



# Falso negativo en la prueba de Western Blot en un paciente con el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

Álvaro Hoyos Orrego\*,  
Carolina Gómez Builes\*\*,  
Nora Vanegas Arroyave\*\*,  
Javier Jaramillo Hurtado\*\*\*,  
Santiago Estrada Mesa\*\*\*\*,  
‡Catalina López Jaramillo\*\*\*\*\*

## Descripción del caso

Hombre de 26 años, heterosexual, casado, laboralmente activo, que consultó en la ciudad de Medellín por cuadro de diarrea, pérdida de peso y fiebre subjetiva de cinco meses de evolución. Al interrogatorio se encuentra como factor de riesgo para la infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) promiscuidad con un número aproximado de 15 parejas sexuales, asociado al uso ocasional de preservativo. Además, hace cuatro años recibió una transfusión posterior a una herida por arma de fuego. Examen físico sin hallazgos relevantes. Teniendo en cuenta los antecedentes personales, se ordenó una prueba presuntiva para la infección por el VIH. La prueba utilizada, un ensayo inmunoenzimático (ELISA), detecta anticuerpos totales y/o antígeno p24, y fue reportada como reactiva el 19 de septiembre de 2002. Se realizó la prueba confirmatoria Western Blot cuyo resultado fue indeterminado. Se repitió la prueba de tamizaje (ELISA Anti-VIH/Ag p24) dos meses después y nuevamente fue reportada como

reactiva el día 20 de noviembre de 2002, pero la prueba confirmatoria Western Blot fue negativa (Tabla 1).

Con base en las características clínicas, los factores de riesgo asociados y la persistencia del cuadro diarreico, se continúa el estudio por laboratorio para determinar la presencia de la infección por el VIH. Consecuentemente, el mes de febrero se ordenó una carga viral para el VIH y luego un recuento de linfocitos T CD4+, cuyos resultados fueron  $>750.000$  copias/mL ( $\log_{10} = 5.8700$ ) y 60 células por  $\text{mm}^3$ , respectivamente (Tabla 1). Se inició tratamiento antirretroviral con dos inhibidores de la transcriptasa reversa análogos de los nucleosidos y un inhibidor de la proteasa, más trimetropin sulfá. Posteriormente para fines académicos y de control de pruebas de laboratorio, al paciente se le realizó un nuevo Western Blot por duplicado, de una casa comercial diferente, tomando el suero original del primer y segundo Western Blot reportados (Tabla 2).

**Recibido para evaluación: 15/07/03 - Aceptado para publicación: 5/09/03**

\* MD microbiólogo clínico. Investigador asociado al Grupo de Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Dirección: Cra. 51 D #62-29, Medellín. Correo electrónico: [alvaromicro@hotmail.com](mailto:alvaromicro@hotmail.com)

\*\* Jóvenes investigadoras, Grupo de Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.

\*\*\* MD programas especiales, Comfenalco Antioquia.

\*\*\*\* MD microbiólogo clínico. Laboratorio Clínico Congregación Mariana.

\*\*\*\*\* Bacterióloga, Laboratorio Clínico Congregación Mariana.

**TABLA 1**

**Secuencia cronológica de las pruebas diagnósticas**

| Prueba                        | Técnica                              | Resultado  | Comentario  | Fecha        |
|-------------------------------|--------------------------------------|--|---|--------------|
| Presuntiva                    | ELISA<br>Anti-VIH /<br>Antígeno p 24 | Reactiva<br>PC*: 11.04<br>(VR**>0.35)  | Positiva para Ag p24<br>y Anti-totales  | 19/sept/2002 |
| Confirmatoria                 | Western Blot                         | Indeterminado<br>gp 120 presente<br>p 66 ausente<br>p 55 presente<br>p 51 presente<br>gp 41 ausente<br>p 32 ausente<br>p 24 ausente<br>p 17 presente | gp 160 ausente  | 20/sept/2002 |
| Presuntiva                    | ELISA<br>Anti-VIH /<br>Antígeno p 24 | Reactiva<br>PC:22.54<br>(VR>0.35)  | Positiva para Ag<br>p24 y Anti-totales  | 20/nov/2002  |
| Comfirmatoria                 | Western Blot                         | Negativa   | gp 160 ausente<br>gp 120 ausente<br>p 66 ausente<br>p 55 ausente<br>p 51 ausente<br>gp 41 ausente<br>p 32 ausente<br>p 24 ausente<br>p 17 ausente | 21/nov/2003  |
| Carga Viral                   | PCR-RT<br>VIH-1                      | > 750.000<br>copias/mL   | Rango de sensibilidad:<br>400-750.000 copias/mL   | 19/feb/2003  |
| Recuento<br>Linfocitos T CD4+ | Citometria de flujo                  | 60 cels /mm <sup>3</sup>   | Rango normal:<br>1200-1500 cels/mL  | 26/feb/2003  |

**TABLA 2**

**Comparación de resultados de WB por diferentes casas comerciales**

| Muestras        | Western Blot<br>(Inicial) | Western Blot<br>(casa comercial diferente)                        |
|-----------------|---------------------------|---|
| Primera muestra | Indeterminado             | Positivo<br>gp 160, gp120, p 66, p 55,<br>gp 41, p 32, p 34, p 17 |
| Segunda muestra | Negativo                  | Positivo<br>gp 160, gp 120, gp 41                                 |



## Discusión

El protocolo de diagnóstico por laboratorio para la infección por el VIH-1 establece la detección de anticuerpos específicos contra el virus por medio de una prueba de ELISA y la confirmación de resultados reactivos con la técnica de Western Blot [1, 2]. Sin embargo, pueden surgir problemas en un pequeño número de individuos que presentan un resultado reactivo al tamizaje, pero un patrón de bandas de Western Blot considerado indeterminado (no concluyente de un resultado positivo o negativo). Estos hallazgos pueden ser explicados de varias maneras: los pacientes podrían encontrarse en un estado temprano de la infección previo a la seroconversión, no estar infectados, o presentar algunas sustancias en el suero que interfieran con el resultado de la prueba [3]. Otras posibles explicaciones podrían ser la respuesta incompleta (poca producción de anticuerpos) contra el VIH [2], la reacción cruzada de anticuerpos contra otros retrovirus (VIH-2) o la presencia de autoanticuerpos [4, 5]. Además, se puede presentar confusión al momento de diagnosticar infección por el VIH-1 del grupo O con las pruebas rutinarias. Las secuencias virales del VIH-1 grupo O difieren antigenicamente de las ya conocidas como virus del grupo M (subtipos A-J) [6]. También, se ha observado un incremento en los resultados de Western Blot indeterminados, simultáneamente con el aumento de la severidad de las enfermedades asociadas al VIH, atribuyéndose al fenómeno de disminución de los títulos de anticuerpos contra los antígenos virales *gag* y *pol* (p24, p55, p17, p51, p66 y p32), a medida que progresa la enfermedad [7]. La mayoría de las personas con un resultado de Western Blot indeterminado que están infectadas por el VIH-1 desarrollarán un resultado positivo para el virus en el transcurso de un mes. Sin embargo, algunos individuos con enfermedad muy avanzada pueden permanecer indeterminados.

Un pequeño grupo de personas pueden presentar un resultado de Western Blot indeterminado repetidamente y es poco probable que estén infectados por el VIH, a menos que se sospeche la exposición reciente al virus, caso en el cual deberán ser asesorados y reevaluados para la infección por el VIH-1 [2].

Se debe considerar la posibilidad de obtener resultados falsos negativos en personas con sintomatología sugestiva de la infección por el VIH

o el SIDA y con pruebas de laboratorio negativas [2]. Con las pruebas convencionales del Western Blot puede presentarse un resultado falso negativo, ya que estas no contienen ciertas proteínas del VIH-1 grupo O [8]. Otra causa podría ser el deterioro inmunológico avanzado en un paciente con el SIDA, que afecte la inmunidad de tipo humoral, disminuyendo la respuesta y producción de anticuerpos contra diferentes tipos de antígenos, entre ellos los del VIH [9]. Igualmente, en pacientes con un estado terminal del SIDA y gran cantidad de antígeno viral circulante, los anticuerpos contra uno o varios componentes virales pueden ser ligados por éste (efecto prozono) y no ser detectados [10]. Los defectos en las pruebas diagnósticas pueden causar falsos negativos como vencimiento en el lote de la casa comercial, degradación de los reactivos por mala conservación, contaminación de reactivos y defectos de fabricación.

La sensibilidad y especificidad de la prueba de tamizaje para el VIH-1 es >99% con la técnica de ELISA de última generación. La sensibilidad y especificidad de la prueba confirmatoria Western Blot varía entre un 96-100% [8]. La *Food and Drug Administration* (FDA) solo ha aprobado las técnicas de ELISA y Western Blot como pruebas de tamizaje y confirmación para el diagnóstico de la infección por el VIH-1, respectivamente. De igual manera, la técnica de reacción en cadena de la polimerasa previo transcrito reverso (PCR-RT) para el ARN del VIH-1 de Amplicor de Roche® Versión 1.0 [11] y la prueba para amplificación nucleica *in vitro* para el ARN-VIH NucliSens de Organon Teknika® [12] son las únicas pruebas licenciadas por la FDA para cuantificar la carga viral en pacientes con diagnóstico de la infección por el VIH-1. Estas pruebas de biología molecular no están indicadas para el diagnóstico rutinario de la infección. La técnica de PCR-RT Amplicor de Roche® Versión 1.0 amplifica el genoma del VIH-1 subtipo-B y tiene un rango de sensibilidad que varía entre 400-750.00 copias/mL. La FDA no ha licenciado ninguna prueba para la cuantificación del genoma de otro subtipo diferente al B [11].

## Conclusiones

Este caso ilustra la dificultad diagnóstica que puede presentarse al enfrentar un paciente con sospecha de la infección por el VIH, pero con un resultado de laboratorio contrario a lo esperado a

la luz de una clínica y epidemiología sugestivas. El tener presentes algunas de las causas de resultados falsos positivos, negativos e indeterminados nos permitirá realizar una aproximación más precisa al diagnóstico, evitando que un paciente infectado continúe sin la atención oportuna, que impida el progreso de su enfermedad y el contagio a otras personas. En este paciente la explicación para el Western Blot falso negativo puede ser atribuida a múltiples causas. El estado avanzado de la enfermedad, los niveles elevados de la carga viral, la disminución de los títulos de anticuerpos contra los antígenos virales *gag* y *pol* (p24, p55, p17, p51, p66 y p32 -tabla 2-) y defectos en las pruebas diagnósticas pueden ser los responsables de este resultado.

El diagnóstico de la infección por el VIH es el resultado de la integración de tres criterios básicos: el clínico, el epidemiológico y el de laboratorio. Las

pruebas de laboratorio son un complemento al diagnóstico realizado por el clínico y por esta razón, el criterio clínico epidemiológico debe integrarse con el resultado de laboratorio, en especial cuando este no es coherente con la sospecha diagnóstica. Hay situaciones en las cuales las personas pertenecen a un grupo de bajo riesgo y sin embargo, pueden estar infectadas. En este caso el resultado de laboratorio positivo tiene validez diagnóstica suficiente.

Igualmente, la comunicación entre el laboratorio y el clínico debe ser continua para informar las posibles irregularidades en las pruebas de laboratorio como ocurrió en este caso. ☺

### Agradecimientos

Al Dr. Francisco Javier Díaz por su asesoría científica y académica en el análisis del caso.

### Referencias

1. Metcalf JA, Davey RT, and Lane HC. Acquired Immunodeficiency Syndrome: Serologic and Virologic Test. In: Curran J, Essex M, Fauci AS editors. AIDS: Etiology, Diagnosis, Treatment and Prevention, 4th ed. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven Publishers; 1997. p.177-195.
2. Centers for Disease Control and Prevention. Revised Guidelines for HIV Counseling, Testing, and Referral. MMWR 2001;50 [RR-19]:1-106.
3. Sethoe SY, Ling AE, Sng EH, Monteiro EH, and Chan RKW. PCR as a Confirmatory Test for Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection in Individuals with Indeterminate Western Blot (Immunoblot) Profiles. J Clin Microbiology 1995;33:3034-3035.
4. Dock NL, Lamberson HV, O'Brien, Tribe DE, Alexander SS, and Poiesz BJ. Evaluation of atypical human immunodeficiency virus immunoblot reactivity in blood donors. Transfusion 1988;28:412-418.
5. Drabick JJ and Baker JR. HLA Antigen Contamination of Commercial Western Blot Strips for Detecting Human Immunodeficiency Virus. J Inf Dis 1989;159:357-358.
6. Jaffe HW and Schochetman G. Group O Human Immunodeficiency Virus-1 Infections. Inf Dis Clin Nor Am 1998;12:39-46.
7. Gastaldello R, Gallego S, Isa MB, Maturano E, Sileoni S, Nantes S, and Medeot S. Immunofluorescence Assay Reactivity Patterns of Serum Samples Presenting Indeterminate Western Blot Results For Antibodies to HIV-1 and HTLV-I/II in Cordoba, Argentina. Rev Inst Med Trop S Paulo 2001;43:277-282.
8. DeSimone JA, Pomerantz RJ. New methods for the detection of HIV. Clin lab Med 2002;22:573-592.
9. Weissman D, Montaner L. Immune Reconstitution. Clin Lab Med 2002;22:719-740.
10. Gold JW. The Diagnosis and Management of HIV Infection. Med Clin Nor Am 1996;80:1283-1307.
11. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Laboratory Test Result Reporting of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Ribonucleic Acid Determination. Recommendations from a CDC Working Group. MMWR 2001;50 [RR-20]:1-16.
12. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Using Antiretroviral Agents Among HIV-Infected Adults and Adolescents. Recommendations of the Panel on Clinical Practices for Treatment of HIV. MMWR 2002;51 [RR-51]:1-60.