

Metodologías de laboratorio para la determinación de la incidencia del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)

Laboratory methodologies for incidence determination of Human Immunodeficiency Virus (HIV)

Daniel Cascante-Serrano¹, José Pablo Marín-Gómez¹

⁽¹⁾Laboratorio Clínico, Hospital San Juan de Dios, Caja Costarricense del Seguro Social

Resumen

La determinación de la incidencia del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) constituye uno de los principales objetivos en la vigilancia epidemiológica la infección por este virus. Con la implementación de una nueva metodología de laboratorio, que sustituye a sus predecesoras en términos de complejidad y costo, se ha abierto la oportunidad para que en un futuro cercano cualquier país pueda incorporar esta técnica como parte de los protocolos ya existentes de vigilancia, esto una vez que esta sea validada por el CDC con la colaboración de los países de la región. Además, la OMS recomienda introducir esta nueva metodología en un algoritmo de infección reciente para la clasificación final de los pacientes portadores del VIH, con el fin de obtener valores confiables de la incidencia de este virus en la población. El objetivo de esta investigación es revisar las metodologías existentes para determinar la incidencia del VIH y la importancia de su validación e implementación en los sistemas de vigilancia epidemiológica.

Abstract

The incidence determination of HIV is one of the main objectives in the epidemiological surveillance of infection by this virus. With the implementation of a new laboratory methodology, which replaces its predecessors in terms of complexity and cost, the opportunity has been opened up so that in the near future any country can incorporate this technique as part of the existing surveillance protocols, this once it is validated by the CDC with the collaboration of the countries of the region. In addition, the WHO recommends introducing this new methodology in a recent infection algorithm (RITA) for the final classification of patients with HIV, in order to obtain reliable values of the incidence of this virus in the population. The objective of this research is to review existing methodologies to determine the incidence of HIV and the importance of its validation and implementation in epidemiological surveillance systems.

Introducción

El Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) se expande rápidamente a nivel mundial, generando gran impacto en las economías y en los servicios de salud. La incidencia del VIH se define como el número de infecciones nuevas en una población en riesgo en un tiempo determinado ¹. Este valor es un indicador de salud pública que permite establecer patrones de transmisión e identificar la población que se encuentra en mayor riesgo, con el fin de iniciar un tratamiento temprano. Además, se pueden evaluar las estrategias de prevención e intervención mediante la comparación de datos entre poblaciones o entre distintos periodos de tiempo ¹.

Tradicionalmente la incidencia se ha medido cuantificando el número de casos nuevos en una población y dando un seguimiento en el tiempo mediante estudios longitudinales ², sin embargo, estos estudios son muy costosos y consumen mucho tiempo, por lo cual se han desarrollado distintos métodos de laboratorio con el fin de determinar la incidencia del VIH en un menor tiempo.

Estas metodologías se basan en la medición de la avidéz de los anticuerpos generados durante la infección por VIH y los resultados se correlacionan con una infección reciente o de tiempo prolongado, para lograrlo, estos métodos han pasado por diferentes fases de validación y verificación ³.

Dentro de los parámetros que estas pruebas deben cumplir para su validación se incluyen: a) *Mean Duration of Recent Infection* (MDRI) que se define como el tiempo promedio en el cual un paciente vivo está recientemente infectado, este MDRI es dado por un valor “T” que se define como un tiempo menor al tiempo promedio en donde el paciente estaba infectado, y b) *False Recent Rate* (FRR) que es la probabilidad que un paciente elegido al azar y que posea un tiempo de infección mayor a “T” pueda producir un resultado catalogado como “reciente”, es decir, la frecuencia de resultados “falsos recientes” obtenidos en pacientes que en realidad tienen infecciones no recientes o prolongadas ³. Para alcanzar estimados útiles y precisos en la medición de incidencia, el método debe tener un MDRI suficientemente duradero (en el orden de un año o dos) y un FRR pequeño (idealmente cero o menos del 2%), este último puede aumentar principalmente en poblaciones VIH positivos que manejan cargas virales muy bajas o indetectables que no están con terapia antiretroviral llamados “controladores élite” y en pacientes con terapia antiretroviral ³.

Hasta la fecha, el método de laboratorio más utilizado para medir la incidencia de VIH se basa en el mismo principio de avidéz, utilizando un ensayo de ELISA de captura de anticuerpos. Sin embargo, requiere de equipo especializado que aumenta los costos de aplicación.

Con el fin de disminuir estos costos, un grupo de especialistas del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Estados Unidos se encargó del diseño y validación de un método basado en el mismo principio de detección de avidéz de anticuerpos bajo el

concepto de una prueba rápida de inmunocromatografía de flujo lateral ^{4,6}. Posteriormente comenzó su comercialización, siendo el uso de esta prueba restringido únicamente para investigación, debido a que los valores de MDRI y FRR aún no han sido determinados para su aplicación formal en la medición de incidencia. Por esta razón, el CDC se encuentra promoviendo la aplicación de esta prueba en diferentes países con el fin de recopilar los resultados necesarios y así obtener los parámetros para su validación. Cabe destacar que ésta, no es una metodología aislada y única para la determinación de la incidencia del VIH sino que forma parte de un algoritmo de infección recientemente definido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2009 como RITA (por las siglas en inglés *Recent Infection Test Algorithm*) ⁵, el cual incluye determinaciones conjuntas de carga viral para la clasificación final de los pacientes lo cual permite obtener valores bajos de falsos recientes y así poder validar la prueba.

En la presente revisión se describen las diferentes metodologías que se han utilizado a lo largo de los años para determinar la incidencia de VIH, dando énfasis a la validación del método más reciente de inmunocromatografía de flujo lateral diseñado por el CDC y en cómo su validación depende de la participación activa de los diferentes países de la región, además de la aplicación de esta prueba como parte de un protocolo de infección reciente.

Ensayos de laboratorio para determinación de incidencia: antecedentes

En el año 2002, un grupo de investigadores del CDC diseñaron la primer prueba para la determinación de la incidencia del VIH basándose en el título de anticuerpos anti-HIV, ya que bajos títulos de anticuerpos correlacionaban con infecciones recientes ⁷, sin embargo mostraron tener muy baja sensibilidad en la determinación de títulos de anticuerpos contra antígenos que no fuesen del subtipo B del VIH ⁸.

Con el fin de aumentar esta sensibilidad, este mismo centro desarrolló en el año 2007 un nuevo inmunoensayo basado en un ELISA de captura de anticuerpos llamado BED-cEIA que utilizaba un antígeno sintético con secuencias de múltiples subtipos del VIH con el fin de capturar la proporción de anticuerpos anti-HIV 1 que aumenta en el tiempo después de la seroconversión ⁹, sin embargo, luego de su aplicación en diferentes estudios se obtuvieron altos porcentajes de FRR lo cual conllevó a sobreestimaciones de la incidencia de VIH en esas poblaciones ¹⁰.

Debido a este fracaso, en el año 2011 se propuso una técnica que incluyera la medición de avidéz de los anticuerpos que implicó en una reducción sustancial de los valores de FRR obtenidos ¹¹. Esta nueva metodología incorporaba una nueva proteína recombinante llamada r-IDR-M que contenía las principales variantes de las regiones inmunodominantes de la glicoproteína de envoltura gp41 de HIV-1 en formato de un solo pocillo, utilizando cantidades limitantes del antígeno con el fin de detectar anticuerpos de baja y alta avidéz contra dicha proteína y relacionar esta avidéz con infecciones recientes y no recientes. Entre

mayor avidez tengan los anticuerpos, aumenta su capacidad de reconocimiento del antígeno en concentraciones bajas y así producir una reacción antígeno-anticuerpo, lo cual se observa en infecciones no recientes o prolongadas y es el principio diferencial que permite distinguirlas de infecciones recientes en donde se tienen anticuerpos de baja avidez donde no se observa dicha reacción ¹²⁻¹³. Luego de su aplicación en diferentes estudios, se logró demostrar que con el uso de esta proteína multisubtipo el valor de FRR disminuía a menos del 1.5% lo cual sugiere una exactitud mejorada en comparación con tecnologías previas ¹³. Sin embargo, esta era una técnica que requería de equipo de laboratorio especializado y personal entrenado lo cual implicaba un costo elevado para su aplicación en países en vías de desarrollo con alta incidencia de VIH.

Prueba rápida para determinación de incidencia: fundamento y validación

Con el fin de obtener una metodología de fácil implementación y de bajo costo para determinar infecciones recientes de VIH, en el año 2013 científicos del CDC diseñaron una prueba rápida utilizando el principio de concentración limitante del antígeno r-IDR-M para diferenciar infecciones recientes de las no recientes, pero en un formato de inmunocromatografía de flujo lateral, donde se puede definir un periodo de infección reciente de menos de 180 días con base al último dato de seronegatividad de los sueros utilizados para su diseño y validación inicial ⁴. En la figura 1, se muestra la estructura de la tira de la prueba experimental así como su criterio de interpretación.

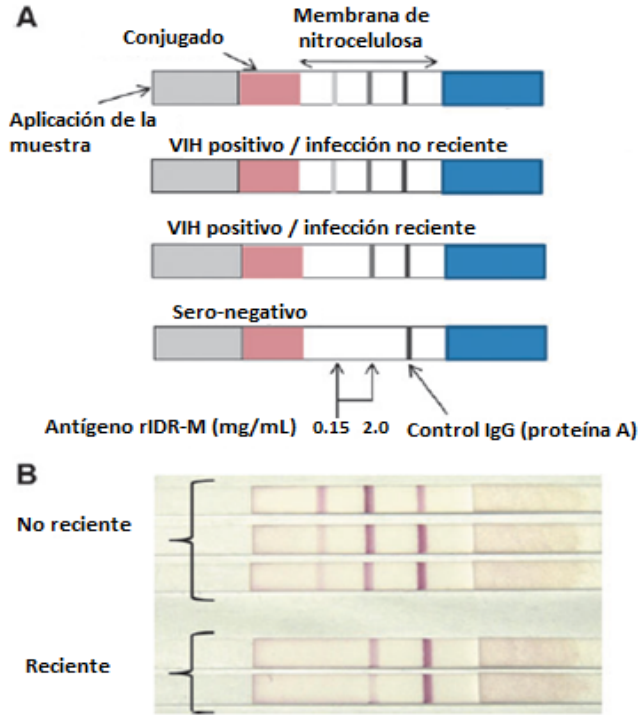


Figura 1. Diseño de prueba rápida experimental (CDC) incluyendo criterios de interpretación. (A) esquema general de la prueba rápida incluyendo la descripción de cada parte de la tira reactiva, (B) fotografías de pruebas aplicadas en tres pacientes con infecciones de más de un año catalogada como “no reciente” (arriba) y dos pacientes con infecciones “recientes” (menos de 180 días o 6 meses). Modificado de (4).

Según las recomendaciones de los autores, el uso previsto de esta prueba consiste en determinar la incidencia de VIH en pacientes con diagnóstico ya confirmado, por lo que no está diseñada para ser una metodología diagnóstica alternativa o sustitutiva a las ya establecidas y por lo tanto, no debe utilizarse a la hora de tomar decisiones clínicas en el manejo de los pacientes. Luego de la etapa de diseño experimental la prueba se comercializó y está disponible para uso de investigación¹³, haciendo la salvedad que aún se encuentra etapa de validación para su uso en vigilancia epidemiológica y para lograrlo es necesario definir los valores de MDRI y FRR de la prueba los cuales aún no se conocen.

Por esta razón, el CDC se encuentra recopilando información en diferentes poblaciones para poder establecer estos valores, por el momento se tienen resultados de estudios preliminares que sugieren un MDRI de seis meses y un FRR muy similar al de la prueba anterior¹³ lo cual respalda la exactitud y futura aplicabilidad de la prueba, pero es necesario la recopilación de una mayor cantidad de datos provenientes de otros países. La participación activa de los diferentes países de la región, incluida Costa Rica en la aplicación de esta prueba en su población portadora del VIH, brindará la información requerida para que el CDC finalmente pueda calcular los valores de MDRI y FRR y así concretar la validación.

Algoritmo de prueba de infección reciente

Según las recomendaciones más recientes de la OMS en el año 2015 respecto a la determinación de infección reciente en pacientes VIH positivos, debe aplicarse un algoritmo que incluya la determinación concomitante de carga viral con el fin de determinar y excluir casos conocidos como “falsos recientes” en población bajo terapia antirretroviral y en pacientes denominados “controladores élite” que manejan cargas virales muy bajas o indetectables y por esta razón no tienen títulos altos de anticuerpos⁵. La aplicación de esta recomendación constituye la base del algoritmo de prueba de infección reciente RITA (por las siglas en inglés *Recent Infection Test Algorithm*), el cual es el principal objetivo al implementar estas pruebas de laboratorio para la determinación de la incidencia de VIH en un determinado centro hospitalario. La figura 2 detalla el protocolo RITA recomendado por la OMS.

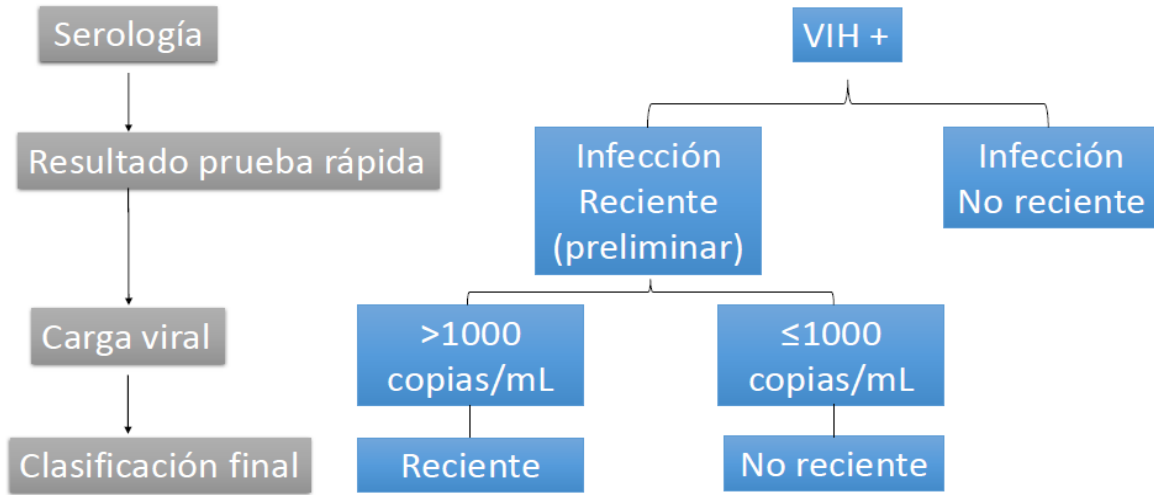


Figura 2. Algoritmo de infección reciente (RITA) recomendado por la Organización Mundial de la Salud en la determinación de la incidencia de VIH. Modificado de (13).

Conclusiones

Existen diferentes metodologías de laboratorio desarrolladas con el fin de determinar la incidencia del VIH que han sido desarrolladas y modificadas desde el año 2002 hasta obtener en el año 2013 la prueba de medición de la avidéz de anticuerpos anti r-IDR-M, que posee el mejor rendimiento representado en sus valores de MDRI y FRR. Esta metodología existe en formato de ELISA e inmunocromatografía, sin embargo esta última aún se encuentra en etapa de validación por parte del CDC y es necesaria su aplicación en diferentes países de la región con el fin de recopilar la cantidad de datos que permita definir los parámetros de MDRI y FRR y así validar la prueba rápida. Cabe destacar que Costa Rica sería parte de los países participantes en la aplicación de esta metodología lo cual impactaría de una manera positiva el sistema de vigilancia epidemiológica del VIH en el país.

Además de su implementación en los diferentes países, es necesario seguir las recomendaciones de la OMS que buscan aplicar un algoritmo de infección reciente para clasificar correctamente a los pacientes portadores del VIH y mejorar significativamente su manejo al identificar de una manera más exacta las poblaciones susceptibles y dirigir los esfuerzos en materia de prevención, diagnóstico y tratamiento.

Referencias

1. World Health Organization. (2016). Consolidated guidelines on HIV prevention, diagnosis, treatment and care for key populations.
2. Brookmeyer R, Quinn TC. Estimation of current human immunodeficiency virus incidence rates from a cross-sectional survey using early diagnostic tests. *Am J Epidemiol* 1995; 141: 166–172
3. Kassanjee, R., Pilcher, C.D., Keating, S., Facente, S.N, McKinney, E., Price, M.A., Welte, A. (2014). Independent assessment of candidate HIV incidence assays on specimens in the CEPHIA repository. *AIDS (London, England)*, 28(16), 2439.
4. Granade, T. C., Nguyen, S., Kuehl, D. S., & Parekh, B. S. (2013). Development of a novel rapid HIV test for simultaneous detection of recent or long-term HIV type 1 infection using a single testing device. *AIDS research and human retroviruses*, 29(1), 61-67.
5. *Technical Update on HIV Incidence Assays for Surveillance and Monitoring Purposes*. UNAIDS/WHO, 2015.
6. Janssen RS, Satten GA, Stramer SL, et al. New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. *JAMA* 1998, 280:42-48
7. Parekh BS, Kennedy MS, Dobbs T, et al. Quantitative detection of increasing HIV type 1 antibodies after seroconversion: a simple assay for detecting recent HIV infection and -estimating incidence. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2002, 18:295-307.
8. Young CL, Hu DJ, Byers R, et al. Evaluation of a sensitive/less sensitive testing algorithm using the bioMerieux Vironostika-LS assay for detecting recent HIV-1 subtype B' or E infection in Thailand. *AIDS Res Hum Retroviruse* 2003, 19:481-486.
9. Karita E, Price M, Hunter E, Chomba E, Allen S, et al. Investigating the utility of the HIV-1 BED capture enzyme immunoassay using cross-sectional and longitudinal seroconverter specimens from Africa. *AIDS* 2007, 21:403-408.
10. Laeyendecker O, Oliver A, Astemborski J, Owen SM, Kirk G, et al. Improved precision of cross-sectional HIV incidence testing using a multi-assay algorithm that includes BED and an avidity assay with modified assay cut-offs. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. San Francisco. 2010, #935.
11. Wei X, Liu X, Dobbs T, Kuehl et al. Development of two avidity-based assays to detect recent HIV type 1 seroconversion using a multisubtype gp41 recombinant protein. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2010, 26:1-11.
12. Sedia Biosciences Corporation. (2016). Sedia™ HIV-1 Lag-Avidity EIA: Single Well Avidity Enzyme Immunoassay for Detection of Recent HIV-1 Infection Using Serum or Plasma Only. Portland, Oregon, United States
13. Sedia Biosciences Corporation. (2017). Asanté HIV Rapid Recency Assay: Rapid in vitro immunoassay for determining Recency of Human Immunodeficiency Virus (HIV-1) infections. Portland, Oregon, United States