

DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 2

Carmen Maroto Vela, Carmen Bernal Zamora y Fe García García

Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Hospital Clínico San Cecilio.
Granada

En el año 1985, se demostró la presencia de un patrón atípico de respuesta de anticuerpos frente al virus de la inmunodeficiencia simia (SIV) en un grupo de senegaleses, y, posteriormente, Clavel caracterizó un nuevo virus que se denominó virus de la inmunodeficiencia humana tipo 2 (VIH-2). El SIV es un retrovirus que no es patógeno para los simios a los que infecta; además, algunos subtipos del VIH-2 están recogidos en agrupaciones (*clusters*) filogenéticos más cercanos al SIV que a otras cepas del VIH-2. Por ello, se piensa que la infección por el VIH-2 es una zoonosis causada por varios eventos de transmisión desde los simios al ser humano. Aunque tanto el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) como el VIH-2 pertenecen a la familia *Retroviridae*, subfamilia *Lentivirinae*, y tienen una organización genómica similar, el VIH-2 presenta sólo un 40% de similitud en sus secuencias con el VIH-1 y un 75% con el SIV. Ambos pueden dar lugar al sida, pero presentan algunas diferencias en sus características clínicas y biológicas. En general, podemos decir que el VIH-2 es un retrovirus originado en África Occidental, con propiedades inmunosupresoras y con más relación con el SIV que con el VIH-1.

ORGANIZACIÓN DEL GENOMA, VARIABILIDAD GENÉTICA Y CICLO DE REPLICACIÓN

La organización genética del VIH-2 presenta una serie de regiones: 5' LTR, *gag*, *pol*, región central, *env*- 3' LTR, tal como se refleja en la figura 1. La región central contiene cinco genes reguladores muy relacionados con el VIH-1 (*vif*, *nef*, *rev*, *tat* y *vpr*) y un sexto denominado *vpx*, específico del VIH-2, que interviene en la replicación vírica. Entre los genes *gag* y *pol* del VIH-1 y del VIH-2 hay un grado elevado de homología de secuencias (60%), siendo más baja para el gen *env* (40%). Esto explica el que la mayor reactividad cruzada entre ambos virus se produzca, sobre todo, entre anticuerpos frente al antígeno *core*. En la tabla 1 aparecen reflejadas las principales diferencias existentes entre el VIH-1 y el VIH-2.

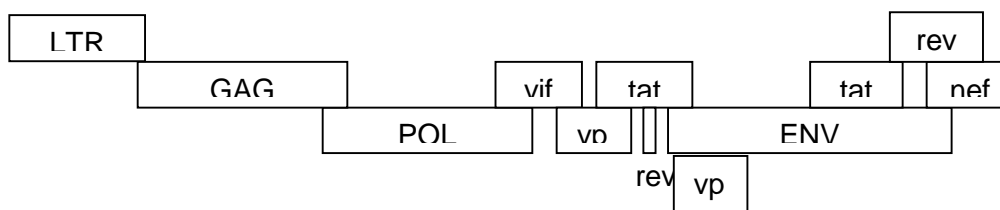
Tabla 1. Diferencias existentes entre el VIH-1 y el VIH-2.

	VIH-1	VIH-2
Número de bases	9200	9671
Longitud de LTR	Menor	Mayor
Diferencia en genes	<i>vpr</i>	<i>vpx</i>
Proteínas de <i>env</i>	gp160	gp 140
	gp120	gp 105
	gp 41	gp 36
Proteínas de <i>gag</i>	p55	p55
	p24	p26
	p17	p15
Proteínas de <i>pol</i>	p68	p64
	p34	p34
	p12	p11

En contra de lo que ocurre con VIH-1, sólo se han caracterizado genéticamente unas pocas cepas del VIH-2. Basándose en las diferentes secuencias de las regiones *pol*, *env* y

gag, el VIH-2 se ha clasificado en 7 subtipos denominados de la A a la G, con diferentes tendencias geográficas y clínicas. En nuestro país, el subtipo más frecuente es el A, aunque se pueden encontrar algunas cepas del B en pacientes que proceden de determinadas zonas de África, preferentemente de Guinea, Costa de Marfil, Nigeria, etc. Los subtipos C, D, E y F proceden casi siempre de Liberia o Sierra Leona. Algunos autores atribuyen diferentes propiedades biológicas clínicas y epidemiológicas a cada uno de estos subtipos, aunque este aspecto es discutido. El conocimiento del subtipo sí parece tener importancia a la hora del diagnóstico serológico. En este sentido, se han descrito reacciones cruzadas entre antígenos de las cepas subtipo B del VIH-2 y ciertas glucoproteínas de VIH-1. Así, el análisis de la gp36 del VIH-2 subtipo B ha demostrado una estructura muy parecida a la del VIH-1 y a la de todas las cepas del SIV. Esta puede ser una explicación a la doble reactividad, e incrementa la importancia de definir criterios que discriminen bien entre una infección por los dos virus y una simple infección por el VIH-2. Además, debido a ésta alta reactividad cruzada, puede que se esté subestimando la verdadera dimensión de la infección por este virus.

Figura 1. Representación del genoma del VIH-2.



Su ciclo vital es muy similar al del VIH-1; algunas cepas han sido capaces de infectar células que carecen de receptores CD₄, y parece ser más flexible en la utilización de diferentes correceptores CXCR4, CXCR5, CCR1, CCR2b, CCR3, CCR4, CCR8, etc que el VIH 1. Los correceptores CCR5 y CXCR4 son los más utilizados por el virus, siendo las variaciones individuales a este nivel las que explican las diferencias en la virulencia, capacidad de inducir sincitios, etc.

EPIDEMIOLOGÍA

El mayor número de personas infectadas se localiza en África Occidental, preferentemente en Guinea Bissau, pero también en otros países como Senegal, Costa de Marfil, Gambia, Alto Volta, etc. En Europa, Portugal es la que presenta un mayor número de casos, muchos de ellos en inmigrantes, pero también en nativos que no presentan ningún tipo de relación con las colonias o que, aparentemente, no han realizado prácticas de riesgo con dichas personas. En España ocurre algo parecido, con una tasa más baja y, en general, sin evidencia de diseminación fuera del colectivo de inmigrantes, salvo casos excepcionales.

La principal vía de transmisión es la heterosexual y por contacto con sangre infectada. En general, el VIH-2 se transmite más difícilmente por vía sexual que el VIH-1 (aproximadamente unas cinco veces menos), incrementándose la posibilidad de infección con la edad, lo que sugiere la necesidad de exposiciones repetidas. Algo similar ocurre con la transmisión vertical, ya que ésta aparece sólo en un tercera parte de las mujeres embarazadas no tratadas, demostrando muchos estudios que la transmisión es extremadamente rara (0-4%). En resumen, podríamos decir que la infección por el VIH-2 tiene poca trascendencia fuera de África y que presenta una menor capacidad de difusión, posiblemente por su menor transmisibilidad.

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

El VIH-2 produce una inmunodeficiencia, pero el periodo existente entre la infección y el estadio de sida es bastante más largo que para el VIH-1, posiblemente debido a una menor carga vírica. La infección por el VIH-2 puede cursar con diarrea crónica, candidiasis, criptosporidiasis, meningitis meningocócica e infecciones bacterianas recurrentes. La muerte se suele producir por septicemia, toxoplasmosis cerebral, meningoencefalitis, etc. Se encuentra menos asociado con la tuberculosis que el VIH-1, y las infecciones focales por el citomegalovirus humano, como la encefalitis o la colangitis, son menos graves. El sarcoma de Kaposi, que es una enfermedad endémica en el centro y este de África, no parece asociarse con la infección por el VIH-2. En resumen, podemos decir que aunque puede ocasionar una inmunodeficiencia, presenta una menor patogenicidad, una menor destrucción de CD₄, una carga viral más baja y una progresión más lenta hacia etapas avanzadas de sida.

DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR EL VIH-2

El reconocimiento de la infección por el VIH-2, sólo puede establecerse de modo definitivo por métodos de laboratorio, ya que las manifestaciones clínicas, aunque sugestivas, no son específicas en ningún estadio de la enfermedad. Para el diagnóstico se utilizan técnicas directas que detectan la presencia de partículas víricas o antígenos del virus, y técnicas indirectas que persiguen demostrar la presencia de anticuerpos específicos frente al VIH-2. Se deben utilizar técnicas que permitan diferenciar infecciones por uno u otro tipo de VIH, e infecciones dobles (tabla 2).

Tabla 2. Clasificación de las técnicas diagnósticas en la infección por VIH-2.

Métodos directos	Métodos indirectos (Detección de anticuerpos específicos)
Cocultivo	Pruebas de cribado: EIA VIH-1+2
Detección de ácidos nucleicos: DNA proviral RNA vírico	Pruebas de confirmación y complementarias: <i>Western blot</i> de VIH-1 + gp36 de VIH-2 <i>Western blot</i> de VIH-2 LIA de VIH1+2

Diagnóstico serológico

La investigación de anticuerpos en suero es la metodología habitual para identificar a los sujetos infectados por el VIH-2. Debido a la similitud antigénica entre ambos tipos de virus, en ocasiones puede ser difícil establecer el diagnóstico de infección utilizando exclusivamente pruebas serológicas. Para la detección de anticuerpos se pueden utilizar diferentes pruebas, tanto de cribado como confirmatorias, ya que, al igual que sucede con la infección por el VIH-1, para demostrar la condición de seropositivo se necesita la reactividad repetida mediante técnicas de cribado y pruebas confirmatorias

a) Pruebas de cribado

Se utilizan habitualmente técnicas de enzoinmunoensayo (EIA), que poseen una buena sensibilidad, son de fácil realización y con grandes posibilidades de automatización. Las técnicas de EIA que se utilizan habitualmente en el diagnóstico de la infección por el VIH-2, desde su aprobación en 1991 por la *Federal Drug Administration* norteamericana, son pruebas mixtas que utilizan péptidos de 10 a 40 aminoácidos como antígenos, tanto del VIH-1 como del VIH-2, obtenidos por ingeniería química o recombinación genética. En su diseño, y para evitar falsos positivos por

reacciones cruzadas de ciertos anticuerpos con la gp36, hay que elegir un epítipo inmunorreactivo específico de la gp36. Las técnicas que se utilizan con más frecuencia son EIA de tipo *sandwich* (de tercera generación) y EIA indirecto. Las pruebas de tercera generación permiten detectar anticuerpos tanto de clase IgM como de clase IgG, lo cual explica su mayor sensibilidad, fundamentalmente en seroconversiones, aunque no se conoce su sensibilidad respecto a cada una de las variantes del VIH-2. Existe también una prueba de ELISA que detecta exclusivamente anticuerpos frente a un péptido sintético de 11 aminoácidos del epítipo inmunodominante de la glucoproteína de transmembrana (gp36) de la envoltura del VIH-2 y que posee una buena sensibilidad y especificidad.

b) Pruebas de confirmación

Todo resultado positivo debe de ser confirmado con técnicas de mayor especificidad, pero de mayor complejidad, como es el *western blot* (WB), que permite diferenciar que existen anticuerpos en el suero problema frente a los distintos antígenos víricos. Debido a la existencia de un gran número de reacciones cruzadas entre el VIH-1 y el VIH-2, se deben seguir las recomendaciones correctas de interpretación, para evitar falsos positivos frente al VIH-2 en infecciones producidas por el VIH-1, o bien diagnosticar infecciones dobles por el VIH-1 y el VIH-2 por existencia de reacciones cruzadas.

Para confirmar la infección por el VIH-2, se puede utilizar dos tipos de WB: uno de ellos detecta anticuerpos específicos frente a todas las proteínas del VIH-1 obtenidas por cultivo viral, y además los anticuerpos elaborados frente a la gp36 o proteína transmembranaria del VIH-2, que se incorporan en un extremo diferenciado de la tira como péptido sintético del VIH-2. La otra alternativa es utilizar un WB que detecte exclusivamente anticuerpos frente al VIH-2, partiendo por tanto de un cultivo infectado por dicho virus. La Organización Mundial de la Salud, debido a la existencia de reacciones cruzadas entre los anticuerpos del VIH-1 y VIH-2 dirigidos frente a las proteínas internas, ha propuesto como criterio de positividad la presencia por lo menos de dos bandas de envoltura con o sin otras bandas de *core*. Para su correcta interpretación se deben tener en cuenta una serie de consideraciones:

- Puede existir también reactividad cruzada con anticuerpos dirigidos frente a la envoltura de ambos virus, que se puede solucionar con diluciones, o realizando una amplificación específica del VIH-2 mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
- La glucoproteína de transmembrana gp36 tiene tendencia a formar oligómeros y, en el WB, puede simular reactividad frente a otras glucoproteínas de envoltura, especialmente gp105.
- Las glucoproteínas de envoltura son las que se fijan de forma más deficiente en el WB, no siendo infrecuente que algunas muestras de sujetos infectados sean informadas como indeterminadas.
- Asimismo, dichas glucoproteínas son las que están sujetas a una mayor variabilidad genética y, por ello, las tiras del WB preparadas con el sobrenadante del cultivo de una determinada variante del VIH-2 pueden no reconocer adecuadamente los anticuerpos dirigidos frente a otra diferente.

c) Pruebas complementarias

Debido a la menor eficiencia del WB para distinguir adecuadamente los anticuerpos frente a ambos tipos de virus, en los últimos años se ha sugerido que podrían utilizarse otro tipo de pruebas complementarias para la confirmación y diferenciación de las infecciones por cada uno de ellos. Estas pruebas diseñadas con péptidos sintéticos y proteínas recombinantes, son menos costosas, más fáciles de interpretar, y tienen una gran sensibilidad y especificidad, lo cual permite considerar su

uso como prueba de confirmación. El mayor inconveniente de las pruebas con péptidos sintéticos son los resultados falsos negativos, sobre todo en las infecciones agudas y en las pediátricas. Pueden ser usadas como pruebas confirmatorias en sujetos con prácticas de riesgo y es un método bueno para resolver resultados indeterminados y para reconocer infecciones que pasarían desapercibidas con otros métodos. En la figura 2, se refleja el algoritmo diagnóstico para la infección por el VIH-2.

Diagnóstico por Microbiología Molecular

Para demostrar la infección por el virus que nos ocupa, ya sea aislado o en infecciones duales con el VIH-1, es necesario el aislamiento en cocultivo del VIH-2 o la demostración de DNA proviral en células mononucleares de sangre periférica. El aislamiento en cocultivo es muy difícil, y además la carga proviral en el caso del VIH-2 es sensiblemente inferior a la del VIH-1, quizás porque existe menor número de linfocitos CD4 infectados. Esto explica que, incluso mediante una PCR *nested*, no se detecte el ácido nucleico en algunos pacientes que realmente están infectados. En la actualidad, mediante técnicas ultrasensibles se detecta entre el 95 y el 98% de los pacientes que están infectados por el VIH-2 aislado. La viremia por este virus, a diferencia de lo que ocurre con el VIH-1, es frecuentemente indetectable, incluso en pacientes con bajos recuentos de CD₄ y avanzada progresión de la enfermedad. La realidad es que la confirmación mediante técnicas de biología molecular no se puede asegurar en el 100% de las infecciones por el VIH-2.

En la actualidad no disponemos de técnicas aprobadas por la FDA para el diagnóstico molecular de este virus. Esto hace que los trabajos en los que se describen métodos para la detección del genoma (RNA) o del ADN proviral se hayan realizado con métodos muy diversos, a menudo de desarrollo en el propio laboratorio, de escasa reproducibilidad e insuficientemente estandarizados. Si a esto, sumamos el escaso número de pacientes que se incluyen en las series descritas hasta el momento, debemos concluir que los resultados presentados se deben interpretar con mucha precaución.

Entre los ensayos descritos para la detección de RNA o de DNA proviral del VIH-2, caben destacar los de Soriano *et al.* (2000) que han desarrollado, empleando una RT-PCR competitiva, un protocolo para la cuantificación de la carga viral del VIH-2; estos autores demuestran que la viremia por el VIH-2 en los pacientes infectados por este virus es mucho menos intensa que la del VIH-1 y que, por el momento, no se pueden hacer las mismas consideraciones sobre el valor pronóstico y de progresión que se hacen en el VIH-1. También se han descrito ensayos de PCR en tiempo real para cuantificar con exactitud la viremia por el VIH-2. Así, Schutten *et al.* (2000), describen un ensayo con un intervalo dinámico de 4 logaritmos (10^2 - 10^6 partículas/ml), un coeficiente de regresión lineal de 0,99 y una variabilidad interensayo del 2% en niveles de 10^6 partículas/ml y de 7,5% en los de 10^2 partículas/ml, y una variabilidad intraensayo del 2,5% en niveles de concentración de 10^4 partículas/ml. Existe, asimismo, un sistema para la detección cualitativa de la viremia por el VIH-2, del tipo múltiple PCR LCx, que detecta simultáneamente el RNA del VIH-1 (subtipos del grupo M y el grupo O) y del VIH-2, y que tiene un límite de sensibilidad, según el fabricante, de 20-50 copias/ml.

Para el subtipado se utiliza la secuenciación en *pol*, *env* y *gag* como técnica de referencia, aunque también se proponen técnicas de menor complejidad, como los patrones de restricción (RFLP) con la enzima *Dsal*, que corta los amplificadores del gen *nef* de los subtipos B pero no el de los subtipos A.

TRATAMIENTO

El VIH-2 es sensible a los inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos (NRTI) *in vivo* e *in vitro*, aunque parece que lo es en menor medida que el tipo

1. Se ha comprobado que el uso del tenofovir intravenoso dentro de las primeras 36 h después de la exposición intravaginal al VIH-2 (en un modelo animal) es una medida eficaz de profilaxis post exposición. Sin embargo, este virus no es sensible a los inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos (NNRTi) debido a la presencia de mutaciones específicas localizadas en el bolsillo de unión de estos fármacos con la enzima transcriptasa inversa viral. En un estudio realizado por Rodés (2000) en 12 cepas aisladas de pacientes infectados por el VIH-2 no tratados (*naïve*) con NNRTi, se observó, al menos, una mutación de las relacionadas con la resistencia a estos fármacos en el VIH-1 y, la mayoría, presentaban dos mutaciones, siendo las V106I, Y181I, Y188L y G190A las más frecuentemente encontradas. Parece que el VIH-2 es sensible a los inhibidores de la proteasa (IP) *in vitro*. Al igual que ocurre en el VIH-1, el VIH-2 es capaz de desarrollar mutaciones de resistencia a los antirretrovirales bajo la presión farmacológica.

Existen una serie de limitaciones para valorar la sensibilidad antiviral del VIH-2. De una parte, como ya se ha citado, hay serios problemas para monitorizar la viremia plasmática por el VIH-2; además, la mayoría de los pacientes infectados por el VIH-2 viven en el oeste de África, en países en los que el tratamiento antiviral no está ni siquiera instaurado para el VIH-1. Todavía no podemos aclarar cuál es el momento en que se debe iniciar el tratamiento, cómo y cuándo se debe monitorizar la respuesta y qué pacientes serán candidatos a la realización del ensayo de resistencias genotípicas; además, para estos aspectos, no se pueden extrapolar los conocimientos adquiridos sobre VIH-1.

El tratamiento de las infecciones oportunistas asociadas a la infección por el VIH-2 es similar al que está descrito para los pacientes infectados por el VIH-1, con la diferencia de que en los infectados por el primero el tratamiento parece ser más eficaz. Al igual que en la infección por el VIH-1, la cifra de CD₄ va a ser el punto de referencia para la instauración de la correcta profilaxis de las infecciones oportunistas.

BIBLIOGRAFÍA

- ABRAVAYA K, ESPING C, HOENLE R, *et al.* Performance of a multiplex qualitative PCR LCx assay for detection of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) group M subtypes, group O, and HIV-2. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 716-723.
- ANÓNIMO. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS/WHO). Proposed WHO criteria for interpreting results from western blots assays for HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II. *Weekly Epidemiol Rec* 1990; 65:281-283.
- BOCK PJ, MARKOVITZ DM. Infection with HIV-2. *AIDS* 2001; 15 (suppl 5):S35-S45.
- BRATTEGAARD K, KOUADIO J, ADOM M, *et al.* Rapid and simple screening and supplemental testing for HIV-1 and HIV-2 infection in West Africa. *AIDS* 1993; 7:883-885.
- BRAVO R, GUTIÉRREZ M, SORIANO V, *et al.* Lack of evidence for viral clearance in children born from HIV-infected mothers. *AIDS* 1996; 10:1744-1775.
- CONTANTINE N. Serologic test for the retroviruses: approaching a decade of evolution. *AIDS* 1993; 7:1-13.
- DAMOND F, APETREI C, ROBEERTSON DL, *et al.* Variability of human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) infecting patients living in France. *Virology* 2001; 280:19-30.
- KANNANNGAI R, RAMALINGAM S, PRAKASH KJ, *et al.* A peptide enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of human immunodeficiency virus type-2 (HIV-2)

antibodies: an evaluation on polymerase chain reaction (PCR) confirmed samples. J. Clin. Virol. 2001; 22:41-46.

MAARTEN F, VAN DER LOEFF S. Towards a better understanding of the epidemiology of HIV-2, AIDS 1999, 13 (suppl A): S69-S84.

RODÉS B, HOLGUIN A, SORIANO V. Emergence of drug resistance mutations in human immunodeficiency virus type 2-infected subjects undergoing antiretroviral therapy. J Clin Microbiol 2000, 38:1370-1374.

SCHUTTEN M, VAN DEN HOOGEN B, VAN DER ENDE M, *et al.* Development of a real-time quantitative RT-PCR for the detection of HIV-2 RNA in plasma. J Virol Methods 2000; 88:81-87.

SMITH NA, SHAW T, BERRY N, *et al.* Antiretroviral therapy for HIV-2 infected patients. J Infect 2001; 42:126-133.

SORIANO V, GÓMES P, HENEINE W, *et al.* Human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) in Portugal: clinical spectrum, circulating subtypes, virus isolation and plasma viral load. J Med Virol, 2000; 61:111-116.

Figura 2.-Algoritmo diagnóstico de la infección por el VIH-2

