



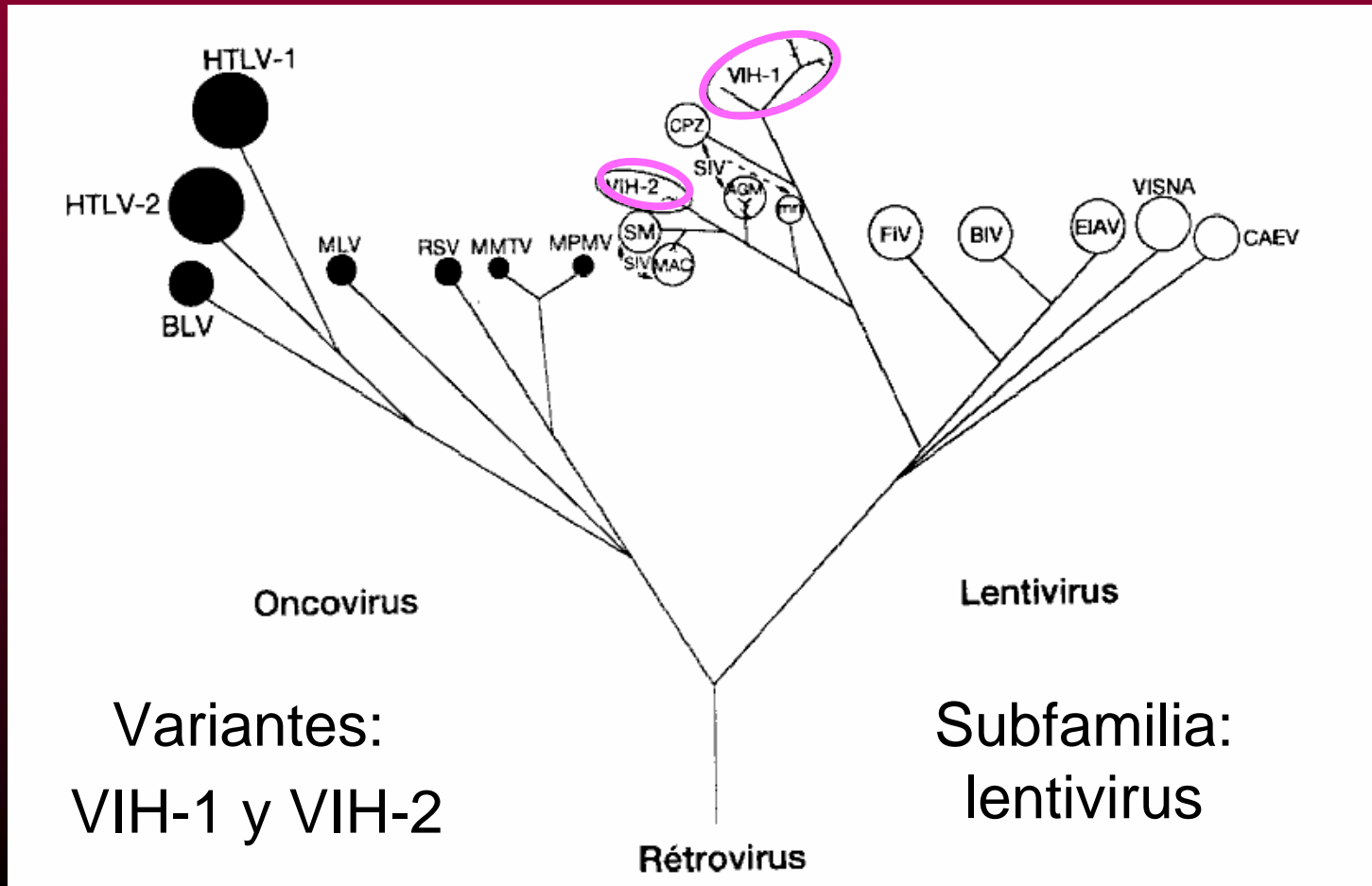
# **INMUNOPATOGENIA DE LA INFECCIÓN POR VIH**

**Métodos de diagnóstico y  
seguimiento**

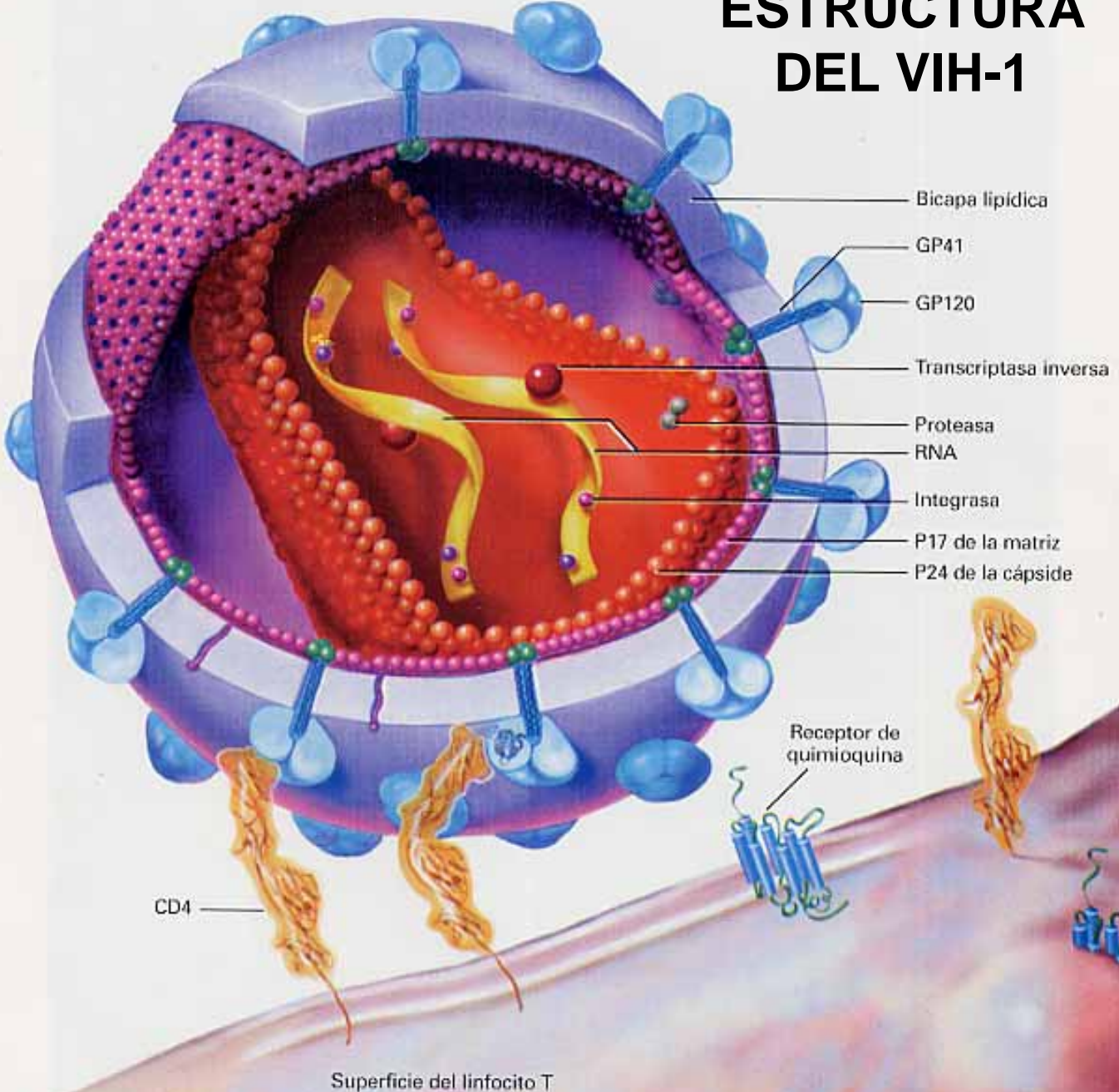
**Dra Morella Bouchard**

# VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA

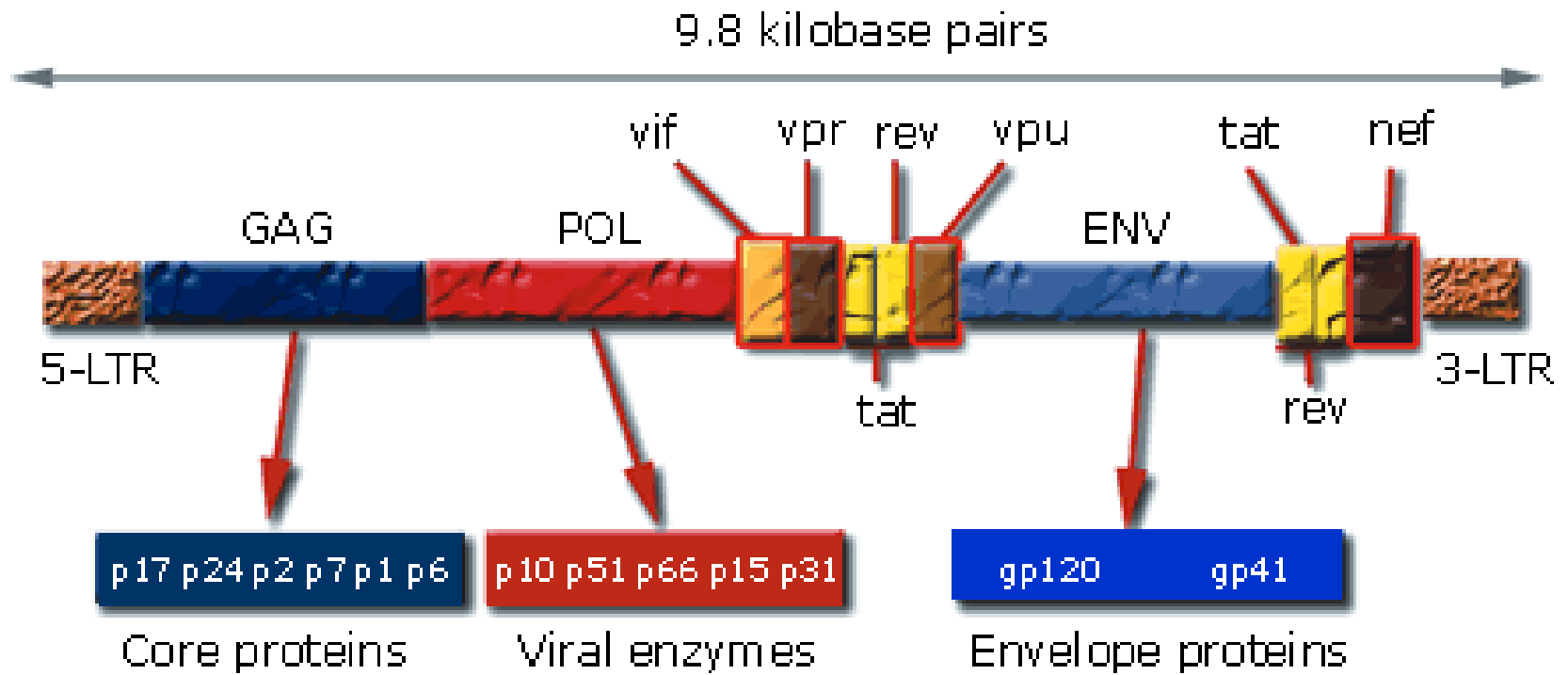
- ✦ Familia : Retrovirus
- ✦ RETROVIRUS: información genética almacenada como ARN, poseen una enzima, la transcriptasa reversa, que convierte el ARN en ADN por un proceso llamado **transcripción reversa**



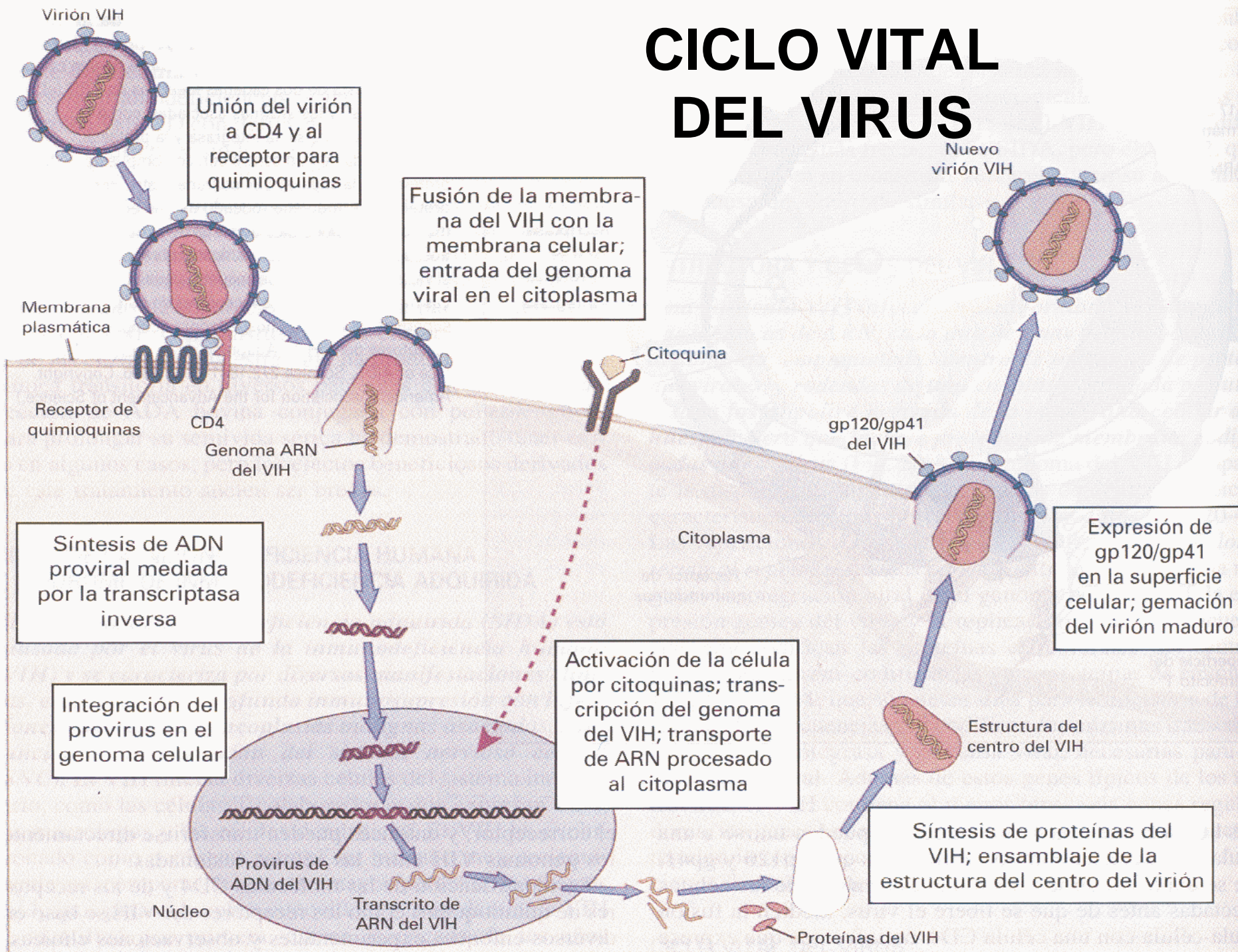
# ESTRUCTURA DEL VIH-1



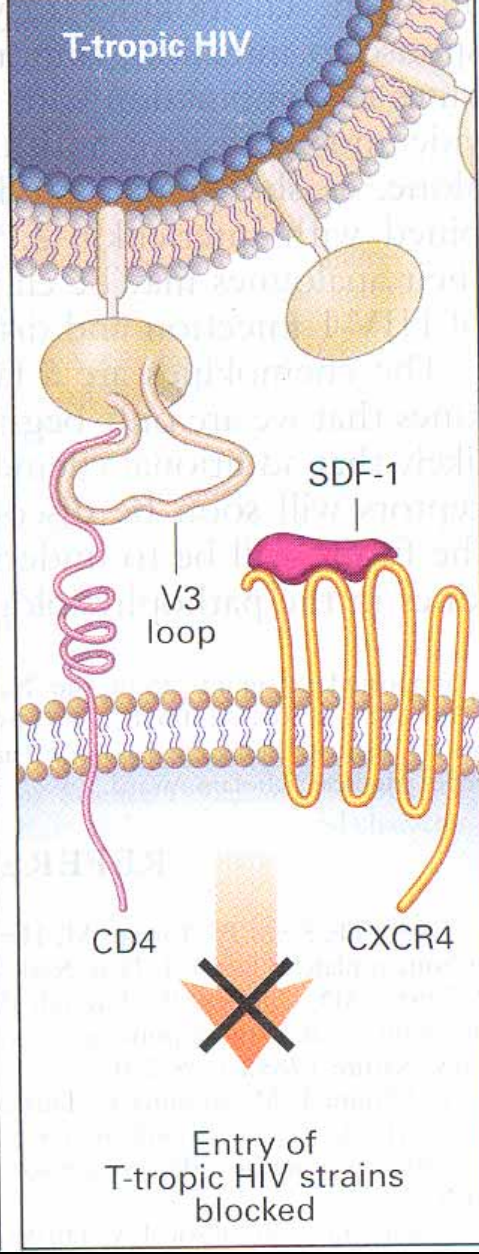
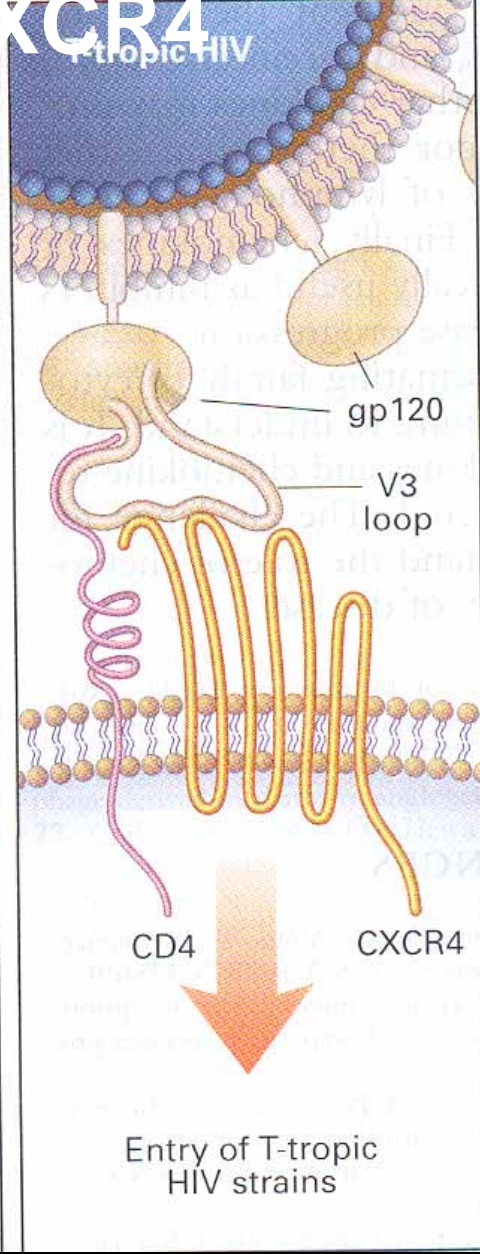
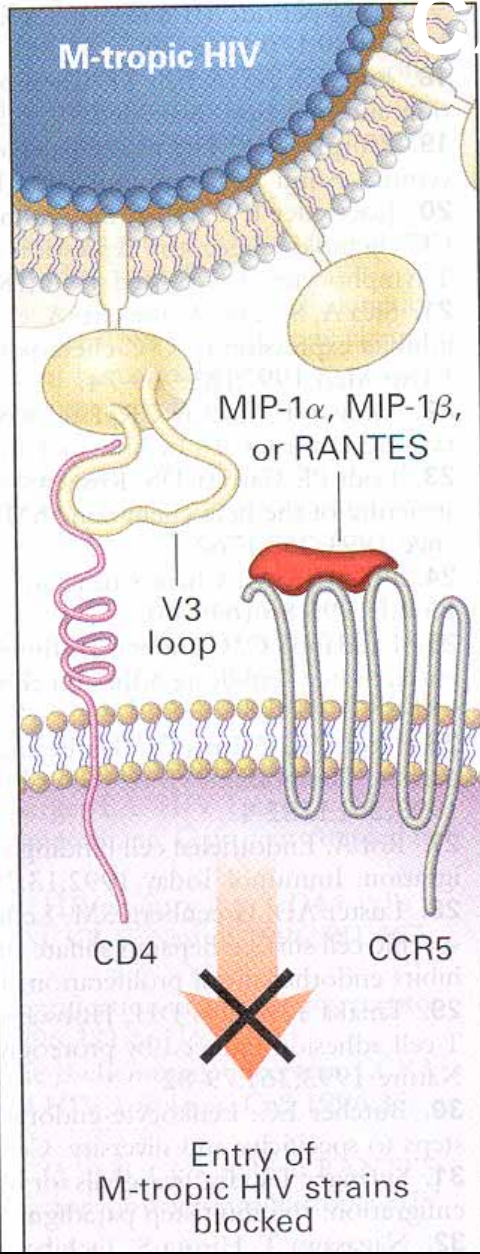
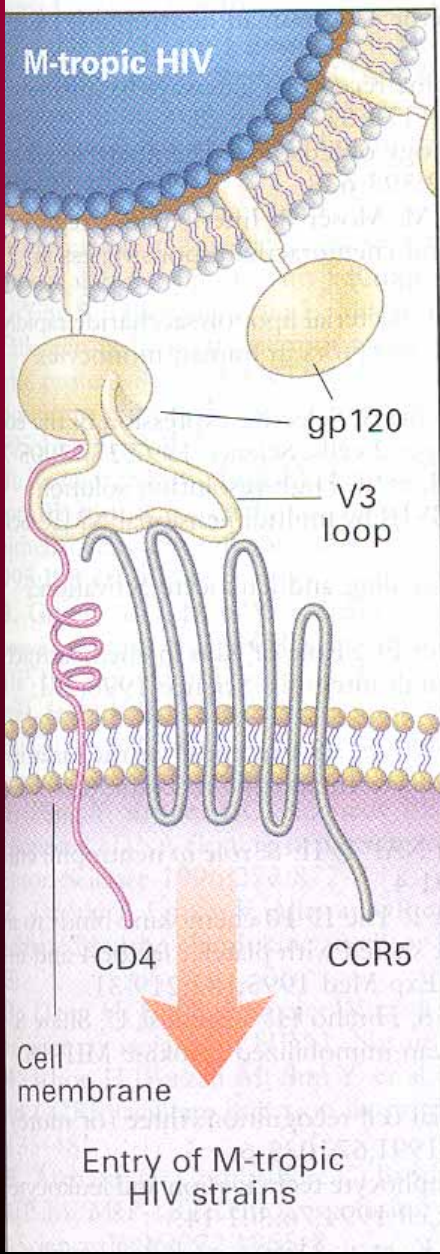
# ESTRUCTURA GENÉTICA DEL VIH-1



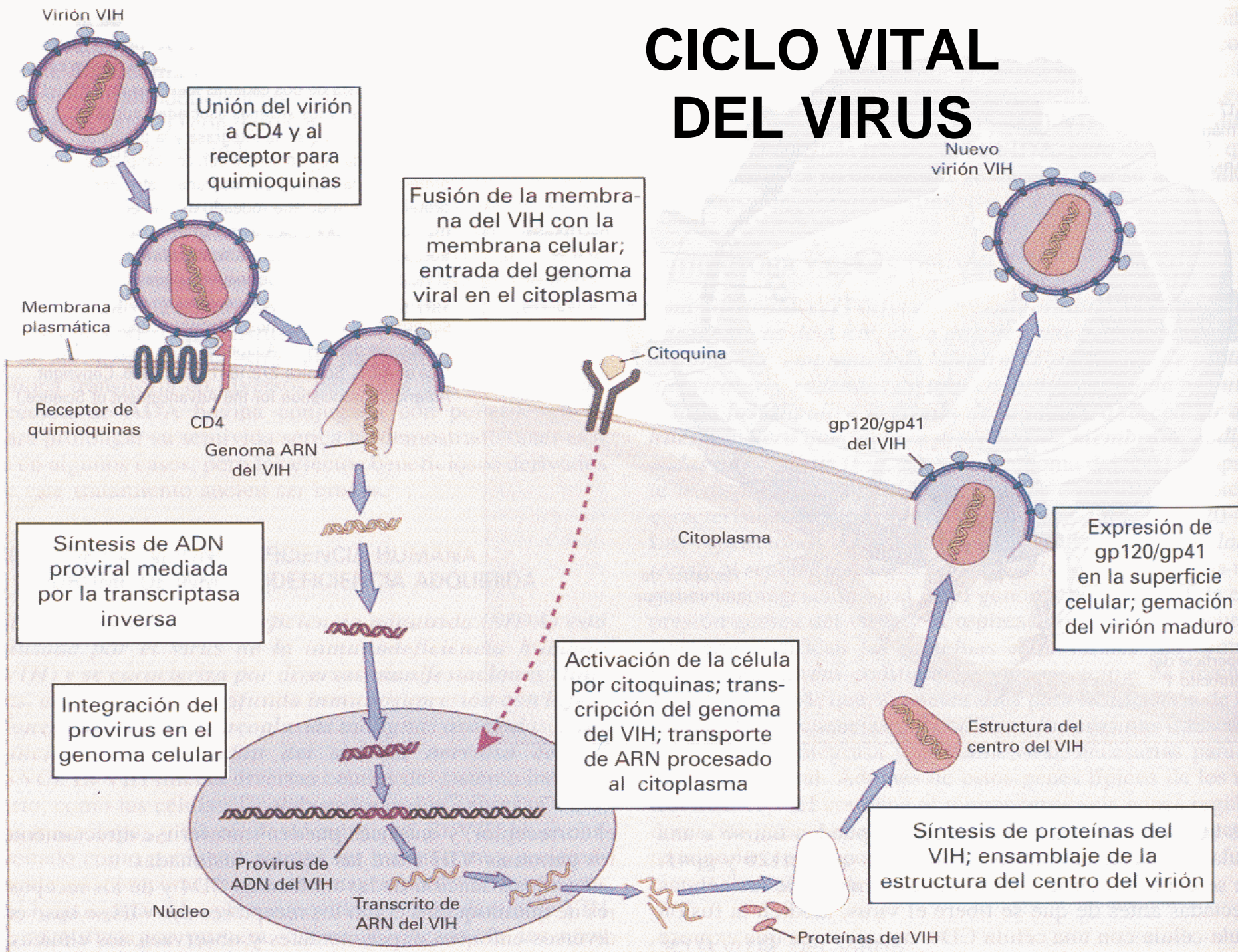
# CICLO VITAL DEL VIRUS

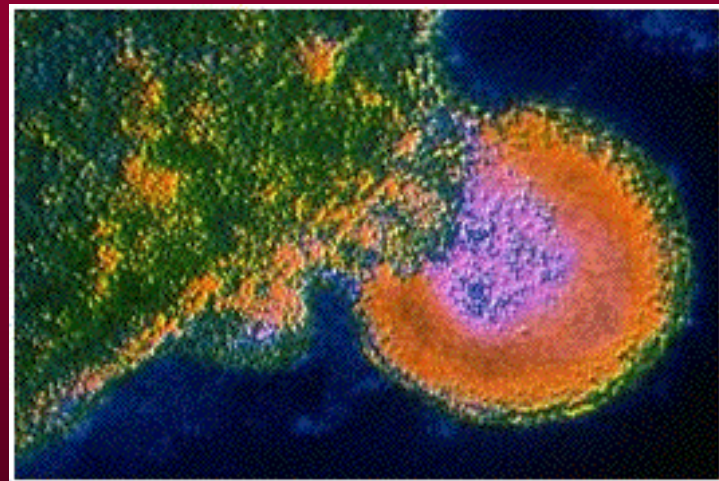


# Entrada del Virus Necesidad de Correceptores CCR5 ó CXCR4



# CICLO VITAL DEL VIRUS







**INFECCIÓN**

PRIMARIA

RECIRCULACION  
DE LINFOCITOS

VIREMIA

**SINDROME**

AGUDO

SECUESTRO DEL  
VIH EN EL TEJIDO  
LINFOIDE

REDUCCION  
DE LA VIREMIA  
*SET POINT*

RESPUESTA  
INMUNE AL VIH

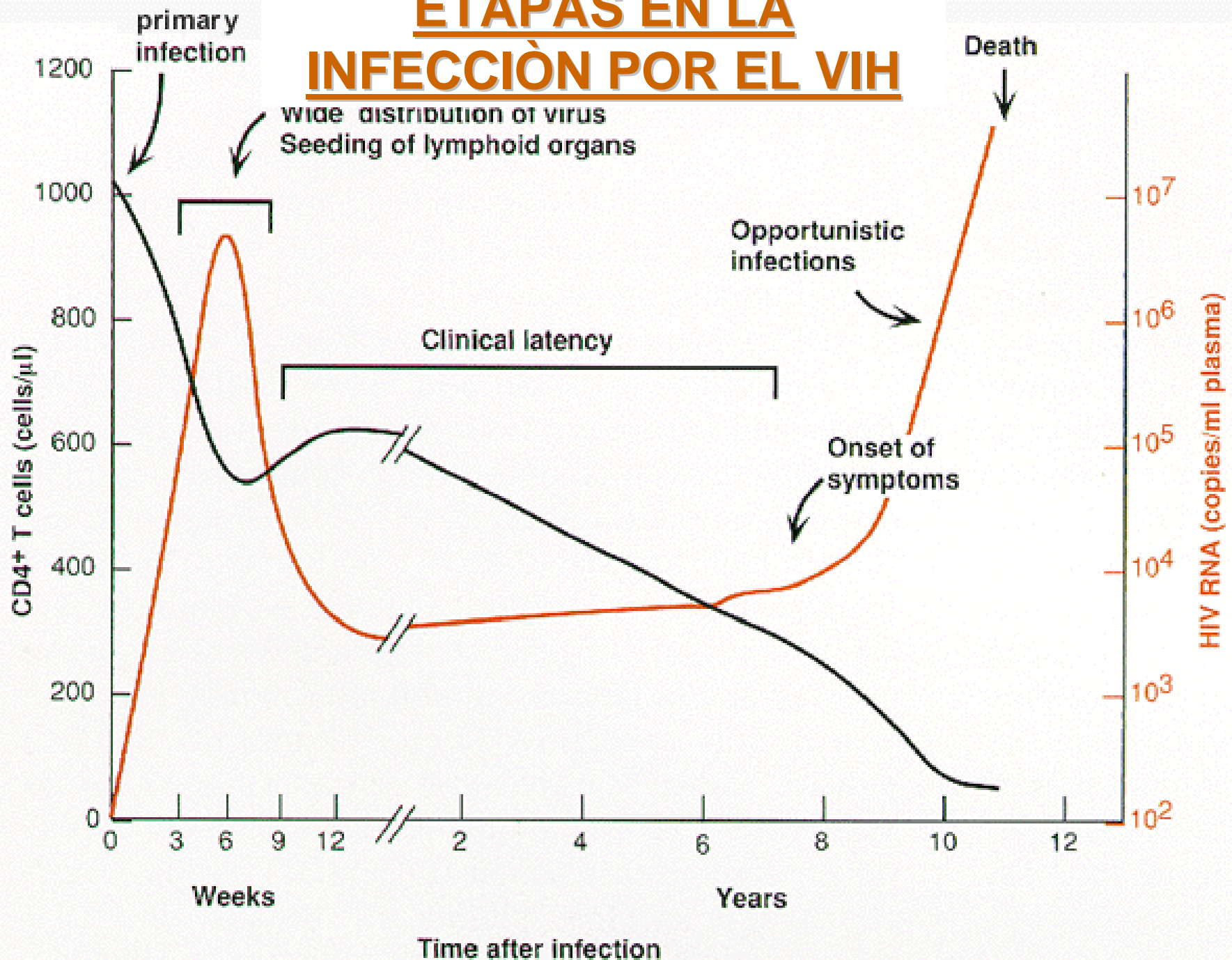
**LATENCIA**

CLÍNICA

PÉRDIDA DE CÉLULAS T CD4+  
DESTRUCCIÓN LINFOIDE

**SIDA**

# ETAPAS EN LA INFECCIÓN POR EL VIH

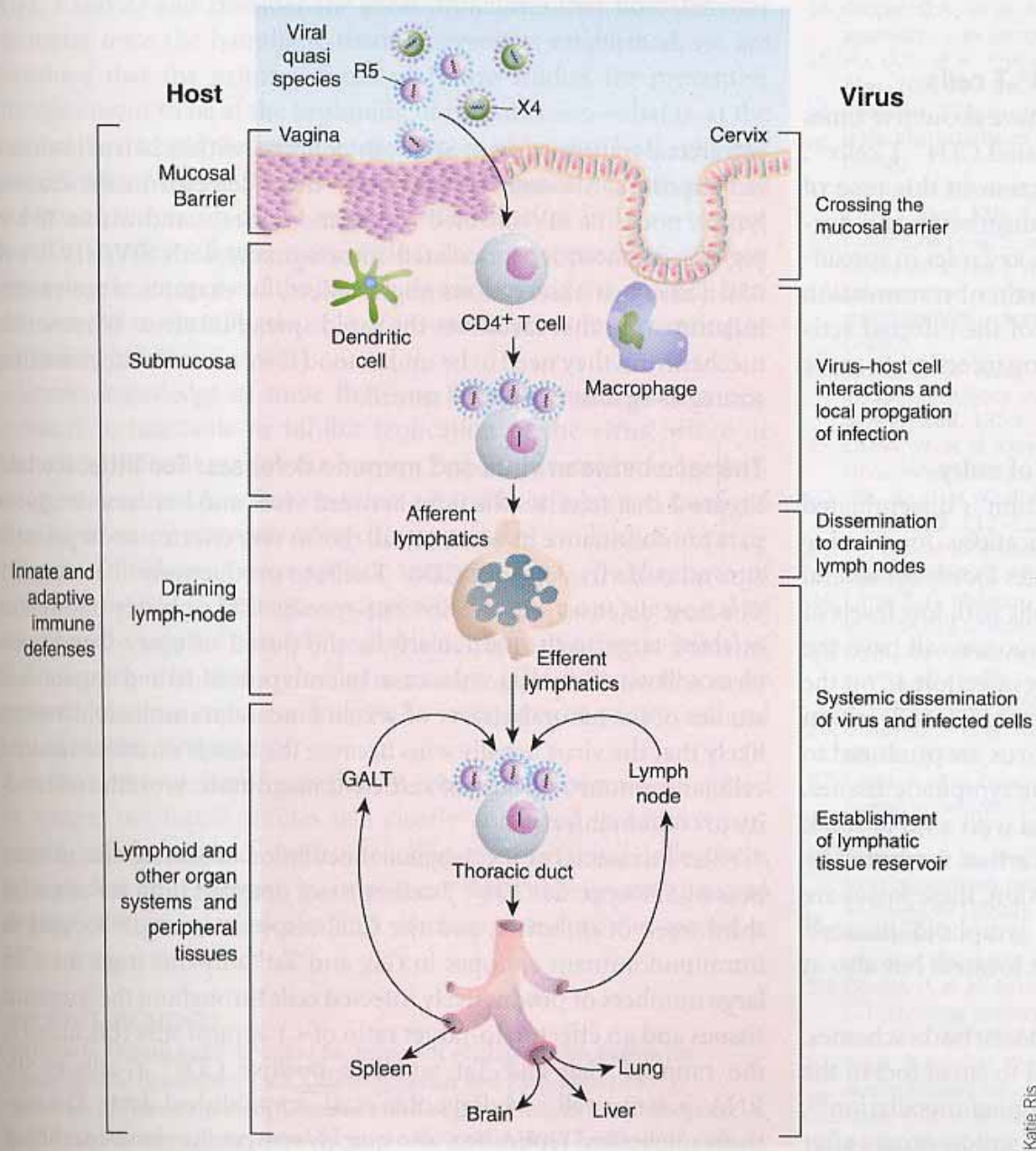


# ETAPAS EN LA INFECCIÓN POR EL VIH

## INFECCIÓN PRIMARIA

- ✱ Los viriones VIH de un individuo infectado entran en las células de otro individuo
- ✱ Las primeras células infectadas dependerá del sitio de exposición: células dendríticas, macrófagos, células T CD4+
- ✱ Infección de células T CD4+/CCR5 (R5)
- ✱ Migración hacia los ganglios linfáticos. Elevada replicación viral
- ✱ Diseminación de la infección
- ✱ Alteración funcional de células T CD4+
- ✱ Respuesta inmunitarias específicas, tanto celulares como humorales

# TRANSMISIÓN E INFECCIÓN AGUDA



# ETAPAS EN LA INFECCIÓN POR EL VIH

## LATENCIA CLÍNICA

- ✱ La respuesta inmunitaria específica controla parcialmente la infección y la producción de virus
- ✱ Descenso de la viremia hasta el *set point*
- ✱ Secuestro del VIH en el tejido linfoide
- ✱ <0,01% de T CD4 de sangre periférica y nódulos linfáticos tienen ADN viral integrado
- ✱ Los reservorios son los responsables de mantener producción constante de virus
- ✱ Destrucción continua de células T CD4+, deterioro en la producción de nuevas células
- ✱ Al final disminución en el nº de T CD4+. Deterioro severo de la respuesta inmunitaria

# ETAPAS EN LA INFECCIÓN POR EL VIH

## FASE SIDA

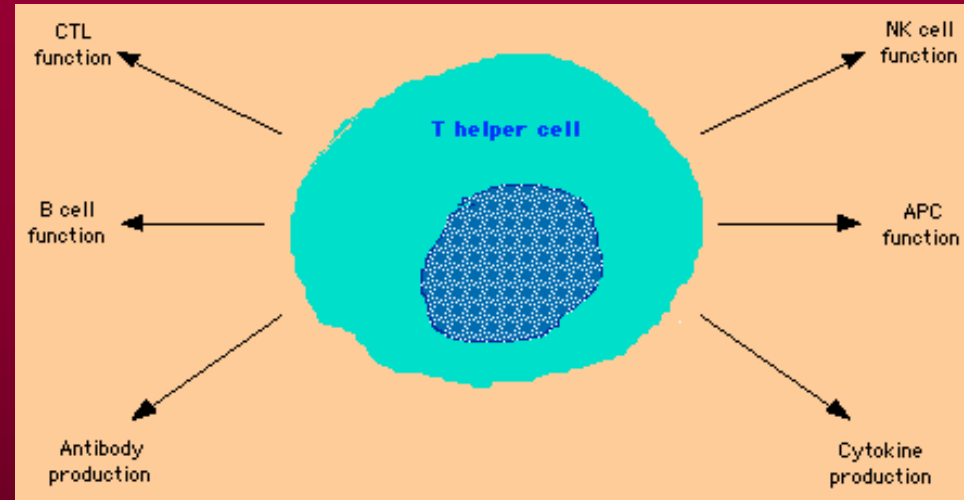
- ✱ Destrucción severa del tejido linfoide periférico
- ✱ Aparición de cepas más patogénicas CXCR4 (X4)
- ✱ Recuento de células T CD4+ < 200 cel/mm<sup>3</sup>
- ✱ Incremento de la replicación viral
- ✱ La pérdida de células T CD4+ colaboradoras (*helper*), esenciales tanto para las respuestas inmunitarias humoral y celular, conllevan a un aumento en la susceptibilidad a infecciones, (microorganismos intracelulares), y neoplasias (virus oncógenos)

# RESPUESTA INMUNITARIA AL VIH

## RESPUESTA INMUNITARIA CELULAR

### Células T colaboradoras

- ☀ Fase aguda de la infección primaria:
  - Anormalidades funcionales
  - Delección clonal selectiva de células T colaboradoras específicas
  - Elevada tasa de replicación viral



Proliferación, activación y expansión de células T CD4+ específicas para el VIH, en presencia de altos niveles de viremia



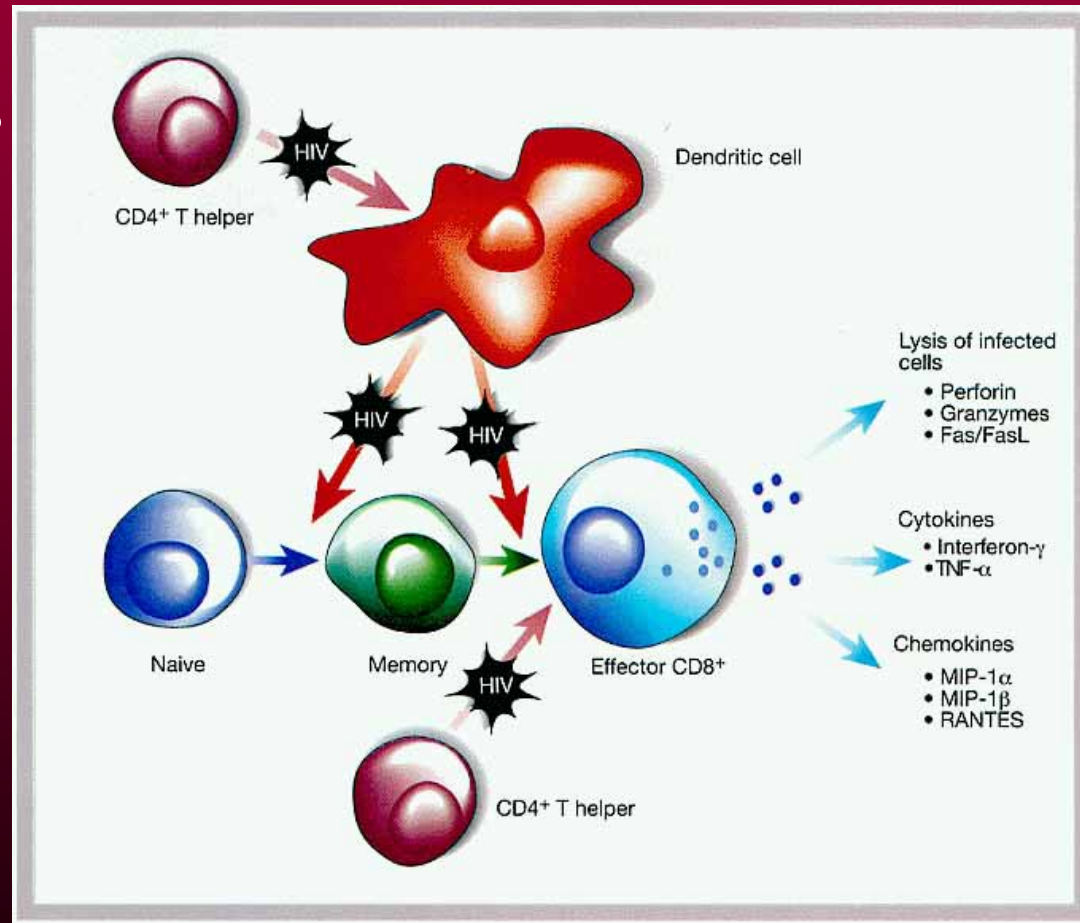
Infección y delección de estas células antes que se establezcan las células de memoria específicas al virus

# RESPUESTA INMUNITARIA AL VIH

## RESPUESTA INMUNITARIA CELULAR

### Células T citotóxicas

- Expansión masiva de los CTL CD8+ específicos al VIH
- Asociación temporal entre disminución en la carga viral y aparición de CTL específicas
- Correlación entre altos niveles de CTL específicas con baja carga viral y progresión de la enfermedad más lenta





# RESPUESTA INMUNITARIA AL VIH

## RESPUESTA INMUNITARIA HUMORAL

- ★ Acs detectables a las 6 a 9 semanas de la infección
- ★ No parece haber correlación entre Ac neutralizantes y control de la replicación viral
- ★ Moléculas más inmunógenas son la gp 120 (asa V3) y gp 41
- ★ Los Acs contra la envoltura no inhiben la infectividad del virus o los efectos citopáticos
- ★ Otros Acs anti VIH como los productos de *gag* (p55, p39, p24, p17) y *pol* (p66, p51, p31) también son detectados por las pruebas de ELISA y Western Blot

# MECANISMOS DE EVASIÓN INMUNITARIA POR EL VIH

- ☀ Destrucción e inactivación de células T CD4+
- ☀ Alta tasa de mutación (cuasiespecies)
  - ✓  $10^{10}$  partículas producidas por día durante replicación viral
  - ✓ Generación de errores de la transcriptasa reversa
  - ✓ Recombinación entre las dos cadenas de ARN genómico presentes en cada virión
- ☀ Regulación negativa de la expresión de las moléculas MHC clase I, evasión de las CTL CD8+ (proteína nef del VIH)
- ☀ Patrón Th2 predominante sobre Th1

# RESERVORIOS PARA EL VIH

- ✱ Macrófagos
- ✱ Células dendríticas
- ✱ Células dendríticas foliculares
- ✱ Células T CD4 de memoria
- ✱ Reservorios anatómicos

SNC

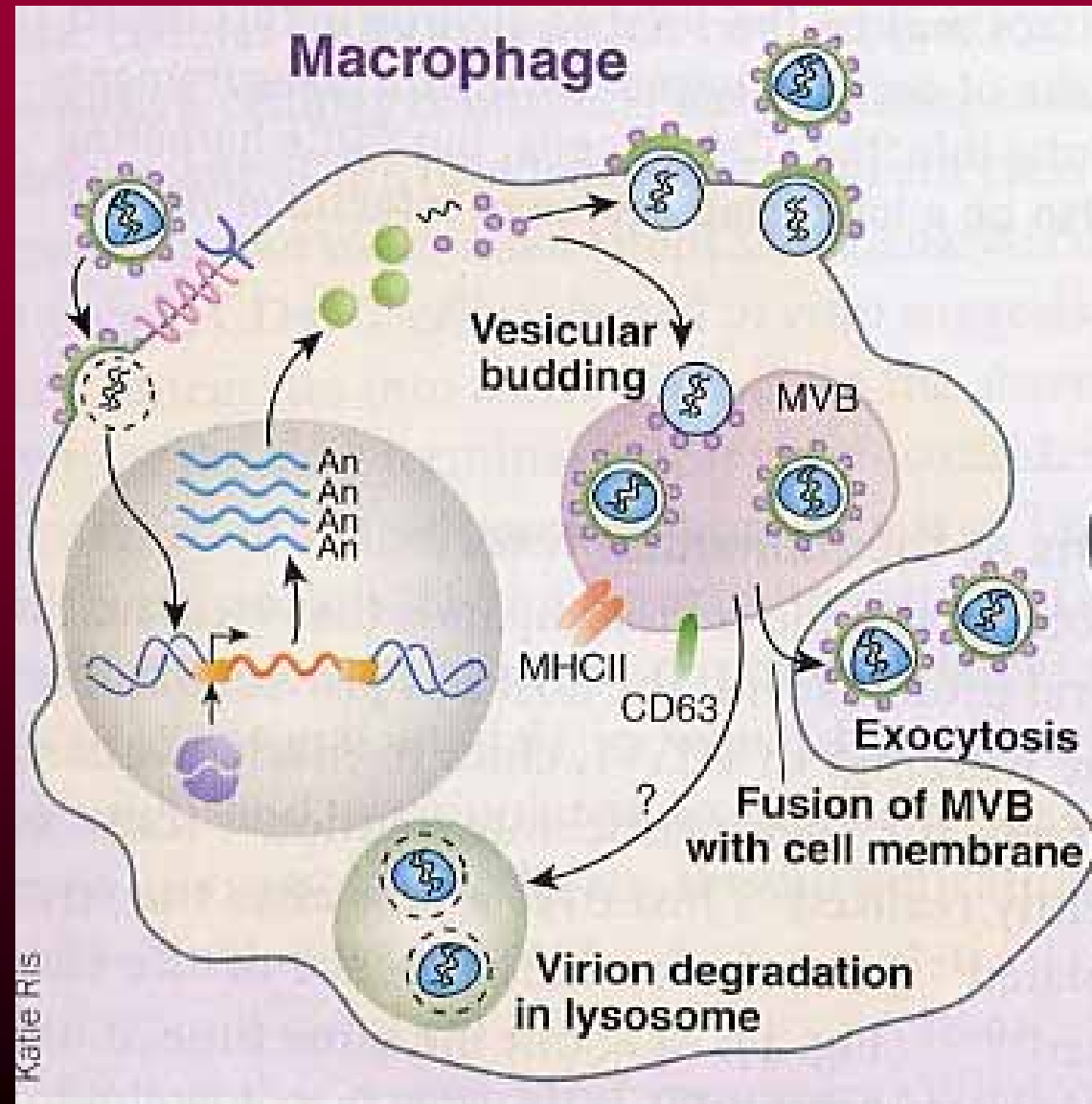
Testículos

Son la principal barrera para la erradicación del virus a pesar de la HAART

# RESERVORIOS PARA EL VIH

## ☀ Macrófagos

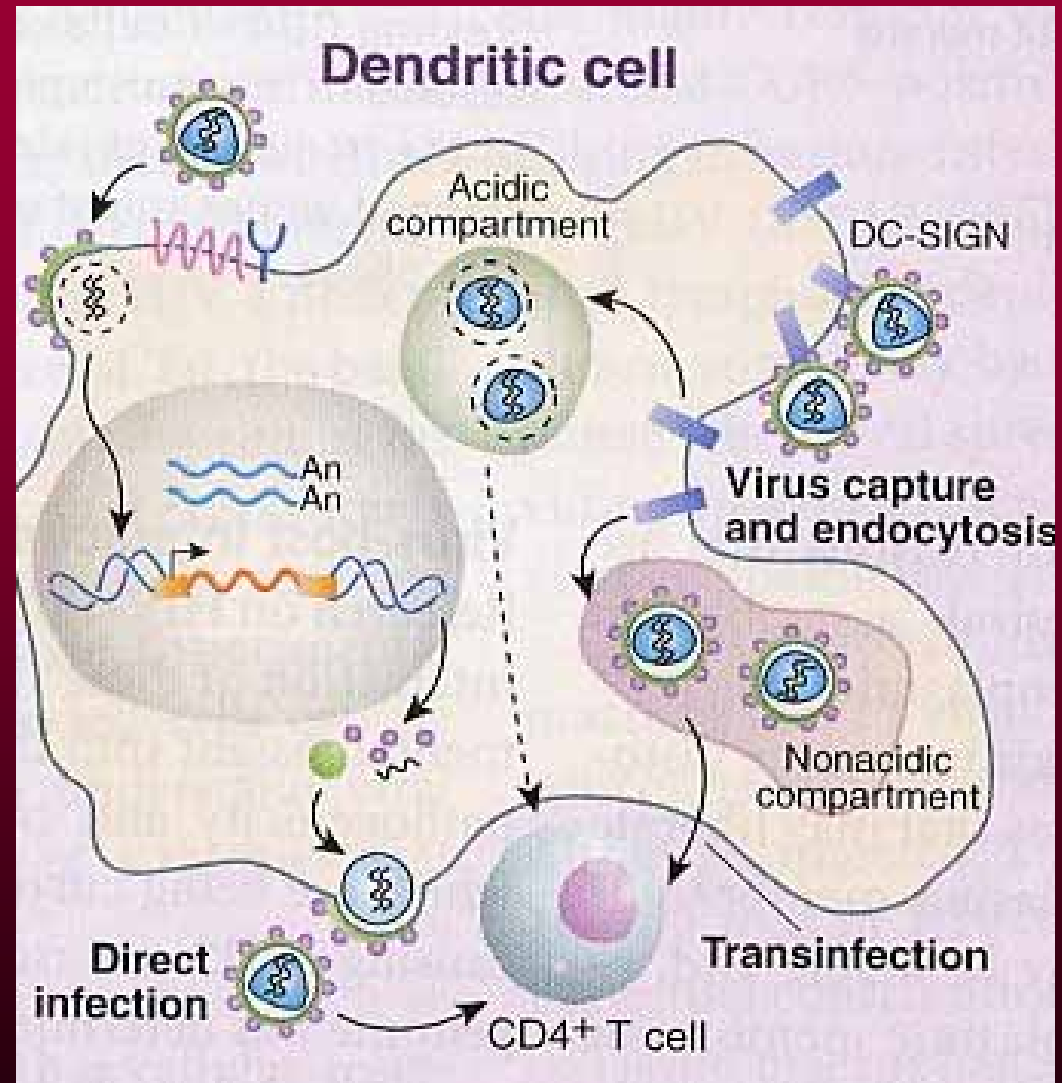
- Niveles de CD4 menores que linfocitos T
- Expresan el correceptor CCR5
- Resistentes a los efectos citopáticos del VIH



# RESERVORIOS PARA EL VIH

## ☀ Células dendríticas

- Similar a los macrófagos. Pueden ser infectadas, pero pocas veces destruidas
- Presencia del receptor DC-SIGN



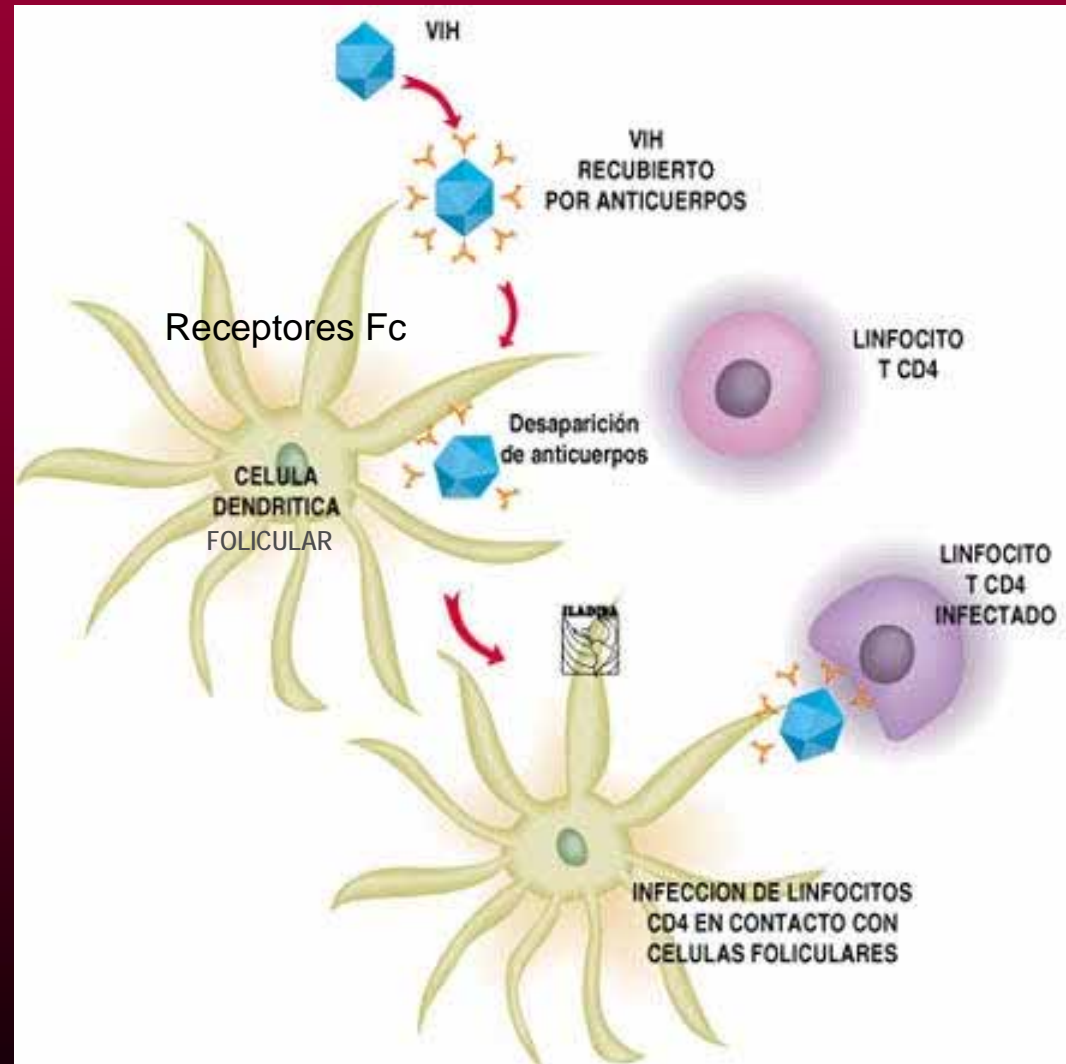
# RESERVORIOS PARA EL VIH

## ☀ Células dendríticas foliculares

CDF en centros  
germinales de ganglios  
linfáticos y bazo

Atrapan VIH cubierto con  
Ac a través de  
receptores FC

Promueven la infección de  
macrófagos y linfocitos  
T CD4+

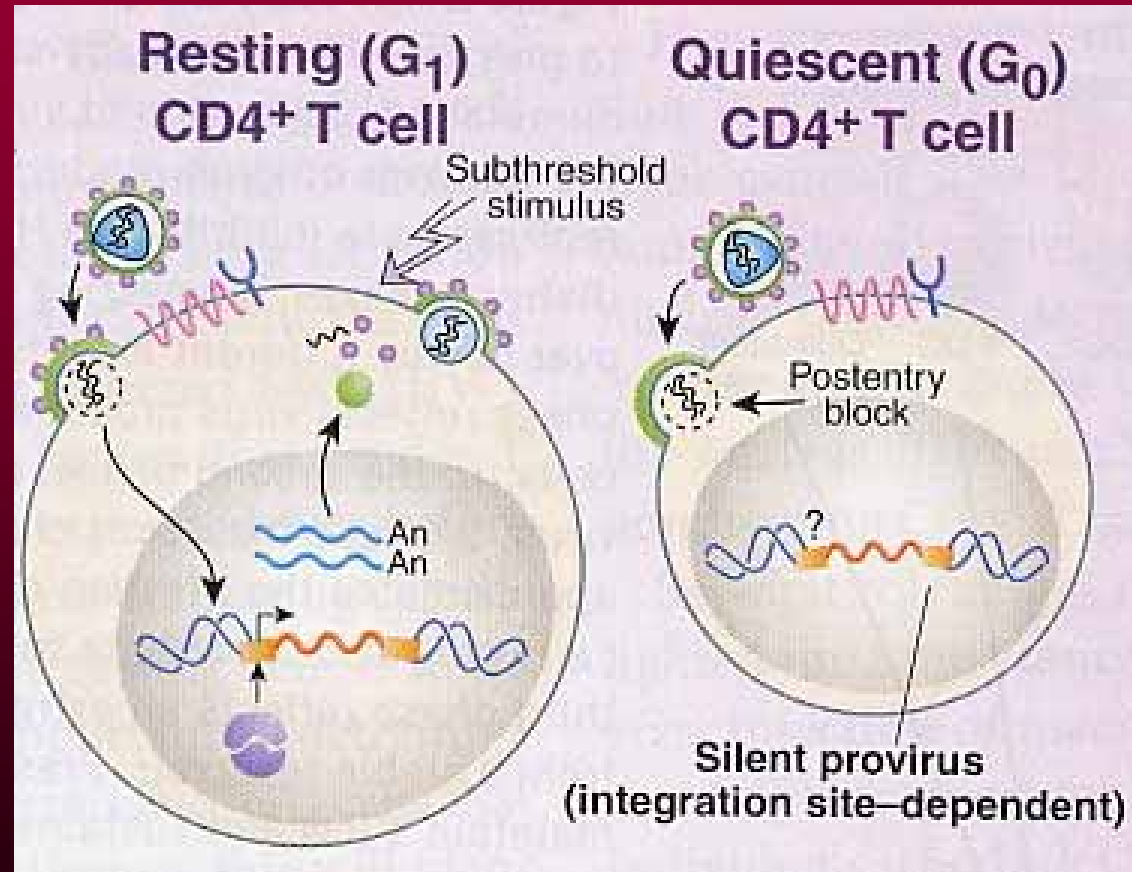


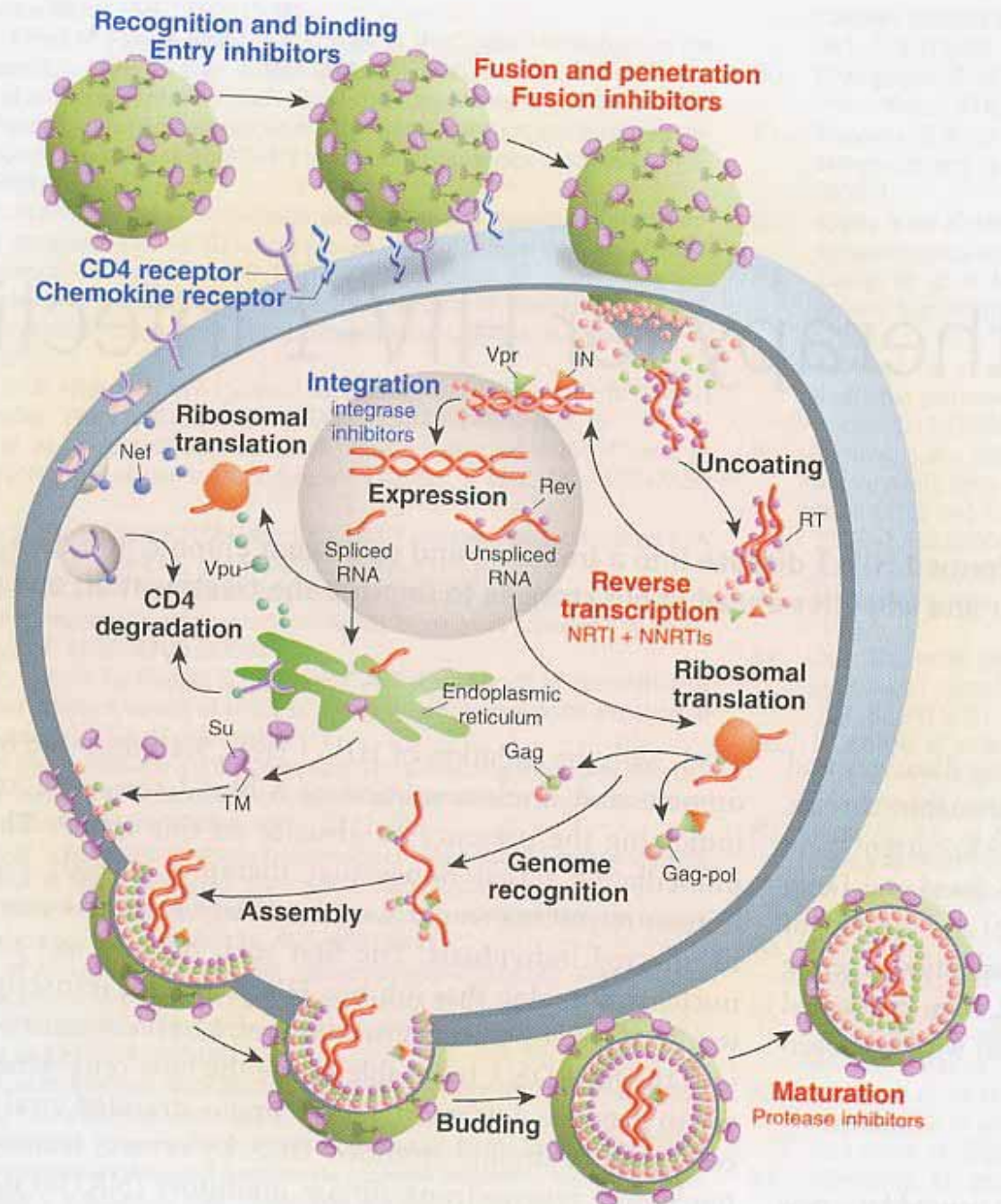
# RESERVORIOS PARA EL VIH

## ☀ Células T CD4 de memoria

Dos formas de virus latente:

- ADN viral reverso transcrito en el citoplasma, no integrado, inestable
- ADN proviral integrado en el cromosoma del huésped, estable





# TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL



# RECONSTITUCIÓN INMUNOLÓGICA POST-TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL

- ☀ Contaje de T CD4 aumenta 50 cel/ mm<sup>3</sup> en la 4ta a 8va semana post-tratamiento

PRIMERA FASE

SEGUNDA FASE

# RECONSTITUCIÓN INMUNOLÓGICA POST-TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL

## ✱ PRIMERA FASE

Disminución del secuestro de células T en tejidos linfoides, redistribución

## ✱ SEGUNDA FASE

Incremento de T CD4 *naive*, asociado a incremento de la expansión periférica y de la producción tímica

Disminución de la muerte inducida por activación

Se recupera respuesta a diversos Ags. Disminución de infecciones oportunistas

La respuesta HIV específica no es recuperada

# SINDROME DE RECONSTITUCIÓN INMUNOLÓGICA

- ✱ Exacerbación paradójica de infecciones oportunistas durante la reconstitución inmunológica
- ✱ No indica falla de la reconstitución sino una complicación del incremento en las células inmunológicas circulantes y accesibles al sitio de la infección

# MANIFESTACIONES CLÍNICAS

# SISTEMA DE CLASIFICACIÓN DE LA CDC PARA LA VIGILANCIA DEL SIDA EN ADOLESCENTES Y ADULTOS

CÉLULAS CD4	CATEGORÍA CLÍNICA		
	A ASINTOMÁTICO	B SINTOMÁTICO	C CONDICIONES INDICADORAS DE SIDA
< 500/mm <sup>3</sup> (≥29%)	A1	B1	C1
200-499/mm <sup>3</sup> (14-28%)	A2	B2	C2
<200/mm <sup>3</sup> (<14%)	A3	B3	C3

# SISTEMA DE CLASIFICACIÓN DE LA CDC PARA LA VIGILANCIA DEL SIDA EN ADOLESCENTES Y ADULTOS

CÉLULAS CD4	CATEGORÍA CLÍNICA		
	A ASINTOMÁTICO	B SINTOMÁTICO	C CONDICIONES INDICADORAS DE SIDA
< 500/mm <sup>3</sup> (≥29%)	A1	B1	C1
200-499/mm <sup>3</sup> (14-28%)	A2	B2	C2
<200/mm <sup>3</sup> (<14%)	A3	B3	C3

# CONDICIONES INDICADORAS DE SIDA

- **Candidiasis de esófago, traquea, bronquio o pulmones**
- **CA cervical invasivo**
- **Coccidioidomicosis extrapulmonar**
- **Criptococosis extrapulmonar**
- **Criptosporidiasis con diarrea de > 1 mes**
- **Citomegalovirus de cualquier otro órgano que hígado, bazo y nódulos linfáticos**
- **Herpes simple con úlceras mucocutáneas >1 mes o bronquitis, neumonitis, esofagitis**
- **Histoplasmosis extrapulmonar**
- **Demencia asociada al VIH: deterioro cognitivo y/o otras disfunciones que interfieren con las funciones de la vida diaria**
- **Desgaste asociado al VIH: pérdida involuntaria de peso >10% + diarrea crónica o debilidad crónica y fiebre prolongada**
- **Isosporosis con diarrea**

- **Sarcoma de Kaposi**
- **Linfoma de Burkitt, inmunoblástico o primario de SNC**
- **Infección por *Mycobacterium avium* diseminada**
- **Infección por *Mycobacterium tuberculosis* pulmonar, extrapulmonar**
- **Nocardiosis**
- **Neumonía por *Pneumocystis carinii***
- **Neumonía bacteriana recurrente**
- **Leucoencefalopatía Multifocal Progresiva**
- **Septicemia por *Salmonella* recurrente**
- **Strongyloidiasis extraintestinal**
- **Toxoplasmosis de órganos internos**

# MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO



**★ PRUEBAS UTILIZADAS EN EL DIAGNÓSTICO DE  
LA INFECCIÓN POR VIH**

Métodos indirectos

**ELISA** (Enzyme-linked immunosorbent assay)

Aglutinación

Confirmatorio: **Western Blot**

Métodos directos

**PCR cualitativa** (ADN proviral o ARN plasmático)

**PCR cuantitativa** (ARN plasmático)

Detección del antígeno p24 por ELISA

Cultivo viral

# INFECCIÓN POR VIH: MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

## ■ ELISA

1era Generación

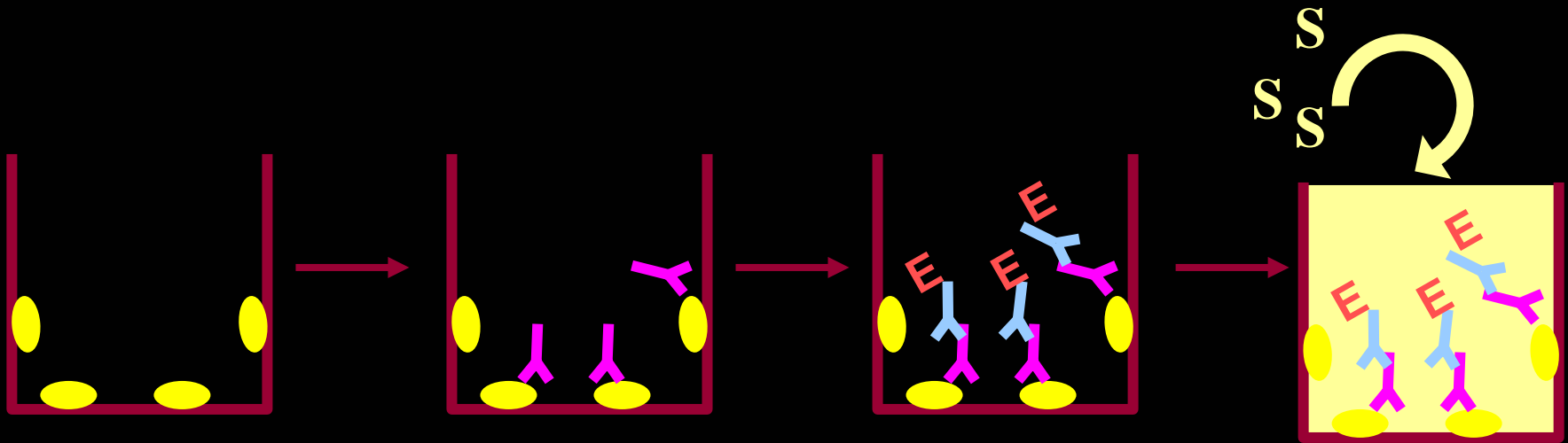
2da Generación

3era Generación

4ta Generación (detectan tanto Ac contra VIH-1 y 2  
como Ag p24)



## ■ ELISA Indirecto para VIH



Ags  
virales  
fijados a la  
placa

+

Suero que  
contiene  
Acs Anti  
VIH

+

Ac Anti  
IgG  
conjugado  
a una  
enzima

+

Sustrato  
de la  
enzima y  
cambio de  
color

## • Pruebas Rápidas

Sangre capilar, suero, plasma, fluido oral

Resultados en 10-60 minutos

Requiere confirmatorio

[www.cdc.gov/hiv/rapid\\_testing](http://www.cdc.gov/hiv/rapid_testing)



## • Pruebas de recolección de muestra en casa

Sangre capilar

Enviado a un laboratorio, es anónimo

Resultados en 3 a 7 días, vía telefónica

Requiere confirmatorio

## • Tipos de muestra

Suero, plasma

Sangre completa

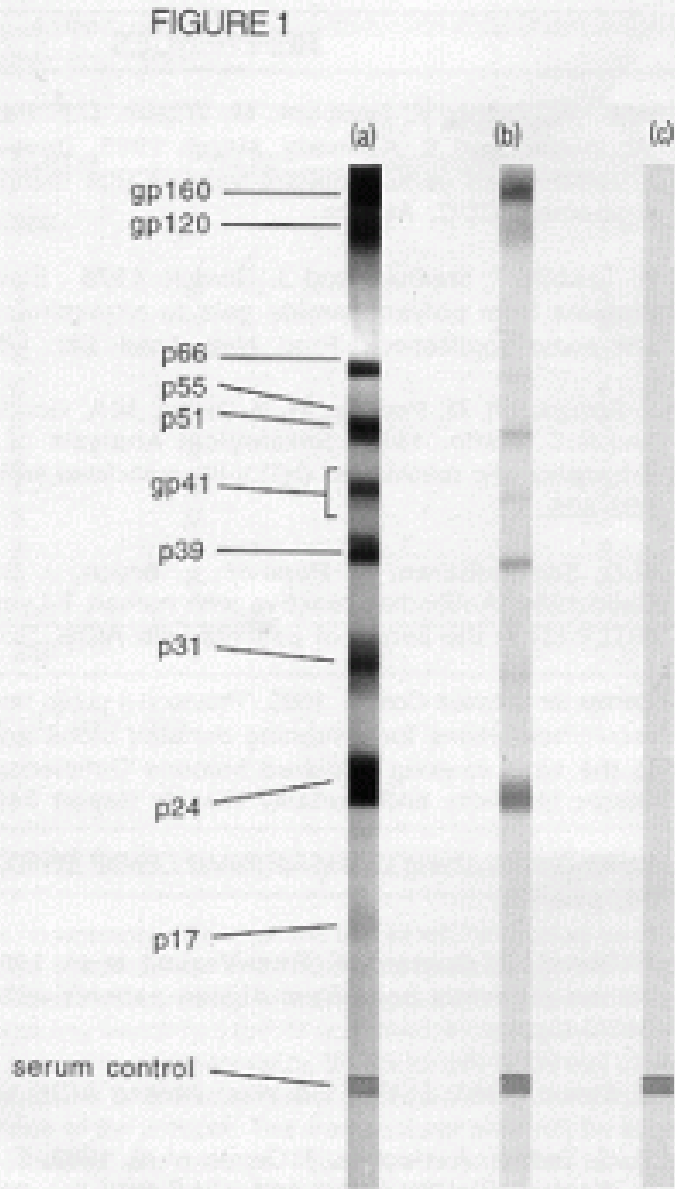
Fluido oral

Orina



# INFECCIÓN POR VIH: MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

## Western Blot



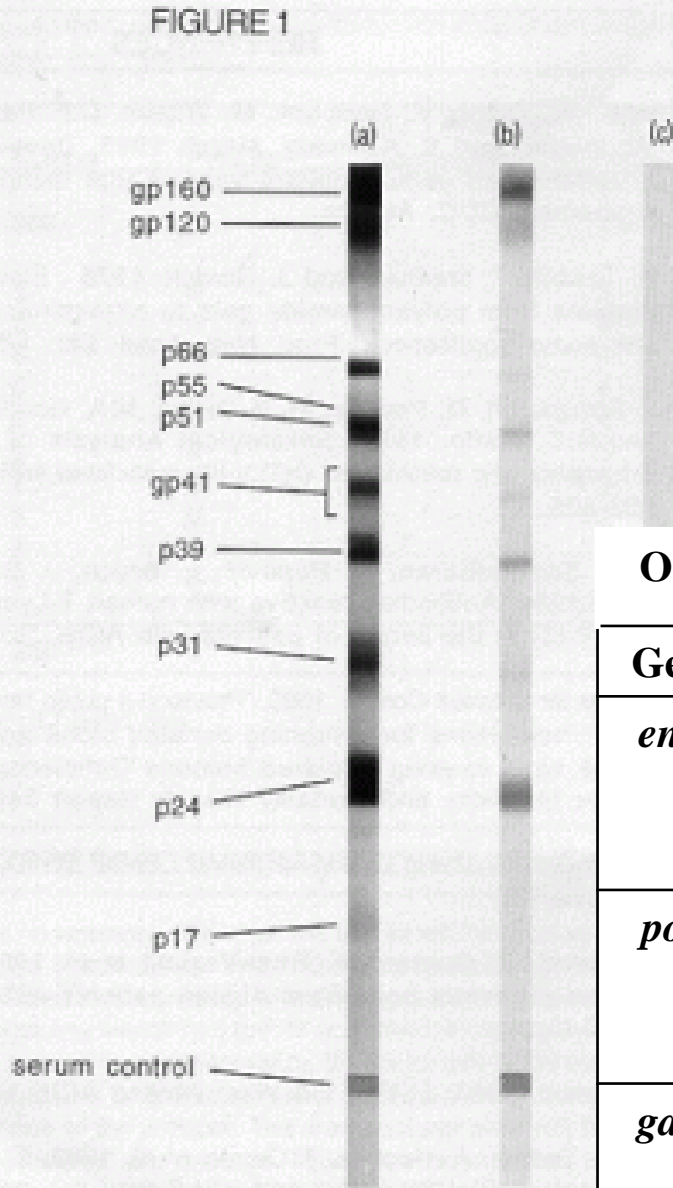
Viral specific bands as visualized with:

- a) Strong Reactive Control
- b) Weak Reactive Control
- c) Non-Reactive Control



# INFECCIÓN POR VIH: MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

## Western Blot



Viral specific bands as visualized with:

- a) Strong Reactive Control
- b) Weak Reactive Control
- c) Non-Reactive Control

### Origen Viral de las bandas asociadas al VIH-1

Gen	Producto y Descripción del Gen	
<i>env</i>	gp 160	precursor de proteína <i>env</i>
	gp 120	proteína <i>env</i> exterior
	gp 41	proteína transmembrana
<i>pol</i>	p66	transcriptasa reversa
	p51	transcriptasa reversa
	p31	endonucleasa
<i>gag</i>	p55	precursor de proteína en el núcleo
	p39	fragmento de p55
	p24	núcleo
	p17	núcleo

# CRITERIOS DE POSITIVIDAD PARA VIH POR LA TÉCNICA DE WB

CRITERIO	REACTIVIDAD FRENTE A
•Organización Mundial de la Salud (OMS)	Dos glucoproteínas cualquiera de: gp160/gp120/gp41
•Food and Drug Administration (FDA)	p24 + p31 + (gp41 o gp120 o gp160)
•Cruz Roja Americana	Una proteína de cada gen estructural ( <i>env</i> , <i>gag</i> y <i>pol</i> )
•Consortium for Retrovirus Serology and Standardization (CRSS)	p24 + (gp41 o gp120 o gp160) ó p31 +(gp41 o gp120 o gp160)
•Center for Disease Control and ASTPHLD	p24 + (gp41 o gp120 o gp160) ó gp41 + (gp120 o gp160)

# Causas de Resultados en WB

## FALSOS NEGATIVOS

- \_ Período de ventana
- \_ Seroreversión
- \_ Agammaglobulinemia
- \_ Pacientes con neoplasias o que reciben inmunosupresores
- \_ Cepa tipo N ó O o HIV-2 o HTLV-I/II
- \_ Error técnico o de transcripción



# Causas de Resultados en WB

## FALSOS NEGATIVOS

- \_ Período de ventana
- \_ Seroreversión
- \_ Agammaglobulinemia
- \_ Pacientes con neoplasias o que reciben inmunosupresores
- \_ Cepa tipo N ó O o HIV-2 o HTLV-I/II
- \_ Error técnico o de transcripción

## FALSOS POSITIVOS

- \_ Presencia de autoanticuerpos
- \_ Recipientes de vacunas experimentales al VIH
- \_ Error técnico o de transcripción

# Causas de Resultados en WB

## FALSOS NEGATIVOS

- \_ Período de ventana
- \_ Seroreversión
- \_ Agammaglobulinemia
- \_ Pacientes con neoplasias o que reciben inmunosupresores
- \_ Cepa tipo N ó O o HIV-2 o HTLV-I/II
- \_ Error técnico o de transcripción

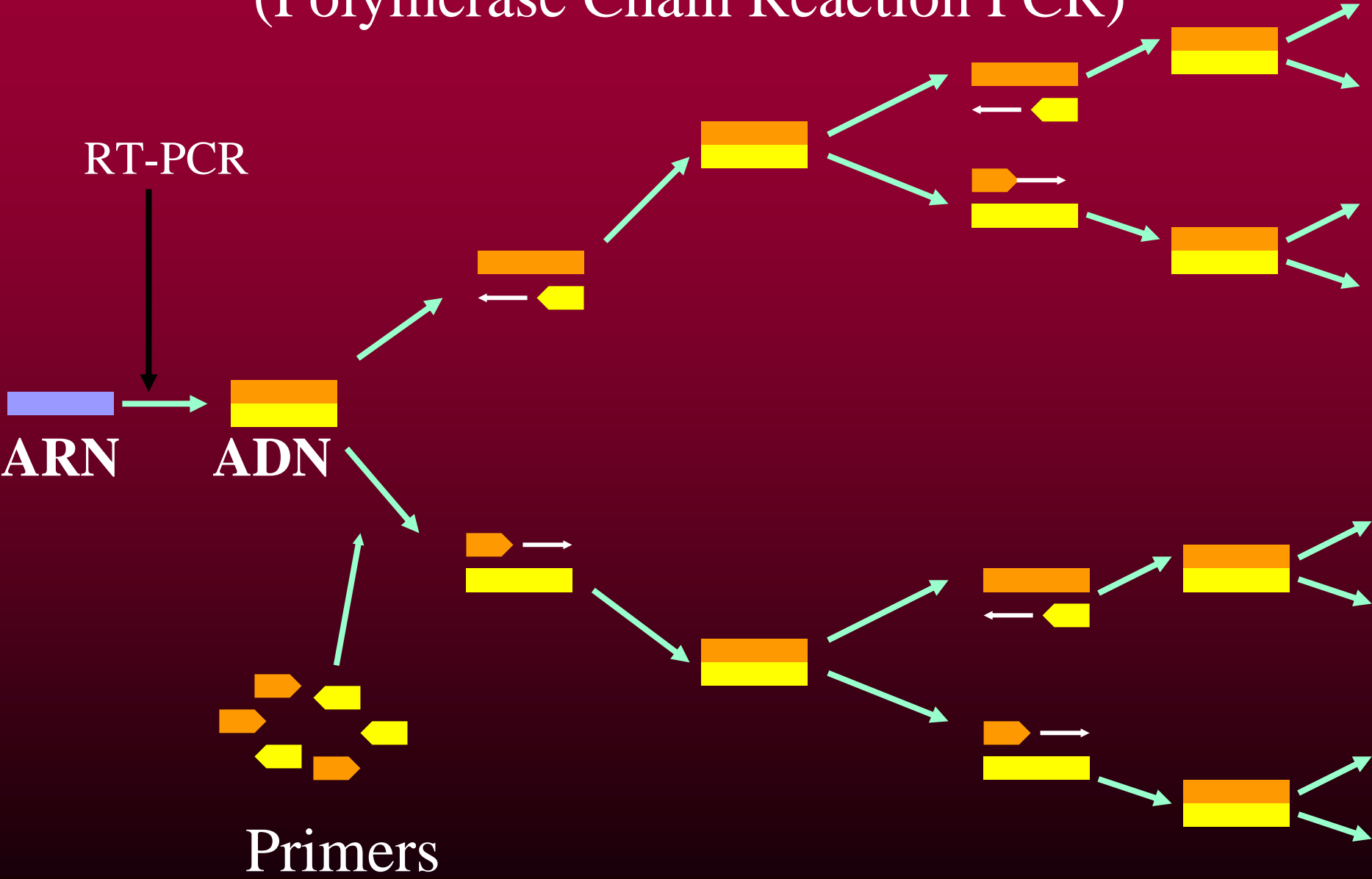
## FALSOS POSITIVOS

- \_ Presencia de autoanticuerpos
- \_ Recipientes de vacunas experimentales al VIH
- \_ Error técnico o de transcripción

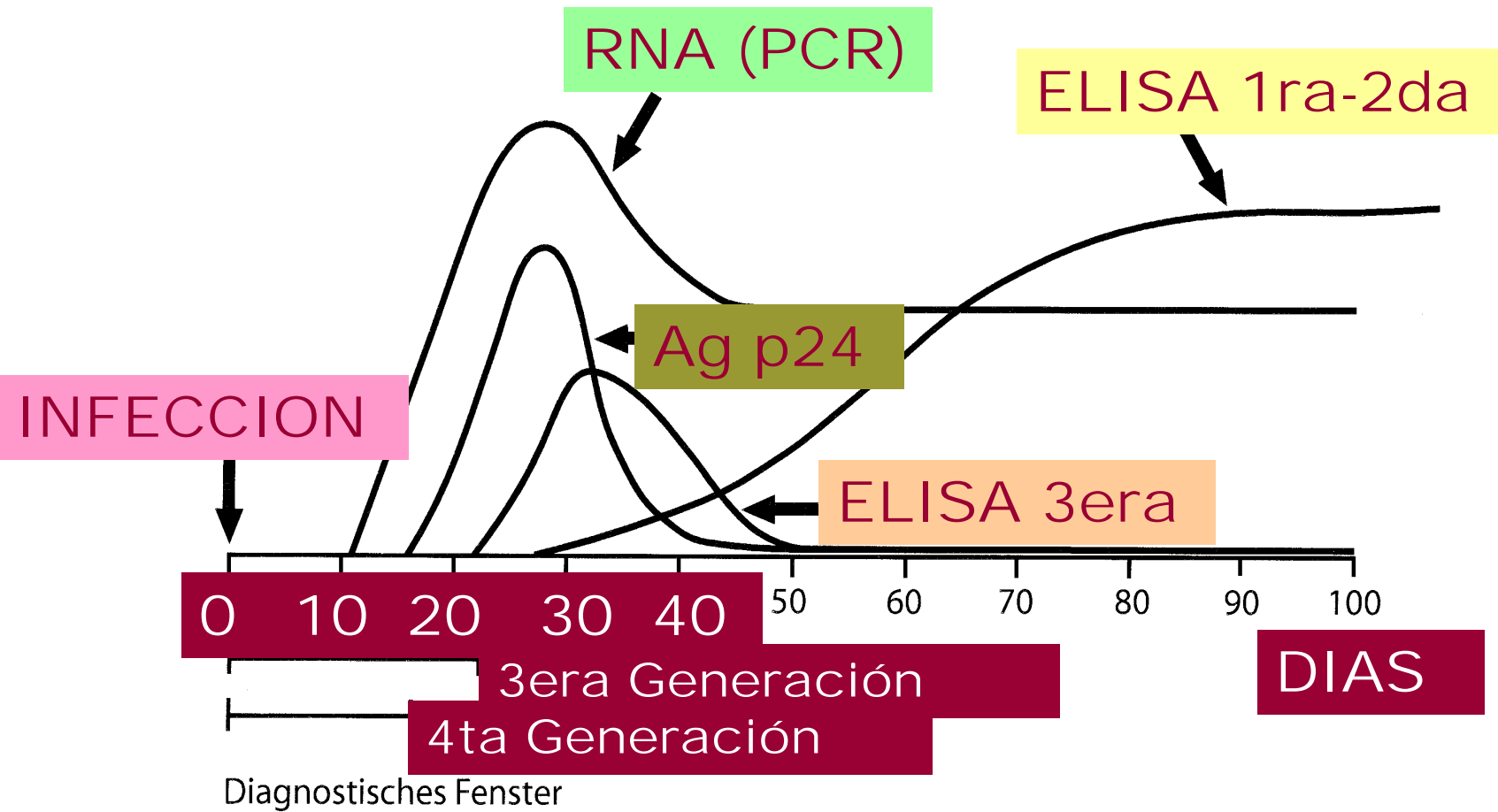
## INDETERMINADOS

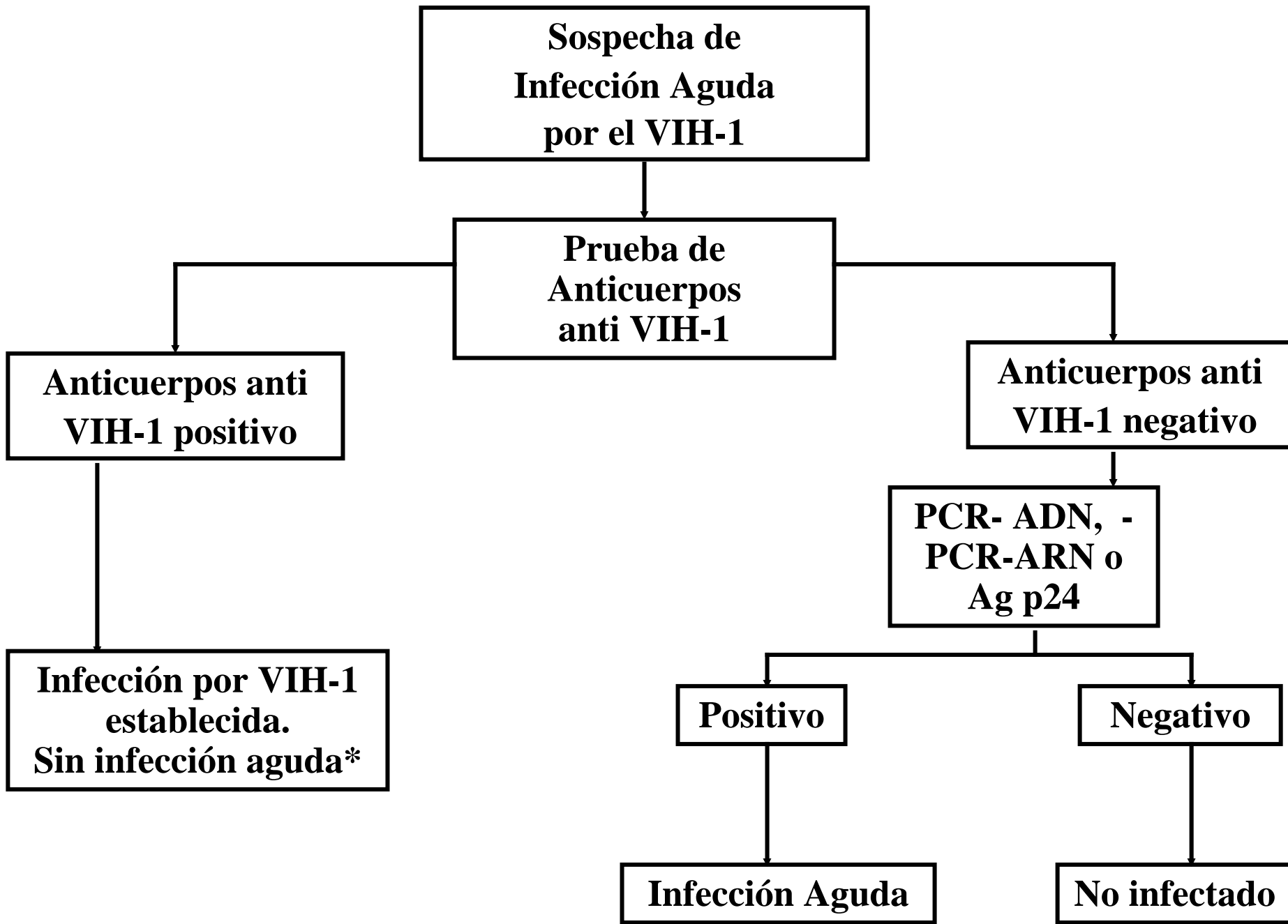
- \_ Paciente en proceso de seroconversión
- \_ Infección por VIH en fase SIDA
- \_ Pacientes con neoplasias o que reciben inmunosupresores
- \_ Reacción cruzada
- \_ Cepa tipo N ó O o HIV-2 o HTLV-I/II
- \_ Recipientes de vacunas experimentales al VIH
- \_ Error técnico o de transcripción

# REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (Polymerase Chain Reaction PCR)



# Duración del período de ventana





\* Dependiendo del ELISA, los de 4ta generación permiten dx de infección aguda

# MÉTODOS DE SEGUIMIENTO

## ★ PRUEBAS UTILIZADAS EN EL SEGUIMIENTO DE LA INFECCIÓN POR VIH

Contaje de CD4 (inmunofenotipaje)

Carga viral:                    Método **QUANTIPLEX HIV-1 RNA (b-DNA)**  
   Método **AMPLICOR HIV-1 MONITOR**  
   Método **NASBA HIV-1 RNA QT**

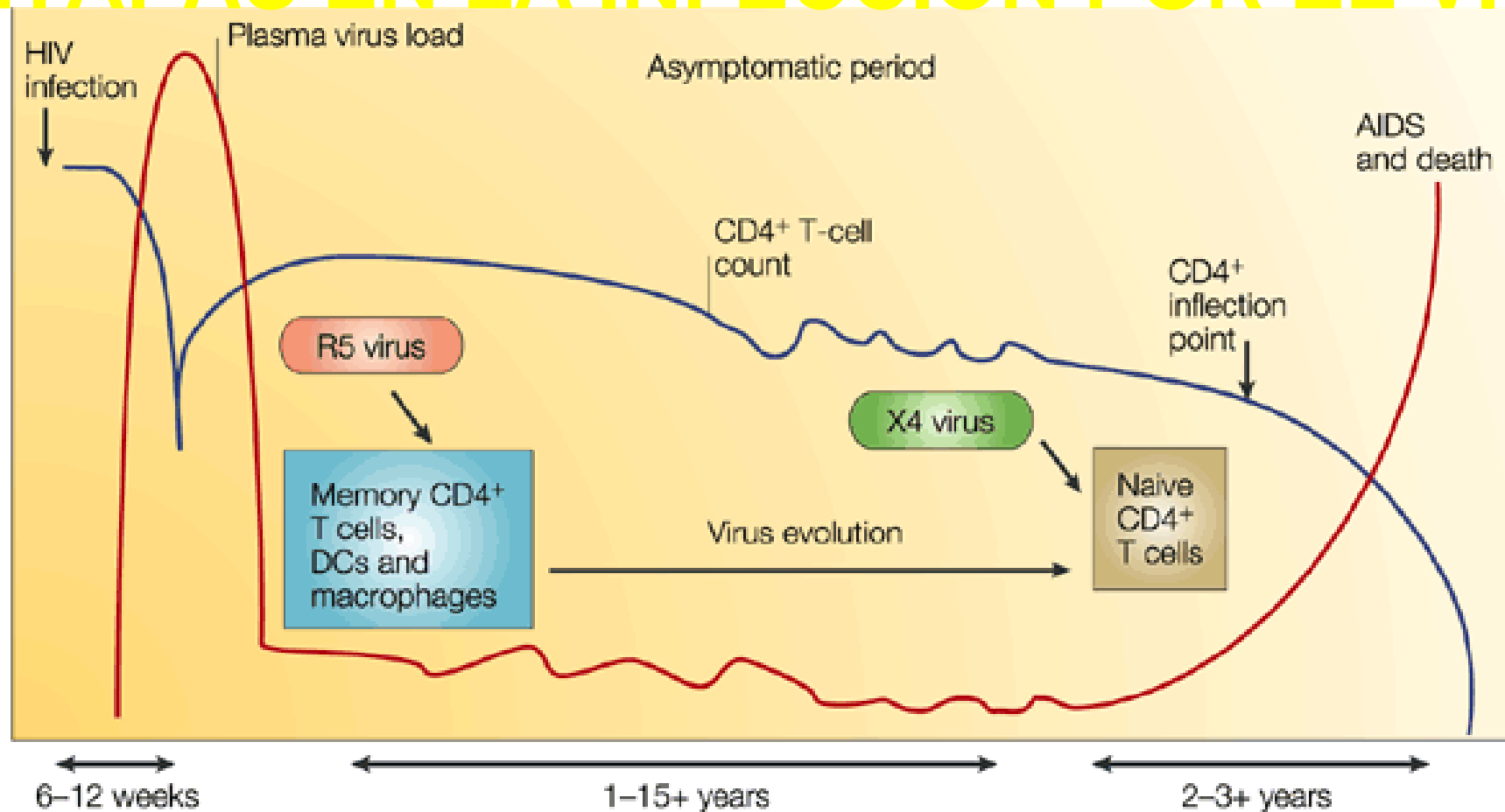
Pruebas de Resistencia

    Ensayos de Genotipaje

    Ensayos de Fenotipaje

# Resumen

## ETAPAS EN LA INFECCIÓN POR EL VIH





# BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

- Abbas A, Lichtman A, Pober J. *Inmunología Celular y Molecular*. Cuarta Edición. Madrid. Interamericana, Mc Graw-Hill. 2001.
- Goldsby R. Kindt T, Osborne B, Kuby J. *Inmunología*. Quinta Edición Mc Graw Hill. 2004. Capítulo 19
- Hammer S et al. *JAMA*. 2006. 296(7): 827-843
- Hoffmann et al. *HIV Medicine* 2006. [wwwHIVmedicine.com](http://www.HIVmedicine.com)
- Jansen et al. *Trends Immunol*. 2006. 27:119-123
- Sierra et al. *J Clin Virol*. 2005. 34:233-244
- Hogan Ch. and Hammer S. *Ann Intern Med*. 2001. Part I. 134(9): 761-776
- Hogan Ch. and Hammer S. *Ann Intern Med*. 2001. Part II. 134(10): 978-996
- *Nature Medicine*. 2003. 9(7)
- *Nature*. 2001. 410(19)



Egon Schiele, 1918