



MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO
Plan Nacional sobre el SIDA
ESPAÑA

Número 7.
Noviembre 1996

RECOMENDACIONES del CONSEJO ASESOR CLÍNICO del PLAN NACIONAL sobre el SIDA

- La infección por VIH y el papel de los laboratorios
- Leishmaniasis visceral en el paciente infectado con el VIH



LA INFECCIÓN POR VIH Y EL PAPEL DE LOS LABORATORIOS

INTRODUCCIÓN

El papel de los laboratorios, ya sean de Microbiología, Inmunología, Hematología, Análisis Clínicos, Bioquímica o de otro tipo, es primordial en la asistencia de las personas con infección por VIH/sida. Los laboratorios tienen también una función muy importante en la investigación básica y clínica de esta enfermedad y contribuyen también a la vigilancia epidemiológica mediante el diagnóstico de casos de infección por VIH.

En este documento se revisan varios aspectos ligados a las diversas pruebas analíticas que se realizan a los pacientes con infección VIH. Algunas de estas pruebas son habituales en la *práctica médica diaria*, por su uso diagnóstico, su valor pronóstico o para el establecimiento de unas indicaciones terapéuticas (ejemplo: recuento de linfocitos CD4). Otras son técnicas propias o exclusivas de *investigación*, entre ellas están, por ejemplo, los estudios fenotípicos y genotípicos del VIH. Durante la elaboración de este documento ha tenido lugar un cambio importante respecto al conocimiento del número de partículas de VIH circulantes en la sangre, cuantificada mediante la técnica denominada de "carga viral". En los últimos dos años, ha existido una extensa investigación sobre el significado de la carga viral en cuanto a marcador pronóstico de los pacientes con infección VIH/sida, y también en cuanto a su uso como variable intermedia en los ensayos clínicos con antirretrovirales. Además, la carga viral ha pasado a ser un instrumento en el que basar, junto a la cifra de linfocitos CD4, las estrategias de tratamiento antirretroviral. En este sentido, este documento se edita simultáneamente con la 3.1 edición de las recomendaciones de tratamiento antirretroviral en el adulto. De la misma manera se ha constituido un grupo de trabajo a partir del Consejo Asesor, que en breve va a editar un informe dedicado específicamente a la carga viral, su estandarización analítica y a recomendaciones de uso asistencial.

Este documento se dedica a una serie de recomendaciones prácticas de técnicas analíticas a utilizar en la práctica clínica y a unas propuestas de estándares de uso de las mismas, y los aspectos de revisión de los marcadores biológicos de progresión y de las variables sustitutivas constituyen el anexo 1.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE LA INFECCIÓN POR VIH

La presencia del VIH desencadena en el individuo infectado un conjunto de respuestas inmunes, entre ellas la producción de anticuerpos que son la base para el diagnóstico serológico de la infección por VIH.

EDITA. MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO. Secretaría del Plan Nacional sobre el Sida, Paseo del Prado, 18-20. 28014 Madrid. Consejo Asesor Clínico. Presidente Dr. Francisco Parras Vázquez. Vocales: Dr. Emilio Bouza Santiago, Hospital Gregorio Marañón. Dr. Luis Buzón Rueda, Oficina Regional de coordinación de Acciones frente al VIH Madrid. Dr. Ricardo Candel Parra, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Dr. José María Gatell Artigas, Hospital Clínico y Provincial. Dr. Diego Gracia Guillén, Universidad Complutense. Dr. José Antonio Iribar en Loyarte, Hospital Nuestra Señora de Aránzazu. Dra. Isabel de José Gómez, Hospital La Paz (infantil). Dr. Manuel Leal Noval, Hospital Virgen del Rocío. Dr. José López Aldeguer, Hospital Universitario La Fe. Dr. Miguel Mateo Soler, Centro Penitenciario Madrid 11. Dr. Agustín Muñoz Sanz, Hospital Infanta Cristina. Dr. Rafael Nálara Morondo, Instituto de Salud Carlos III. Dra. Isabel Nogueira Zambrano, Plan Nacional sobre el Sida. Dr. Jerónimo Pachón Díaz, Hospital Virgen del Rocío. Dr. José Domingo Pedreira Andrade, Hospital Juan Canalejo. Dr. Jivier Sánchez Caro, Subdirector General Asesoría Jurídica del Insalud. Dr. Juan Miguel Santamaría Jáuregui, Hospital de Basurto. Dr. Carmen Tristán Antona, Consejera Técnica, Subdirección General de Evaluación de Medicamentos. Consejero Técnico. Dr. Luis Guerra Romero. N.º de registro: 351-96-001-7. ISBN: 84-7670-400-3. D.L.: M-39154-1994. Imprime: EGRAF, S. A. C/ Luis 1, 5-7. Pol. Ind. de Vallecas. 28031 Madrid

Este tema está perfectamente desarrollado en multitud de libros, artículos e informes de instituciones y sociedades científicas. Nos interesa destacar la existencia de dos documentos auspiciados por dos sociedades científicas españolas, SEISIDA y SEIMC, de los que suscribimos al completo sus apartados dedicados al diagnóstico serológico de la infección por VIH, en los aspectos de las pruebas de cribado y de confirmación con finalidad diagnóstica. Es bien conocida la importancia de que tras una *prueba de cribado* positiva (mediante técnicas de enzimoimmunoanálisis generalmente), ha de realizarse una *prueba de confirmación* serológica, mediante las técnicas oportunas (western-blot, inmunofluorescencia indirecta, radioinmunoprecipitación).

En relación a la evaluación y registro de pruebas de diagnóstico de la infección VIH cabe destacar la resolución de 20 de marzo de 1987 publicada en el Boletín Oficial del Estado en la que el Ministerio de Sanidad y Consumo establece que sólo pueden comercializarse los reactivos de detección de marcadores de infección por virus de la familia *Retroviridae* que cuenten con autorización sanitaria, otorgada previa evaluación del Instituto de Salud Carlos III. La autorización de cualquier reactivo incluye la indicación de su uso clínico o de investigación, de diagnóstico de sospecha o de confirmación. Como ejemplo, los reactivos actuales disponibles para cribaje en bancos de sangre que incluyen el subtipo 0 del VIH-1, han requerido una nueva evaluación de la Dirección General de Farmacia y Productos Sanitarios, ya que el cambio de su composición así lo exige. La autorización de comercialización de cualquiera de estos reactivos expira automáticamente al cabo de cinco años, debiendo solicitarse su renovación si el laboratorio que lo comercializa, considera que su test sigue siendo válido.

La infección VIH adquirida por transmisión vertical plantea un problema diagnóstico completamente distinto al del adulto o al niño mayor de 18 meses. Es bien conocida la escasa utilidad de la serología IgG, y también la eficacia diagnóstica de los métodos virológicos: antigenemia p24, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y aislamiento viral. Estos métodos son imprescindibles hoy en día para el diagnóstico en el recién nacido y en el lactante, con sospecha de infección vertical, y deben estar disponibles a través de un sistema de laboratorios de referencia. De la misma manera se necesitan métodos virológicos para el diagnóstico de sospecha de infección VIH durante el denominado "período ventana" y para los casos infrecuentes con resultados indeterminados en las pruebas de confirmación. El diagnóstico del recién nacido está tratado en profundidad en otro documento del Consejo Asesor Clínico editado en septiembre de 1996, sobre la infección VIH en la infancia.

PRUEBAS ANALÍTICAS PARA EL CONTROL DE LA INFECCIÓN VIH EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Cuando se diagnostica a una persona infectada por el VIH se deben realizar de manera sistemática una serie de pruebas complementarias, considerándose en nuestro medio las siguientes: **hemograma, bioquímica elemental con perfil hepático, orina elemental, radiografía de tórax, Mantoux (y pruebas cutáneas de hipersensibilidad, si la prueba de la tuberculina fuese negativa), y serologías de VHB (Ag HBs, Ac HBc), VHC (Ac VHC), toxoplasmosis (IgG) y sífilis (VDRL o RPR).** También es muy recomendable realizar un examen ginecológico de forma sistemática a toda mujer diagnosticada de infección por VIH. En las posteriores revisiones se deben repetir estas exploraciones en función de la situación clínica y según criterio médico. No está indicado repetir las serologías previas, salvo por una indicación diagnóstica precisa, tal es el caso de la serología de VHB, si el paciente tiene marcadores negativos, no fue vacunado y mantiene prácticas de riesgo para la adquisición de esta infección.

Los marcadores biológicos de progresión se introducen a veces en la práctica clínica cuando aportan una información en relación al pronóstico. Sin duda son imprescindibles cuando constituyen la base para el establecimiento de estadios de una enfermedad, que a su vez

determinan diferentes opciones terapéuticas. Toda persona con infección por VIH debe tener un recuento de *linfocitos CD4* tras el diagnóstico. En los pacientes con $CD4 > 500/mm^3$ es recomendable el recuento a intervalos regulares no superiores a 6 meses. Cuando las cifras están entre 500 y 200/mm³, los recuentos deben hacerse con una frecuencia a determinar por el médico, pero nunca con intervalos superiores a 6 meses. El umbral de 500 ha sido oportuno habitualmente para el inicio de tratamiento antirretroviral, aunque esta decisión ha de tomarse actualmente en el contexto clínico de cada paciente y con la incorporación de los datos de la carga viral, según se desarrolla en la 3ª edición del documento del Consejo Asesor dedicado al tratamiento antirretroviral. El umbral de 200/ml, lo es para el comienzo de profilaxis primaria frente a *P. carinii* y también en nuestro medio frente a *T. gondii* (en los seropositivos frente a este parásito). En los casos con $CD4$ entre 200 y 50, la frecuencia de su determinación ha de hacerse según un criterio individualizado, pero de igual manera nunca a intervalos superiores a 6 meses. No obstante, en esta situación no se precisan más controles de $CD4$ por motivos terapéuticos. En los enfermos con $CD4 < 50/mm^3$ no parece imprescindible la repetición de esta prueba, ya que el beneficio que pueden aportar es escaso.

ESTÁNDARES DE CALIDAD DE PRUEBAS ANALÍTICAS

1. Estándares diagnósticos

a) De infección VIH de transmisión vertical en el recién nacido y el lactante

Todos los lactantes nacidos de madres con infección VIH deben tener realizadas **pruebas diagnósticas virológicas** (Ag p24, PCR o aislamiento viral) durante los 6 primeros meses de vida, al menos en dos ocasiones. En cada una de ellas han de realizarse dos de estas pruebas (Ver documento del Consejo Asesor Clínico sobre infección VIH en la infancia).

Fórmula del indicador. - Proporción de lactantes que tienen realizadas pruebas diagnósticos virológicas según el estándar previo, documentadas en la historia clínica, respecto al número de lactantes de madres VIH+.

b) De pruebas de laboratorio realizadas en el adulto tras el diagnóstico de infección VIH

A todos los pacientes adultos diagnosticados de infección por VIH se les debe realizar una vez establecido dicho diagnóstico, la prueba del Mantoux y las siguientes pruebas de serología: VHB (Ag HBs, Ac HBc), VHC (Ac HBC), sífilis (VDRL o RPR) y *T. gondii* (IgG).

Indicador. - Proporción de pacientes diagnosticados de infección por VIH que tienen realizado antes de los tres meses del diagnóstico de VIH, el Mantoux y las serologías de VHB, VHC, sífilis y *T. gondii*, con los resultados documentados en la historia clínica, respecto del total de pacientes VIH+.

2. Estándares de seguimiento de linfocitos CD4

a) Estándares de calidad de seguimiento de linfocitos CD4 en niños

a.1. Todos los lactantes nacidos de madres con infección VIH deben tener un recuento de $CD4$ en el 1^{er} mes de edad y periódicamente a los meses 3, 6, 9 y 12, o hasta que el diagnóstico se haya excluido con seguridad.

Indicador. Proporción de lactantes que tienen realizado el recuento de $CD4$ a los 1, 3, 6, 9 y 12 meses de edad, documentados en la historia clínica, respecto al total de casos evaluados.

a.2. Todos los niños con infección VIH deben tener recuentos de CD4 cada 3-6 meses.

Indicador.- Proporción de niños con infección VIH que tienen recuentos periódicos de CD4 cada 3-6 meses, documentados en la historia clínica, respecto al total de casos evaluados con infección VIH.

b) Estándar de calidad de seguimiento de linfocitos CD4 en adultos

Todos los pacientes diagnosticados de infección VIH deben tener un recuento de CD4 al menos cada 6 meses hasta que sea inferior a $50/\text{mm}^3$

Indicador. Proporción de pacientes que tienen repetidos los recuentos de CD4 al menos cada 6 meses, documentados en la historia clínica, respecto al total de casos evaluados.

CONCLUSIONES

- **Los linfocitos CD4 constituyen un marcador biológico de progresión de uso imprescindible en la práctica clínica**, para la atención al adulto, al niño con infección VIH/sida, y al lactante con sospecha de la misma por transmisión vertical. Esta conclusión se basa en su valor pronóstico y en su necesidad para establecer el inicio de diferentes tratamientos. Se recomienda un recuento de CD4 tras el diagnóstico de infección por VIH, y su repetición sucesiva con periodicidad mínima cada 6 meses.
- Los **restantes marcadores inmunológicos** (beta-2 microglobulina, neopterin, IgA, citoquinas, etc.) tienen utilidad en el marco de la **investigación**, en estudios de seguimiento de cohortes u otros proyectos de índole epidemiológica, sin aportar mejoras significativas en la práctica clínica.
- **La detección del Ag p24 no tiene en la actualidad utilidad clínica reconocida para el seguimiento de los pacientes.** El conocimiento de esta variable no implica ninguna decisión terapéutica. Hay **excepciones** a esta consideración, como son la necesidad de **métodos virológicos para el diagnóstico de infección VIH en el recién nacido, durante el periodo ventana en casos de sospecha de primoinfección o en casos con pruebas serológicas indeterminadas.** Esta técnica debiera estar disponible por motivos asistenciales a través de un sistema eficiente de laboratorios de referencia.
- La cuantificación de la carga viral es un instrumento esencial de la investigación sobre VIH, estando demostrado su valor como marcador pronóstico de la infección VIH y como variable intermedia en los ensayos clínicos con antirretrovirales. **Las técnicas de cuantificación de RNA plasmático está introduciéndose en la práctica asistencial por su utilidad pronóstico y para el inicio y seguimiento de los tratamientos antiretrovirales.**
- **En nuestro medio se recomienda realizar las siguientes pruebas complementarias** cuando se diagnostica una infección por VIH: hemograma, bioquímica elemental con perfil hepático, orina elemental, radiografía de tórax, Mantoux (y pruebas cutáneas de hipersensibilidad si el Mantoux es negativo), y serologías de VHB (Ag HBs, Ac HBc), VHC (Ac VHC), toxoplasmosis (IgG), y sífilis (VDRL o RPR).

ANEXO 1

1. MARCADORES BIOLÓGICOS DE PROGRESIÓN

La patogenia de la infección por el VIH se basa en el deterioro progresivo del sistema inmune, que lleva a la aparición de las infecciones oportunistas y de tumores que caracterizan al sida. Este deterioro inmunológico y su expresión clínica a través de la historia natural de la enfermedad, tiene un ritmo que varía de forma considerable, estimándose que la mediana del tiempo desde la primoinfección por VIH hasta el desarrollo del sida está en torno a los 10 años. La variabilidad de la progresión es debida a la interacción de muchos factores, entre ellos las características virales, la respuesta del huésped, la influencia de diferentes factores (infecciosos o no), y las intervenciones terapéuticas (antirretrovirales, profilaxis y terapias de infecciones oportunistas, etc.). La evolución en el tiempo de cada caso concreto de infección VIH es difícil de predecir con precisión, pero existen datos clínicos y biológicos que permiten unas aproximaciones con bastante precisión al pronóstico. Hay múltiples estudios que han acreditado al recuento de células CD4 como un buen marcador predictivo de progresión de la enfermedad y recientemente se han publicado varios trabajos que han demostrado el valor pronóstico de la carga viral, incluso con ventajas respecto a los linfocitos CD4.

A. Historia natural de la infección VIH

La definición inicial de sida propuesta por *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) surgió con el objetivo de establecer un sistema de vigilancia epidemiológica de los casos, sin una meta de clasificar unos estadios clínicos de la infección VIH. La definición de sida como tal síndrome ha tenido modificaciones posteriores con el objetivo esencial de alcanzar la máxima sensibilidad y especificidad posibles. Como ocurre con otras enfermedades transmisibles distintas al sida, algunos conceptos clínicos no son útiles ni operativos en vigilancia epidemiológica; de la misma manera, una definición a efectos de vigilancia no es necesariamente la más útil para la práctica médica o para los ensayos clínicos. El llamado "complejo relacionado con el sida" ha sido muy usado en el contexto de la asistencia y en los ensayos con antirretrovirales, pero sin embargo nunca en el campo de la epidemiología. En este mismo sentido, la utilización sistemática de la definición epidemiológica de SIDA como variable clínica de medida en los ensayos, tiene también sus limitaciones, como ha sido puesto de manifiesto por distintos investigadores.

Existen varios **sistemas de clasificaciones** para su aplicación clínica (patología asociada y marcadores biológicos) que definen en estadios la historia natural de la infección VIH, que se inicia con la primoinfección y finaliza con la fase terminal de la enfermedad. Esta historia pasa por una etapa asintomática de "latencia clínica" (no de inactividad viral o inmunológica) y por otras sintomáticas (precoz, intermedia, avanzada). Entre estas clasificaciones están las descritas por los CDC (la última en 1993), por la OMS y por el Instituto Walter Reed. Nuestro propósito no es revisar estas clasificaciones, sino hacer hincapié en un común denominador de todas ellas: el reconocimiento de que el recuento de CD4 ha sido hasta ahora el mejor marcador predictivo de progresión de la enfermedad. Hasta ahora, la "carga viral" no ha sido incorporada a ningún sistema de clasificación de la infección VIH. Como ejemplo de la capacidad predictiva del recuento de CD4, en la última definición de sida de los CDC para vigilancia epidemiológica (no utilizada en Europa) se incluye como sida -además de otros criterios- a todo caso con $CD4 < 200 \text{ mm}^3$, esté en período sintomático o no.

La historia natural de la infección VIH desde un punto de vista clínico se puede dividir esquemáticamente en las siguientes fases:

- 1 Infección aguda.
- 2 Enfermedad precoz ($CD4 > 500/\text{mm}^3$), período de latencia clínica.
- 3 Enfermedad en estadio intermedio ($CD4 \text{ } 500\text{-}200$), con frecuencia asintomática.

- 4 Enfermedad tardía (CD4 200-50), sintomático en la mayoría de los casos.
- 5 Fase avanzada (CD4 < 50), sintomático en un porcentaje elevadísimo de casos, con frecuencia en situación clínica muy avanzada.

El curso de la infección VIH puede ser variable. Algunos pacientes progresan a sida en un período muy breve, que puede ser inferior a 18 meses, y otros permanecen asintomáticos durante más de 10 años. En distintos estudios de cohortes de pacientes VIH + seguidos durante distintos períodos de tiempo (la mayoría más de 7 años), incluido uno español de Soriano y col., se ha observado que el 5-15% de casos presentan una progresión lenta de la enfermedad, pues se mantienen asintomáticos y con CD4 >500/mm³ en ausencia de tratamiento antirretroviral.

B. Marcadores inmunológicos

La discusión previa sobre la historia natural de la enfermedad tenía como objeto fundamental el fundamentar que el mejor indicador del estadio de la infección a nivel poblacional ha sido hasta hace poco la cifra de linfocitos CD4, que los ha acreditado como una prueba analítica de uso imprescindible en la práctica clínica. Hoy en día se considera sin ninguna duda que para realizar una buena práctica médica en la asistencia de los individuos con infección VIH, debe disponerse de técnicas de recuento de los **linfocitos CD4**. Su monitorización en el tiempo es imprescindible para establecer el estadio y el pronóstico probable de cada caso. Además se usa como criterio para iniciar diferentes intervenciones terapéuticas (por ejemplo, el inicio de profilaxis frente a *P. carinii*).

El recuento de CD4 tiene, no obstante, algunas limitaciones de orden biológico y analítico que hay que conocer para no cometer errores en su interpretación. Entre las de orden biológico están las variaciones debidas a la edad, raza, momento del día de la extracción de sangre, la estación del año, la influencia de infecciones concomitantes o de distintas medicaciones y la presencia de esplenectomía. Además, el recuento tiene limitaciones analíticas objetivadas por la variabilidad de resultados interlaboratorios, que puede deberse a múltiples factores: temperatura de la muestra, tiempo transcurrido entre la extracción y el análisis, tipos de anticoagulante, reactivos e instrumentos utilizados. Además, tanto la variabilidad del número de leucocitos como la propias de las proporciones de linfocitos/total de leucocitos y de linfocitos CD4/total de linfocitos, influyen sobre la cifra absoluta de linfocitos CD4. Con todas estas limitaciones, no sorprende que cuando se utilizan umbrales estrictos de cifras de CD4, para recomendar determinadas terapéuticas o clasificar como sida a un determinado paciente, la variabilidad analítica pueda tener implicaciones discordantes para casos concretos.

Estos comentarios sobre las limitaciones del recuento de los linfocitos CD4 llevan a la recomendación de la necesaria integración de la cifra de CD4 con el conjunto de datos clínicos de cada paciente concreto a la hora de tomar decisiones sobre un determinado tratamiento antirretroviral, tal como se revisa en las tres ediciones del documento sobre los antirretrovirales en el adulto, y en la 1ª sobre su uso en los niños.

La activación del sistema inmune que desencadena la infección por el VIH, tanto de índole general como específica anti-VIH, en sus aspectos celulares y humores, está descrita en profundidad en múltiples publicaciones. Hasta ahora se ha analizado el significado de los linfocitos CD4, por lo que aquí vamos a hacer sólo unos breves comentarios sobre algunos efectores de la inmunidad humoral, que se han estudiado como posibles marcadores sustitutivos de progresión de la infección. Entre éstos están la beta-2 microglobulina, la neopterina y la IgA. Está bien demostrado que el aumento de cada uno de ellos se asocia con independencia de las cifras de CD4 a un mayor riesgo de progresión a sida. Estos marcadores inespecíficos han tenido escaso uso en la clínica, ya que la información que aportan no es relevante al no poder ligarse a ninguna estrategia terapéutica o asistencias, por lo que hasta la

actualidad ninguna institución sanitaria ha emitido recomendaciones sobre su aplicación clínica. Lo mismo ocurre con otros factores solubles de activación celular, interferones, TNF y otras citoquinas, que tiene un gran significado en la investigación de la respuesta inmune, pero que no tienen ningún papel en la práctica diaria.

C. Marcadores virológicos

En los últimos 2-3 años se han producido hallazgos trascendentales en la investigación de la patogénesis de la infección VIH/sida. Entre ellos, se ha observado que el virus se replica de forma activa durante toda la duración de la infección y que es posible detectar su RNA en el plasma en todos los estadios de la infección. Se ha demostrado además, la asociación del incremento de la carga viral con la progresión clínica, la caída de CD4, la aparición del fenotipo inductor de sincitios y la disminución de la sensibilidad a la ZDV o a otros inhibidores de la transcriptasa inversa.

Entre las técnicas de detección viral, la identificación de antigenemia fue de las primeras en utilizarse en los ensayos clínicos con antirretrovirales y como complemento diagnóstico en situaciones especiales. El **Ag p24** se detecta en sangre mediante técnicas de ELISA sencillas y no demasiado caras, y su sensibilidad se ha incrementado mediante la disociación de los complejos Ag-Ac. La detección de antígenos virales aporta una medida indirecta de la carga viral. La presencia de Ag p24 se asocia con el estadio y progresión de la enfermedad, con la caída de los CD4 y con la carga viral medida por métodos directos. En muchos ensayos de antirretrovirales se ha demostrado que el inicio del tratamiento se acompaña de un descenso de los títulos de Ag p24 o de su negativización, pero no es bien conocido si esta supresión tiene un impacto clínico evidente. Así en el ensayo ACTG 116B/117 se demostró una asociación clara entre antigenemia y progresión, pero el 30-40% de los pacientes presentaron progresión a pesar de no tener cambios significativos en los valores de Ag p24. Algunos autores han aconsejado la monitorización de los niveles circulantes de Ag p24 para seguir la eficacia del tratamiento antirretroviral, aunque nunca se ha establecido el fundamento de esta recomendación. De hecho, en un meta-análisis de varios ACTG se ha demostrado que el beneficio clínico de la ZDV no era explicable por su efecto supresor de la antigenemia. No ha habido tampoco ninguna intervención terapéutica que se inicie basada en la detección del Ag p24. Su utilidad en la práctica clínica (salvo para el diagnóstico de infección VIH en el recién nacido o durante el período ventana en casos de primoinfección) no se ha establecido.

En relación a otro marcador virológico, “la carga viral”, medida mediante **técnicas de cuantificación de RNA plasmático**, hay varios trabajos que demuestran que es el mejor predictor de evolución. Los pacientes con progresión a sida más rápida tenían niveles más elevados en la situación basal y a lo largo de su evolución, que los que no presentaban tal evolución durante unos años de seguimiento. Los niveles de RNA plasmático están muy elevados (del orden de 10^5 - 10^7 copias/ml) durante el episodio de infección aguda y disminuyen más de 1000 veces cuando se produce la seroconversión. Además, el RNA permanece detectable en plasma durante el período de latencia clínica, en la mayoría de los casos. Esta información sobre la fisiopatología de la infección VIH está utilizándose para establecer estrategias de tratamiento antirretroviral, tal como las publicadas recientemente por un panel internacional (JAMA, July 10, 1996). Posiblemente una determinación aislada de nivel plasmático de RNA no sea de especial valor en un paciente determinado, siendo la evolución de la carga viral a lo largo del tiempo lo realmente valorable. Otro marcador virológico en investigación es el **RNAm de VIH-1 en células mononucleares periféricas**, cuyos resultados apuntan a que el nivel de expresión del RNAm en estas células es un marcador de evolución a sida e incluso de progresión de la infección, en pacientes con cifras de linfocitos CD4 dentro de la normalidad, sugiriéndose que pueda reflejar una progresión subclínica de la infección, cuando ya ha tenido lugar una afectación importante del tejido linfático.

El estudio del **fenotipo viral**, es decir de las características biológicas del aislado de VIH, obtenido habitualmente a partir de linfocitos de sangre periférica del paciente, es importante en relación con la progresión de la infección. Las tres propiedades que se implican son el tropismo celular, la cinética de replicación y la citopatogenicidad o capacidad de inducir sincitios (células gigantes multinucleadas) en cultivo. Hasta ahora, los principales hallazgos indican que durante la infección primaria, lo habitual es que se detecten aislados no inductores de sincitios (NIS), al ser el sistema inmune del paciente capaz de controlar el crecimiento de las cepas inductoras de sincitios (IS). Por el contrario, la presencia y la persistencia de aislados con fenotipo IS después de la infección primaria, se asocia con una rápida disminución de linfocitos CD4 y puede afectar el curso posterior de la infección. A lo largo de la evolución de la enfermedad, desde el período asintomático hasta el desarrollo de sida, se ha observado que en el 50-60% de los pacientes asintomáticos se aíslan cepas IS y que el paso de aislado NIS a IS a lo largo del seguimiento, se asocia con una caída brusca en la cifra de linfocitos CD4, lo que sugiere que estas variantes IS pueden estar directa o indirectamente implicadas en los mecanismos desencadenantes de la depleción de los linfocitos CD4, y que su aparición puede ser un importante marcador pronóstico. Las cepas IS suelen aparecer de un año y medio a dos años, antes del desarrollo del sida. No obstante, no se conoce con exactitud por qué en algunos estudios de seguimiento no se aíslan cepas IS en aproximadamente un 50% de los pacientes con SIDA. Esto podría sugerir la posibilidad de que en estos pacientes coexistan otras variantes con diferentes propiedades biológicas, y que por tanto en algunos casos existe una complicada interrelación entre una mayor virulencia "in vivo" y fenotipo viral "in vitro". Parece que el cambio de fenotipo NIS a IS puede también detectarse en pacientes tratados con ziduvudina, tanto en presencia como en ausencia de resistencia biológica a la misma, y también en asociación con estadios avanzados de la enfermedad.

Las resistencias a los antirretrovirales es otro campo de investigación de gran actualidad. Hoy día se admite, ya sin lugar a duda, la preexistencia de subpoblaciones resistentes a los fármacos antes de comenzar el tratamiento, como consecuencia de la gran variabilidad genética del virus y la selección por efecto del tratamiento. Mohri y cols. han demostrado la existencia de estas resistencias primarias al AZT en las células mononucleadas periféricas, pero no en plasma, sugiriendo que las cepas resistentes estuvieran latentes en estas células o que fueran difíciles de identificar por la baja viremia detectada en sus pacientes. Por otra parte, al encontrar resistencias a ZDV en pacientes que no habían recibido la misma, en un medio donde la ZDV se había usado de forma profusa, indujo a pensar en la posibilidad de transmisión de cepas ya resistentes, tal como se describió también por otros autores. Nájera y cols. han descrito resistencias naturales asociadas a ddC, d4T, piridinonas y nevirapine en virus aislados de pacientes y en amplificación directa desde sus células mononucleadas periféricas, así como "in vitro" tras pases seriados, con respecto al AZT, calculando las frecuencias de mutación y la comparación de la misma en las zonas de la transcriptasa inversa ligada o no con la resistencia. Estos autores han interpretado este fenómeno como una consecuencia de la gran variabilidad genética del virus y la existencia de grandes números en la población de virus que se generan con la progresión de la enfermedad, dando lugar a cuasiespecies. Esta interpretación ha sido avalada en varios trabajos posteriores y más recientemente, se han descrito también resistencias naturales a inhibidores de proteasa, en casos que no habían sido previamente tratados con los mismos, extendiendo el fenómeno a otras zonas del gen "pol" genes, como la hipótesis de Nájera y col. sugería.

Conviene hacer la distinción entre diferentes antirretrovirales análogos de nucleósidos en cuanto a resistencias. Aquéllos frente a los cuales se pueden desarrollar con frecuencia altas resistencias como el AZT y el 3TC, y otros en que la alta resistencia no se conoce, o no ha sido estudiada suficientemente, o es infrecuente. Así frente a AZT se han descrito resistencias de 3 a 370 veces con respecto a los niveles de sensibilidad aceptados, mientras que frente a otros, como el ddI, ddC y d4T, los niveles de resistencia descritos son del orden de 1 a 30 veces, y en la mayor parte de los casos de 4, 5 y 10 veces, como mucho. La terapia combinada ha introducido una serie de beneficios en las variables biológicas de la infección, tales como los recuentos de CD4 y los títulos de RNA plasmático, pero otras ventajas, menos obvias, pueden

ser debidas a la introducción de "mutaciones compensatorias", ya que la resistencia a 3TC puede hacer que se recupere la sensibilidad de AZT, según ha descrito Larder. Recientemente Gu, Goulden y cols. han comunicado la existencia de mutantes con doble resistencia alta a las dos drogas, AZT y 3TC a partir de un aislado clínico, sin mostrar ningún grado de reversión en cuanto a la sensibilidad a AZT. Estos resultados hacen pensar que el tratamiento combinado con ambos antirretrovirales u otras posibles combinaciones podría seleccionar mutantes con doble alta resistencia en los pacientes.

2. VARIABLES INTERMEDIAS DE LOS ENSAYOS CLÍNICOS

Los resultados de un tratamiento, farmacológico o no, se expresan en los ensayos clínicos de una forma cuantitativa o cualitativa mediante las denominadas variables de medida ("*endpoints*", "*outcome measures*"). Para que un ensayo conteste de una manera válida y rigurosa sobre si existe un efecto beneficioso de una determinada intervención terapéutica, su diseño debe tener en cuenta dos aspectos esenciales en la selección de dichas variables:

1. Que sean sensibles a los efectos terapéuticos, y
2. Que sean clínicamente relevantes.

Esta "relevancia clínica" depende del estadio de la investigación. En los estudios de medicamentos en fase II el objetivo primario suele ser valorar la actividad biológica del mismo, y en fase III, la eficacia clínica. Esta eficacia clínica se mide esencialmente mediante los resultados del fármaco en estudio sobre la evolución de las siguientes variables: mortalidad, morbilidad y calidad de vida.

Las variables intermedias o sustitutivas ("*surrogate endpoints*", "*intermediate endpoints*") se usan cuando las variables clínicas de interés ("*true endpoints*") son demasiado difíciles de medir, y al tiempo es posible definir otras que son medibles mas fácilmente y que están suficientemente correlacionadas con aquellas. Para que esto ocurra, la relación entre ambos tipos de variables debe tener una racionalidad biológica y una relación estadística. Según Prentice, para que una variable intermedia sea válida en el contexto de los ensayos clínicos, debe también cumplir la hipótesis nula aplicada a la variable clínica o "verdadera" de ensayo. Así pues, la validación de las potenciales variables intermedias se basan en el cumplimiento de dos criterios:

1. Que los cambios en las variables intermedias se correlacionen con el riesgo de progresión clínica, es decir con la aparición de los acontecimientos considerados clínicamente relevantes.
2. Que cualquier beneficio terapéutico en las variables clínicas sea predecible y explicable mediante su efecto sobre la variable intermedia elegida.

Ya en concreto con los ensayos en pacientes con infección VIH/sida, las variables clínicas fundamentales que se han utilizado más tradicionalmente han sido la *mortalidad* medida en tiempo de supervivencia, la *morbilidad* en términos de tiempo hasta la aparición de infecciones oportunistas o de enfermedades indicativas de sida o del diagnóstico de "complejo relacionado son el sida", y finalmente *la calidad de vida* medida a través de distintas escalas o encuestas. Junto a estas variables se ha estudiado en profundidad el efecto de los antirretrovirales en distintas variables intermedias, específicamente sobre los linfocitos CD4 y sobre la carga viral, medida ésta mediante distintas técnicas virológicas, aspecto al que dedicamos este apartado.

Los resultados de los ensayos con antirretrovirales y de los estudios sobre la historia natural de la infección VIH demuestran los CD4 son un buen marcador de progresión, es decir cumplen el criterio primero antes descrito, tanto en los pacientes en tratamiento con ZDV como

en los no tratados. Sin embargo, evaluando estos criterios en los ensayos BW 02, ACTG 016 y ACTG 019, los cambios de los CD4 explicaban solo "algunos" de los efectos beneficiosos de la ZDV, es decir, los CD4 no satisfacen el criterio segundo de una forma completa por lo que se debe considerar que son sólo una variable intermedia *"incompleta"*.

Las limitaciones metodológicas descritas para los CD4 no se han compensado con otros marcadores inmunológicos, beta₂-microglobulina, neopterina, etc. que no han sido prácticamente utilizados como variables intermedias en los ensayos.

Dadas las limitaciones de los linfocitos CD4, se está analizando si los cambios en carga viral, debidos a un tratamiento antirretroviral, predicen la probabilidad de progresión a sida. Así recientemente se han analizado los datos procedentes de distintos ensayos (estudio del V.A., ACTG 175 y otros: ver documento de Tratamiento antirretroviral del adulto), concluyéndose que el uso de los niveles de *RNA de VIH en plasma* predicen de forma aceptable los resultados clínicos obtenidos por la ZDV en pacientes sintomáticos con CD4 entre 500 y 200, y que esta capacidad de predicción se incremento cuando se combina con la respuesta inducida en los CD4. Esta observación es novedosa ya que por primera vez se demuestra en un grupo de pacientes que los cambios de carga viral debidos a la ZDV, pueden utilizarse como variable intermedia al predecir la evolución clínica a sida. Aunque este hallazgo no puede extrapolarse a todos los pacientes con infección por VIH ni a todos los antirretrovirales, abre una vía muy importante para la evaluación de nuevos tratamientos y para el diseño de ensayos de distintas opciones terapéuticas, basados en la variable carga viral.

La discusión sobre las variables intermedias para evaluar los antirretrovirales no es exclusivo del campo de investigación sobre los tratamientos en pacientes con infección VIH. El debate sobre si es suficiente el tener datos biológicos (los CD4 o la carga viral) para considerar eficaz un antirretroviral o si se necesitan resultados en variables clínicas, se ha repetido con otros muchos medicamentos. En el campo de la patología cardiovascular hay muchos ejemplos sobre esta discusión: el uso de la fracción de eyección en los ensayos con trombolíticos, del descenso de la presión arterial con los hipotensores, o de la disminución de los niveles séricos del colesterol con los hipolipemiantes, han sido utilizados como variables intermedias de mortalidad en patología cardiovascular. El resultado sobre la disminución del tamaño de un tumor debida a un determinado antineoplásico, en vez de su impacto sobre la mortalidad, es otro ejemplo clásico de esta discusión metodológica.

La utilización de variables intermedias en ensayos tipo III tiene unas bases racionales muy sólidas; es obvio que los ensayos que tienen en cuenta variables "duras" llevan más tiempo, requieren más pacientes y son más costosos. Esperar a conocer los resultados en términos de mortalidad de los ensayos con antirretrovirales en pacientes con estadios no avanzados de la infección VIH, implica un seguimiento de varios años, lo cual es inaceptable, además de precisar un tamaño muestral elevado, una logística compleja de los ensayos y un coste elevado. La introducción de variables de calidad de vida -muy importantes en ensayos en enfermos con patologías finalmente mortales- puede ser metodológicamente complejo y es algo con lo que todavía no hay una gran experiencia investigadora. Pero todas estas dificultades no deben evitar el reconocer los riesgos inherentes al uso de medicamentos con eficacia no suficientemente probada. Es, por tanto, obvia la responsabilidad de las agencias reguladores de medicamentos de evaluar estos aspectos, y de los médicos el conocerlos antes de prescribirlos.

BIBLIOGRAFÍA SELECCIONADA

CHOI, S.; LAGAKOS, S.W.; SCHOOLEY, R.T.: "CD4+ lymphocytes are an incomplete surrogate marker for clinical progression in persons with asymptomatic HIV infection taking zidovudine". *Ann Intern Med*. 1993, 118:674-680.

CLIVE, L.; HILL, A.: "Prediction of progression to AIDS with serum HIV-1 RNA and CD4 count". *Lancet* 1995, 345:194-195.

D'AQUILA, R.T.; JOHNSON, V.A.; WELLES, S.L.; *et al.*- "Zidovudine Resistance and HIV-1 Disease Progression during Antiretroviral Therapy". *Ann Intern Med*, 1995, 122:401-408.

DEGRUTTOLA, V.; BECKETT, L.A.; COOMBS, R.W.; *et al.*: "Serum p 24 Antigen Level as an intermediate end point in clinical trials of zidovudine in people infected with human immunodeficiency virus type 1". *Infect Dis*, 1994; 169:713-21.

FISCHL, M.A.: "An introduction to the clinical spectrum of AIDS" en *Textbook of AIDS Medicine*. Editores: Broder, S.; Merigan, T.C.; Bolognesi, D. Williams & Wilkins. Baltimore. 1994. Pág 149.

FLEMING, T.R.: "Surrogate markers in AIDS and cancer trials". *Statistics in Medicine*, 1994, vol. 13, 1423-1435.

GOULDEN, M.G.; CMMACK, N.; HOPEWELL, P.L.; *et al.*: "Selection in vitro of an HIV-1 variant resistant to both lamivudine (3TC) and zidovudine". *AIDS*, 1996, 10:101-115.

GREENE, W.C.: "Predicting Progression to AIDS". *Ann Intern. Med* 1995, 123:726-727.

GU, Z.; GAO, O.; FAUST, E.A.; *et al.*- "Possible involvement of cell fusion and viral recombination in generation of human immunodeficiency virus variants that display dual resistance to AZT and 3TC". *J Gen Virol*, 1995, 76:2601-2605.

HO, D.D.: "Viral counts count in HIV infection". *Science* 1996, 272:1124-1169.

HOGERVORST, E.; JURRIAANS, S.; DE WOLF, F.; *et al.*: "Predictors for Non- and Slow Progression in Human Immunodeficiency Virus (HIV) Type 1 Infection: Low Viral RNA Copy Numbers in Serum and Maintenance of High HIV-1 p24-Specific but Not V3-Specific Antibody Levels". *J Infect Dis*, 1995, 171: 160-170.

JOHN, W.M.; LAWRENCE, A.K.; CHARLES, R.R.; *et al.*: "Quantitation of HIV-1 RNA in Plasma Predicts Outcome after Seroconversion". *Ann Intern Med* 1995, 122:573-579.

KATZENSTEIN, D.A.; HOLODNIY, M.: "HIV viral load quantification, HIV resistance, and antiretroviral therapy" en *AIDS clinical review 1995/96*. Editores: Voiberding, P.; Jacobson, M.A. Marcel Dekker Inc. New York. 1996. Pág 277.

- KEET, I.P.; KROL, A.; KLEIN, M.R.; *et al.*: "Characteristics of Long-Term Asymptomatic Infection with Human Immunodeficiency Virus Type 1 in Men with Normal and Low CD4+ Cell Counts". *J Infect Dis*, 1994, 169:1236-1243.
- LAFEUILLADE, A.; TAMALET, C.; PELLEGRINO, P.; *et al.*: "Correlation between surrogate markers, viral load, and disease progression in HIV-1 infection". *Acq Imm Def Synd*, 7:1028-1033.
- LAGAKOS, S.W.: "Surrogate markers in AIDS Clinical Trials: Conceptual Basis, Validation, and Uncertainties". *Clin Infect Dis* 1993; 16 (suppl 1): 522-5.
- LANDESMAN, S.H.; BURNS, D.: "Quantifying HIV". *Jama*. 1996, vol 275, n2 8.
- LARDER, B.A.: 3'-Azido-3'-deoxythymidine resistance suppressed by a mutation conferring human immunodeficiency virus type 1 resistance to nonnucleotide reverse transcriptase inhibitors". *Antimicrob Agents Chemother*, 1992, 36:2664-2669.
- LIN, D.Y.; FISCHL, M.A.; SCHOENFELD, D.A.: "Evaluating the role of CD4-lymphocyte counts as surrogate endpoints in human immunodeficiency virus clinical trials". *Statistics in Medicine*, 1993, vol. 12, 835-842.
- MELLORS, J.W.; RINALDO, C.R.; GUPTA, P.; *et al.*: "Prognosis in HIV-1 Infection Predicted by the Quantity of Virus in Plasma". *Science*, 1996, 272:1166-1170.
- MOHRI, H.; SINGH, M.K.; CHING, W.T.; *et al.*, "Quantitation of zidovudine-resistant human immunodeficiency virus type 1 in the blood of treated and untreated patients". *Proc Nat Acad Sci*, 1993, 90:25-29.
- NÁJERA, I.; HOLGUIN, A.; QUIÑONES, M.E.; *et al.*: "Pol gene quasiespecies of human immunodeficiency virus: mutations associated with drug resistance in virus from patients undergoing no drug therapy". *J Virol*, 1995, 69:23-31.
- NÁJERA, R.; GONZÁLEZ, J.M.: "Diagnóstico de laboratorio de la infección por VIH, marcadores de progresión. Reuniones de Consenso sobre la infección por VIH". Sociedad Española Interdisciplinaria de Sida. 1994.
- NÁJERA, R.; MEDRANO, L.; CONTRERAS, G.; *et al.*: "Progresión de la infección por VIH y marcadores de progreso (Parte I). *Pub. Oficial Seisida* 1996; 7: 281285.
- NEATON, J.D.; WENTWORTH, D.N.; RHAME, F.; *et al.*: "Methods of studying interventions. Considerations in choice a clinical endpoint for AIDS clinical trials". *Statistics in Medicine*, 1994; vol. 13, 2107-2125.
- O'BRIEN, W.A.; HARTIGAN, P.M.; MARTIN, D.P.; *et al.*: "Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS". *N Engl J Med*, 1996, 334:426-431.
- ORTIZ DE LEJARAZU, R.; Cisterna, R.; González, A., *et al.*: "Diagnóstico microbiológico de la infección por VIH". *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Cap 6*. 1994.
- OWENS, D.K.; HOLODNIY, M.; GARBER, A.M.; *et al.*: "Polymerase chain reaction for the diagnosis of HIV infection in adults, A meta-analysis with recommendations for clinical practice and study design". *Ann Intern Med*, 1996, 124:803-815.
- PRENTICE, R.L.: "Surrogate endpoints in Clinical Trial: Definition and operational criteria". *Statistic in Medicine*, 1989; vol. 8, 431-440.
- RICHMAN, D.D.: "Clinical Significance of Drug Resistance in Human Immunodeficiency Virus". *Clin Infect Dis*, 1995, 21 (Suppl 2):5166-5169.
- RICHMAN, D.D.: "Viral Resistance to Antiretroviral Therapy". en *Textbook of AIDS Medicine*. Editores: Broder, S.; Merigan, T.C.; Bolognesi, D. Williams & Wilkins. Baltimore. 1994. Págs 797-803.
- RICHMAN, D.D.; BOZZETTE, S.A.: "The Impact of the Syncytium-Inducing Phenotype of Human Immunodeficiency Virus on Disease Progression". *J Infect Dis*, 1994, 169:968-974.
- RUIZ, L.; ERICE, A.: "Significado y aplicación clínica de nuevas técnicas de laboratorio para el estudio de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana". *Med. Clin. (Barc.)* 1994; 103:617-619.
- SAAG, M.S.: "Natural History of HIV-1 Disease" en *Textbook of AIDS Medicine*. Editores: Broder, S.; Merigan, T.C.; Bolognesi, D. Williams & Wilkins. Baltimore. 1994. Pág 45.
- SAKSELA, K.; STEVENS, C.E.; RUBINSTEIN, P.; *et al.*: "HIV1 Messenger RNA in Peripheral Blood Mononuclear Cells as an Early Marker of Risk for Progression to AIDS". *Ann Intern Med*. 1995, 123:641-648.
- SAX, P.E.: "Potential clinical implications of interlaboratory variability in CD4+ T-Lymphocyte counts of patients infected with human immunodeficiency virus". *Clin Infect Dis*, 1995:21:1121-5.
- SORIANO, V.; MARTÓN, R.; DEL ROMERO, J.: "Progresión rápida y lenta de la infección por VIH". *Rev Clin Esp*, 1995, 195:54-60.
- SORIANO, V.; VERDEJO, J.: "3,2 Conferencia americana sobre retrovirus humanos y enfermedades asociadas" *Pub. Oficial Seisida* 1996; 7: 286-291.

STANLEY, K.; LAGAKOS, S.W.: "Biostatistical considerations in the design and analysis of AIDS clinical trials" en Textbook of AIDS Medicine. Editores: Broder, S.; Merigan, T.C.; Bolognesi, D. Williams & Wilkins. Baltimore. 1994. Pág 743.

STEIN, D.S.; KORVICK, J.A.; VERMUND STEN, H.; *et al*: "CD4+ lymphocyte cell enumeration for prediction of clinical course of human immunodeficiency virus disease: A Review". *Infect Dis*, 1992; 165:352-63.

TSOUKAS, C.M.; BERNARD, N.F.: "Markers predicting progression of human immunodeficiency virus-related disease", *Clinical Microbiology Reviews*. 1994; 7:14-28.

VOLBERDING, P.A.: "HIV quantification. Clinical applications". *Lancet*, 1996, 34:71-72.

VOLBERDING P.A.; COHEN, P.T.: "Natural history, clinical spectrum, and general management of HIV disease" en The Knowledge Base. Editores: Cohen, P.T.; Sande, M.A.; Volberding, P.A.

Second Edition. Little, Brown and Company. Boston. 1994. Pág 41.

YERLY, S.; KAYSER, L.; BAUMBERGER, C.; *et al*.- "Early and prolonged decrease of viremia in HIV-1-Infected Patients treated with didanosine". *Acq Imm Def Synd and Human Retrovirology*, 1995, 8:358-364.

Agradecimientos: El Consejo Asesor Clínico agradece el asesoramiento y la contribución a la redacción de este documento en el tema de los estándares de calidad a la Dra. Ana Sainz, de la Unidad de Calidad Asistencial del INSALUD, y a la Dra. Lucía Pérez Álvarez del Instituto de Salud Carlos III en los aspectos de los marcadores virológicos.

LEISHMANIASIS VISCERAL EN EL PACIENTE INFECTADO CON EL VIH

1. INTRODUCCIÓN

La leishmaniasis o infección por protozoos del género *Leishmania*, en su forma vísceras o sistémica (kala-azar), es una antroponosis endémica en los países de la cuenca mediterránea y en España, donde afecta a numerosos enfermos inmunocompetentes e inmunodeprimidos (trasplantados, pacientes infectados con el VIH). La O.M.S. calcula que el 2-3% de los enfermos diagnosticados de Sida residentes en el suroeste europeo padecen esta infección oportunista. En algunas áreas de la cuenca mediterránea la infección con el VIH supone hasta el 50% de todos los casos de leishmaniasis visceral. En España, entre 1994 y 1995 se habían diagnosticado 10.897 casos de Sida, habiéndose notificado 143 casos de leishmaniasis visceral (1,3%), si bien la prevalencia considerando también los asintomáticos puede ser del 10% (y hasta del 43% en algún subgrupo de pacientes y en determinadas zonas del país).

La infección por *Leishmania (L.) infantum* en su forma visceral, además de ser frecuente en los enfermos españoles infectados por el VIH, presenta un determinado perfil clínico de tal modo que se pueden definir con alguna aproximación las características de la enfermedad en estos pacientes.

- Es una manifestación tardía en la evolución de la infección VIH o puede ser la primera infección oportunista.
- En Madrid, sobre un total de 137 casos de coinfección, el 24,1% de los casos de leishmaniasis visceral preceden al diagnóstico de Sida, el 28,5% es simultáneo y el 47,4% es posterior.

- Puede tener una presentación aguda, si bien suele debutar de forma subaguda o crónica.
- Forma de comienzo frecuente como síndrome febril sin localización o bien con alteraciones clínicas (pérdida de peso, hepatoesplenomegalia, linfadenopatías periféricas) y/o analíticas (citopenia por anemia y/o neutropenia o pancitopenia, hipergammaglobulinemia policlonal de base ancha) que pueden sugerirlo.
- Posibilidad de presentación atípica (10% de los casos) por afectación localizada de diferentes órganos (piel, tubo digestivo, aparato respiratorio, médula ósea) o incluso por la ausencia de síntomas (formas asintomáticas), en ocasiones puede presentar cierta dificultad en el diagnóstico (serología negativa, negatividad de los estudios ópticos: aspirado y/o biopsia de médula ósea).
- Mala respuesta al tratamiento convencional con antimoniales (25% de los enfermos) y/o recidiva (hasta el 40% de los pacientes).

La vía de contagio habitual es la misma que en la población inmunocompetente (la transmisión a través de la picadura de *Phlebotomus perniciosus*), si bien entre los toxicómanos cabe la transmisión parenteral por compartir utensilios de la drogadicción intravenosa. En España es más frecuente la leishmaniasis visceral en el grupo de toxicómanos que en las personas infectadas por otras prácticas de riesgo, lo que, unido a la demostración de al menos dos tipos de *Leishmania (L.) infantum* específicas españolas, refuerza la hipótesis de la transmisión parenteral.

Respecto al tipo de leishmania, en España predomina el zymodene MON-1 en la población canina y hasta nueve diferentes tipos en los pacientes VIH (MON-1, MON-24, MON-28, MON-29, MON-33, MON-34, MON-183, MON-198 y MON-199 siendo estos dos últimos de nueva descripción).

2. DIAGNÓSTICO DE LA LEISHMANIASIS

El diagnóstico definitivo de la leishmaniasis visceral en el enfermo VIH es el mismo que en el sujeto inmunocompetente: demostración de los amastigotes mediante visualización en tejidos (aspirado de médula ósea, frotis periférico, biopsia hepática, biopsia ganglionar, aspiración esplénica) o bien por cultivo (medio bifásico Novy-McNeal-Nicolle o medios líquidos como el de Schneider) de muestras de sangre o tejidos (biopsias de médula, hígado, ganglio, piel o bazo; "buffy coat"). El valor diagnóstico de la serología es menor.

Serología: Por enzoinmunoensayo (ELISA) o por inmunofluorescencia indirecta (IFI) con título igual o mayor de 1/80. La positividad en el contexto clínico apropiado es de indudable interés diagnóstico pues la especificidad es del 99% y el valor predictivo positivo del 75%, aunque la sensibilidad es escasa.

Aspirado medular: Con tinción de Wright o Giemsa del frotis. Es la técnica diagnóstica más difundida en los hospitales españoles. Requiere experiencia visual y paciencia (no menos de 20-30 minutos de observación antes de considerarla negativa). Su negatividad no excluye el diagnóstico.

Frotis de sangre periférico: Algunos autores encuentran de aceptable rentabilidad diagnóstico (53% de positividad) el estudio de los leucocitos de sangre periférico.

Biopsia hepática: En algún caso será diagnóstico. Nunca debe hacerse antes de disponer del aspirado medular.

Aspirado esplénico: Muy rentable en manos expertas y en estudios de campo (96-98% de positividad). Poco difundida en nuestros hospitales por el miedo al posible desgarro-hemorragia esplénicos.

Cultivo de biopsia (médula ósea, sangre, biopsia de tejidos, "buffy coat"): Rentable desde el punto de vista diagnóstico (67% de positividad). Positividad no inmediata (de varios días a semanas, con una media de 10 días).

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): En algunos centros la rentabilidad de la PCR es alta, con una sensibilidad (82%) superior a la del aspirado medular (55%) y el cultivo de médula ósea (55%), así como una buena especificidad (97%), valor predictivo negativo (97%) y valor predictivo positivo (82-95%).

La experiencia diagnóstico de cada hospital varía. En general, de la combinación del aspirado medular y el cultivo se debe obtener la máxima rentabilidad diagnóstico, dentro del contexto clínico de sospecha.

3. TRATAMIENTO DE LA LEISHMANIASIS VISCERAL

El tratamiento general de la leishmaniasis visceral en el paciente infectado con el VIH requiere ingreso hospitalario (si la evolución es la apropiada se podrá continuar el tratamiento en el hospital de día o en el domicilio del enfermo) y no descuidar aspectos importantes del manejo: el estado de nutrición e hidratación, el diagnóstico precoz y el tratamiento inmediato de posibles infecciones bacterianas asociadas (por ejemplo, infecciones respiratorias por *Streptococcus pneumoniae*), la atención de posibles complicaciones (neutropenia, trombocitopenia) y la regulación del tratamiento antirretroviral y, en su caso, de la medicación profiláctica (isoniazida, cotrimoxazol, fluconazol) de otras infecciones oportunistas (en nuestro medio: tuberculosis, neumonía por *Pneumocystis carinii* y candidiasis oroesofágica).

El tratamiento específico de la leishmaniasis visceral en el enfermo VIH es problemático debido a la posible intolerancia farmacológica y a la capacidad de recidiva: el 36,6% de los enfermos que responden inicialmente al tratamiento con antimonio de meglumina recidivan una o varias veces. A efectos de un mejor análisis comparativo consideramos los siguientes apartados:

3.1. Fármacos con actividad frente a *Leishmania* spp. de uso común

Los fármacos de reconocida actividad frente a *Leishmania* spp. son los derivados del antimonio (en España, el antimonio de meglumina), la anfotericina-B y sus derivados (anfotericina liposomal y anfotericina B complejo lipídico), el alopurinol y la pentamidina.

3.2. Dosis y pautas de tratamiento

Pauta 1. Antimoniato de meglumina: La dosis más apropiada es la de 20 mg de antimonio por kilo de peso y día durante 3-4 semanas, por vía parenteral (preferible la intravenosa). Administración lenta (no menos de 60 minutos). En algún caso se puede usar la vía intramuscular (tratar de evitarla, sobre todo cuando hay trombocitopenia asociada).

Pauta 2. Asociación de antimoniato de meglumina y alopurinol en las dosis siguientes (Sbv: 20 mg/k/día; alopurinol: 20 mg/k/día; aproximadamente 900-1200 mg/día) y durante el mismo tiempo (3-4 semanas). El alopurinol no debe ser usado solo.

Pauta 3. Anfotericina B: Se ha usado en dosis de 0,5-0,7 mg/kg/día/4-8 semanas, por vía intravenosa. Conviene hidratar previamente para evitar la nefrotoxicidad. Administración lenta, protegiendo el medicamento de la luz. Anfotericina liposomal: 3 mg/k/día los días 0, 1, 2, 3, 4 y 10 hasta alcanzar la dosis total de 18 mg/kg. Otra pauta es la administración de 1-2 mg/kg/día durante 21 días. La experiencia con anfotericina B complejo lipídico en el tratamiento de la leishmaniasis visceral en el paciente VIH es corta aún.

Pauta 4. Pentamidina isetionato: La dosis más eficaz parece la de 2-4 mg/kg/día/3-4 semanas. Requiere administración lenta y hacer ECG previo. No es una pauta de elección de primera línea.

3.3. Efectos secundarios más frecuentes

Como norma general, son medicamentos que requieren vigilancia durante y después de su administración (monitorización clínica) para evitar/disminuir sus efectos indeseables.

Antimoniato de meglumina: Hiperamilasemia asintomática. Reacciones cutáneas, dolor abdominal, náuseas, vómitos, hepatitis, fiebre, nefrotoxicidad, artritis, pancreatitis, alteraciones electrocardiográficas dosis-dependientes (prolongación del QT, arritmias, muerte súbita).

Alopurinol: Rash cutáneo que puede ser severo (Stevens-Johnson), fiebre, leucocitosis, eosinofilia, alteraciones digestivas e interacción farmacológica con diversos medicamentos.

Anfotericina B: Insuficiencia renal, trombocitopenia y tromboflebitis, interacción farmacológica con aminoglicósidos y miconazol, entre otros. Efectos menos frecuentes con las formas liposomal y lipídica.

Anfotericina B liposomal: Escalofríos (0,7%), fiebre (<1%), náuseas (2,2%), dolor de cabeza (0,7%), incremento de la creatinina (4,3%), hipopotasemia (2,2%), hiperbilirrubinemia (0,7%), trombocitopenia (0,7%), interacción farmacológica con esteroides. Es más cara que la anfotericina B clásica.

Anfotericina B complejo lipídico: Escalofríos (21,4%), fiebre (17,9%), náuseas (10,7%), dolor de cabeza (7,1%), interacción farmacológica con zidovudina y esteroides.

Pentamidina isetonato: hipoglicemia, insuficiencia renal, neutropenia, trombopenia, fiebre, pancreatitis, hipotensión, arritmias, exantema cutáneo, sabor metálico.

3.4. Pauta de inicio y pauta de recaídas

Hasta que exista mayor experiencia con la anfotericina y sus variantes y estudios bien diseñados (randomizados, doble ciego) demuestren la superioridad de éstas frente a los derivados de antimonio, se recomienda iniciar el tratamiento del primer episodio con antimonio de meglumina.

En caso de recidiva, la pauta a seguir no está aún definida. El Consejo Asesor recomienda pasar a anfotericina B si bien parece igual de correcto hacer un segundo tratamiento con antimonio de meglumina. En alguna publicación se aboga por el mantenimiento con pentamidina parenteral (4 mg/kg cada 2-4 semanas) con buenos resultados en una serie corta de pacientes con menos de 200 CD4/ μ l.

3.5. Fármacos en experimentación o de uso en series cortas o casos aislados

Como norma general, estos medicamentos no deben ser utilizados nunca de primera instancia. Sólo ante el fallo o la imposibilidad de usar los antimoniales, la anfotericina B en sus diferentes formas o la pentamidina está justificado su uso, o bien en protocolos reglados de investigación clínica.

Ketoconazol e intraconazol: Trabajos aislados sugieren que pueden ser eficaces.

Ciprofloxacino: Un caso descrito de eficacia espectacular en un sujeto inmunocompetente con leishmaniasis visceral severa (afectación hepática y renal). No existe experiencia en el paciente VIH.

4. CONDUCTA A SEGUIR TRAS EL PRIMER EPISODIO

Tras el primer episodio de leishmaniasis visceral en un paciente infectado con el VIH es preciso tener en cuenta la capacidad de recidiva de la infección protozoaria (tal vez en relación directa con el grado de inmunodeficiencia celular) y la posibilidad de toxicidad/interacción farmacológica, lo que obliga a un seguimiento clínico estrecho, así como a reintroducir el tratamiento precozmente (la misma pauta que en el primer episodio) ante la comprobación o alta sospecha de recidiva. Un trabajo reciente de un grupo español demuestra que el antimonio pentavalente mensual es efectivo y bien tolerado en la profilaxis secundaria.

5. SITUACIONES ESPECIALES

Una situación muy común es la de los pacientes asintomáticos, es decir, enfermos con el VIH a quienes se les descubre la presencia de leishmania en un aspirado o biopsia de médula sin evidencia de enfermedad activa o asociada a otra infección oportunista como la tuberculosis o la infección por *Mycobacterium avium-intracellulare*. Esta situación, nada rara (hasta el 46% de los casos diagnosticados pueden ser subclínicos), obliga a plantearse si tratar o no la

leishmaniasis. La literatura al respecto es escasa por lo que no se pueden extraer conclusiones definitivas en el momento actual.

BIBLIOGRAFÍA SELECCIONADA

AMELA, C.; LÓPEZ-GAY, D.; ALBEDI, J.C.; CASTILLA J.: "Visceral leishmaniasis in injecting drug users with AI DS". *Eur J Epid* (en prensa).

FERNÁNDEZ-GUERRERO, M.L.; AGUADO, J.M.; BUZÓN, L., *et al.*: "Visceral leishmaniasis in immunocompromised hosts". *Am J Med* 1987; 83: 1098-1102.

GRADONI, L.; BRYCESON, A.; DESJEUX, P.: "Treatment of Mediterranean visceral leishmaniasis". *Bull WHO* 1995; 73: 191-197.

JIMÉNEZ, M.I.; LAGUNA, E.; DE LA TORRE, F.; SOLÍS ' F.; PRATLONG, F.; ALVAR, J.: "New *Leishmania (Leishmania) infantum* zymodemes responsible for visceral leishmaniasis in patients co-infected with HIV en Spain". *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995; 89: 33.

LÓPEZ-VELEZ, R.; LAGUNA, F.; ALVAR, J.; PÉREZ-MOLINA, J.A.; MOLINA, R.; MARTÓ NEZ, P.; VILLARRUBIA, J.: "Parasitic culture of buffy coat for diagnosis of visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virusinfected patients". *J Clin Microbiol* 1995; 33: 937-939.

MARTÍNEZ, P.; DE LA VEGA, E.; LAGUNA, F., *et al.*: "Diagnosis of visceral leishmaniasis in HIV-infected individuals using peripheral blood smears" *AIDS*. 1993; 7: 227-30.

MEDRANO, F. J.; HERNÁNDEZ-QUERO, J.; JIMÉNEZ ' E., *et al.*: "Visceral leishmaniasis in HIV-infected individuals: a common opportunistic infection in Spain". *AIDS* 1992; 6: 1499-1503.

MONTALBÁN, C.; CALLEJA, J.L.; ERICE, A., *et al.*: "Visceral leishmaniasis in patients infected with human immunodeficiency syndrome". *J Infect Dis* 1990; 21: 261-270.

PÉREZ MOLINA, J. A.; LÓPEZ-VELEZ, R.; MONTILLA, P.; GUERRERO, A.: "Pentamidine isethionate as secondary prophylaxis against visceral leishmaniasis in HIVpositive patients". *AIDS* 1996; 10: 237-238.

PINEDA, J.A.; HERNÁNDEZ-QUERO, J.; GALLARDO, J.A., *et al.*: "Frequency of Subclinical Visceral Leishmaniasis in HIV-1 infected Patients in Spain". *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15: 263-264.

PINEDA, J.A.; MACÍAS, J.: "Kala-azar en la infección por VIH, ¿la punta del iceberg" (editorial) *Med Clin (Barc)* 1996; 106: 697-699.

RIBERA, E.; CUCURULL, E.; OCAÑA, I.; VALLESPI, T.; GASSER, I.: "Juste: Leishmaniasis visceral en pacientes con infección por HIV". *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1995; 13: 73-9.

RIBERA, E.; OCAÑA, I.; OTERO, J.; CORTÉS, E.; GASSER, I.; PAHISSA, A.: "Prophylaxis of Visceral Leishmaniasis in Human Immunodeficiency Virus-infected Patients". *Am J Med* 1996; 100: 496-501.

TORRES-CISNEROS, J.; VILLANUEVA, J.L.; KINDELAN, J.M., *et al.*: "Successful treatment of antimony-resistant visceral leishmaniasis with liposomal amphotericin B in patients infected with human immunodeficiency virus". *Clin Infect Dis* 1993; 17: 625-657.