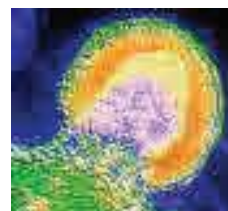
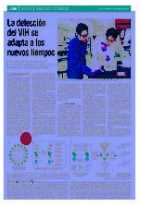




Test del VIH: mayor comodidad sin perder sensibilidad

PÁG. 28





La detección del VIH se adapta a los nuevos tiempos

Se investigan métodos más rápidos, cómodos y accesibles que mantengan altos niveles de sensibilidad y especificidad

MADRID **MARÍA SÁNCHEZ-MONGE**
maria.sanchez@diariomedico.com

La oferta de pruebas de detección del VIH se amplía. Por un lado, acaba de hacer su aparición en España el autotest; por otro, prosigue la investigación de mejores métodos de laboratorio. Una buena prueba de la intensa investigación que se está desarrollando en este terreno es un trabajo que se acaba de publicar en *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, dirigido por Carolyn Bertozzi, de la Universidad de Stanford (Estados Unidos). La mayoría de los test se basan en la detección de anticuerpos en sangre. En este caso, los investigadores se han decantado por un método que realiza esa búsqueda en la saliva. Este fluido se recoge de forma más cómoda y segura, pero presenta el inconveniente de que la concentración de anticuerpos frente al VIH es menor que en la sangre, lo que hace que la sensibilidad de detección sea inferior en las primeras semanas tras la infección.

ASI FUNCIONA EL MÉTODO DE DETECCIÓN EN SALIVA

Con el fin de soslayar este problema, el equipo de Bertozzi ha desarrollado una estrategia indirecta: en vez de dirigirse a los anticuerpos en sí, el método se centra en lo que pueden hacer. Esto se consigue con la tecnología de Detección de Anticuerpos por Aglutinación-PCR (ADAP).

De forma simplificada, el sistema aprovecha un rasgo clave de los anticuerpos: que tienen dos brazos, cada uno de los cuales se agarra fácilmente a virus como el VIH. Los investigadores unieron antígenos de VIH a una y otra mitad de un fragmento de ADN. A continuación, añadieron estos antígenos modificados a una muestra de saliva.

De esa manera, si esa muestra contenía anticuerpos de VIH, sus dos brazos se agarrarían a los antígenos conjugados con ADN, uniendo las dos mitades de ADN en una hebra continua. Una vez que el ADN alcanza esa longitud total, resulta sencillo detectarlo usando técnicas estándar de laboratorio.



Dos investigadores de la Universidad de Stanford ponen a punto una de las primeras versiones del nuevo test.

Este método, que aún debe perfeccionarse, diagnosticó correctamente a 22 personas que habían dado positivo con otros métodos de detección. Por otro lado, el test no arrojó ningún falso positivo en otros 22 participantes que eran seronegativos.

PERIODO VENTANA

“Creemos que podemos captar señales de infección a partir de fluido oral en torno a 30 días tras la infección”, ha explicado Bertozzi a DM. “En comparación, los test orales actualmente disponibles captan señales a partir de los 40 días y los test de sangre en torno a los 15 días”. La investigadora confía en poder mejorar su tecnología para aproximarse a ese periodo mínimo que en la actualidad se sitúa en dos semanas.

Dado que este test requiere “la amplificación de una secuencia

distintiva de ADN mediante PCR, de momento esta tecnología no puede aplicarse a la autodetección”, aclara la investigadora. “Es un test que tiene que realizarse en un laboratorio”.

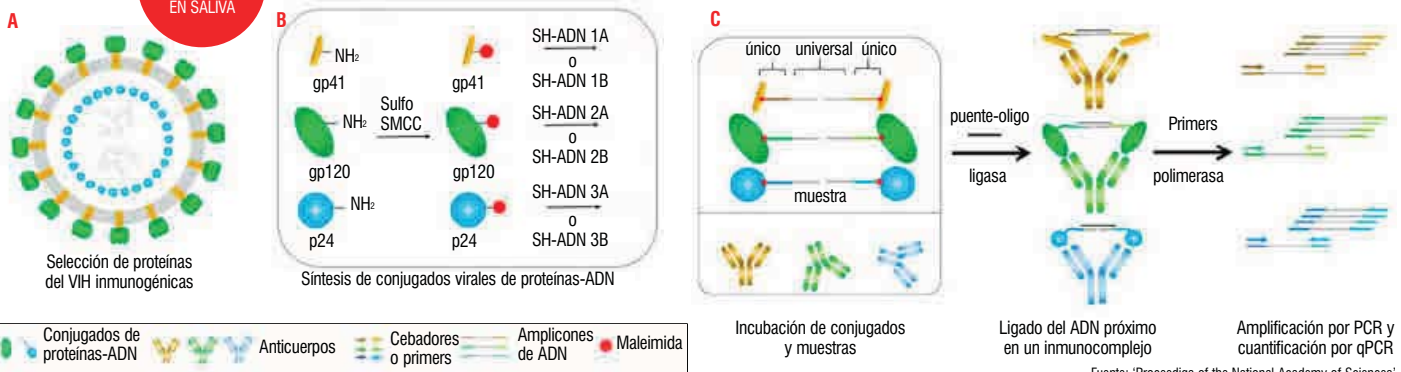
Cada modalidad cubre una necesidad diferente. Tal y como comenta Javier de la Torre, portavoz de la Junta Directiva del Grupo de Estudio del Sida (Gesida), “muchas personas prefieren hacerse la prueba tranquilamente en su domicilio sin involucrar a nadie más”. La principal razón es “el estigma que todavía se asocia al VIH”. El experto recalca que “un negativo no significa que no se tenga VIH. Hay un periodo ventana de tres meses”.

Miguel Ángel Benítez, presidente del Grupo de Trabajo de Microbiología de la Sociedad de Medicina de Laboratorio y director técnico del Consorcio del Laboratorio

Intercomarcal del Alto Penedés, Anoya y Garraf (Barcelona), comenta que con los sistemas de laboratorio ese plazo se puede reducir hasta 2-8 semanas. “En casi el 100 por cien de los laboratorios clínicos empleamos métodos de cuarta generación”, precisa. En ellos se mezcla la detección de anticuerpos frente a VIH 1 y 2 con la detección del antígeno p24, “que aparece antes que los anticuerpos, con lo que se puede reducir el periodo ventana”.

Generalmente, la tecnología que se emplea en esos test de cuarta generación es la quimioluminiscencia, que es un sistema basado en la transmisión de luz que se usa para detectar anticuerpos y hormonas.

Hoy por hoy, la detección directa del virus queda reservada para casos muy excepcionales en los que no se pueda esperar.



Detección por ADAP

El sistema se basa en la selección de protección de proteínas inmunogénicas (A), como p24 -en azul- y gp160, que se escinde en gp41 -en marrón- y gp12 -en verde-. Las proteínas recombinantes virales (B) se activan con el empleo de maleimidinas en los residuos de lisina a través del agente sulfo-SMCC. El ADN funcionalizado con grupos tiol se liga de forma covalente a esas maleimidinas mediante reacción de Michael para formar conjugados de proteínas y ADN. Con la incubación con muestras que contienen anticuerpos (C), los anticuerpos y los conjugados forman complejos inmunes, lo que permite que el ADN que está próximo

se ligue en un amplicón de longitud completa gracias a la adición de un puente universal de oligonucleótidos y una ligasa de ADN. Cada amplicón presenta primers que constituyen sitios de unión únicos para la amplificación independiente y la cuantificación mediante qPCR en tiempo real. Los conjugados de ADN por sí solos, sin ligado, presentan solo un primer de unión y son, por lo tanto, incompetentes para PCR. Solo el ligado con éxito en amplicones de longitud completa permite la amplificación exponencial por PCR. Este mecanismo de ‘encendido’ hace que el sistema ADAP alcance la sensibilidad analítica de la PCR preservando su especificidad como prueba.