

**PRUEBAS RAPIDAS PARA LA IDENTIFICACION
DEL VIH EN SALIVA**

**CLAUDIA MARCELA CEPEDA FERNANDEZ
MAGDA CONSTANZA SANCHEZ BOCANEGRA**

**COLEGIO UNIVERSITARIO COLOMBIANO
COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO
BOGOTA D.C. OCTUBRE 2001**

PRUEBAS RÁPIDAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL VIH EN SALIVA

COLEGIO UNIVERSITARIO COLOMBIA

COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO

Cepeda C, Sánchez M ***

Revelo I *
Villamizar C **

RESUMEN

Se han hecho publicaciones acerca de la existencia de anticuerpos de VIH en la saliva de los humanos, por los cuales se han determinado que es posible el contagio del VIH por medio del contacto directo con fluidos como la saliva. Desde hace algunos años el hombre en su afán por facilitar el diagnóstico ha venido elaborando y estudiando una serie de pruebas pero en el ámbito odontológico son poco conocidas. Existen en la actualidad pruebas rápidas para la detección del VIH en saliva, las cuales por su reciente aparición no son totalmente conocidas dentro del ámbito odontológico.

Las pruebas rápidas en saliva son una buena alternativa para la detección y diagnóstico de VIH en pacientes que acuden a consulta odontológica. Las pruebas actuales para la detección de VIH se realizan por medio de muestras de sangre las cuales son difíciles de realizar en pacientes con fobia a las agujas. Por otra parte estas pruebas rápidas en saliva pueden constituir un medio más seguro y menos traumático para los pacientes eliminando el riesgo de contaminación cruzada del VIH con sangre y prometiendo una nueva alternativa en el diagnóstico precoz y a tiempo del VIH SIDA.

En este trabajo se reunieron las diferentes técnicas y procedimientos de recolección de saliva y su posterior procedimientos de detección de virus inmunodeficiencia adquirida a partir de dicha muestra. Los resultados, fueron aceptables para cada una de las técnicas aunque siguen siendo las pruebas en sangre las más confiables para la detección de VIH.

INTRODUCCIÓN

Se han hecho publicaciones acerca de la existencia de anticuerpos de VIH en la saliva de los humanos, por los cuales se han determinado que es posible el contagio del VIH por medio del contacto directo con fluidos como la saliva. Desde hace algunos años el hombre en su afán por facilitar el diagnóstico ha venido elaborando y estudiando una serie de pruebas pero en el ámbito odontológico son poco conocidas.

Existen en la actualidad pruebas rápidas para la detección de VIH en saliva, las cuales por su reciente aparición no son ampliamente conocidas dentro del ámbito odontológico.

Estas pruebas rápidas en saliva son una nueva alternativa para la detección y en diagnóstico precoz de la presencia del VIH en los pacientes que se atienden diariamente en la consulta; Se debe tener en cuenta que los pruebas actuales para la detección del VIH son por medio de muestras de sangre y la gran mayoría de las personas tienen fobia a las agujas y por temor dejan de hacerse la prueba y

* OD. Magíster en Administración de Salud

** OD. Cirugía, Implantología y Patología oral.

*** Estudiantes X Semestre

viven sin tener la seguridad si son o no portadores del VIH siendo esto un riesgo para el medico y el odontólogo tratante; de esta manera las pruebas rápidas serian un medio mas seguro sin el manejo de agujas ya que estas pruebas no las utilizan y a su vez son menos traumáticas para los pacientes. Son pruebas que cualquier persona puede usar, su análisis se realiza en laboratorios de igual manera que las muestras de sangre, son específicas para el VIH.

El propósito del estudio es identificar las diferentes pruebas existentes para el diagnóstico, de anticuerpos del VIH presentes en la saliva, sus ventajas y desventajas para ser utilizados a nivel de la consulta odontológica

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) es un conjunto de manifestaciones clínicas que aparecen como consecuencia de la depresión del sistema inmunológico debido a la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Una persona infectada con el VIH va perdiendo, de forma progresiva, la función de ciertas células del sistema inmune llamadas linfocitos T CD4, lo que la hace susceptible a diversas infecciones como neumonías o micosis.

Cuando una persona se infecta con el VIH, hasta que desarrolla el SIDA suelen transcurrir entre 6 y 10 años (Ventana Inmunológica). El estudio de la evolución de la enfermedad puede realizarse a través de distintos marcadores de laboratorio o por las manifestaciones clínicas que van apareciendo. Dentro de los marcadores bioquímicos podemos considerar el descenso de la cifra de linfocitos T CD4 que, hasta hace relativamente poco tiempo, ha sido la principal referencia para catalogar el estadio de evolución de la enfermedad. Desde 1996 la determinación de la cantidad de virus circulante en la sangre de la persona infectada, recibe el nombre de carga

viral; se ha convertido en el principal marcador de la evolución de la enfermedad.

La mayoría de los pacientes experimentan, al cabo de unas tres semanas de haberse infectado con el virus VIH, una serie de síntomas pseudogripales como fiebre, cefalea, eritema, linfadenopatías y sensación de malestar. Estos síntomas desaparecen al cabo de una o dos semanas. Durante esta fase llamada fase de infección aguda el VIH se multiplica a una gran velocidad, sufriendo diversas mutaciones genéticas. En un primer momento, se produce un descenso de la cifra de linfocitos T CD4 pero al poco tiempo, alcanzan unas cifras normales en respuesta a una activación del sistema inmunológico. Los individuos son altamente contagiosos durante esta fase. (www.redsida.org.ar/resput4a.htm)

A continuación se pasa a una fase, llamada fase asintomática que puede durar diez años o más. Durante este periodo, el virus continúa replicándose causando una destrucción progresiva de sistema inmune. El recuento de linfocitos T CD4 suele ser normal.

En la fase siguiente, denominada fase sintomática precoz se suele iniciar el desarrollo de síntomas de enfermedad clínica y suelen aparecer infecciones oportunistas leves.

Se llega, por último, a la fase denominada SIDA o fase de enfermedad avanzada por VIH en la que aparecen las infecciones y tumores definitorios del síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

La infección oportunista más frecuente en pacientes con SIDA es la neumonía debida a *Pneumocystis carinii*. Distintas neumonías bacterianas están, junto con la tuberculosis, frecuentemente asociadas con el SIDA. En la última fase sintomática de la enfermedad la infección

por *Mycobacterium avium* puede causar fiebre, pérdida de peso, anemia y diarrea. Ciertas infecciones provocadas por bacterias del tracto gastrointestinal también pueden causar diarrea, pérdida de peso, anorexia y fiebre. También son comunes, durante las fases avanzadas, enfermedades causadas por distintos protozoos, especialmente toxoplasmosis del sistema nervioso central (www.natip.org/spanish/PCP-PROsp.html)

Las infecciones por hongos también son frecuentes en pacientes con SIDA. La infección mucocutánea por *Cándida albicans* suele ocurrir en fases tempranas y anuncia el inicio de la inmunodeficiencia clínica.

Las infecciones virales oportunistas, especialmente las debidas a herpes virus son muy frecuentes en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Los citomegalovirus, miembros de esta familia de virus, infectan la retina y puede provocar ceguera. La infección por el virus herpes simple, tanto tipo 1 como 2, también es frecuente, provocando lesiones perianales y alrededor de la boca muy dolorosas

Según Kurt J. Iseelbacher en 1994, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), es una enfermedad viral que ataca el sistema inmunológico especialmente los linfocitos T4 cooperadores y los macrófagos destruyendo la capacidad del individuo para combatir cualquier infección. El virus de inmunodeficiencia adquirida humana VIH, se caracteriza por producir infecciones lentas, en donde la aparición de los síntomas está separada del momento de la infección por meses y aun años; además produce un deterioro cuantitativo y progresivo del sistema inmunológico del hospedero hasta causar el SIDA.

La saliva es el producto de la secreción de las glándulas salivales (parótida,

submaxilar y sublingual) la cual se compone esencialmente de agua, electrolitos y proteínas; los electrolitos son los elementos orgánicos disueltos en el medio líquido salivar, siendo así los más importantes y abundantes: sodio, calcio, fosfato, cloro, también se puede encontrar magnesio, aluminio, zinc, flúor y manganeso; las proteínas son el componente fundamental para las diferentes funciones que cumple la saliva en la cavidad oral. Por su contenido proteico la saliva tiene importantes elementos de defensa como son los anticuerpos o inmunoglobulinas (IgA, IgG); el interferón sustancia de potentes acciones defensivas contra virus. (Enciclopedia Larousse 1984).

Ciertas investigaciones señalan que la saliva contiene ciertas proteínas denominados aglutininas no inmunoglobulinas (ANIS) las cuales bloquean los receptores de la superficie viral, los cuales son elementos moleculares mediante los cuales el propio virus interactúa con las células víctimas para atacarlos especialmente linfocitos T4, importantes para los mecanismos defensivos. Es posible que haya riesgo de contagio del VIH por medio de la saliva, pero no contamos con publicaciones que nos ayuden a determinar si en realidad existe o no contagio del VIH por saliva. (Ker J. Iseelbacher 1994).

Tres dispositivos comercialmente disponibles ofrecen otras maneras de recolector CFS, estos son Omnisat (SDS mc), Orasure (Epitope) y Salivett (Sarstedt). En general estos dispositivos consisten en una paleta o cilindro de material absorbente comprimido que, se ubica correctamente en la boca o suavemente masticando, toma arriba CFS. El material saturado es entonces transportado a veces en un líquido conservador al laboratorio allí el CFS se libera por compresión o por centrifugación es probable que estos tres

dispositivos difieren en su forma de recolector una proporción alta de transudado capilar. Omnisal se pone debajo de la lengua donde es posible absorber niveles altos de la secreción de la glándula aunque al masticar puede producirse una disminución del fluido crevicular, Orasure se pone entre las encías y la mejilla estando en proximidad a la fisura gingival y a la superficie de la mucosa bucal.

Existen pruebas relativamente nuevas y poco conocidas en el ámbito odontológico para la identificación del VIH las cuales se llevan a cabo por medio de la recolección y análisis de la saliva. En este estudio vamos a analizar la prueba rápida VIRONOSTIKA® la cual se efectúa mediante este principio.

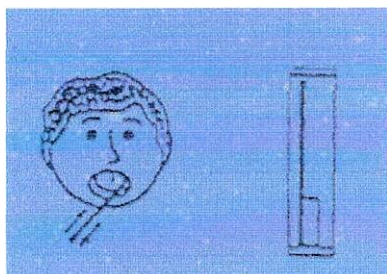
MÉTODO

Este estudio es de tipo descriptivo. Recolección y revisión bibliográfica fue tomada de artículos publicados sobre la pruebas para la identificación de VIH en saliva obtenidos a través de internet, Hemeroteca Nacional, e información suministrada por el laboratorio Organon Teknika.

RESULTADOS

Procedimiento de recolección de saliva

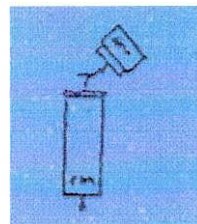
Abra el cojín dentro de la boca entre la mejilla y la encía. Golpee el cojín y frote unos pocos minutos hasta que se humedezca, luego mantenga el cojín en lugar por dos minutos con la boca cerrada.



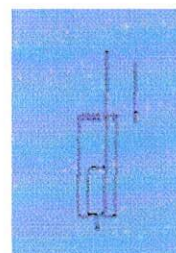
Mientras el cojín sea mantenido en la boca del paciente, remueva el tubo de espécimen de la bolsa. Sea cuidadoso de no romper la punta en el centro del tubo.



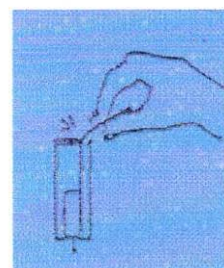
Manteniendo el tubo derecho, remueva la tapa doblándola sobre y mas allá del tubo. Este movimiento facilita la remoción de la tapa y previene el derrame de la solución preservadora contraída en el tubo.



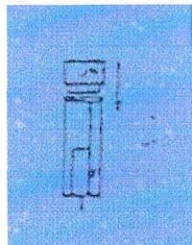
Después de un periodo de dos minutos, remueva el cojín de la boca. Inserte el cojín en el centro del tubo.



Doble el mango del cojín hasta que la mitad superior de la sonda se rompa.



Reubique la tapa dentro del tubo. Asegúrese de presionar la tapa completamente dentro del tubo hasta que este totalmente cerrado. Debe sentir y oír un clic final cuando la tapa este totalmente adentro. Esto indica que la tapa se ha asentado correctamente dentro del tubo.



Regrese el tubo al laboratorio para el procesamiento del espécimen.

Examen de fluidos orales

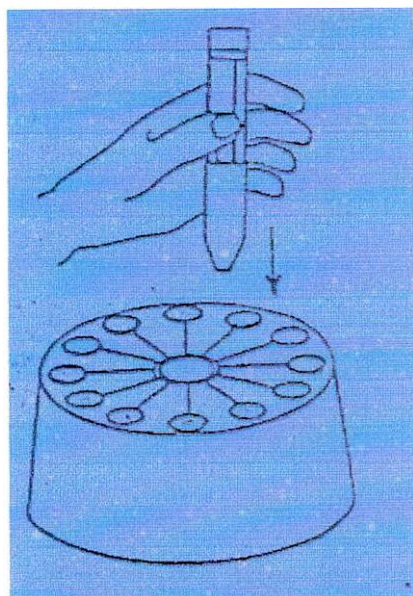
Equipo recolector pero no suplido:

Temporizado

Centrífuga con capacidad de 2.500 rpm (1000 X g)

Tubos de centrifugación

Procedimiento de laboratorio para procesamiento de especímenes.



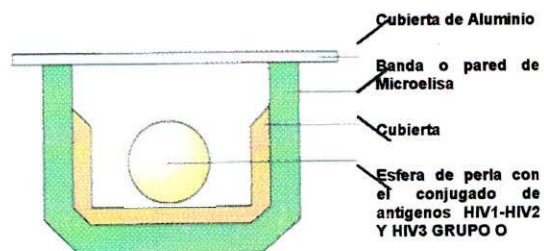
Mantenga el tubo hacia arriba (la punta del tubo apuntando hacia arriba) doble la punta para partirla y sacarla. Este produce un hueco en el centro del tubo.

Coloque en un tubo de 15 ml de centrifugado el tubo del espécimen, mantenga los dos tubos juntos, invierta los dos tubos dentro de un tubo de un cubo de la centrífuga.

Centrifugue los tubos a 2500 rpm. durante 15 minutos. Esto extraerá los contenidos de los cojines dentro del tubo exterior de la centrífuga.

El extracto del cojín esta ahora listo para la lectura. Los especímenes sin evaluar pueden ser almacenados a 4° c hasta por 3 semanas después de la recolección (menos 20° c o mas frío) en un congelador sin escarcha.

Prueba de VIH Vironostika



Una vez obtenida la muestra de saliva verifique que las esferas no estén pegadas a las paredes del recipiente, es recomendable mantener los recipientes en un lugar estable y a temperaturas de 2° c a 8° c sin remover la recubierta de aluminio.



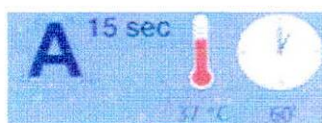
Tome una muestra de saliva anteriormente recolectada mediante una pipeta sin usar ningún tipo de solución.



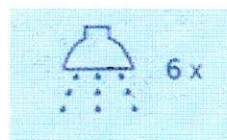
Utilice un recipiente para la muestra y otro para control de cantidades de 50 ml.



Luego disuelva o agitando durante 15 segundos mediante una centrífuga con una velocidad aproximada de 900 rpm, luego incube las dos muestras control y espécimen en organon teknika incubator®. Verificando la correcta temperatura y humedad mediante tiras de papel que indiquen la correcta incubación.



Posteriormente lave las muestras con solución amortiguadora de fosfato. Dicha solución se prepara de la siguiente manera: Una parte de fosfato por 24 partes de agua destilada, dicho amortiguador de fosfato permanece estable durante dos semanas a temperatura de 2° c a 8° c . Las muestras deben ser lavadas durante 3 a 60 segundos con aproximadamente 360 ml de solución amortiguadora de fosfato.



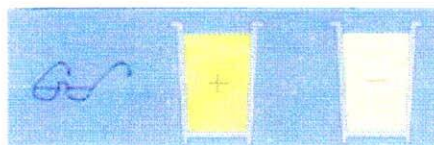
Después utilizamos 100 ml de TMB (Tetrametilbencidina) en las paredes del vaso sin mezclar ni agitar.



Posteriormente incubamos la muestra y el control de 15° a 30° durante 30 minutos, es importante tener en cuenta que el TMB no debe haber estado en contacto con ningún metal o iones metálicos para prevenir formación de colores no deseados. A continuación se colocan 100 ml de ácido sulfúrico (detiene la reacción) , en cada una de las paredes.



Luego procedemos a leer los resultados de la siguiente manera: El color que se desarrolla será amarillo intenso cuando la prueba es positiva para VIH, y cuando la muestra es libre de VIH se formará un amarillo claro o ningún color.



Advanced TekTIME ® options



Detección rápida y constante de respuesta de anticuerpo VIH en saliva de pacientes infectados con VIH, distribución selectiva de actividad Anti-VIH en el isotipo IgG.

Los anticuerpos anti-VIH pueden ser detectados específicamente con una sensibilidad y especificidad del 100% en la saliva de todos los pacientes infectados de VIH. Un instrumento de recolección de saliva facilita el procedimiento de muestreo, y si es usada una prueba rápida, el diagnóstico de la infección puede ser establecida en tan solo 10 min.

El tiempo requerido para los exámenes completos (recolección, filtración, reacción) pueden ser limitados a 10 minutos en cambio de un mínimo de 2 horas para los exámenes clásicos. En suma, sensibilidad y especificidad de detección de anti-VIH en saliva bajo nuestras condiciones alcanzaron el 100%.

Total de IgA, IgG y IgM, niveles de LACTOFERRINA y ALBUMINA en saliva y suero.

En saliva, IgG total fue significativamente mayor en pacientes con infección de VIH cuando se comparó con pacientes sanos, mientras que IgA aparece menor, pero no significativamente. IgM fue también significativamente disminuida. LF fue disminuida significativamente y

HSA (albúmina de suero humana) aumentó.

En suero, todas las inmunoglobulinas fueron aumentadas y mostraron una significativa correlación positiva.

Anticuerpos anti-gp160 y anticuerpos antimicrobiales normales a saliva.

En suero, anticuerpos IgG específicos prevalecieron clásicamente pero en saliva la diferencia entre IgG e IgA Anti-gp160 aparecieron mucho mas grande que en suero.

CONCLUSIONES

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) es una patología que tiene evidentes manifestaciones en cavidad oral.

La presencia del virus de inmunodeficiencia humana (HIV) es mas común en secreciones tales como sangre, semen y líquido cefalorraquídeo mientras que en saliva su porcentaje no es mayor al 0.1%

Los mecanismos de recolección e incubación de saliva son sencillos de realizar aunque se debe tener en cuenta no contaminar las muestras.

La prueba para detectar HIV (Vironostika®) es la prueba mas confiable para diagnosticar HIV en saliva aunque se basa en la detección de los anticuerpos anti-HIV y no el virus propiamente dicho.

En saliva de pacientes HIV positivos es mas común encontrar anticuerpos anti-HIV(inmunoglobulinas) mientras que la presencia del virus es escasa.

A pesar de que las pruebas para la detección rápida de HIV son confiables siguen siendo las pruebas en sangre (ELISA , WESTER-BLOT) las mas

usadas para diagnosticar el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

La velocidad y rapidez con que se pueden obtener los resultados de las pruebas en saliva frente a las pruebas convencionales en sangre constituyen una gran ventaja.

En pacientes con fobia a la agujas y niños esta técnica constituye una buena alternativa de diagnóstico para el SIDA.

El riesgo de contaminación con sangre por medio de agujas u objetos corto punzantes disminuye considerablemente ya que esta técnica no requiere ninguno de estos elementos evitando así posibles accidentes dentro del personal que manipula las muestras.