resultado positivo en una prueba de cribado para VIH deberá continuarse con una prueba confirmatoria más específica.

La WB es usado de manera rutinaria para confirmar un resultado en el cribado serológico reactivo de VIH. Estos ensayos, que contienen listato viral o proteínas VIH recombinadas, permiten la determinación de la especificación antigénica de los anticuerpos en el suero del paciente. El tipo predominante de VIH en los Estados Unidos es la VIH-1. Una prueba confirmatoria de infección por VIH-1 se recomendó ya que este paciente no había viajado a ningún lugar del mundo con alta prevalencia de VIH-2, como en África del Oeste. Las especificidades de anticuerpos importantes detectados en el VIH-1 por el análisis Wb incluyen gp 160, gp 120, p65, p55, gp41, p40, gp41, p40, p31 y p24. Para ser reportado como positivo, el ensayo WB requiere de reactividad cerca de las bandas codificadas por el gen *env*<sup>4</sup> (gp 160, glicoproteína envuelta) o cer-

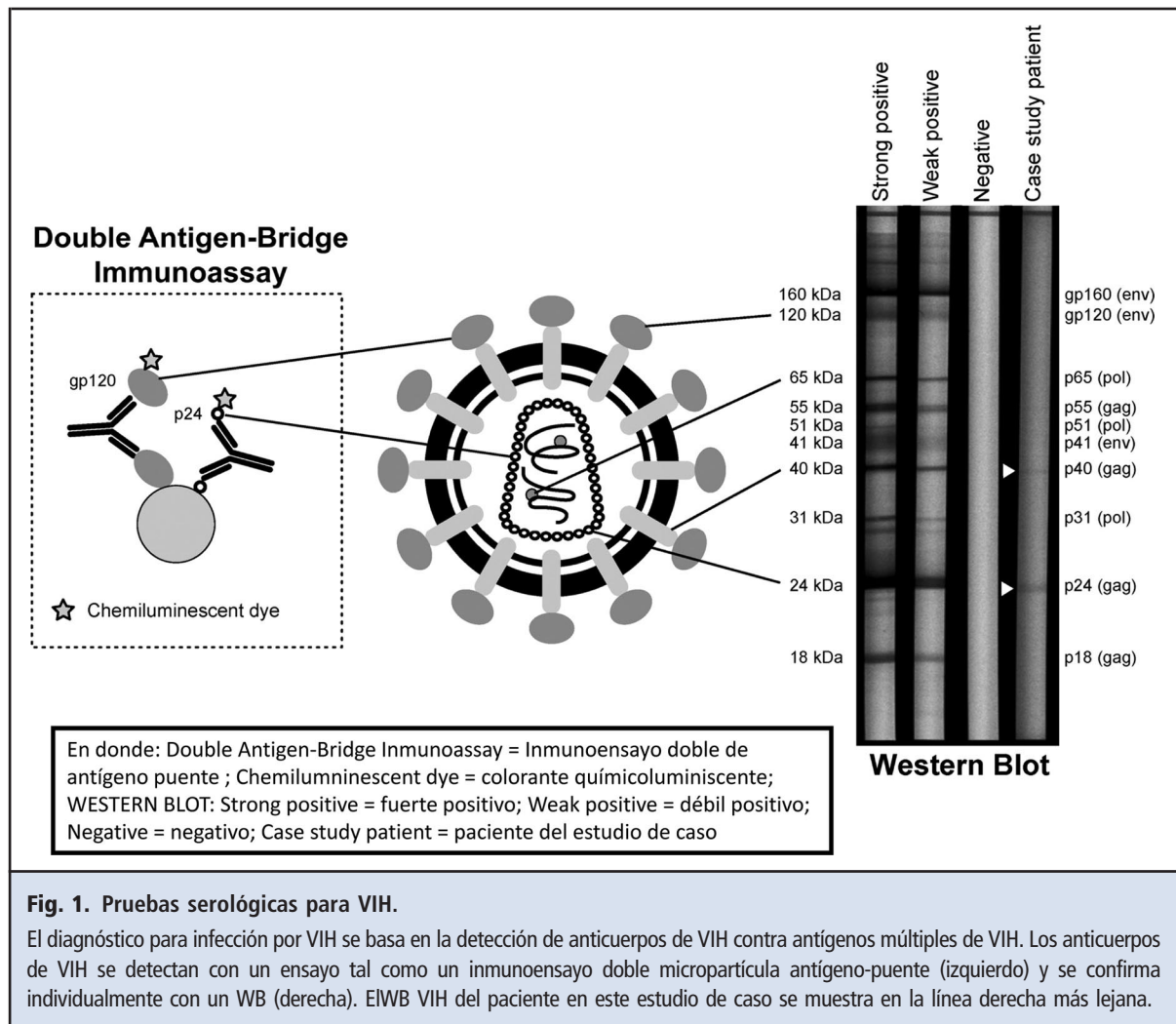
<sup>1</sup> Departments of Pathology and <sup>2</sup>Internal Medicine, Brigham and Women's Hospital, Boston, MA.

\* Dirigir correspondencia a estos autores a: Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, 75 Francis St., Boston, MA 02115. Fax 617-731-4872; e-mail pjarolim@partners.org.

Recibido para publicación 22 de Julio de 2010 Aceptado para publicación 26 de Julio de 2010

<sup>3</sup> Abreviaturas no estándar: WB, western blot; NAT, prueba de ácido nucleico.

<sup>4</sup> Genes: *env*, gp160, sobre de glicoproteína [gen VIH-1]; *gag*, Pr55 (Gag) [gen VIH-1].



cano tanto a estas band ENV más la banda p24 codificada por *gag* [*Pr55(Gag)*] Así como un resultado es altamente específico para la presencia de infección por VIH(5). Un resultado negativo implica la ausencia de cualquiera de las bandas arriba mencionadas. El resultado es indeterminado cuando el perfil de bandas no se acerca al criterio de resultado positivo. Los WB del paciente indicaron un resultado indeterminado. En este caso, el resultado se reportó como indeterminado debido a que se observaron un pico en la banda p24 y una débil banda p40 (Fig. 1).

Después de la exposición a VIH, usualmente pasan hasta tres semanas para desarrollar un título de anticuerpos suficiente para ser detectado en un inmunoensayo de tercera generación. Este periodo es llamado “ventana de seroconversión”. Debido a que los anticuerpos para p24 se desarrollan temprano durante el curso de la infección, un patrón WB indeterminado durante esta ventana se asocia constantemente con una banda aislada p24 (6). Se usa una transcripción cualitativa PCR en reversa para

análisis de cribado para VIH durante la ventana de seroconversión y la pantalla puede volverse positiva tan pronto como con 10 días después de la exposición (7). La prueba de ácido nucleico (NAT) para VIH también se utiliza cuando se sospecha un genotipo de VIH extraño: dicha prueba juega un papel crítico en el análisis de VIH en neonatos, debido a la interferencia de los anticuerpos de la madre. Además de la seroconversión temprana, otras causas para obtener resultados indeterminados con la WB en la búsqueda de infección por VIH incluyen la infección con VIH-2 y SIDA avanzado (6). Un resultado indeterminado con WB también puede aparecer por anticuerpos que están en reacción cruzada con antígenos de VIH, tales como los asociados con infección HILV; con vacunación contra influenza, hepatitis o rabia; o con cuidadores de animales expuestos a virus inusuales. Un anticuerpo no específico vinculado con componentes celulares no virales en la preparación del antígeno para VIH en WB pueden producir también un resultado indetermi-

nado con WB. Dichos resultados pueden estar asociados con transfusiones frecuentes, uso de drogas inyectadas, daño al hígado, embarazos múltiples, factor reumatoide, linfoma, esclerosis múltiple, varios desórdenes autoinmunes, un resultado positivo en la prueba rápida con reactivo y hemodiálisis crónica (6).

Se contrató al paciente para el seguimiento de los resultados de sus pruebas de VIH y posible NAT. Al cuestionario posteriormente, sin embargo, él recordó que había recibido una vacuna experimental para VIH > 5 años antes. La vacuna para VIH puede incluir proteínas *gag-o env* o ambas codificadas. Las vacunas designadas para inducir inmunidad mediante las células también pueden provocar respuesta humoral y seropositividad inducida por la vacuna. Una mayoría de los vacunados con vacuna *gag* tienen bandas p4, p40 y/o p55 en su WB (8). Los receptores de vacuna *env* pueden tener bandas gp41, gp120 y gp160. Dichos resultados de WB por lo general se reportan como indeterminados pero algunos receptores de vacuna de VIH pueden alcanzar los criterios para un resultado WB positivo. Estos pacientes pueden ser un reto para obtener un diagnóstico verdadero.

Los resultados para pruebas de VIH en receptores de la vacuna pueden ser fácilmente mal interpretados y pueden tener un impacto social negativo (9). Debido a que los procedimientos pueden ser impactantes para muchos diseños experimentales, ni los pacientes o los investigadores pueden conocer si es un placebo o se les administra la vacuna. La vacunación con seropositividad inducida puede conducir potencialmente a desenmascaramiento en los participantes del estudio y los investigadores, con el riesgo de comprometer los datos del estudio. Por lo tanto, las pruebas de las vacunas para VIH por lo general se realizan en laboratorios designados con el protocolo de anonimato apropiado lo que pueda proporcionar una interpretación de resultados sin el riesgo de desenmascaramiento. Los resultados de pruebas de VIH en receptores de vacunas necesitan ser confirmados con NAT.

Los participantes en protocolos de vacunas son aconsejados para someterse a pruebas de VIH exclusivamente con el grupo de investigación. Dando seguimiento por periodos en dichos estudios que se extienden por décadas, de cualquier manera, los pacientes pueden no recordar todos los detalles. Por lo tanto, el Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas ha proporcionado a los participantes en protocolos de VIH soportados por NIH tanto un número gratis para asistencia como tarjetas de identificación que documentan la participación en el estudio (9). Se ha realizado un gran número de vacunas protocolos de vacunas de VIH en las últimas dos décadas y es cada vez mayor el número de personas que reciben vacunas experimentales de VIH que presentan resultados de cribado para VIH. Esta tendencia parece que continuará, especialmente considerando los resultados alentadores del protocolo más reciente de vacunas de VIH en

## PUNTOS PARA RECORDAR

- Los resultados falso positivo de pruebas serológicas de VIH pueden ser causadas por vacunación reciente de influenza, infecciones virales incidentales, enfermedad autoinmune, falla renal, fibrosis quística, embarazos múltiples, transfusiones de sangre, enfermedad hepática, abuso de sustancias parenterales, hemodiálisis o vacunación contra hepatitis B y rabia.
- Un resultado de WB indeterminado puede ser causado por un título débil de anticuerpos anti-VIH-1 (como se observa en la seroconversión temprana), SIDA avanzado, una infección con un tipo inusual de VIH o receptores de vacunas experimentales de VIH. También puede ser causada por la presencia de anticuerpos de reacción cruzada contra antígenos de VIH (infección viral incidental, vacunación contra influenza, hepatitis o rabia; o infección HTLV) o reactividad a componentes no virales del WC (varios desórdenes autoinmunes, embarazos múltiples y receptores de múltiples transfusiones de sangre).
- A un resultado de WB indeterminado puede dársele seguimiento con NAT cualitativo si se sospecha de una seroconversión temprana, con una repetición de inmunoensayo y análisis WB realizado en 2 y 4 semanas. Aunque la US Food and Drug Administration no ha clarificado la cantidad de la carga viral para diagnósticos de VIH, es poco probable que sea de < de 5000 copias/mL durante la infección aguda de VIH. La reactividad persistente de los ensayos para detectar anticuerpos en el ensayo de cribado con una falta simultánea de cualquier cambio en los patrones de WB sugieren la ausencia de infección por VIH.
- Se le ha ofrecido el escaneo de VIH a un número cada vez más alto de receptores de vacunas experimentales de VIH, que puede provocar resultados falso positivos en pruebas serológicas de cribado para VIH. Siempre que sea posible en dichos pacientes, la prueba de VIH se realiza mejor consultando con el grupo de investigación de la vacuna responsable del protocolo. Este procedimiento puede asegurar una interpretación apropiada para resultados de pruebas sin comprometer los datos del estudio.

Tailandia (10). La mala interpretación de los resultados de pruebas fuera de lugar de VIH en pruebas de VIH en voluntarios puede mejorar a través de una mayor comunicación entre los investigadores de vacunas para VIH y los realizadores de pruebas de diagnóstico.

La decisión para NAT confirmatorio fue diferida y el grupo de investigación de vacunas fue notificado para la interpretación apropiada, el seguimiento y asesoría sobre el cribado para VIH del resultado del paciente, de acuerdo con el protocolo del estudio. Este procedimiento se ase-

guró que tanto el paciente como los investigadores permanecieran desconociendo si el paciente recibió un placebo o la vacuna experimental.

**Contribuciones de Autor:** Todos los autores confirmaron que han contribuido al contenido intelectual de este documento y han seguido los tres siguientes requerimientos: (a) contribuciones significativas para la concepción y diseño, adquisición de datos o análisis e interpretación de éstos; (b) redacción o revisión del artículo en cuanto a su contenido intelectual; y (c) aprobación final del artículo publicado.

**Revelación de los autores de potenciales conflictos de interés:** Sobre la presentación del artículo, todos los autores llenaron la forma de Revelación de Potenciales conflictos de interés. Potenciales conflictos de interés:

**Empleo o liderazgo:** No se declara.

**Papel del Consultor o Asesor:** P. Jarolim, Gerson Grupo Lehrman y T2 Biosystems.

**Propiedad:** No se declara.

**Honorarios:** P. Jarolim, Siemens Healthcare Diagnostics y Ortho Clinical Diagnostics.

**Fondos de investigación:** P. Jarolim, Siemens Healthcare Diagnostics y Roche Diagnostics.

**Testimonio de expertos:** No se declara.

**Papel del patrocinador:** Las organizaciones patrocinadoras no jugaron ningún papel en el diseño del estudio, elección de pacientes reclutados, revisión e interpretación de datos o preparación o aprobación del manuscrito.

## Referencias

1. Branson BM, Handsfield HH, Lampe MA, Janssen RS, Taylor AW, Lyss SB, Clark JE. Revised recommendations for HIV testing of adults, adolescents, and preg-

- nant women in health-care settings. *MMWR Recomm Rep* 2006;55(RR-14):1-17. (Recomendaciones revisadas para pruebas de VIH en adultos, adolescentes y mujeres embarazadas en la configuración de cuidado de la salud)
2. Erickson CP, McNiff T, Klausner JD. Influenza vaccination and false positive HIV results. *N Engl J Med* 2006;354:1422-3. (Vacunación por influenza y resultados falso positivos de VIH)
3. Simonsen L, Buffington J, Shapiro CN, Holman RC, Strine TW, Grossman BJ, et al. Multiple false reactions in viral antibody screening assays after influenza vaccination. *Am J Epidemiol* 1995;141:1089-96. (Múltiples reacciones falsas en el ensayo de cribado para anticuerpos virales después de la vacunación por influenza)
4. Celum CL, Coombs RW, Jones M, Murphy V, Fisher L, Grant C, et al. Risk factors for repeatedly reactive HIV-1 EIA and indeterminate western blots. A population-based case-control study. *Arch Intern Med* 1994;154:1129-37. (Factores de riesgo para reactividad repetida de VIH-1 EIA y western blots indeterminados)
5. Interpretive criteria used to report western blot results for HIV-1 antibody testing—United States. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1991;40:692-5. (Criterios de interpretación usados para reportar resultados western blot para pruebas de anticuerpos VIH-1)
6. Guan M. Frequency, causes, and new challenges of indeterminate results in Western blot confirmatory testing for antibodies to human immunodeficiency virus. *Clin Vaccine Immunol* 2007;14:649-59. (frecuencia, causas y nuevos retos para resultados indeterminados en pruebas confirmatorias con Western blot para anticuerpos de virus de inmunodeficiencia humana)
7. Feinberg MB. Changing the natural history of HIV disease. *Lancet* 1996;348:239-46. (Cambiando la historia natural de enfermedad del VIH)
8. Quirk EK, Mogg R, Brown DD, Lally MA, Mehrotra DV, DiNubile MJ, Robertson MN. HIV seroconversion without infection after receipt of adenovirus-vectored HIV type 1 vaccine. *Clin Infect Dis* 2008;47:1593-9. (Seroconversión de VIH sin infección después de recibir vacuna de adenovirus-vectored de VIH tipo 1)
9. Allen M, Lau CY. Social impact of preventive HIV vaccine clinical trial participation: a model of prevention, assessment and intervention. *Soc Sci Med* 2008;66:945-51. (Impacto de la participación en protocolos clínicos de vacuna preventiva de VIH: un modelo de prevención, asesoría e intervención)
10. Reks-Ngarm S, Pitisuttithum P, Nitayaphan S, Kaewkungwal J, Chiu J, Paris R, et al. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. *N Engl J Med* 2009;361:2209-20. (Vacunación con ALVAC y AIDSVAX para prevenir infección por VIH-1 en Tailandia)

## Comentario

Frederick S. Nolte\*

Este reporte de caso agrega la vacunación de VIH a la lista de causas bien conocidas de resultados falso positivos en pruebas de anticuerpos de de cribado para VIH e ilustra los problemas que constantemente se asocian con la interpretación de WBs. El significado oportuno y efectivo para confirmar los resultados de pruebas de cribado para VIH se ha vuelto cada vez más importante por lo que cada vez más centros integran la prueba de cribado para VIH en la rutina de cuidado clínico como lo recomienda la CDC.

En muchos protocolos de laboratorios, es más factible y menos costoso realizar NAT para VIH-1 RNA

que WB para no ser sujeto de resultados indeterminados. A pesar de que NAT VIH-1 no ha sido aprobada por la US Food and Drug Administration (FDA) para diagnósticos, ellos lo han usado por años para evaluar pacientes que con infección aguda. Estos pacientes típicamente tienen altos niveles virales en un rango de  $10^5$  a  $10^6$  copias/mL, y los resultados no presentan problemas con la interpretación. Los resultados de falso positivo en pruebas de cuenta viral ocurrieron con una prueba de método único (prueba Versant bDNA; Siemens Health Diagnostics); los resultados fueron <sup>4</sup> copias/mL.

La prueba cualitativa APTIMA VIH-1 (Gen Probe), actualmente la única NAT aprobada por FDA para diagnóstico de infección, puede ser usada para diagnosticar infecciones neonatales y agudas, confirma resultados positivos en pruebas de anticuerpos por cribado y resuelve resultados indeterminados de WB. Como los autores señalan, el siguiente paso en el trabajo de diagnóstico

Department of Pathology and Laboratory Medicine, Medical University of South Carolina, Charleston, SC.

\* Dirigir correspondencia a autor a: Medical University of South Carolina, Pathology and Laboratory Medicine, 165 Ashley Ave., Suite 309, MSC 908, Charleston, SC 29425. Fax 843-792-7060; e-mail nolte@musc.edu.

Recibido para publicación 26 de octubre de 2009. Aceptado para publicación 22 de marzo de 2010.

fue una NAT, pero fue diferida cuando se obtuvo la historia de vacunación.

Los pocos individuos que son infectados con VIH-1 pero que progresan a SIDA lentamente o no representan otro dilema de diagnóstico. En estos no progresivos a largo plazo, el anticuerpo de VIH-1 puede ser fácilmente demostrado, pero estos individuos muestran RNA VIH-1 bajo o indetectable en los ensayos disponibles en los laboratorios clínicos. Los controladores viremicos tienen un bajo pero fácilmente medible de conteo de virus. Los controladores de élite suprimen el VIH a concentraciones extremadamente bajas, lo cual permite medir solamente con las técnicas de laboratorio más sensibles.

---

**Contribuciones de Autor:** Todos los autores confirmaron que han

## Comentario

Bernard M. Branson\*

Este caso ilustra un escenario que los médicos pueden encontrar más frecuentemente en tanto que se utilice cada vez más el cribado para VIH en la rutina de cuidado clínico. Los anticuerpos no específicos de reactividad cruzada con el antígeno p24 VIH en personas que no están infectadas es la causa más común de la necesidad de repetir ensayos de cribado para VIH reactivo y resultados indeterminados de Western blot. De cualquier manera, debido a los ensayos de cribado de tercera generación (IgM-sensible) tales como el EHIV (Siemens) detectan anticuerpos en 2 o más semanas antes de que aparezcan las bandas en el Western blot, los resultados indeterminados pueden también indicar infección muy reciente de VIH. Por lo general las bandas p24 o gp41 son las primeras que aparecen en el Western blot después de la infección. Lo que complica más esta presentación, la vacunación para influenza también ha estado implicada como una causa de ensayos de cribado de VIH reactivo con resultados indeterminados en Western blot. Dichos casos, sin embargo, por lo general se caracterizan por reactividad a las proteínas gp 160 (precursor) o gp41 (transmembrana) en Western blot debido a la notable homología entre las moléculas transmembrana de las proteínas de envoltura

---

National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, STD, and TB Prevention, CDC, Atlanta, GA.

\* Dirigir correspondencia al autor a: National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, STD, and TB Prevention, 1600 Clifton Rd., N.E., Atlanta, GA 30333. Fax 404-639-0897; e-mail bbranson@cdc.gov.

Recibido para publicación 23 de Julio de 2010 Aceptado para publicación 2 de Agosto de 2010.

contribuido al contenido intelectual de este documento y han seguido los tres siguientes requerimientos: (a) contribuciones significativas para la concepción y diseño, adquisición de datos o análisis e interpretación de éstos; (b) redacción o revisión del artículo en cuanto a su contenido intelectual; y (c) aprobación final del artículo publicado.

**Revelación de los autores de potenciales conflictos de interés:** Sobre la presentación del artículo, todos los autores llenaron la forma de Revelación de Potenciales conflictos de interés. Potenciales conflictos de interés:

**Empleo o liderazgo:** No se declara.

**Papel del Consultor o Asesor:** F.S. Nolte, Gen-Probe y Abbott Molecular.

**Propiedad:** No se declara.

**Honorarios:** No se declara.

**Fondos de investigación:** No se declara.

**Testimonio de expertos:** No se declara.

**Papel del patrocinador:** Las organizaciones patrocinadoras no jugaron ningún papel en el diseño del estudio, elección de pacientes reclutados, revisión e interpretación de datos o preparación o aprobación del manuscrito.

de VIH-1 y la proteína hemaglutinina de envoltura de influenza. A pesar de la ausencia de factores clásicos de riesgo para VIH, continúa siendo importante asegurarse de que los pacientes con resultados indeterminados en Western blot no estén infectados. Observaciones recientes han demostrado que un 50% de las personas que no manifestaban factores tradicionales de riesgo fueron detectados con infección por VIH han sido descubiertas durante pruebas de rutina de cribado (screening). La resolución de un resultado indeterminado con Western blot requiere tanto de un ensayo cualitativo RNA o conteo viral cuantitativo RNA para documentar la ausencia de VIH RNA o una repetición de Western blot después de 4 semanas. Los resultados RNA negativos o continuamente indeterminados de western blot de más de 4 semanas confirman la ausencia de infección por VIH y permiten que el paciente se asegure de que no está infectado.

---

**Contribuciones de Autor:** Todos los autores confirmaron que han contribuido al contenido intelectual de este documento y han seguido los tres siguientes requerimientos: (a) contribuciones significativas para la concepción y diseño, adquisición de datos o análisis e interpretación de éstos; (b) redacción o revisión del artículo en cuanto a su contenido intelectual; y (c) aprobación final del artículo publicado.

**Revelación de los autores de potenciales conflictos de interés:** Ningún autor reportó conflicto de interés.

**Papel del patrocinador:** Las organizaciones patrocinadoras no jugaron ningún papel en el diseño del estudio, elección de pacientes reclutados, revisión e interpretación de datos o preparación o aprobación del manuscrito.