



Fundación JL Castaño
SEQC

SEQC^{ML}

Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

2018-2019

CASOS CLÍNICOS DE MICROBIOLOGÍA

Ed. Cont. Lab. Clin 42: 7 - 17

VARÓN 34 AÑOS CON FIEBRE, VÓMITOS Y DIARREAS DE 3 SEMANAS DE EVOLUCIÓN.

Alba Cebollero Agustí.

Consorti del Laboratori Intercomarcal de l'Alt Penedès, l'Anoia i el Garraf.

Miguel Ángel Benítez Merelo.

Consorti del Laboratori Intercomarcal de l'Alt Penedès, l'Anoia i el Garraf.

EXPOSICIÓN DEL CASO

Varón de 34 años natural de Canarias que trabaja como jefe de cocina en un restaurante, acude a urgencias por cuadro de vómitos, fatiga, fiebre persistente y diarreas de 3 semanas de evolución con anorexia, pérdida de peso.

En la exploración se observa palidez cutánea, se palpan pequeñas adenopatías laterocervicales posteriores y se observa la presencia de muguet oral. No refiere alergias, no toma alcohol de forma habitual, es fumador de 5 cigarrillos/día, consume marihuana de forma ocasional, no consume drogas por vía parenteral y presenta múltiples tatuajes realizados en los últimos 8-5 años. Ha sido donante de sangre y plaquetas hasta hace 3 años.

Se cursa una analítica básica urgente. Los resultado del hemograma, creatinina y urea, iones, amilasa y proteína C reactiva no presentan alteraciones destacando una **bilirrubina de 59.3 µmol/L (3.0-17 µmol/L) y una AST 13.6 µKat/L (0.25-0.62 µKat/L)**. Ante la alteración de la bioquímica hepática se solicita las siguientes serologías de virus hepatotóxicos:

Prueba		Resultado
CMV	IgM	Negativo
Antígeno Superficie VHB		Negativo
VHA	IgM	Positivo
VHE	IgM	Negativo

La positividad de las IgM VHA nos indica una infección aguda por VHA como probable causa de cuadro de vómitos, fiebre y diarreas de 3 semanas de evolución y explicaría la alteración de la bioquímica hepática.

Las IgM del VHA suelen positivarse a los 10-15 días antes de la aparición de los síntomas, por lo que resulta un buen marcador de infección reciente.

El VHA es un virus de transmisión fecal-oral. Hasta el momento la principal vía de transmisión era la alimentaria pero actualmente se ha extendido debido a las prácticas sexuales oral-anal. Según los datos del Centro Nacional de Epidemiología del Instituto de Salud Carlos III en el último año se han multiplicado por 8 el número de afectados por este virus en España. Según la Organización Mundial de la Salud de los países europeos, España es el país más afectado por este brote, aunque también se están reportando casos en países como Alemania. El perfil mayoritario de los pacientes afectados son hombres que practican sexo con hombres de entre 15 y 44 años.

Para identificar la vía de transmisión del VHA se interroga al paciente sobre la realización de viajes, la posibilidad de una contaminación alimentaria o sobre posibles prácticas sexuales de riesgo. Éste refiere que recientemente ha mantenido relaciones homosexuales de forma protegida con preservativo en las prácticas sexuales con penetración activa y pasiva, pero sin protección en las prácticas orales. Niega Chemsex ni sexo en grupo.

Dado que el origen de la infección por VHA es por transmisión sexual se debe realizar el cribado para descartar otras infecciones de transmisión sexual (ITS): *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*, sífilis, VHB, VHC y VIH.

Al paciente se le realiza un frotis uretral, rectal y faríngeo para el cribado de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*, y se solicitan las serologías para sífilis, VHC y VIH. Los resultados se recogen en la siguiente tabla:

Prueba		Resultado
<i>C. trachomatis</i> y <i>N. gonorrhoeae</i> *		Negativo
Anticuerpos VHC		Negativo
VIH antígeno p24 + anticuerpos **		Indeterminado, pendiente de comprobar
Sífilis	cribado IgM + IgG	Positivo
	RPR	Título 1/1

*El estudio de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* se realiza mediante una PCR a tiempo real que detecta ambos microorganismos simultáneamente.

**Test de quimioluminiscencia (CLIA) de cuarta generación

Se consulta al laboratorio sobre el resultado de la serología de VIH. Éste informa que la prueba serológica del VIH es un test de cuarta generación que detecta anticuerpos y anti-

geno p24. Es un test cualitativo con un rango de medida de 0.01 a >12 y considerándose positivo todo valor superior o igual a 1. Al ser un test de cribado presenta una elevada sensibilidad pero una menor especificidad, por lo que todo resultado positivo debe ser comprobado por otro test más específico como un western blot (WB) o inmunoensayo en tira (LIA).

El suero del paciente presenta un índice de 2.1 (su repetición de 2.3) ambos valores positivos muy próximo al valor cut off de positividad por lo que resulta difícil poder afirmar si se trata de un verdadero positivo o de una interferencia del test, por lo que se debe esperar al resultado del test confirmatorio, disponible en un par de días.

A la espera del resultado del test confirmatorio para la serología de VIH, se decide no comunicar el resultado preliminar al paciente, informándole sólo del diagnóstico de una infección por sífilis. Se decide ingresar al paciente para iniciar sueroterapia así como pausar suspensión oral de Nistatina para tratar la candidiasis oral y administrar Penicilina Benzatina, 2,4 millones de unidades por vía intramuscular, en dosis única para el tratamiento de la sífilis.

A los dos días el laboratorio informa del inmunoensayo en tira formado por:

- 2 antígenos de VIH-1:
 - Glicoproteínas de envoltura: sgp120 y gp41
- 2 antígenos de VIH-2:
 - Glicoproteínas de envoltura: gp36 y sgp105.
- 3 antígenos que detectan anticuerpos específicos que pueden también dar reacción cruzada con anticuerpos de VIH-2:
 - Proteína enzimática p31 y 2 proteínas codificadas por el gen gag, p24 y p17.

Interpretación del LIA: Ver anexo 1

En la lectura de la tira del paciente no se observa reactividad de ninguna banda. Por lo que se informa el resultado del LIA como negativo, con el comentario añadido de que un resultado negativo del LIA con resultado positivo o indeterminado de la serología no descarta una infección reciente y recomendando analizar una nueva muestra en un transcurso de 2 a 3 semanas.

Tras los dos días de ingreso el paciente presenta un mejor estado general, los vómitos y diarreas han remitido por lo que se decide dar de alta al paciente, solicitar una nueva analítica en un periodo de 2 semanas para valorar la serología VIH y citarlo en consultas externas de medicina infecciosa (CCEE MI).

BIBLIOGRAFÍA

Guía de práctica clínica sobre infecciones de transmisión sexual GPC-Its.2009. Disponible: http://canalsalut.gencat.cat/web/.content/home_canal_salut/professionals/temes_de_salut/infeccions_de_transmissio_sexual/documents/acces_a_la_guia.pdf

Diagnóstico de laboratorio de las infecciones de transmisión sexual, incluida la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana, 2013. Redactor jefe. Magnus Unemo. Centro colaborador de la OMS para la gonorrea y otras ITS. Hospital Universitario de Örebro. Örebro (Suecia). Redactores. Ronald Ballard, et al.

Documento de consenso de GeSIDA/Plan Nacional sobre el sida respecto al tratamiento antirretroviral en adultos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (Actualización enero 2017). Panel de expertos de Gesida y Plan Nacional sobre el Sida. Disponible en: <http://gesida-seimc.org/wp-content/uploads/2017/02/gesida-guiasclinicas-2017-TAR.pdf>

Diagnostico microbiológico de la infección por VIH. Procedimientos en Microbiología clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Disponible: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia6b.pdf>

Federico García, Marta Álvarez, Carmen Bernal, Natalia Chueca, Vicente Guillot. Diagnóstico de laboratorio de la infección por el VIH, del tropismo viral y de las resistencias a los anti-retrovirales. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2011;29:297-307 - DOI: 10.1016/j.eimc.2010.12.006

WHO:

- a. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/es/>
- b. http://www.who.int/topics/hiv_aids/es/

GRUPO DE TRABAJO DE MICROBIOLOGÍA

Miguel Ángel Benítez (*Presidente*), Alba Cebollero, María Elena Gómez, Antonio Guzmán, Julia Liró, María López, Matilde Palanca, María de Toro.

ACTIVIDADES FORMATIVAS DEL COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi, N. Giménez, A. Merino, A. Peña, N. Rico (*Presidenta*), M. Rodríguez, T. Rodríguez, P. Rodríguez, C. Sánchez, M. Serrando, MC. Villà, JA. Wong.

ISBN 978-84-09-02922-8 – Febrero 2019 (recibido para publicación Junio 2018)

RESOLUCION DEL CASO

A las dos semanas el paciente acude a CCEE MI con una nueva analítica, en la que se observa una mejoría de la bioquímica hepática: Bilirrubina de 15.6 $\mu\text{mol/L}$ (3.0-17 $\mu\text{mol/L}$) y una AST 1.57 $\mu\text{Kat/L}$ (0.25-0.62 $\mu\text{Kat/L}$). El resultado de la serología VIH se resume en la siguiente tabla:

	Resultado	Interpretación
Test CLIA: VIH p24 + anticuerpos	Índice >12	Reactivo
Test confirmatorio: LIA	banda correspondiente a gp41	Indeterminado*

*Interpretación del LIA: Ver anexo 1

El informe del laboratorio reporta que el patrón de bandas (positividad para la gp41) junto con la serología reactiva para VIH es sugestivo de una infección reciente por lo que se recomienda realizar una carga viral para VIH y repetir el test de LIA en un par de semanas para valorar la positividad de nuevas bandas y poder tipar entre VIH-1 o 2.

Ante este resultado se decide solicitar de forma inmediata la carga viral y un estudio de subpoblaciones linfocitarias para valorar la cifra de linfocitos CD4.

La cuantificación de la carga viral se realiza mediante un ensayo de RT-PCR a tiempo real.

Al analizar la muestra se observa una amplificación de la curva correspondiente a la carga viral del paciente, pero el Control interno amplifica a un ciclo superior al esperado, posiblemente debido a la elevada carga que presenta el paciente, por lo que no se puede obtener resultado del número de copias. Se repite la PCR con la muestra diluida a 1/100, obteniendo un resultado de 104.916.400 copias/mL.

La cifra de linfocitos CD4 es de 428/mm³, por lo que el paciente presenta un buen estado inmunitario.

Se completa el estudio solicitando un test de resistencia a los antiretrovirales, en el que se detecta una posible resistencia a los inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos: Zidovudina (AZT) y Estavudina (d4T).

Pasados 28 días desde la primera determinación del LIA, con una nueva muestra se obtiene un resultado claramente positivo con el siguiente patrón de bandas: gp41, débil p31, p24 y débil p17.

Se decide pautar TAR con raltegravir (RAL) fármaco inhibidor de la integrasa y Emtricitabina/tenofovir (TDF/FTC) combinado con dos Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleótidos.

A raíz de este caso clínico se ha querido mostrar como a resultas de una consulta a urgencias por cuadro de diarrea de 3 semanas de evolución, producidas por una infección aguda

por VHA, se acaba diagnosticando una infección reciente por VIH. Recalcar la importancia que ante el diagnóstico de una ITS, el paciente debe ser cribado por otros microorganismos causantes de ITS, así como si es posible de todos sus contactos. Ante la sospecha de una infección reciente es muy importante conocer los periodos ventana de los microorganismos, así como la sensibilidad de las técnicas que se utilizan para el diagnóstico y poder elegir la más adecuada.

En la siguiente tabla se recogen los microorganismos que deben ser cribados, las técnicas de elección y el periodo ventana:

Microorganismo	Test	Periodo ventana
<i>C. trachomatis</i>	TAAN	2 semanas post exposición
<i>N. gonorrhoeae</i>	TAAN/cultivo	7 días post exposición
VHS genital	TAAN	Se puede recoger la muestra en presencia de vesículas o lesiones mucocutáneas
Sífilis	Test treponémicos	IgM 2 semanas después de la aparición del chancro IgG 4-5 semanas después de la aparición del chancro
	Test no treponémicos	2-3 semanas después de la aparición del chancro
VHB	Antígeno superficie VHB	4-8 semanas post exposición
	Anticuerpos Core IgM	6-8 semanas post exposición
	PCR DNA-VHB	2 semanas post exposición
VHC	Anticuerpos VHC	6-8 semanas post exposición
	PCR RNA-VHC	A partir de la 1-2 semanas postexposición
VHA	IgM VHA	10-15 días antes de la aparición de los síntomas
VIH	Enzimoimmunoanálisis de cuarta generación (anticuerpos + p 24)	2-3 semanas post exposición. En caso de resultado negativo se recomienda repetir a los 3-6 meses.
	PCR RNA-VIH	2 semanas post exposición

TAAN: Test de amplificación de ácidos nucleídos; PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
Test treponémicos (IgG+IgM, TPHA, TPPA); Test no treponémicos (RPR: *rapid plasma reagin test*, VDRL: Venereal Diseases Research Laboratory)

Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae

Las TAAN son las técnicas de elección para el diagnóstico y cribado de *C. trachomatis* de los serotipos D-K y para *N. gonorrhoeae*. En caso de clínica de gonococia se recomienda

realizar una tinción de gram del frotis por su elevada sensibilidad y rapidez en el resultado, así como un cultivo para poder valorar la sensibilidad antibiótica. El tipo de muestra recomendado en hombres es un frotis uretral y en mujeres un endocervical o vaginal, en ambos casos la muestra de orina es una alternativa cuando no se pueda conseguir muestra genital. Dependiendo de las prácticas sexuales del paciente también es recomendable realizar un frotis rectal y/o faríngeo a pesar de no estar aprobadas por la FDA.

VHS 1 y 2

No se recomienda el cribado en personas asintomáticas para VHS 1 y 2. Se recomienda cribar mediante PCR sólo en caso de que observe presencia de vesículas o lesiones mucocutáneas.

Treponema pallidum

Para el diagnóstico de sífilis primaria las pruebas de elección son las treponémicas, por ser las que se positivizan más precozmente. Clásicamente se recomendaba en primer lugar el TPPA y en segundo lugar, por ser menos sensible el TPHA. Actualmente estas técnicas manuales han quedado en segundo plano y se recomiendan los enzimoimmunoanálisis que detecta IgG + IgM, por ser más sensible y automatizable.

Ante un resultado positivo de la prueba treponémica, es necesario realizar una prueba no treponémica (VDRL o RPR) para valorar la actividad y en caso necesario titular para poder realizar el seguimiento de la respuesta al tratamiento. La negativización o estabilización a títulos bajos de los test no treponémicos son el test más fiable para demostrar la curación, ya que los test treponémicos pueden permanecer positivos toda la vida.

El monitoreo de los títulos de los test no treponémicos debe realizarse a:

	1 mes	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	24 meses
Sífilis precoz	X	X	X		X	
Sífilis precoz + VIH	X	X	X	X	X	X
Sífilis tardana		X	X		X	X
Neurosífilis			X		X	X

En caso de sífilis en el embarazo se realizará el cribado treponémico a las 28-32 semanas y en el parto, o mensualmente hasta el momento del parto, si el riesgo de infección es muy alto.

VHB

El antígeno de superficie VHB es el marcador serológico que se detecta de forma más precoz, a las 4-8 semanas después de la infección viral, por lo que un resultado negativo

nos descartaría una posible infección reciente por VHB. En menos del 5% de pacientes con infección aguda, los niveles circulantes de HBsAg no exceden el umbral de detección o en otros casos, sí que se produce HBsAg pero desaparece de la sangre antes de que comiencen los síntomas que motivan el estudio serológico. En estos casos, el diagnóstico de hepatitis B aguda puede establecerse demostrando la presencia de IgM anti-HBc y/o DNA-VHB mediante PCR.

VHC

A pesar de que el VHC es un virus que no se transmite de manera eficiente a través del sexo, hay datos que indican que puede suceder, especialmente en personas con infección VIH, por ello está indicado su cribado. Los anticuerpos frente al VHC se detectan a partir de la semana 6-8, no siendo útiles como determinación aislada para descartar una infección reciente. En estos casos el diagnóstico debe realizarse con la detección en sangre del RNA-VHC mediante PCR cuyo resultado será positivo a partir de 1-2 semanas tras el contacto inicial con el virus.

En caso de un resultado positivo para la serología VHC es necesario determinar la carga viral mediante el RNA-VHC.

VHA

El período de incubación es de 15-50 días, con una fase inicial pre-ictérica de pocos días a dos semanas. En general el diagnóstico de la infección aguda por el VHA se establece por la presencia de anticuerpos específicos frente al virus de tipo IgM (IgM anti-VHA), que son los primeros en aparecer y pueden ser detectados desde los 10-15 días antes de la aparición de los síntomas hasta los 6 meses del momento de la infección.

VIH

La técnica recomendada para el cribado de VIH es el enzimoimmunoanálisis de cuarta generación, que incluye péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 (incluido el grupo O) y VIH-2, y anticuerpos para detectar el antígeno p24, lo que permite acortar el período ventana a 15 días. (Período ventana de los test de cribado para VIH: Anexo 2).

Al comienzo de la infección hay un aumento de la carga viral en el plasma que coincide con la elevación del nivel de antígeno p24. Más tarde, la disminución de la carga viral y de los niveles de antígeno p24 coincide con el incremento de anticuerpos.

En caso de un resultado positivo se recomienda repetir el inmunoensayo por duplicado, así como pedir nueva muestra para descartar algún posible error de identificación de paciente. Si con la nueva muestra se confirma el resultado será necesario realizar un segundo ensayo confirmatorio que a la vez nos permita tipar en VIH-1 o VIH-2. Hasta ahora los más usados son el Western Blot (WB) y el inmunoensayo en línea (LIA). Ante la sospecha de una infección reciente o de un resultado positivo realizado con un inmunoensayo de

cuarta generación con una prueba confirmatoria negativa o indeterminada, se aconseja realizar una carga viral VIH. (Algoritmo diagnóstico: Ver anexo 3).

Antes de iniciar el tratamiento antirretroviral (TAR), GESIDA recomienda realizar un test de resistencia y en caso de que se vaya a iniciar tratamiento con un antagonista de CCR5 se debe realizar un test genotípico para estudiar el tropismo viral. Y se debe repetir el test de resistencia ante la sospecha de fracaso al TAR.

El seguimiento del tratamiento se hace mediante la determinación de la carga viral plasmática (CVP) y el estudio de los niveles de linfocitos CD4.

Según la guía de GESIDA, el objetivo es reducir la CVP rápidamente por debajo de los límites de detección de la técnica (20-75 copias/mL) en 16-24 semanas y mantenerla suprimida el mayor tiempo posible, ya que con este nivel de carga viral se ha demostrado que no se seleccionan mutaciones de resistencia. Se recomienda medir la carga viral a las 4 semanas y realizar seguimiento a los 3-4 meses, pudiéndose espaciar a los 12 meses una vez se haya alcanzado la supresión de la carga viral de forma repetida y el recuento de linfocitos CD4 sea >350 /mmc. Se considera fracaso virológico cuando la carga viral es detectable pasadas 24 semanas desde el inicio del TAR, o si tras alcanzar la supresión de la carga ésta vuelve a ser >50 copias/mL en dos determinaciones consecutivas separadas 2-4 semanas.

Para profundizar en las técnicas de determinación de la CVP y la detección de resistencias y tropismo viral se recomienda la lectura de las referencias bibliográficas 4 y 5.

Anexo 1. Interpretación LIA según criterios del fabricante (INNO-LIA® HIV I/II SCORE)

Se interpreta negativa si se observa:

- Ninguna banda
- 1 banda de intensidad +/-
- 2 o más bandas de intensidad +/-

Se interpreta indeterminada si se observa:

- 1 banda de intensidad $\geq 1+$
- 2 o más bandas $\geq 1+$ pero ninguna correspondiente a antígeno de superficie.

Se interpreta positiva si se observa:

- 2 bandas de intensidad $\geq 1+$
 - VIH-1: los dos antígenos de superficie sgp120 y gp41 o 1 antígeno de superficie (spg120 o gp41) y p24
 - VHI-2: los dos antígenos de superficie sgp105 y gp36 o 1 antígeno de superficie (spg105 o gp36) y p24
- 3 o más bandas positivas $\geq 1+$

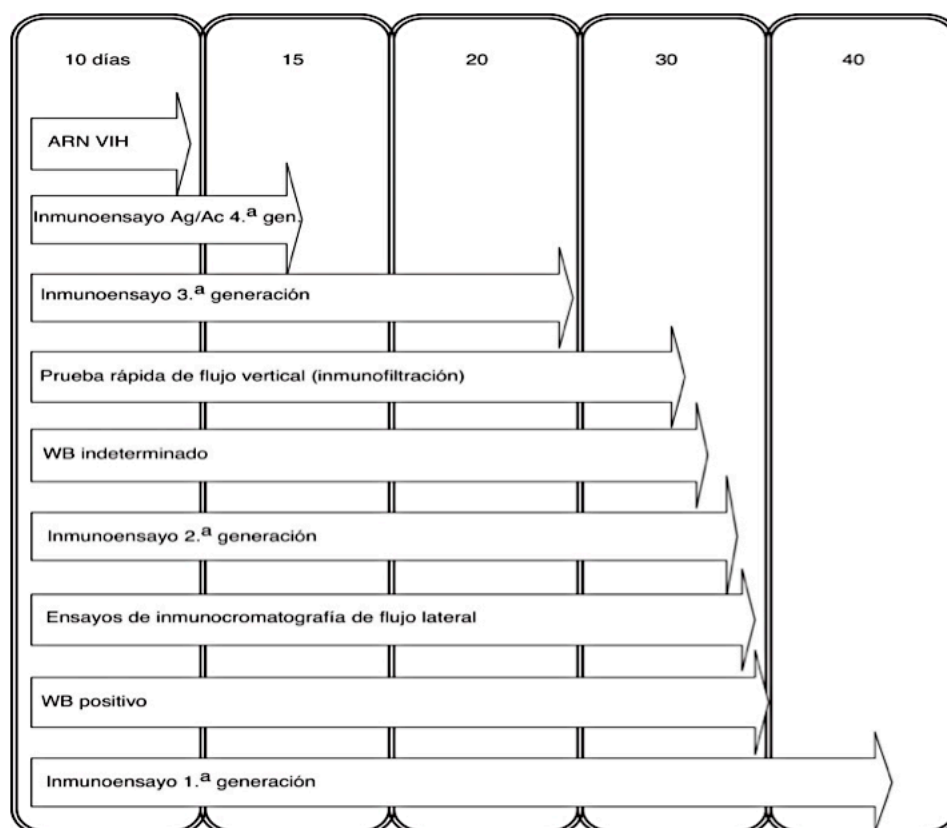
Criterios de positividad de la prueba *western-blot* según diferentes organizaciones:

OMS	Dos glucoproteínas cualquiera de: gp160, gp120, gp41
Cruz Roja Americana	Tres proteínas, una proteína de cada gen estructural (<i>env</i> , <i>pol</i> y <i>gag</i>)
FDAa	p24 + p32 + (gp41 o gp120ó gp160)
CRSSa	Una glicoproteína de envoltura más otra que no sea de envoltura: (gp41 o gp120 o gp160) + (p24 o p32)
CDC/ASTPHLDa	p24 + (gp41 o gp120 o gp160) o gp41 + (gp120 o gp160)

aFDA: Food and Drug Administration; CRSS: Consortium for Retrovirus Serology and Standardization; CDC/ASTPHLD: Centers for Disease Control/Association of State and Territorial Public Health Laboratory Directors

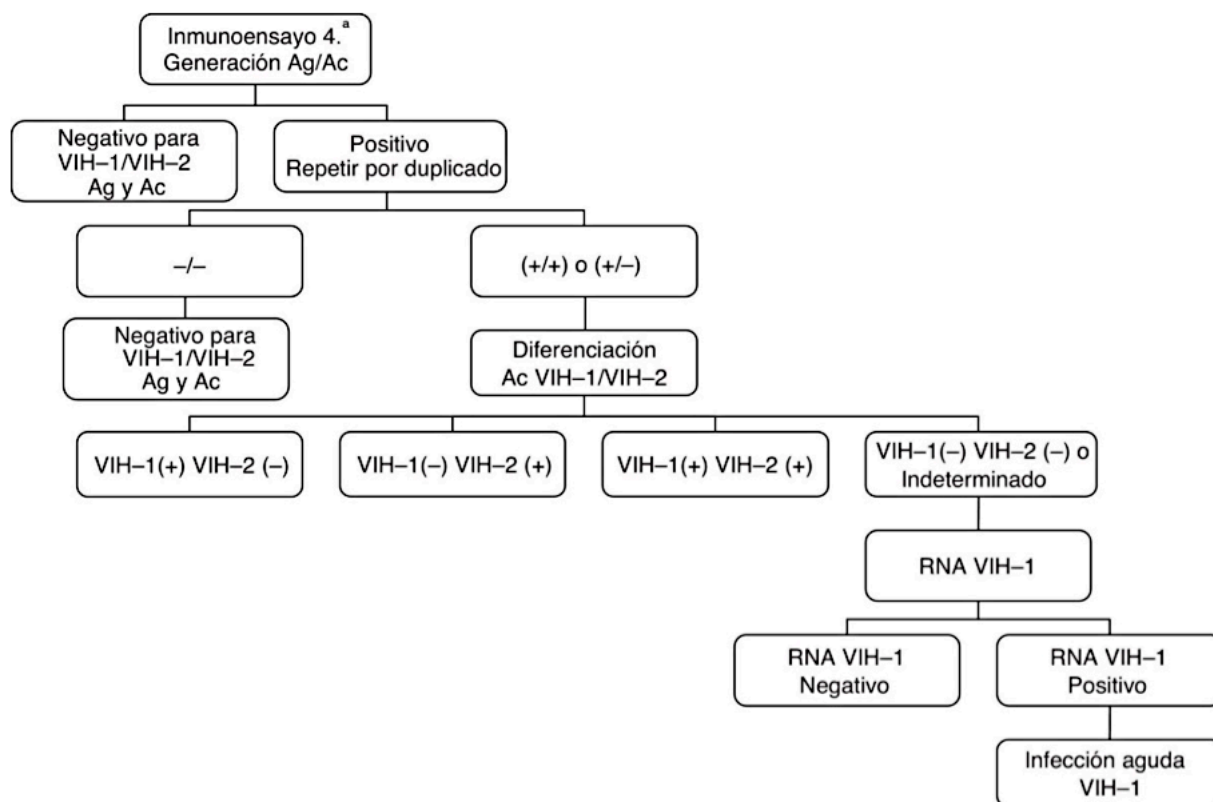
Se considera un WB indeterminado cuando se observan reactividades distintas a las del criterio de positividad, y es en este punto donde surgen más problemas de interpretación. Un resultado indeterminado puede ser debido a distintas causas: infección aguda o estadio muy avanzado de la enfermedad, recién nacidos de madre seropositiva, sueros inactivados por el calor, pacientes con factor reumatoide, reacciones cruzadas con otros retrovirus y otras causas.

Anexo 2. Periodos ventana de los test de cribado VIH.



Fuente: 6b Diagnóstico microbiológico de la infección por el VIH. 2014. Procedimientos en Microbiología. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.

Anexo 3. Algoritmo diagnóstico VIH.



Fuente: 6b Diagnóstico microbiológico de la infección por el VIH. 2014. Procedimientos en Microbiología. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.