

R.32.511

M/270

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
NEGOCIADO DE TESIS

Queda registrado este Título de Doctor al
folio 129 número 209 del libro
correspondiente.

03 OCT. 2000

Sevilla,

El Jefe del Negociado.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA



T.D.
M/270

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

**Análisis de las respuestas cutáneas de
hipersensibilidad retardada en personas
infectadas por el virus de la inmunodeficiencia
humana.**

**Estudio de su variación temporal y de la asociación con
parámetros clínicos, virológicos e inmunológicos.**

Francisco Javier Martínez Marcos

Sevilla, 2.000

JERÓNIMO PACHÓN DÍAZ Y LUIS FERNANDO LÓPEZ CORTÉS, PROFESORES ASOCIADOS DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA,

CERTIFICAN:

Que el trabajo de investigación que lleva por título "ANÁLISIS DE LAS RESPUESTAS CUTÁNEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN PERSONAS INFECTADAS POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA. ESTUDIO DE SU VARIACIÓN TEMPORAL Y DE LA ASOCIACIÓN CON PARÁMETROS CLÍNICOS, VIROLÓGICOS E INMUNOLÓGICOS" ha sido realizado bajo nuestra dirección por D. FRANCISCO JAVIER MARTÍNEZ MARCOS, y reúne las condiciones necesarias para ser leído y defendido como Tesis para optar al grado de Doctor en Medicina.

Para que conste y surta los efectos oportunos, firmamos el presente documento en Sevilla a 20 de septiembre de 2000.



Jerónimo Pachón Díaz
DIRECTOR



Luis Fernando López Cortés
DIRECTOR



Francisco Javier Martínez Marcos
DOCTORANDO

A Ana, por no haber podido compartir todas estas horas.

*“Dormido o no, hambriento o no, cansado o no,
siempre se puede hacer algo cuando se sabe
que no queda más remedio que hacerlo”.*

George Bernard Shaw.

AGRADECIMIENTOS

A Jerónimo y Luis, directores de este trabajo; a Charo, Julia y Magdalena, enfermeras del Hospital de Día del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario Virgen del Rocío; a Marisa, administrativa de la Consulta de Enfermedades Infecciosas; a Marta, ex-becaria de dicho Servicio; a Manolo y Concha, ex-residentes del Servicio de Farmacia; a José Luis, epidemiólogo del Hospital Juan Ramón Jiménez; a Paco, bibliotecario de dicho Hospital; y a los estudiantes y compañeros que formaron el grupo de voluntarios sanos. Sin todos ellos no hubiera sido posible realizar este trabajo.

INDICE GENERAL

INDICE GENERAL	I
INDICE DE TABLAS	VI
ABREVIATURAS	VII
I. INTRODUCCION	1
1. MECANISMOS DE DEFENSA ANTIINFECCIOSA	2
2. INMUNIDAD CELULAR	3
3. REACCION O RESPUESTA DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA	5
4. FORMAS DE PRESENTACION DE LAS REACCIONES DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA	7
5. PRUEBAS PARA EL ESTUDIO DE LA INMUNIDAD CELULAR	10
6. PRUEBAS CUTANEAS PARA EL ESTUDIO DE LA HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA	11
7. PRUEBA DE LA TUBERCULINA	12
8. OTROS ANTIGENOS UTILIZADOS EN LAS PRUEBAS INTRADERMICAS PARA EL ESTUDIO DE LA HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA	15
9. ANERGIA Y ESTADOS CLINICOS QUE AFECTAN A LAS RESPUESTAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA	19
9.1 EFECTOS DE LA EDAD, EL EMBARAZO Y LA NUTRICIÓN	19
9.2 DEPRESION TRANSITORIA DE LAS RESPUESTAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN LA ENFERMEDAD AGUDA.....	22
9.3 DEPRESION PROLONGADA DE LAS RESPUESTAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN LA ENFERMEDAD CRONICA	23
9.4 DEPRESION FARMACOLOGICA DE LAS RESPUESTAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA	29
10. GENESIS DE LA ALTERACION DE LA REACCION DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN LA INFECCION POR EL VIH	31
10.1 EL LINFOCITO T CD4+ COMO CELULA DIANA DEL VIH	32
10.2 TROPISMO CELULAR DEL VIH	35
10.3 CICLO BIOLOGICO DEL VIH EN EL LINFOCITO T CD4+	36
10.4 PAPEL DE LA ACTIVACION CELULAR DEL LINFOCITO T CD4+ EN LA INMUNOPATOGENIA DE LA INFECCION POR EL VIH	38
10.5 MECANISMOS DE DESTRUCCION DEL LINFOCITO T CD4+	40
10.6 ALTERACIONES FUNCIONALES DE LOS LINFOCITOS T CD4+	47
11. UTILIDAD DEL ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN LA INFECCION POR EL VIH	48

11.1	UTILIDAD DE LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA (PPD) EN EL CONTROL DE LA TUBERCULOSIS EN EL MARCO DE LA INFECCION POR EL VIH	49
11.2	UTILIDAD DEL USO DE OTROS ANTIGENOS DE RECUERDO PARA VALORAR UNA RESPUESTA NEGATIVA A LA PPD	50
11.3	ANERGIA COMO FACTOR DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE TUBERCULOSIS ACTIVA EN EL PACIENTE CON INFECCION POR EL VIH	52
11.4	ANERGIA Y DECISIONES RESPECTO A LA QUIMIOPROFILAXIS DE LA TUBERCULOSIS EN LA INFECCION POR EL VIH	53
11.5	EL ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA COMO HERRAMIENTA PARA LA OBTENCION DE INFORMACION SOBRE LA INMUNIDAD CELULAR Y COMO FACTOR PRONOSTICO EN LA INFECCIÓN POR EL VIH	55
12.	ELECCION DE LOS ANTIGENOS PARA EL ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN LA INFECCION POR EL VIH	56
II.	PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS	58
1.	MARCO REFERENCIAL	59
2.	JUSTIFICACION DEL ESTUDIO	60
3.	OBJETIVOS DEL ESTUDIO	62
III.	MATERIAL Y METODOS	64
1.	DISEÑO DEL ESTUDIO	65
1.1	ETAPAS DEL ESTUDIO	65
1.2	TIPO DE ESTUDIO	66
1.3	PERIODO DE ESTUDIO	66
2.	POBLACION	67
2.1	POBLACIÓN DIANA	67
2.2	POBLACIÓN ACCESIBLE	67
3.	PROTOCOLO DE ESTUDIO	68
3.1	TESTS CUTANEOS APLICADOS EN LA PRIMERA FASE DEL ESTUDIO: ESTUDIO PREVIO EN VOLUNTARIOS SANOS	68
3.2	TESTS CUTANEOS APLICADOS EN LA PRIMERA FASE DEL ESTUDIO: ANTIGENOS APLICADOS A LOS PACIENTES	70
3.3	TESTS CUTÁNEOS APLICADOS A LOS PACIENTES EN LA SEGUNDA Y TERCERA FASES DEL ESTUDIO	72

3.4	MEDICION E INTERPRETACION DE LAS RESPUESTAS A LOS TESTS CUTANEOS. CRITERIOS DE POSITIVIDAD DE LAS RESPUESTAS	72
3.5	DEFINICIONES DE REACCION POSITIVA A UN PANEL ANTIGENICO Y DE ANERGIA EN LA PRIMERA FASE DEL ESTUDIO	73
3.6	DEFINICION DE ANERGIA EN LA SEGUNDA Y TERCERA FASES DEL ESTUDIO	74
3.7	MEDICION DE LOS PARAMETROS ANTROPOMETRICOS	74
3.8	DETERMINACIONES ANALÍTICAS	75
3.9	PROTOCOLO DE RECOGIDA DE DATOS	76
4.	VARIABLES ANALIZADAS	77
4.1	VARIABLES ANALIZADAS EN LA PRIMERA FASE DEL ESTUDIO	77
4.2	VARIABLES EN LA SEGUNDA FASE DEL ESTUDIO	78
4.3	VARIABLES EN LA TERCERA FASE DEL ESTUDIO	85
5.	ANÁLISIS DE LOS DATOS	86
5.1	BASE DE DATOS	86
5.2	TAMAÑO DE LA MUESTRA	86
5.3	ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN LA PRIMERA FASE DEL ESTUDIO	87
5.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN LA SEGUNDA FASE DEL ESTUDIO	88
5.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN LA TERCERA FASE DEL ESTUDIO	88
5.6	PAQUETE ESTADÍSTICO	89
	ANEXO: INFECCION VIH Y ANERGIA CUTANEA. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS	90
IV.	RESULTADOS	91
1.	COMPARACION DE DOS METODOS PARA EL ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH	92
1.1	ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA POBLACION	92
1.2	PREVALENCIA DE ANERGIA CUTANEA Y COMPARACION DE LAS RESPUESTAS A LOS DOS PANELES ANTIGENICOS	93
1.3	RELACION DE LAS RESPUESTAS A AMBOS PANELES ANTIGENICOS CON EL CONTAJE DE LINFOCITOS T CD4+	95
1.4	ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS A LOS ANTIGENOS INDIVIDUALES DE AMBOS PANELES ANTIGENICOS	96
1.5	ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS A DISTINTAS COMBINACIONES DE LOS ANTIGENOS DEL PANEL APLICADO POR TECNICA DE MANTOUX	100

1.6	EFEECTO DEL CAMBIO DEL PUNTO DE CORTE PARA CONSIDERAR UNA INDURACION COMO POSITIVA EN EL PANEL DE ANTIGENOS APLICADOS POR TECNICA DE MANTOUX	104
1.7	ELECCION DE LOS ANTIGENOS A APLICAR EN LA SEGUNDA PARTE DEL ESTUDIO	104
2.	ESTUDIO DE LAS VARIABLES QUE SE RELACIONAN DE MANERA INDEPENDIENTE CON LA PRESENCIA DE ANERGIA CUTANEA EN LOS PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH	105
2.1	ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA POBLACION	105
2.2	FACTORES DE RIESGO PARA LA APARICION DE ANERGIA CUTANEA EN LOS PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH: ANALISIS UNIVARIANTE	109
2.3	FACTORES DE RIESGO PARA LA APARICION DE ANERGIA CUTANEA EN LOS PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH: ANALISIS MULTIVARIANTE	109
3.	ESTUDIO DE LAS VARIABLES QUE SE RELACIONAN CON LA RECUPERACION DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH PREVIAMENTE ANERGICOS	114
3.1	ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA POBLACION	114
3.2	FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CAMBIO DE ANERGICO A REACTOR EN LA INFECCION POR EL VIH: ANALISIS UNIVARIANTE ...	117
3.3	FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CAMBIO DE ANERGICO A REACTOR EN LA INFECCION POR EL VIH: ANALISIS MULTIVARIANTE	117
V.	DISCUSION	122
	PRIMERA PARTE: COMPARACION DE DOS METODOS PARA EL ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH	123
1.	PREVALENCIA DE ANERGIA CUTANEA EN LOS PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH	123
2.	RELACION DE LAS RESPUESTAS A AMBOS PANELES ANTIGENICOS CON EL RECUENTO DE LINFOCITOS T CD4+	131
3.	ANALISIS DE LAS RESPUESTAS INDIVIDUALES A LOS ANTIGENOS DE AMBOS PANELES ANTIGENICOS	132
4.	COMPARACION DE LA EFICACIA DE MULTITEST Y DEL PANEL DE ANTIGENOS APLICADOS POR TECNICA DE MANTOUX PARA DETECTAR LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA	141

5.	EFFECTO DEL CAMBIO DEL PUNTO DE CORTE PARA CONSIDERAR UNA REACCION COMO POSITIVA	147
6.	ELECCION DE LA MEJOR COMBINACION DE LAS POSIBLES DE PPD MAS DOS ANTIGENOS DE CONTROL	149
	SEGUNDA PARTE: ESTUDIO DE LAS VARIABLES QUE SE RELACIONAN DE MANERA INDEPENDIENTE CON LA PRESENCIA DE ANERGIA CUTÁNEA EN LOS PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH	152
	TERCERA PARTE: ESTUDIO DE LAS VARIABLES QUE SE RELACIONAN CON LA RECUPERACION DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH PREVIAMENTE ANERGICOS	163
1.	RECUPERACION DE LAS RESPUESTAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA TRAS LA TERAPIA ANTRRETROVIRAL	163
2.	RECUPERACION DE PACIENTES PARA QUIMIOPROFILAXIS ANTITUBERCULOSA TRAS LA RECUPERACION DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA	169
3.	ANALISIS DE LOS FACTORES QUE SE RELACIONARON CON LA RECUPERACIÓN DE LAS RESPUESTAS CUTÁNEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH	172
VI.	CONCLUSIONES	179
VII.	BIBLIOGRAFIA	183

INDICE DE TABLAS

Tabla I.	Respuestas de los pacientes con infección por el VIH a MULTITEST y al panel de cuatro antígenos administrados por técnica de Mantoux, según distintos niveles de linfocitos T CD4+.....	94
Tabla II.	Respuestas de los pacientes con infección por el VIH a los distintos antígenos aplicados por técnica de Mantoux y por MULTITEST, según distintos niveles de linfocitos T CD4+.....	97
Tabla III.	Respuestas de los pacientes con infección por el VIH a MULTITEST <i>versus</i> tres combinaciones diferentes de PPD más dos de los tres antígenos que la acompañan en el panel administrado por técnica de Mantoux.....	101
Tabla IV.	Respuestas de los pacientes a MULTITEST <i>versus</i> la combinación de <i>C. albicans</i> -toxoides tetánico-PPD administrados por técnica de Mantoux al estratificar por niveles de linfocitos T CD4+.....	103
Tabla V.	Parámetros demográficos, epidemiológicos, nutricionales, inmunológicos, virológicos y terapéuticos en 510 pacientes con infección por el VIH. Estudio descriptivo de los parámetros cualitativos.....	106
Tabla VI.	Parámetros demográficos, epidemiológicos, nutricionales, inmunológicos, virológicos y terapéuticos en 510 pacientes con infección por el VIH. Estudio descriptivo de los parámetros cuantitativos.....	108
Tabla VII.	Factores de riesgo para la aparición de anergia cutánea. Análisis univariante de factores cualitativos.....	110
Tabla VIII.	Factores de riesgo para la aparición de anergia cutánea. Análisis univariante de factores cuantitativos.....	111
Tabla IX.	Factores de riesgo que se asociaron de forma independiente con la presencia de anergia cutánea.....	112
Tabla X.	Factores que influyen en el cambio de anérgico a reactor en la infección por el VIH. Análisis univariante de factores cualitativos.....	118
Tabla XI.	Factores que influyen en el cambio de anérgico a reactor en la infección por el VIH. Análisis univariante de factores cuantitativos.....	118
Tabla XII.	Factores que se asociaron de forma independiente con el cambio de anérgico a reactor.....	119
Tabla XIII.	Resumen de los estudios que han evaluado la presencia de anergia cutánea en pacientes con infección por el VIH.....	125
Tabla XIV.	Resumen de los estudios que describen las respuestas individuales a los antígenos de un panel aplicado mediante técnica de Mantoux en pacientes con infección por el VIH.....	133
Tabla XV.	Resumen de los estudios que describen las respuestas individuales a los antígenos de MULTITEST en pacientes con infección por el VIH.....	137

ABREVIATURAS

AGB:	Area grasa del brazo.
AMB:	Area muscular del brazo.
BCG:	Bacilo de Calmette-Guérin.
CB:	Circunferencia del brazo.
CD4+:	Linfocitos T con el grupo de diferenciación CD4 en su superficie.
CD8+:	Linfocitos T con el grupo de diferenciación CD8 en su superficie.
CDC:	<i>Centers for Disease Control and Prevention.</i>
CMB:	Circunferencia muscular del brazo.
DE:	Desviación estándar.
GM-CSF:	Factor estimulante de colonias granulocíticas-monocíticas.
HAART:	Terapia antirretroviral altamente activa.
IAMB:	Indice adiposo muscular del brazo.
IC ₉₅ :	Intervalo de confianza del 95%.
IFN- γ :	Interferón γ .
IL-2:	Interleucina 2.
IL-3:	Interleucina 3.
IL-4:	Interleucina 4.
IL-5:	Interleucina 5.
IL-6:	Interleucina 6.
IL-10:	Interleucina 10.
IL-12:	Interleucina 12.
IL-13:	Interleucina 13.
IMC:	Indice de masa corporal.
IPN:	Indice pronóstico nutricional.
IS:	Cepas del VIH inductoras de sincitios.
LES:	Lupus eritematoso sistémico.
Log ₁₀ :	Logaritmo decimal.
MHC:	Sistema mayor de histocompatibilidad.
MIF:	Factor inhibidor de la migración de los macrófagos.
MIP-1 α :	Proteína inflamatoria de los macrófagos 1- α .

- MIP-1 β : Proteína inflamatoria de los macrófagos 1- β .
- NIS: Cepas del VIH no inductoras de sincitios.
- PCT: Pliegue cutáneo tricípital.
- PPD: Derivado proteico purificado (tuberculina).
- RANTES: Quimiocinas de regulación por activación, expresadas y secretadas en células T normales.
- SDF: Factor derivado de las células del estroma.
- SK-SD: Estreptocinasa-estreptodornasa.
- SPNS: Secretaría del Plan Nacional sobre el SIDA.
- Th1: Linfocitos T CD4+ del subtipo funcional 1.
- Th2: Linfocitos T CD4+ del subtipo funcional 2.
- TNF- α : Factor de necrosis tumoral α .
- TNF- β : Factor de necrosis tumoral β .
- UDI: Usuarios de drogas inyectadas.
- UM: Unidades Merieux.
- VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana.

I. INTRODUCCION

1.- MECANISMOS DE DEFENSA ANTIINFECCIOSA

Debido a que la superficie queratinizada de la piel y la superficie bañada de secreciones con propiedades antimicrobianas de las mucosas no son un hábitat ideal para la mayoría de los microorganismos, éstos deben atravesar esta primera barrera defensiva para establecer una infección. Cualquier microorganismo que atraviese esa barrera se encuentra con el siguiente nivel defensivo, el sistema inmunológico^{1,2}.

El sistema inmune es una organización de células y moléculas con funciones especializadas en la defensa contra la infección. Las respuestas defensivas del sistema inmune pueden producirse de una forma innata (natural o inespecífica) o de una forma adquirida (adaptativa o específica)^{1,3}. La respuesta innata, aunque no es específica de antígeno, tiene la ventaja de comenzar inmediatamente después de que tenga lugar la agresión y puede permitir la supervivencia del huésped hasta que las respuestas específicas se desencadenen^{3,4}. Las respuestas innatas usan células fagocíticas (neutrófilos, monocitos y macrófagos), células que liberan mediadores inflamatorios (basófilos, mastocitos y eosinófilos) y células citolíticas naturales (*natural killer*)^{1,4}. El complemento, proteínas de fase aguda y citocinas son los componentes moleculares de estas respuestas de acción inmediata¹. Las respuestas inmunes adquiridas tardan días o semanas en aparecer tras la exposición primaria a un antígeno, y tienen la característica clave de la memoria para el mismo, de tal forma que exposiciones subsiguientes a dicho antígeno provocan una respuesta más rápida y más intensa^{3,4}. Las respuestas adquiridas conllevan la proliferación de linfocitos T y B específicos de antígeno,

lo cual ocurre cuando los receptores de superficie de estas células se unen al antígeno. Células especializadas, llamadas presentadoras de antígenos, muestran el antígeno a los linfocitos y colaboran con ellos en la respuesta al antígeno¹.

Las respuestas adquiridas se subdividen en dos tipos: la inmunidad humoral y la inmunidad celular⁴. La inmunidad humoral es la desarrollada por los linfocitos B, los cuales, en respuesta al estímulo antigénico, producen inmunoglobulinas, anticuerpos específicos de antígeno responsables de la eliminación de microorganismos extracelulares¹. La inmunidad celular es la desarrollada por los linfocitos T, los cuales desarrollan múltiples funciones en respuesta al antígeno, como a continuación se describe⁵.

2.- INMUNIDAD CELULAR

Los linfocitos T maduros de la periferia son del fenotipo CD4+ o bien del fenotipo CD8+ (en función de que posean en su superficie las moléculas de los grupos de diferenciación, *cluster of differentiation* o CD, de tipo CD4 o CD8, respectivamente)⁶. Los linfocitos T CD4+ predominan sobre los CD8+ en una relación 1,5 - 2,5. Los linfocitos T CD4+, en respuesta al antígeno, realizan funciones de cooperación con otros mediadores de la inflamación e inmunidad (por ejemplo, activando a los macrófagos o ayudando a los linfocitos B a fabricar anticuerpos) denominándose por ello linfocitos T inductores o colaboradores (*helper* ó Th)^{1,5}. Los linfocitos T CD8+ al unirse al antígeno se activan y adquieren actividad citotóxica y lisan las células (denominadas diana)

que expresan dicho antígeno en su membrana, y desempeñan un papel decisivo para eliminar las células infectadas por virus^{5,7}.

Los linfocitos T CD4+ no reconocen al antígeno original e intacto, como ocurre con los anticuerpos, sino a un fragmento procesado del antígeno, "presentado" sobre las moléculas del sistema mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II en la membrana de otras células (células presentadoras de antígenos)⁸. Las células que expresan de forma constitutiva moléculas del MHC de clase II, y que son capaces de interiorizar (por fagocitosis o endocitosis) el antígeno y de "procesarlo" (degradarlo) en sus vesículas endocítico-lisosómicas, y luego presentarlo en la membrana unido a las moléculas del MHC de clase II para que pueda ser reconocido por el receptor antigénico específico del linfocito T CD4+, son los monocitos-macrófagos, células dendríticas y linfocitos B⁹. Una vez que el linfocito ha reconocido el complejo molécula MHC-péptido antigénico, se produce una cascada de reacciones bioquímicas en el interior celular que conducen a su activación¹⁰⁻¹².

La función cooperadora de los linfocitos T CD4+ hace que estas células tengan un papel central en la regulación de todas las respuestas defensivas del huésped, y ello en gran medida es un reflejo de su capacidad para, una vez activados, secretar citocinas como interleucina 2 (IL-2), 3 (IL-3), 4 (IL-4), 5 (IL-5), 6 (IL-6), 10 (IL-10), 13 (IL-13), factor estimulante de colonias granulocíticas-monocíticas (GM-CSF), factor inhibidor de la migración de los macrófagos (MIF), interferón γ (IFN- γ) y factor de necrosis tumoral β (TNF- β)^{13,14}.

Datos recientes indican que los linfocitos T CD4+, cuando se hallan activados de forma crónica y persistente por el antígeno, tienden a

diferenciarse en dos subtipos funcionales, denominados Th1 y Th2, caracterizados por su capacidad para producir un diferente espectro de citocinas en respuesta al estímulo antigénico. Cada uno de los subtipos tiene un efecto supresor sobre el contrario y, especialmente, un aumento de la actividad Th2 frenaría la actividad Th1. Los linfocitos Th2 producen principalmente IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13, y mediante ellas son muy eficaces para ayudar a los linfocitos B a desarrollar una respuesta de anticuerpos adecuada. Los linfocitos Th1 secretan sobre todo IL-2, IFN- γ y TNF- β , y mediante ellos serían más efectivos para favorecer el desarrollo de células T CD8+ citotóxicas y promover las reacciones de hipersensibilidad retardada, de importancia decisiva para la erradicación de los gérmenes patógenos de crecimiento intracelular¹⁵⁻¹⁷.

3.- REACCION O RESPUESTA DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA

En las reacciones de hipersensibilidad retardada, también denominadas reacciones de hipersensibilidad de tipo IV según la clasificación de Gell y Coombs, no intervienen los anticuerpos, a diferencia de lo que ocurre con las otras formas de reacciones de hipersensibilidad (tipos I, II y III de Gell y Coombs)¹⁸. Todas estas reacciones de hipersensibilidad tienen en común el hecho de estar iniciadas por una reacción inmunológica contra un antígeno y ocurrir en un individuo sensibilizado (es decir, el resultado de una reestimulación antigénica en una persona que ya ha desarrollado una respuesta inmune frente a dicho antígeno). El término "retardada" se ha utilizado para distinguir la respuesta celular secundaria que aparece 48 horas

después de la exposición al antígeno, de la respuesta de hipersensibilidad “inmediata” que se observa generalmente en las 12 horas siguientes a la provocación con el antígeno y que se inicia por la liberación de mediadores de los basófilos o por anticuerpos preformados⁴.

El ejemplo paradigmático de esta reacción lo constituye la reacción cutánea a la tuberculina. Si se inyecta el antígeno en la piel de un individuo no sensibilizado, no aparece reacción alguna. Pero si se inyecta el antígeno en un individuo previamente sensibilizado, se observa la típica reacción a las 48 horas. Ello se debe a que, tras la estimulación primaria, se produce la amplificación clonal de los linfocitos T CD4⁺ específicos. Este proceso ocurre en la zona paracortical de los ganglios regionales más próximos al lugar de la puerta de entrada de la infección o sensibilización con el bacilo tuberculoso, e implica que el antígeno sea procesado y presentado en asociación con las moléculas del MHC de clase II por los macrófagos o por células dendríticas para que pueda ser reconocido por los linfocitos T CD4⁺ específicos. Así, éstos se activan y pasan a producir IL-2 y a expresar receptores para la misma, lo que permite su proliferación mediada por la IL-2. El resultado es un incremento del número de linfocitos CD4⁺ específicos, los cuales, al retornar al estado de reposo, volverán a recircular. Tras el estímulo secundario del mismo antígeno con la prueba tuberculínica, éste es presentado por los macrófagos y las células dendríticas de la piel, y los linfocitos T CD4⁺ específicos circulantes (de tipo Th1) experimentan su activación *in situ*, liberando interleucinas que, como el IFN- γ , causan la atracción de macrófagos hacia el lugar de la reacción y su activación. De esta forma se incrementa la actividad fagocítica y microbicida

de los macrófagos y, por tanto, los fenómenos inflamatorios, que se expresan en forma de lesión cutánea^{4,17,19}.

Por lo tanto, en esta respuesta se pueden destacar dos acontecimientos: el inicial y fundamental depende de la activación de los linfocitos Th1 específicos por el antígeno, mientras que la activación de los macrófagos, los cuales actúan de forma inespecífica, es consecuencia de las citocinas secretadas por dichos linfocitos Th1 activados.

4.- FORMAS DE PRESENTACION DE LAS REACCIONES DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA

Dependiendo de la naturaleza físicoquímica y la concentración de antígeno (soluble o particulado) implicado, de la puerta de entrada y de la localización de la respuesta inmune provocada, y de las otras células participantes (además de los linfocitos T), la hipersensibilidad retardada se manifiesta habitualmente de seis maneras distintas¹⁹:

I. Hipersensibilidad retardada como mecanismo de resistencia general frente a infecciones. La inmunidad celular es el principal factor de resistencia de un individuo frente a infecciones por agentes de crecimiento intracelular como micobacterias, hongos, virus y protozoos. Esta resistencia ocurre en cualquier localización anatómica atacada por el microorganismo patógeno y el mecanismo de la lesión es similar al de las desencadenadas en la piel^{19,20}.

II. Hipersensibilidad retardada frente a antígenos solubles. En general, cuando con fines diagnósticos se efectúan pruebas cutáneas con

antígenos solubles (purificados o no) obtenidos de diversos agentes infecciosos (bacterias, virus, hongos y protozoos), se manifiestan reacciones de hipersensibilidad retardada. Éstas se denominan también, por razones históricas, conceptuales y clínicas, "hipersensibilidad tipo tuberculínico" y su paradigma lo representa la prueba de Mantoux o reacción de la tuberculina^{19,21}.

III. Dermatitis de contacto. En las dermatitis por contacto, la reacción de hipersensibilidad retardada se induce por un compuesto químico reactivo (hapteno) que, tras acoplarse a proteínas epidérmicas, actúa como un inmunógeno efectivo. Cuando tiempo después, se realiza una prueba cutánea con el hapteno (prueba del parche), se forma de nuevo el conjugado inmunogénico y se desarrolla una hipersensibilidad retardada que es discretamente distinta a la descrita en el caso de la tuberculina^{9,22}.

IV. Reacciones adversas a fármacos. Una respuesta similar a la descrita en la dermatitis por contacto ocurre en ocasiones con fármacos administrados por otras vías, desencadenándose lesiones de hipersensibilidad en órganos como riñones, pulmones e hígado¹⁹. Por ejemplo, ciertos fármacos pueden causar hepatitis alérgicas específicas y, en ocasiones, desarrollar una hepatitis fulminante que puede conducir a la muerte. El mecanismo por el que exclusivamente el hígado resulta afectado es desconocido, si bien en algún caso se han involucrado proteínas hepáticas propias que ayudarían al fármaco a actuar como un hapteno y adquirir antigenicidad²³. Durante el tratamiento con sales de oro, un tercio de los pacientes con artritis reumatoide muestran reacciones de hipersensibilidad retardada en la piel y las mucosas que

aconsejan interrumpir la crisoterapia; en otros casos la forma de presentación es en forma de infiltrados pulmonares intersticiales²⁴.

V. Reacciones granulomatosas. Los granulomas son lesiones resultantes de agregados de fagocitos mononucleares activados (principalmente macrófagos), muchos de los cuales han fagocitado el agente responsable. Como secuela de esta reacción los fibroblastos producen colágeno que sirve para “emparedar” virtualmente el agente perjudicial. En determinadas situaciones, esta forma de respuesta es beneficiosa para el individuo. No todos los agentes que provocan granulomas lo hacen a través de procesos inmunológicos, aunque la gran mayoría (antígenos microbianos inhalados, ciertos metales, agentes infecciosos intracelulares) los inducen mediante mecanismos inmunológicos específicos. La formación de granulomas es también un hecho constante en enfermedades sin agente etiológico definido, por ejemplo, la sarcoidosis. Por lo tanto, de acuerdo con el grado de participación en el desarrollo de la lesión de los linfocitos específicos de antígeno, los granulomas pueden clasificarse en inmunes y no inmunes (o de respuesta a cuerpo extraño)^{19,25-28}.

VI. Rechazo de homoinjertos y reacciones de hipersensibilidad retardada. El trasplante de células vivas de un individuo a otro de la misma especie (homoinjerto) suele terminar en la destrucción y el rechazo del injerto por un mecanismo de hipersensibilidad retardada^{19,29}.

5.- PRUEBAS PARA EL ESTUDIO DE LA INMUNIDAD CELULAR

Aparte de la cuantificación de los linfocitos T y de sus subpoblaciones, la inmunidad celular se puede estudiar mediante pruebas *in vivo* e *in vitro*.

La función de los linfocitos T puede estudiarse *in vitro* por su capacidad para proliferar en respuesta a antígenos frente a los que se ha sensibilizado al paciente, frente a linfocitos de un donante no compatible, frente a anticuerpos que establecen reacciones cruzadas con el complejo molécula de superficie CD3-receptor de la célula T, o frente a mitógenos de las células T como fitohemaglutinina, concavalina A o el mitógeno de la fitolaca. La respuesta suele cuantificarse midiendo la incorporación de timidina radiactiva en el ADN recién sintetizado. También es posible medir la producción de citocinas por parte de las células T activadas. Asimismo, puede estudiarse la capacidad de dichas células para lisar las células diana en el cultivo linfocitario mixto. Por último, existen análisis para detectar los defectos de los receptores de la superficie de las células T y de elementos específicos de la cascada de activación de la célula T³⁰.

La función de los linfocitos T puede medirse directamente *in vivo* mediante las pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada, utilizando diversos antígenos frente a los que la mayor parte de la población esté sensibilizada^{17,20,21,30,31}.

6.- PRUEBAS CUTANEAS PARA EL ESTUDIO DE LA HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA

Las pruebas cutáneas representan el medio más eficaz, simple y económico que puede utilizarse para valorar clínicamente la respuesta inmune celular en un paciente¹⁹.

Según la forma de administrar el antígeno o producto químico hapténico, las pruebas cutáneas utilizadas en la práctica comprenden:

I. Pruebas intradérmicas administradas por técnica de Mantoux.

Estas utilizan la inyección intradérmica de un antígeno soluble, purificado o no (por ejemplo tuberculina). La técnica consiste en la inyección intradérmica en la cara ventral del antebrazo de una cantidad constante de líquido diluyente (0,1 mL) con la dosis correspondiente de antígeno. Si la técnica es correcta, aparecerá en el sitio de la inyección una pápula que desaparece en pocos minutos. La sensibilización del individuo se manifiesta por una reacción de hipersensibilidad retardada, la cual produce una zona de induración en el sitio de la inyección que debe ser medida a las 48 horas³².

II. Dispositivos de punción múltiple intradérmica. Estos dispositivos provocan la inoculación intradérmica de varios antígenos en una sola aplicación. La lectura de las respuestas positivas se hace de la misma forma que los antígenos aplicados con la técnica de Mantoux. MULTITEST IMC[®], un dispositivo que inyecta siete antígenos simultáneamente en la dermis a través de las puntas de un aplicador de plástico, es el dispositivo más usado³³⁻³⁶.

III. Prueba del parche. Consiste en la aplicación directa sobre la piel de un compuesto químico. Esta se usa con la finalidad de establecer la etiología

de una dermatitis por contacto, así como para, en situaciones seleccionadas, evaluar la hipersensibilidad retardada en un paciente anérgico a los antígenos comunes tras ser sensibilizados con agentes por contacto como el dinitroclorobenceno³⁷.

Las pruebas cutáneas intradérmicas son especialmente útiles en las siguientes circunstancias: para valorar una respuesta de hipersensibilidad retardada disminuida o ausente (anergia) en pacientes concretos; para evaluar los resultados de los procedimientos terapéuticos; para monitorizar el curso de una enfermedad; y en ocasiones, para establecer (o complementar) una decisión diagnóstica. Todo ello conlleva que, en determinadas circunstancias, la evaluación *in vivo* de la inmunidad celular sea útil para establecer criterios diagnósticos, pronósticos o de tratamiento de una enfermedad^{19,32,37,38}.

7.- PRUEBA DE LA TUBERCULINA

La prueba cutánea para el estudio de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada más universal es la de la tuberculina o derivado proteico purificado tuberculínico (PPD). La tuberculina es una mezcla compleja de proteínas, polisacáridos y lípidos que provienen de sobrenadantes de cultivos de bacilos de *Mycobacterium tuberculosis*, tratados mediante calentamiento y precipitación con ácido tricloroacético³².

En 1891, Robert Koch descubrió componentes de *M. tuberculosis* en un medio de cultivo líquido concentrado. Posteriormente denominado "tuberculina antigua", este material se supuso inicialmente útil para el tratamiento de la tuberculosis (aunque esta idea fue refutada posteriormente). Pronto quedó

acclarado que la tuberculina antigua era capaz de producir una reacción cutánea cuando se inyectaba por vía subcutánea a pacientes con tuberculosis. En 1932, Seibert y Munday purificaron este producto mediante precipitación con sulfato de amonio. El resultado fue una fracción proteica activa denominado derivado proteico purificado o PPD. Sin embargo, la complejidad y la diversidad de los constituyentes del PPD hicieron muy difícil su estandarización. Más adelante, el PPD-S desarrollado por Seibert y Glenn en 1941 fue elegido como el estándar internacional. Finalmente la Organización Mundial de la Salud y la UNICEF apoyaron la producción a gran escala de un lote original de PPD denominado RT23 y lo pusieron a disposición de la población. En España se recomienda el empleo de la tuberculina PPD RT23 con Tween 80, a dosis de 2 UT por 0,1 mL, que es el bioequivalente a la dosis recomendada (5 UT) de la tuberculina patrón internacional o PPD-S³⁹⁻⁴².

La prueba de la tuberculina es el método más eficaz para identificar la infección por *M. tuberculosis* en personas que no tienen la enfermedad tuberculosa. Aunque su especificidad y su sensibilidad no son del 100%, ningún método diagnóstico alternativo supera su eficacia⁴³. Reacciones falsamente positivas pueden ocurrir en personas que han sido infectadas con micobacterias no tuberculosas o que han sido vacunadas con el Bacilo de Calmette-Guérin (BCG), una cepa de *Mycobacterium bovis* viva atenuada^{32,44}. Falsos negativos ocurren en pacientes inmunodeprimidos y en pacientes con tuberculosis diseminada⁴⁰.

Basándose en la sensibilidad y especificidad de la PPD y la prevalencia de tuberculosis en diferentes grupos de pacientes, los *Centers for Disease*

Control and Prevention (CDC) y la *American Thoracic Society* han revisado recientemente los criterios para definir una reacción a la PPD como positiva y, por tanto, indicativos de la necesidad de profilaxis antituberculosa⁴³. Para personas con más riesgo de desarrollar tuberculosis activa si están infectados por *M. tuberculosis* (pacientes con infección por el VIH, pacientes recibiendo terapia inmunosupresora, pacientes en contacto reciente con tuberculosos activos o pacientes con hallazgos radiológicos compatibles con tuberculosis antigua), una induración ≥ 5 mm es considerada positiva. Para pacientes de riesgo intermedio se considera positiva una induración ≥ 10 mm (inmigrantes de países con alta prevalencia de tuberculosis, usuarios de drogas inyectadas, residentes y empleados de instituciones que pueden congregar a personas de riesgo, personal de laboratorio de micobacteriología, y pacientes con silicosis, diabetes, insuficiencia renal crónica, leucemias y linfomas, carcinoma de cabeza o cuello y pulmón, pérdida de peso mayor del 10% sobre el peso ideal, gastrectomizados y niños expuestos a personas de alto riesgo). Para personas de bajo riesgo, para las cuales el test tuberculínico no está generalmente indicado, una induración ≥ 15 mm es considerada positiva, y la indicación de profilaxis debe individualizarse en función del beneficio probable y los riesgos de toxicidad farmacológica.

La prueba de la tuberculina a veces presenta el inconveniente del denominado efecto empuje (*booster effect*), el cual consiste en que, personas sensibilizadas para tuberculina (bien por una infección antigua por *M. tuberculosis* o por una micobacteria ambiental, bien por una antigua vacunación con BCG), con el transcurso del tiempo pueden tener disminuida la capacidad

de respuesta a la misma (efecto debilitador, *waning effect*) y dar un resultado negativo con PPD. Una nueva prueba, repetida después de 7 días de la primera, puede detectar la capacidad de repuesta, la cual fue estimulada por la prueba anterior, y dar un resultado positivo (*booster*)⁴⁵. Este fenómeno se ha observado en todas las edades, aunque es más frecuente a medida que aumenta la edad de los individuos. Es motivo de importantes distorsiones en el cálculo de la incidencia de la infección, ya que puede interpretarse como conversores de la reacción tuberculínica a individuos que no han estado infectados por *M. tuberculosis*. En la actualidad no hay ningún método fiable que distinga entre las reacciones tuberculínicas causadas por vacunación con BCG de aquellas causadas por infección por *M. tuberculosis*, aunque reacciones ≥ 20 mm de induración no es probable que estén causadas por BCG⁴³.

8.- OTROS ANTIGENOS UTILIZADOS EN LAS PRUEBAS INTRADERMICAS PARA EL ESTUDIO DE LA HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA

Todo antígeno empleado para evaluar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada debería cumplir, idealmente, los siguientes requisitos⁴⁶:

I. El antígeno debe ser una sustancia biológica estable de potencia estandarizada. En la actualidad, se sabe con certeza que las soluciones diluidas de antígenos para las pruebas cutáneas pierden potencia, de forma significativa y tras algunas horas, por adsorción en las superficies de los viales de vidrio. Para la PPD, ello ha inducido a emplear exclusivamente preparados

estabilizados que contienen el agente de acción de superficie Tween 80⁴⁷. Además de esta estabilización, es necesaria una estandarización en el proceso de fabricación que evite variaciones en la potencia para producir reacciones cutáneas de hipersensibilidad retardada⁴⁸. Aparte de la PPD, los antígenos estandarizados que están disponibles para ser aplicados por técnica de Mantoux son el preparado antígeno de virus de la parotiditis, la coccidioidina y la histoplasmina³⁴. Una estabilización y estandarización tales no se ha llevado a cabo con otros antígenos, lo cual puede provocar variaciones de la potencia de los preparados incluso entre los distintos lotes facilitados por un mismo proveedor.

II. El antígeno debe inducir un área de induración circunscrita bien definida en las respuestas positivas, a poder ser cuantificable con distintas dosis de la sustancia estudiada. También en este caso tales pormenores se han estudiado con la PPD, habiéndose definido claramente los criterios para considerar una induración como positiva, como ya hemos detallado⁴³. Para otros antígenos aplicados por técnica de Mantoux (*Candida albicans*, toxoide tetánico, antígeno del virus de la parotiditis) un diámetro de induración ≥ 5 mm suele considerarse como indicativo de una reacción positiva^{37,49,50}. Para los antígenos aplicados por MULTITEST, una induración ≥ 2 mm se considera indicativa de positividad^{33,35,36}.

III. El antígeno no debe inducir hipersensibilidad inmediata ni respuesta inmune humoral alguna que interfiera en la reacción de hipersensibilidad retardada o que dé lugar a confusiones. El PPD parece satisfacer este requisito, en tanto que las reacciones de las pruebas cutáneas frente a ciertos

preparados de estreptococos quizás reflejen tanto las respuestas humorales como las de hipersensibilidad retardada⁴⁶.

IV. Por el contrario, la prueba cutánea de hipersensibilidad retardada no debe modificar las pruebas de inmunidad humoral frente al mismo antígeno. La prueba cutánea de hipersensibilidad retardada puede ocasionar efectos variables sobre los niveles de anticuerpos contra el antígeno en estudio, dependiendo de la prueba y del antígeno evaluado. Por ejemplo, las pruebas cutáneas con ciertos antígenos micóticos, como la histoplasmina, pueden ocasionar aumento de los títulos de anticuerpos contra *Histoplasma*⁵¹.

V. Debe existir cierto grado reproducible de reactividad en las pruebas repetidas. Si bien la práctica repetida de la reacción de Mantoux no induce sensibilidad, a veces presenta el inconveniente del efecto *booster* ya comentado⁴⁵. La frecuencia de este efecto de recuerdo ha sido diferente en distintos estudios y con distintos antígenos⁵¹. También hay que tener la prudencia de no repetir la prueba en la misma zona o en otra próxima, para evitar las respuestas alteradas (tanto en grado como en el momento de aparición) en pruebas ulteriores⁵². Además, los datos disponibles sugieren que una respuesta más débil a un antígeno se puede suprimir (hasta el punto de parecer negativa) en presencia de una respuesta mucho más fuerte frente a un antígeno inyectado en una zona próxima.

VI. Finalmente, el antígeno debe estar incluido en los programas de vacunación rutinarios o bien proceder de microorganismos a los que ha estado expuesto la mayor parte de la población⁵⁴. Es de destacar que tres de los

cuatro antígenos estandarizados (PPD, coccidioidina e histoplasmina) no cumplen con esta premisa en numerosas áreas geográficas.

A pesar de estas consideraciones, es enorme la variabilidad de antígenos individuales y combinaciones de los mismos que han sido empleados para valorar la competencia del paciente para presentar reacciones de hipersensibilidad retardada^{35,38}. Ultimamente, los más utilizados por técnica de Mantoux son, aparte de la PPD, *C. albicans*, toxoide tetánico y antígeno del virus de la parotiditis^{34,37,49,50,53,55-58}. *Trichophyton*, histoplasmina y coccidioidina, de amplia utilización en el pasado³⁵, cada vez se utilizan menos debido a la baja rentabilidad del primero y a la no ubicuidad de los dos últimos⁴⁹. Otros muchos antígenos han sido empleados, destacando por su frecuencia estreptocinasa-estreptodornasa (SK-SD) y toxoide diftérico^{35,46,59}.

El número de antígenos empleados y el grado de sensibilización previa de la población a dichos antígenos influye en el porcentaje de respuestas positivas a un panel antigénico^{49,54}. Casi el 95% de los adultos normales muestran al menos una reacción positiva frente a alguno de los antígenos incluidos en un panel en el que se incluyan PPD, *C. albicans*, antígeno del virus de la parotiditis y SK-SD⁵⁹. Como la SK-SD no es fácil de conseguir, en los últimos años se ha sustituido por toxoide tetánico acuoso, con rentabilidad igual o mayor^{46,55,57}. Este porcentaje de respuestas positivas superior al 90% es comprensiblemente menor en los niños normales, debido a la menor oportunidad de exposición previa a los antígenos empleados⁶⁰.

Los antígenos inoculados con MULTITEST son tétanos, difteria, *Streptococcus* (grupo C), tuberculina, *Candida*, *Trichophyton* y *Proteus mirabilis*⁶¹.

En la población sana, las respuestas obtenidas con MULTITEST son comparables a las obtenidas con un panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux⁶².

9.- ANERGIA Y ESTADOS CLINICOS QUE AFECTAN A LAS RESPUESTAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA

El término anergia se empleó en principio para describir la pérdida transitoria de la sensibilidad tuberculínica observada en pacientes con sarampión, pero posteriormente se fue ampliando para designar la incapacidad de expresar reactividad en las pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada frente a antígenos habituales (denominados antígenos de recuerdo)²⁰. Más recientemente, este término también se ha empleado para designar la falta de respuesta de los linfocitos T a determinados estímulos en las pruebas *in vitro*⁶³. Podemos definir, por tanto, la anergia como aquel estado del organismo donde las células T han perdido su capacidad para reaccionar específicamente a un antígeno al cual estaban previamente sensibilizadas⁶⁴.

Diversas situaciones clínicas pueden alterar la respuesta inmune celular e impedir la elaboración de una adecuada respuesta de hipersensibilidad y provocar la aparición de anergia. Estas situaciones se enumeran a continuación.

9.1.- EFECTOS DE LA EDAD, EL EMBARAZO Y LA NUTRICIÓN.

9.1.1.- Efectos de la edad. El proceso del envejecimiento va acompañado de alteraciones de la inmunidad celular⁶⁵. El grado de tales

alteraciones se ha evaluado a través de diversos estudios *in vitro* e *in vivo*, en ocasiones con resultados contradictorios. Así, en estudios en personas mayores de 70 años, hay distintas publicaciones que describen respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada reducidas⁶⁶, mientras que otras, en cambio, describen repuestas normales⁶⁷. Es probable que estas discrepancias sean reflejo de la heterogeneidad de las poblaciones estudiadas, de la utilización de distintas técnicas de estratificación por edades y de diferencias en los antígenos empleados. Asimismo, tales poblaciones de edad avanzada, seleccionadas ya por la supervivencia, suelen compararse en un punto de la escala temporal con individuos más jóvenes. Tendría más sentido valorar secuencialmente a los mismos individuos durante años para detectar cambios significativos en las mismas personas⁶⁵. Aun así, existe la creencia generalizada de que ciertas funciones de las células T se alteran con la edad, lo cual se puede poner de manifiesto por distintas anormalidades en las pruebas *in vitro*. Es probable que estas anormalidades reflejen en parte una depresión de la producción y tal vez de la utilización de IL-2, mediada tal vez por una reducción en el número de precursores de las células T cooperadoras⁶⁸. Por el momento, no está clara la relación entre la aberración funcional de las células T y el aumento en la incidencia de infecciones, neoplasias malignas o mayor producción de autoanticuerpos observados en los ancianos⁶⁹.

9.1.2.- Efectos del embarazo. Se han comunicado alteraciones en el número y la función de las células T durante el embarazo (también en este caso los resultados son algo contradictorios), que pueden explicar la depresión

transitoria de las respuestas de hipersensibilidad retardada frente a las pruebas cutáneas, si bien ello no se ha estudiado de forma exhaustiva^{70,71}. Se ha comunicado que varios factores séricos pueden deprimir la función de las células T durante el embarazo al estar aumentados, como el cortisol, los lactógenos placentarios, la gonadotrofina coriónica humana, la progesterona, los estrógenos, la α -fetoproteína y la α -macroglobulina. Dichos hallazgos han sido citados como posibles explicaciones de la incapacidad de la madre para rechazar el feto, su aloinjerto natural, y podrían favorecer el aumento en la susceptibilidad a algunas infecciones como las debidas al virus varicela-zoster, *Coccidioides immitis* y *Mycobacterium leprae*⁷².

9.1.3.- Efectos del estado nutricional. El estado nutricional tiene un profundo efecto sobre la función inmune⁷³⁻⁷⁵. La desnutrición crónica calórico-proteica ejerce un efecto supresor sobre las funciones de los linfocitos T (que se manifiesta en una alteración en las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada, en las respuestas proliferativas de linfocitos frente a mitógenos y antígenos, y en las respuestas de anticuerpos dependientes de las células T), y en menor grado, sobre la función del macrófago. Estos déficits pueden explicar, al menos en parte, la mayor propensión de los pacientes malnutridos a la infección. El retorno a la normalidad después de la terapia nutricional sugiere una relación causa-efecto. El trastorno de la inmunidad celular no se limita a la malnutrición proteico-calórica. Los déficit de diversas vitaminas, como el ácido fólico, la piridoxina, la tiamina y la vitamina A, se asocian con frecuencia al deterioro funcional de las células T. Asimismo, la insuficiencia inmune observada en los pacientes con déficit de cinc, hierro, cobre y selenio sugiere

un importante papel de los metales y los oligoelementos en la homeostasis de la inmunidad celular⁷⁶.

9.2.- DEPRESION TRANSITORIA DE LAS RESPUESTAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN LA ENFERMEDAD AGUDA.

9.2.1.- Enfermedades virales agudas. Es clásica la observación de que la inmunidad celular puede estar deprimida un tiempo variable, durante y después de determinadas infecciones víricas, como el sarampión, la rubéola, la varicela, la parotiditis, el herpes simple y la mononucleosis infecciosa²⁰. La reactividad de las pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada está deprimida durante semanas o meses después del sarampión natural o inducido por la vacuna. En la primera semana después de la infección natural existe linfopenia asociada a depresión de las respuestas proliferativas *in vitro* frente a la fitohemaglutinina. Las pruebas disponibles sugieren que un efecto directo del virus sobre los linfocitos es responsable, al menos en parte, de estos fenómenos⁷⁷.

Durante las dos primeras semanas de la mononucleosis infecciosa también se ha observado reducción de la reactividad con las pruebas cutáneas y en las pruebas *in vitro*, así como una alteración transitoria de los niveles sanguíneos de los linfocitos T y B. Durante la fase aguda de la enfermedad se observa aumento del número de células T citotóxico-supresoras, pero se ignora su relación con estos hallazgos. Estas células son responsables de la linfocitosis y de la aparición de linfocitos atípicos tan característicos de la

mononucleosis infecciosa, y el aumento celular explica también la notable infiltración de las áreas paracorticales de los ganglios linfáticos y el bazo^{78,79}.

9.2.2.- Otras enfermedades agudas. La leucocitosis, la fiebre y la anemia deprimen las repuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada⁸⁰. En diversos estudios se han comunicado también la reducción de la reactividad a las pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada en pacientes con muy diversas patologías agudas, incluidos traumatismos cerrados graves⁸¹, infarto de miocardio o embolia pulmonar⁸². Es difícil distinguir los efectos de factores como la fiebre, la integridad vascular y los efectos farmacológicos en tales descripciones.

9.3.- DEPRESION PROLONGADA DE LAS RESPUESTAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN LA ENFERMEDAD CRONICA.

La supresión prolongada de la inmunidad celular va asociada en general a enfermedades extensas, a menudo con linfopenia, y a menudo con peor pronóstico que la depresión transitoria de la inmunidad celular²⁰.

9.3.1.- Enfermedad de Hodgkin y otras neoplasias hematológicas. Es probable que donde más se haya estudiado la anergia secundaria a afecciones sistémicas sea en la enfermedad de Hodgkin^{20,83-85}. En una revisión de tales estudios se insiste en el carácter relativo, no absoluto, de la depresión de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en la enfermedad de Hodgkin. En un estudio, el 66% de los pacientes presentaron reacción cutánea frente al menos 1 de 6 antígenos de recuerdo, mientras que sólo un 23% respondieron a 2 ó más. Se observaron respuestas en un 100% y un 66% de

personas normales, respectivamente⁸³. En algunos estudios se ha observado depresión de la reactividad en las pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada, sobre todo, en los pacientes con enfermedad más avanzada (estadio IV), linfopenia, y con síntomas B, mientras que en otros estudios no se han encontrado tales correlaciones. Es probable que la anergia, como la linfopenia, sea significativamente más frecuente en presencia del patrón de depleción linfocitaria (histiocítico) en los ganglios linfáticos. La linfopenia se observa en el 30% de los pacientes, en general en los que presentan enfermedad más avanzada. El análisis fenotípico con anticuerpos monoclonales ha demostrado reducción del porcentaje de las células T que expresan el fenotipo cooperador-inductor CD4+. La disminución del número de células con el fenotipo citotóxico-supresor CD8+ sólo se observó en pacientes con linfopenia y enfermedad avanzada. En definitiva, la inmunidad celular está afectada con frecuencia en la enfermedad de Hodgkin, pero el patrón exacto de esta afección depende de los estadios de la enfermedad y de los efectos del tratamiento. El deterioro de las respuestas de hipersensibilidad retardada, ya sea inducido por la enfermedad o yatrogénico, predispone a los pacientes a las infecciones micobacterianas, micóticas, víricas y protozoarias, responsables de la mayoría de las muertes^{20,83-85}.

Una alteración de las respuestas de hipersensibilidad retardada similar a la descrita en la enfermedad de Hodgkin se encuentra en otras neoplasias hematológicas, como los linfomas no-Hodgkin y la leucemia linfoide crónica¹⁹.

9.3.2.- Infección crónica. Las inmunodepresión provocada por la alteración de las respuestas de hipersensibilidad retardada en diversos

procesos favorece la aparición de infecciones por patógenos intracelulares⁶⁴. A su vez, ciertas infecciones crónicas son capaces de deteriorar por sí mismas dichas repuestas de hipersensibilidad retardada. En algunos casos, el déficit de la respuesta de hipersensibilidad retardada es selectivo para los antígenos del microorganismo causal; en otros, se convierte en una anergia global y se acompaña de un empeoramiento de la enfermedad. Por ejemplo, a menudo se observa anergia cutánea en pacientes con tuberculosis extensa^{40,86}. En otros casos, las repuestas deficitarias frente a la tuberculina se producen en presencia de reactividad normal a otros antígenos.

Los pacientes con lepra lepromatosa tienen reacción negativa a la lepromina, que a menudo progresa a anergia global, y ausencia de respuestas linfocitarias *in vitro* que persisten incluso tras la quimioterapia prolongada. El aumento de la producción de interferón o un aumento de la sensibilidad a los efectos inhibidores del interferón podrían explicar la alteración de la inmunidad celular observada en esta enfermedad⁸⁷.

La candidiasis mucocutánea crónica es una enfermedad de niños y adultos que afecta a la piel, las uñas y las mucosas, asociada a veces a trastornos endocrinológicos. El patrón de sensibilidad de las repuestas de hipersensibilidad retardada en la candidiasis mucocutánea crónica es variable. En un extremo del espectro están los pacientes con anergia global. En otros pacientes las pruebas cutáneas y la reactividad linfocitaria *in vitro* aparecen reducidas sólo en respuesta a *C. albicans*. En el otro extremo del espectro se hallan los pacientes sin anomalías detectables⁸⁸.

Un pequeño porcentaje de los pacientes con coccidioidomicosis presentan una forma diseminada grave de la enfermedad y falta de reactividad a la coccidioidina (tanto *in vivo* como *in vitro*) en presencia de reactividad de las pruebas cutáneas a otros antígenos. Se ha comunicado un cuadro similar en la histoplasmosis extensa o diseminada²⁰.

La intensa afectación de las respuestas de hipersensibilidad retardada provocada por la infección por el VIH se describe ampliamente más adelante⁸⁹.

9.3.3.- Sarcoidosis. Este trastorno va asociado al deterioro de las respuestas de hipersensibilidad retardada *in vivo* e *in vitro*, independientemente de que la inmunidad humoral sea normal o esté aumentada⁹⁰. En la mayoría de pacientes con sarcoidosis se ha observado depresión de la reactividad a la tuberculina y a otros antígenos de recuerdo, que puede persistir a veces bastante tiempo después de la remisión. Hasta un 70% de los pacientes con sarcoidosis son anérgicos²⁰. Las respuestas proliferativas *in vitro* frente a mitógenos y antígenos suelen estar deprimidas durante la enfermedad activa en la mayoría de los pacientes con anergia cutánea, mientras que son de intensidad media en las fases de remisión clínica. Los niveles sanguíneos de células T son bajos en los pacientes con enfermedad aguda o crónica, pero normales en las fases de remisión⁹¹. En comparación con las subpoblaciones de células T sanguíneas y las obtenidas por lavado broncoalveolar en individuos sanos, en las muestras de lavado broncoalveolar de los pacientes con sarcoidosis existe un aumento de las células T con fenotipo inductor-cooperador CD4+⁹².

Es de interés el hecho de que hasta el 70% de pacientes con sarcoidosis, a pesar de la presencia de anergia, pueden responder a un extracto antigénico obtenido del bazo de un paciente con sarcoidosis: el antígeno de Kveim. La inoculación intradérmica es seguida por una respuesta inmune en la piel. La respuesta, la cual necesita semanas para desarrollarse completamente, es una respuesta granulomatosa que no corresponde a una reacción clásica de hipersensibilidad retardada. La paradoja por la presencia de depresión de la inmunidad celular y la respuesta inmune de la prueba de Kveim es típica de la sarcoidosis⁹³.

9.3.4.- Enfermedad de Crohn. Muchos pacientes con enfermedad de Crohn exhiben una disminución generalizada en la reactividad de la inmunidad celular similar a la observada en la sarcoidosis. Las anomalías descritas comprenden alteraciones en las pruebas *in vivo* e *in vitro*, así como una disminución en el número de células T circulantes. Anergia a un panel de antígenos de recuerdo se encuentra en el 30-70% de los pacientes. Es de interés destacar que hasta un 50% de los pacientes reaccionan al antígeno de Kveim^{20,94}.

9.3.5.- Neoplasias sólidas. En pacientes afectados de tumores sólidos se han observado depresión global de las respuestas de hipersensibilidad retardada. De hecho, algunos investigadores observan que la depresión de la reactividad frente a las pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada en el momento del diagnóstico del tumor es un marcador pronóstico de la probabilidad de recidiva y/o de metástasis. No se han aclarado por completo los mecanismos que inducen la depresión de estas respuestas, aunque varios

estudios han comunicado depresión de la reactividad linfocitaria *in vitro* frente a mitógenos y antígenos de recuerdo en pacientes con cáncer y en animales de experimentación portadores de tumores^{20,95}.

9.3.6.- Trastornos reumáticos. Los pacientes con trastornos reumáticos autoinmunes presentan deficiencias variables en su inmunidad celular. Se ha descrito que la producción de IFN- γ por las células de pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide y enfermedades del tejido conectivo está disminuida⁹⁶. Antes, ya se había descrito en el LES una moderada depresión de la reactividad a los antígenos de recuerdo en las pruebas cutáneas⁹⁷.

9.3.7.- Otras enfermedades crónicas. En ciertas inmunodeficiencias congénitas existe una importante depresión de las respuestas de hipersensibilidad retardada (ataxia-telangiectasia, síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome de Di George)¹⁹.

En la hepatitis crónica activa de cualquier etiología, se puede observar reducción de las respuestas linfocitarias *in vitro*, disminución de la reactividad de las pruebas cutáneas y alteraciones en las subpoblaciones de las células T²⁰.

La expresión deteriorada de las respuestas de hipersensibilidad retardada en la insuficiencia renal crónica se manifiesta clínicamente por la prolongación en la supervivencia de los injertos y aumento de la propensión a las infecciones por gérmenes intracelulares. La patogenia de estas anormalidades es compleja, ya que implica alteraciones cualitativas y cuantitativas de las subpoblaciones linfocitarias, de los macrófagos y de los

granulocitos, impuestas tanto por el estado urémico como por el tratamiento con hemodiálisis⁹⁸⁻¹⁰⁰.

9.4.- DEPRESION FARMACOLOGICA DE LAS RESPUESTAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA.

La depresión de las respuestas de hipersensibilidad retardada de origen farmacológico se observa principalmente con los siguientes fármacos:

9.4.1.- Corticoides. Es bien conocido el efecto supresor de la reacción de hipersensibilidad retardada que producen los corticoides al cabo de unos días o semanas de tratamiento. Esta cualidad, junto a su acción antiinflamatoria, ha hecho que los corticoides se empleen en situaciones en las que las respuestas inflamatorias asociadas a la reacción de hipersensibilidad retardada a la infección son exageradas (por ejemplo, en la uveítis y meningitis tuberculosas), en el control del rechazo de trasplantes, y en numerosas enfermedades autoinmunes^{101,102}. Los corticoides inhiben la producción de la mayoría de las citocinas por linfocitos y fagocitos mononucleares¹⁰³.

En los animales, la administración de los corticoides puede aumentar la susceptibilidad a la infección así como el riesgo de reactivación de infecciones latentes. Si bien esto es válido en el hombre, la incidencia de la infección depende en gran parte de la enfermedad de base por la cual se administran los corticoides¹⁰⁴.

9.4.2.- Ciclosporina A, tacrolimus y anticuerpos monoclonales OKT3. La aparición en 1980 de la ciclosporina A como medicamento inmunosupresor contribuyó de manera sustancial a la mejora de la

supervivencia después del trasplante. La ciclosporina A es un péptido cíclico de origen micótico que afecta a la reacción de hipersensibilidad retardada por su capacidad de inhibir la activación precoz de las células T. Actúa específicamente sobre las funciones de las células T que derivan de su interacción con su receptor y que utilizan la vía de transducción de señales dependientes del calcio. Como consecuencia de ello, la actividad de la ciclosporina A inhibe la activación del gen de las linfoquinas y bloquea las interleucinas IL-2, IL-3, e IL-4, el factor de necrosis tumoral alfa y otras linfoquinas. También inhibe funciones de las células B. Este proceso tiene lugar sin afectar a las células de división rápida de la médula ósea, lo cual puede estar relacionado con la baja frecuencia de infecciones sistémicas tras el trasplante^{104,105}.

El tacrolimus, denominado inicialmente FK 506, es un antibiótico macrólido aislado de un hongo japonés del suelo (*Streptomyces tsukubaensis*). Tiene el mismo mecanismo de acción que la ciclosporina A, pero es de 10 a 100 veces más potente¹⁰⁶.

El tratamiento con anticuerpos monoclonales OKT3 contra las células T ha resultado especialmente eficaz para corregir el rechazo agudo en la fase postrasplante y constituye el tratamiento convencional del rechazo agudo que no responde a dosis masivas ("bolos") de metilprednisolona. Dada la importante depresión de la inmunidad celular que provoca, la incidencia de infecciones en general, y sobre todo por citomegalovirus, aumenta durante y después del tratamiento¹⁰⁷.

9.4.3.- Otros fármacos que pueden alterar la reacción de hipersensibilidad retardada. Los antimetabolitos de las purinas (azatioprina y metotrexato) afectan tanto a la inmunidad humoral como a las respuestas de hipersensibilidad retardada, aunque el efecto sobre estas últimas es más intenso¹⁰⁴. Igual ocurre con los agentes alquilantes (ciclofosfamida, clorambucilo, mostaza nitrogenada) y con las globulinas antilinfocitarias¹⁰⁸.

De entre todas las situaciones clínicas mencionadas capaces de alterar las respuestas de hipersensibilidad retardada, es en la infección por el VIH donde esta alteración alcanza los niveles más profundos, provocando secundariamente la amplia gama de infecciones oportunistas que caracteriza a su estadio avanzado o SIDA⁸⁹.

10.- GENESIS DE LA ALTERACION DE LA REACCION DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN LA INFECCION POR EL VIH

El SIDA es una inmunodeficiencia secundaria que aparece como consecuencia final de la infección por el retrovirus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Constituye el paradigma del deterioro de las respuestas de hipersensibilidad, ya que la principal diana del VIH es el linfocito T CD4+, que como se ha expuesto antes es el principal efector de este tipo de respuestas¹⁰⁹.

El principal dato inmunológico que caracteriza a la infección por el VIH es la progresiva y acusada disminución del número de linfocitos T CD4+ y la correspondiente inversión del cociente CD4+/CD8+. La alteración de las respuestas de hipersensibilidad retardada (fundamentales para la erradicación

de los gérmenes patógenos de crecimiento intracelular), junto con la alteración de otras respuestas inmunológicas donde los CD4+ son efectores fundamentales (como el desarrollo de células T CD8+ citotóxicas fundamentales para eliminar las células infectadas por virus o como la producción adecuada de anticuerpos por los linfocitos B), junto con el deterioro del papel cooperador/regulador que los CD4+ juegan en todas las respuestas defensivas del huésped mediante su producción de citocinas, provocan la severa inmunodeficiencia de los pacientes¹¹⁰. La consecuencia final es la aparición de infecciones por gérmenes oportunistas a lo largo de la enfermedad, sobre todo en la fase avanzada, al igual que la aparición de neoplasias de distinto origen¹¹¹.

El deterioro de la inmunidad celular en el transcurso de la infección por el VIH es, por tanto, un proceso extraordinariamente complejo en el que se encuentran implicados mecanismos patogénicos y alteraciones inmunológicas muy diferentes, muchos de los cuales no son bien conocidos, los cuales se intentarán detallar a continuación.

10.1.- EL LINFOCITO T CD4+ COMO CELULA DIANA DEL VIH.

Aunque *in vitro* se han conseguido infectar con el VIH numerosas estirpes celulares, *in vivo* éste tiene dos dianas principales: los linfocitos T CD4+ y determinadas células de estirpe macrofágica las cuales presentan también en su superficie celular la molécula CD4, como son las células dendríticas (células presentadoras de antígenos para las células T), las células de Langerhans (células dendríticas de piel y mucosas) y los macrófagos y

microglia cerebrales. Las células dendríticas foliculares de los órganos linfoides y los monocitos circulantes no se hallan infectados *in vivo*^{89,112}.

Es probable que las células dendríticas de la sangre transporten el virus hasta los tejidos, especialmente los ganglios linfáticos, donde el virus entra en contacto con las células T CD4+ susceptibles. Cuando el virus penetra localmente a través de las mucosas, serían las células de Langerhans las que transporten el virus hasta los ganglios linfáticos regionales. Las células T CD4+ de los ganglios regionales se infectan después de ponerse en contacto con las células dendríticas y de Langerhans, y la replicación viral se intensifica antes de que se inicie la respuesta inmune específica frente al VIH, dando lugar a un brote de viremia que a continuación disemina rápidamente al virus a otros órganos linfoides, al cerebro y otros tejidos¹¹³.

Los linfocitos T CD4+ de sangre periférica se encuentran infectados en una mínima proporción (1-10%). Sin embargo, el estudio de los órganos linfoides, especialmente los ganglios linfáticos, revela una enorme proporción de linfocitos T CD4+ infectados (hasta el 40%). Además, en los ganglios linfáticos se observa una enorme cantidad de viriones que se disponen esencialmente en los espacios interdigitales de las células dendríticas foliculares (que paradójicamente no se encuentran infectadas a pesar de estar materialmente recubiertas de virus) y en estrecho contacto con los linfocitos T CD4+¹¹⁴.

Los linfocitos infectados de los ganglios linfáticos se dividen en dos poblaciones diferentes. La mayoría pertenecen a una población que albergaría un genoma proviral latente, y la minoría (el 1%) albergarían a un virus

productivo Esta última población de linfocitos T CD4+ sería la responsable de la ingente producción de viriones observada en el paciente infectado (alrededor de 10^{10} partículas virales/día), y representaría la población destruida por efecto citopático directo, la cual tendría una vida media inferior a 24 horas (alrededor de 10^8 células/día). La progenie viral producida infectaría a su vez un número similar de células T CD4+ (1% del total). Esta población infectada *de novo* estaría constituida por linfocitos activados, especialmente aquellos que se encuentran en estadio de división para “regenerar” el *pool* linfocitario destruido. En estos linfocitos, debido a su estado de activación, el VIH experimentaría una replicación rápida, aparentemente sin período de latencia. Se configura así un cuadro en el que los centros germinales y en especial las prolongaciones interdigitales de las células foliculares dendríticas recubiertas de virus representarían una interfase que facilitaría el reclutamiento y la infección de linfocitos activados que serían infectados productivamente por el VIH y destruidos por efecto citopático. Simultáneamente, existiría un *pool* linfocitario mayoritario en el que el virus permanecería en un estado de latencia absoluta, sin que se conozca en la actualidad la cinética de transición de estas células latentes al *pool* de replicación activa¹¹⁵.

El porcentaje de células macrofágicas infectadas es muy reducido. En los ganglios linfoides sólo uno entre 15.000-100.000 macrófagos se halla infectado. En macrófagos, la cinética de replicación es diferente a la observada en los linfocitos T CD4+. En los macrófagos el VIH se comportaría como un lentivirus clásico, manteniendo una replicación constante a bajo nivel y con un efecto citopático lento, lo que permitiría que en estas células el VIH

constituyera reservorios de larga evolución. Las consecuencias de esta infección lenta en macrófagos serían, por una parte, la alteración de determinadas funciones inmunológicas, como la síntesis de factores de crecimiento, citocinas y quimiocinas, y, por otra, la alteración de las funciones de "soporte" celular en el sistema nervioso central^{112,116}.

10.2.- TROPISMO CELULAR DEL VIH.

Muchos aislados primarios del VIH se replican bien en los linfocitos T y en los macrófagos (virus con tropismo por los macrófagos), mientras que otros aislados se replican sólo en los linfocitos T (virus con tropismo por las células T). En las primeras fases evolutivas de la enfermedad, en la sangre predominan los virus con tropismo por los macrófagos, mientras que con el paso del tiempo y al progresar la enfermedad, predominan los virus con tropismo por las células T. De igual modo, los virus aislados de los pacientes al principio de la enfermedad han sido caracterizados como no inductores de sincitios (NIS) en los análisis *in vitro*, mientras que los virus aislados en las fases tardías de la enfermedad son típicamente inductores de sincitios (IS). El paso de un virus desde el estado de NIS/tropismo por los macrófagos al de IS/tropismo por las células T en un individuo infectado se asocia al inicio de un declive más rápido del número de células T CD4+¹¹³. Posteriormente se ha demostrado que el tropismo celular indica en realidad la presencia de co-receptores específicos para las cepas del VIH con distinto tropismo, como después veremos.

10.3.- CICLO BIOLÓGICO DEL VIH EN EL LINFOCITO T CD4+.

Es necesario conocer el ciclo biológico del VIH para entender las consecuencias inmunopatológicas de su infección.

10.3.1.- Interacción con los receptores y entrada del virus en la célula. La entrada del VIH en la célula se produce mediante la interacción con dos tipos de receptores. Por una parte existe un receptor específico y común a todos los subtipos del VIH, la molécula CD4. Esta proteína está presente en la superficie de los linfocitos T colaboradores y en células de estirpe mononuclear-fagocítica, lo que determina el tropismo viral por estos dos tipos celulares¹¹⁰. Sin embargo, muy pronto se observó que la presencia de la molécula CD4 era condición necesaria pero no suficiente para permitir la entrada del VIH en la célula. Se requerían además otras moléculas, denominadas inicialmente factores de fusión o co-receptores, que se han buscado intensamente durante 10 años de investigación. Recientemente se ha caracterizado el co-receptor viral, el cual, en realidad, no es un receptor único, sino una familia de proteínas que a su vez son receptores de quimiocinas¹¹⁷. Las quimiocinas constituyen una familia de mediadores inmunológicos de la que se han descrito al menos 30 proteínas diferentes, y que se dividen en tres grupos: quimiocinas C, CC y CXC¹¹⁸. Son moléculas solubles de bajo peso molecular con la función principal de ser mediadores inflamatorios implicados en los procesos de migración y activación leucocitarias. Son producidas por monocitos, polimorfonucleares, y linfocitos T CD4+ y CD8+, así como por otras estirpes celulares. Para realizar su función, las quimiocinas interactúan con distintos receptores situados en la membrana celular, los cuales se clasifican,

de acuerdo a su capacidad para unir distintas quimiocinas, en CC y CXC. Entre los múltiples receptores descritos, algunos actúan a su vez como co-receptores del VIH. Los más importantes son CCR5 y CXCR4. El primero une las CC-quimiocinas RANTES (*regulation-upon-activation, normal T expressed and secreted*: quimiocinas de regulación por activación, expresadas y secretadas en células T normales), la proteína inflamatoria de los macrófagos 1- α (MIP-1 α) y la MIP-1 β ; y es el principal receptor de las cepas del VIH monocitotropas/NIS (actualmente denominadas R5)¹¹⁹. El receptor CXCR4 (antes denominado fusina) tiene como ligando natural la quimiocina SDF (factor derivado de las células del estroma) y es el principal receptor de las cepas del VIH denominadas linfotropas/IS (actualmente denominadas X4)^{113,119}.

La conformación de distintas regiones de la proteína viral gp120, especialmente el bucle V3, condiciona el tropismo de los distintos aislados virales¹¹⁹. Las quimiocinas que se unen a CCR5 y CXCR4, muy especialmente RANTES y SDF, son capaces de inhibir la infección por el VIH debido a un fenómeno de interferencia en la unión con sus co-receptores y, con toda probabilidad, constituyen un potente mecanismo antiviral *in vivo* que ha permitido entender la resistencia a la infección observada en una serie de pacientes altamente expuestos al VIH y no infectados^{120,121}.

Una vez realizada la interacción entre la gp120 y sus receptores, se produce un procedimiento de fusión entre las membranas viral y celular en el que participa la proteína viral gp41 y que permite la internalización de la nucleocápside viral y la desencapsidación el genoma vírico. En el citosol celular se produce la síntesis de una doble hebra de ADN a partir del genoma ARN del

virus mediante la acción de la transcriptasa inversa. Este ADN es transportado al núcleo, donde se integra en el genoma del huésped constituyendo la forma proviral del VIH¹¹⁹.

10.3.2.- Latencia y reactivación del VIH. Una vez integrado el VIH puede seguir un comportamiento variable: permanecer latente o experimentar una replicación masiva con el consiguiente efecto citopático sobre la célula infectada. El paso de la fase de latencia a la de replicación supone un proceso esencial en la inmunopatogenia de la infección por el VIH y se examina con mayor detalle a continuación⁸⁹.

10.4.- PAPEL DE LA ACTIVACION CELULAR DEL LINFOCITO T CD4+ EN LA INMUNOPATOGENIA DE LA INFECCION POR EL VIH.

El cuadro inmunológico de la infección por el VIH es muy paradójico ya que, junto a un cuadro de destrucción de linfocitos T CD4+ intenso y progresivo, existen fenómenos de activación linfocitaria que se observan en todos los estadios de la infección. La activación del sistema inmunitario es un hecho esencial para que se produzca una respuesta inmunitaria adecuada frente a un antígeno extraño. Una vez que la respuesta inmunitaria se enfrenta al antígeno y lo elimina, el sistema recupera su estado de latencia relativa¹¹³.

Como ya se ha mencionado, los linfocitos T CD4+ albergan mayoritariamente el genoma viral en forma latente⁸⁹. A partir del estado de provirus integrado, la replicación del VIH comienza mediante la transcripción del genoma viral. La parte inicial de este proceso, denominada iniciación de la transcripción, depende de factores celulares y se produce en ausencia de

proteínas virales. El principal factor celular implicado en el paso de la fase de latencia viral a la de reactivación es el factor NF-kB, una familia de proteínas las cuales regulan la transcripción de múltiples genes celulares implicados en los procesos de reconocimiento y activación inmunes^{122,123}. Este factor no existe de forma activa en los linfocitos T CD4+ en estado de reposo celular y es inducido únicamente en el curso de los procesos de activación inmunológica. Esto explica que la replicación del VIH dependa absolutamente de la activación de los linfocitos infectados. En efecto, cuando se cultivan los linfocitos de sangre periférica de un paciente seropositivo es imposible detectar replicación viral a menos que las células sean activadas *in vitro* mediante mitógenos o antígenos. La estrategia de adaptación del VIH al entorno celular de los linfocitos T CD4+ se basa, por tanto, en que la replicación viral depende de factores celulares que son inducidos sólo cuando la célula es activada para intentar combatir la infección por el propio VIH. De esta manera, el linfocito T CD4+ representa un doble nicho ecológico en el ciclo biológico del VIH: en estado de reposo celular permite la latencia viral y, por el contrario, la activación celular induce en el linfocito T CD4+ las proteínas de la familia NF-kB necesarias para iniciar la transcripción del genoma viral, transformándose así en una célula especialmente permisiva para la replicación del VIH¹¹⁹. Dicha replicación provocará un efecto citopático directo para las células T CD4+ infectadas⁸⁹.

En la infección por el VIH, el sistema inmunitario está permanentemente activado debido a la cronicidad de la infección y a la persistente replicación del virus. Este estado de activación se refleja en la hiperactividad de las células B

que da lugar a hipergammaglobulinemia; en la proliferación espontánea de los linfocitos y en la activación de los monocitos observadas en los estudios *in vitro*; en la expresión de marcadores de activación por parte de las células T CD4+ y CD8+; en la hiperplasia de los ganglios linfáticos (observada sobre todo en las primeras etapas de la enfermedad); en la mayor secreción de citocinas proinflamatorias; en las concentraciones elevadas de neopterina, β_2 -microglobulina, interferón acidolábil; en el aumento de receptores solubles de la IL-2; y en algunos fenómenos autoinmunitarios observados¹¹³.

Se piensa que algunos superantígenos (antígenos capaces de estimular a una gran proporción de clones distintos de células T, en lugar de la estimulación convencional de un pequeño número de células T por un antígeno convencional), codificados tanto por el VIH como relacionados con otros microorganismos, pueden contribuir a la patogenia de la enfermedad¹²⁴. Estos superantígenos podrían inducir una estimulación masiva de las células T CD4+ y volverlas más susceptibles a la infección por el virus¹¹³.

10.5. MECANISMOS DE DESTRUCCION DEL LINFOCITO T CD4+.

El VIH presenta una cinética de replicación muy agresiva que provoca destrucción directa de los linfocitos CD4+ por efecto citopático directo¹²⁵. Es difícil explicar por completo la profunda inmunodeficiencia que se observa en los individuos infectados por el VIH basándose únicamente en la infección directa y en la depleción cuantitativa de las células T CD4+. Esto es especialmente obvio en las primeras etapas de la enfermedad por el VIH, cuando el número de células T CD4+ puede estar solo levemente disminuido.

Sin duda, cuando la enfermedad está avanzada y la cifra de células T CD4+ se encuentra entre 0 y 50/ μ L, la depleción cuantitativa puede explicar por sí sola los defectos de la inmunidad. Sin embargo, es probable que el trastorno funcional de las células T CD4+ se deba a una combinación de la depleción celular por la acción directa de la infección con mecanismos indirectos de destrucción de linfocitos T CD4+, los cuales jugarían también un importante papel en los fenómenos de disregulación inmune que se observan en la infección por el VIH¹⁰⁹.

10.5.1.- Mecanismos de destrucción directa de los linfocitos T CD4+: efecto citopático directo mediado por el VIH. Hemos comentado que la activación celular hace que el linfocito T CD4+ se convierta en una célula especialmente permisiva para la replicación del VIH la cual conlleva un efecto citopático directo. La destrucción por efecto citopático directo representa la causa más importante *in vivo* de destrucción linfocitaria¹²⁵.

El mecanismo exacto de la muerte celular *in vivo* se desconoce, pero el efecto citopatógeno que una célula infectada sufre *in vitro* puede ocurrir por varios mecanismos, como son la salida copiosa de viriones de la superficie celular con la consiguiente pérdida de la integridad de la membrana celular; la interferencia con el procesamiento del ARN celular; la alteración de la síntesis de las proteínas celulares debida a la gran cantidad de ARN viral; la acumulación en el citoplasma celular de gran cantidad de ADN viral sin integrar; la inducción de formas aberrantes en la fosforilización de la tirosina de las proteínas; y las interacciones intracelulares entre la gp120 del VIH y la molécula CD4¹¹³.

10.5.2.- Formación de sincitios mediada por el VIH. La destrucción de las células como elementos separados y la formación de sincitios entre las células infectadas y no infectadas se ha demostrado claramente *in vitro*. La formación de sincitios consiste en la fusión de la membrana de una célula infectada con la membrana de un número variable de células T CD4+ no infectadas. No se ha demostrado que la fusión celular sea un proceso patogénico importante *in vivo*, pero *in vitro* se ha comprobado que existe una relación directa entre la presencia de sincitios y la intensidad del efecto citopático, y se ha descrito una relación entre la presencia de aislados de virus que inducen fácilmente la formación de sincitios *in vitro* y una evolución clínica más agresiva. La formación eficiente de sincitios depende de la molécula de adhesión leucocitaria LFA-1 que se encuentra en las células T CD4+ que han sufrido *in vitro* la infección aguda por el VIH^{89,109}.

10.5.3.- Destrucción por mecanismos inmunes y autoinmunes. En este grupo se engloba una serie de hipótesis que postulan que sería el propio sistema inmune el que originaría la destrucción de linfocitos T CD4+ debido a un reconocimiento erróneo de sus dianas. Las respuestas de la inmunidad humoral y celular al VIH pueden ejercer un efecto protector al eliminar el virus y las células infectadas por él. Sin embargo, como las dianas principales del VIH son las células inmunocompetentes, esas respuestas pueden favorecer la depleción de las células inmunitarias mediante la eliminación tanto de las células infectadas como de las que son simplemente "espectadores inocentes" (las proteínas solubles del virus, especialmente la gp120, se pueden unir con

gran afinidad a las moléculas CD4 de la superficie de los monocitos y las células T no infectadas)^{109,119}.

Existen reacciones cruzadas entre las proteínas del VIH (gp120 y gp41) y los determinantes antigénicos de la clase II del MHC, habiéndose descrito anticuerpos dirigidos contra las moléculas de la clase II del MHC. Estos anticuerpos podrían verosímilmente causar la eliminación de las células que contiene los determinantes de la clase II del MHC a través de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (células *natural killer* con receptores Fc se arman de anticuerpos específicos anti-VIH, los cuales se unen por su porción Fc al receptor Fc de la célula *natural killer*, y a su vez se unen a las células que expresan los antígenos del VIH, destruyéndolas)^{109,113,126}.

10.5.4.- Muerte celular programada o apoptosis. La activación celular sostenida e inapropiada desempeña un papel esencial en el fenómeno de la apoptosis, que puede ser un mecanismo importante de la muerte de las células no infectadas en la infección por el VIH¹⁰⁹. La apoptosis o muerte celular programada representa un mecanismo fisiológico mediante el cual la célula se “suicida” de forma controlada. Los mecanismos de apoptosis son naturales e incluso protectores frente al crecimiento incontrolado celular (constituyen un mecanismo normal de eliminación de células superfluas y dañadas) y cumplen un papel muy importante en la embriogénesis, proliferación y diferenciación hematopoyética, control de la proliferación tumoral, y sobre todo en la regulación de la proliferación celular que se produce durante las respuestas inmunitarias normales¹²⁷. En este último sistema se ha comprobado que el bloqueo de la molécula CD4 mediante anticuerpos monoclonales, previamente

a la activación del receptor antigénico, lleva a la apoptosis de la célula activada. Por lo tanto, una activación asincrónica o incompleta de los linfocitos T CD4+ origina una activación anormal de la célula que la lleva a un programa de muerte por apoptosis en vez de inducir una respuesta inmune adecuada. Se ha demostrado que el contacto de la proteína viral gp120 con los linfocitos T CD4+ tiene un efecto similar al descrito mediante la utilización de anticuerpos anti-CD4, e induce apoptosis si las células son activadas posteriormente¹⁰⁹.

La apoptosis podría representar un mecanismo de destrucción de linfocitos T CD4+ en la infección por el VIH que afectaría no sólo a las células infectadas sino que podría provocar la destrucción de linfocitos no infectados preactivados anormalmente por gp120 unida a sus receptores. Se ha demostrado que en ganglios linfáticos de pacientes infectados existe *in vivo* una mayoría de células apoptóticas que no se encuentran infectadas y una minoría de células que replican activamente el virus y no presentan signos de apoptosis. Estos datos deben ser confirmados, pero sugieren que la apoptosis puede ser un mecanismo indirecto complementario de la destrucción por efecto citopático directo¹²⁸.

10.5.5.- Anergia causada por señalización celular inadecuada. Se ha descrito que determinados componentes del VIH (sobre todo las proteínas gp120 y Tat) inducen anergia en distintos modelos *in vitro* (falta de activación linfocitaria en respuesta a estímulos). Este fenómeno traduce un defecto de transducción de señal en los linfocitos T y puede ser originado por distintos mecanismos: alteración de la síntesis de citocinas, interferencia con las proteínas de membrana implicadas en la activación de las células T,

interferencia en los mecanismos de presentación antigénica, defectos en la expresión de receptores para citocinas, o síntesis de factores supresores. En el caso concreto de la gp120, la anergia está muy probablemente inducida por la interacción con la molécula CD4 en la superficie celular. La unión de complejos gp120/anti gp120 a las moléculas CD4 de la superficie celular daría lugar a alteraciones en la transducción de la señal celular. En el caso de la proteína Tat, el mecanismo es mal conocido, aunque algunos datos sugieren que podría actuar sobre una proteína de membrana que induciría una señal de transducción negativa. Probablemente mucho de los casos de anergia conducen a fenómenos de apoptosis debido a la activación inadecuada de la célula^{63,129,130}.

10.5.6.- Defecto en la regeneración de células T CD4+. Se ha propuesto que los intentos del sistema inmunitario de mantener la homeostasis de las células T ayudan a que disminuya progresivamente el número de células T CD4+. La teoría de la homeostasis "ciega" de las células T sostiene que cuando las células T CD4+ ó CD8+ se deplecionan selectivamente, el sistema inmunitario está programado para restaurar el número total de células T "a ciegas", con independencia del subgrupo de células deplecionado. En los individuos infectados que presentan una disminución selectiva de las células T CD4+, se formarían células T tanto CD4+ como CD8+ para restablecer la homeostasis. Por ello, el descenso de células T CD4+ sería proporcionalmente mayor que el de células T CD8+ al mantenerse el número total de células T. Si esta hipótesis es cierta, sólo puede aplicarse a las primeras etapas de la

enfermedad por el VIH, puesto que conforme la enfermedad progresa a los estadios avanzados, descienden tanto las células CD4+ como las CD8+^{89,109}.

Hay al menos otros dos mecanismos que pueden contribuir a la incapacidad de regeneración de las células T CD4+. Uno es la destrucción de las células precursoras del sistema linfoide, que comprenden a los progenitores del timo y la médula ósea. El otro es la destrucción paulatina del microambiente del tejido linfoide, que es esencial para que se produzca una regeneración adecuada de las células inmunocompetentes¹¹³.

10.5.7.- Producción anormal de citocinas y desequilibrio entre distintas subpoblaciones de linfocitos T CD4+. Varios autores han propugnado que un desequilibrio entre las subpoblaciones de linfocitos T CD4+ Th1 y Th2 (a favor de estos últimos) juega un papel primordial en la inmunodeficiencia asociada a la infección por el VIH¹³¹. Según esta teoría, el VIH infectaría y destruiría preferentemente clones Th1 y originaría, por una parte, una disminución de la actividad citotóxica antiviral con el consiguiente aumento de la replicación viral y, por otra, una inmunosupresión secundaria a una mayor actividad Th2. Esta teoría no es compartida sin embargo por otros autores y es cuestionada en la actualidad¹³².

En los pacientes seropositivos existen patrones de producción *in vitro* de citocinas diferentes a los de los sujetos no infectados. Así, se ha descrito una producción aumentada de IL-10, IL-4 e IL-5 y disminuida de IL-12, IL-2 e IFN- γ ¹³³. Para los autores que propugnan una alteración del equilibrio entre subpoblaciones Th1 y Th2 de linfocitos T CD4+, la síntesis alterada de citocinas sería expresión de este desequilibrio. Como además de las células T

CD4+ hay otras células que secretan estas citocinas, es más exacto denominar a las respuestas inmunitarias que reflejan uno u otro patrón de citocinas como respuestas de tipo T-1 o T-2. Se ha invocado que un paso esencial en la patogenia de la enfermedad por el VIH consistiría en un cambio brusco de las citocinas de tipo T-1 a las de tipo T-2¹³¹. Sin embargo, estos patrones de producción de citocinas no han sido confirmados en otros trabajos y el dato más coherente parece corresponder a la alteración del cociente IL-10/IL-12. Se ha demostrado que este desequilibrio se asocia a una mayor apoptosis, que puede ser corregida mediante la adición de IL-12 al cultivo o mediante la neutralización de la IL-10 mediante anticuerpos¹³⁰.

10.6.- ALTERACIONES FUNCIONALES DE LOS LINFOCITOS T CD4+.

En la enfermedad avanzada por el VIH prácticamente todos los defectos inmunológicos pueden explicarse por la depleción cuantitativa de las células T CD4+. Sin embargo, en el curso de la infección, pueden demostrarse precozmente, *in vitro* e *in vivo*, alteraciones de las funciones de las células T incluso cuando el recuento de las células T CD4+ se encuentra en los límites bajos de la normalidad. La intensidad y diversidad de estas alteraciones funcionales aumentan a medida que progresa la enfermedad^{134,135}.

Una de las primeras alteraciones que se detectan *in vitro* es un defecto en las respuestas a los antígenos de recuerdo remoto, como el toxoide tetánico y los antígenos de la gripe. Los defectos de respuesta a los antígenos solubles van seguidos en el tiempo por la pérdida de las respuestas proliferativas de las células T a los aloantígenos (antígenos procedentes de individuos de la misma

especie), y posteriormente a los mitógenos. Se ha informado que prácticamente todas las funciones de las células T son anormales en algún estadio de la infección por el VIH. Estas alteraciones consisten en un rendimiento defectuoso de la clonación y formación de colonias de células T, en menor expresión de los receptores de la IL-2, producción defectuosa de IL-2, menor producción de INF- γ en respuesta a los antígenos, deterioro en la producción de anticuerpos por los linfocitos B mediada por la célula CD4+, y deterioro de la capacidad citotóxica de los linfocitos T CD8+ específicos del VIH mediada por los linfocitos T CD4+¹¹³.

In vivo, la alteración funcional de la inmunidad celular en la infección por el VIH puede ponerse de manifiesto mediante una prueba sencilla como es el uso de un panel antigénico para el análisis de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada¹³⁶.

11.- UTILIDAD DEL ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN LA INFECCION POR EL VIH

La información que ofrece el estudio de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en los pacientes con infección por el VIH se analiza a continuación.

11.1.- UTILIDAD DE LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA (PPD) EN EL CONTROL DE LA TUBERCULOSIS EN EL MARCO DE LA INFECCION POR EL VIH.

En los últimos años la incidencia de casos de tuberculosis ha aumentado de forma considerable, siendo este aumento particularmente importante entre personas infectadas por el VIH^{137,138}. En la población general, la tasa de incidencia de tuberculosis en España es de 38,5 por 100.000 habitantes, de los cuales el 17,7% son pacientes con infección por el VIH (máximo de 27,2% en Andalucía y mínimo de 8,7% en Galicia)¹³⁹. En 1994, momento de la mayor tasa de incidencia de SIDA en España, se comunicaron 7.199 casos de SIDA, el 41,8% de ellos con tuberculosis, lo cual implica una tasa de coinfermedad tuberculosis-SIDA de 7,6 por 100.000 habitantes. El 18,3% del total de casos de tuberculosis en pacientes con infección por el VIH corresponde a individuos en prisiones¹⁴⁰. España tiene actualmente la tasa de coinfección VIH-*M. tuberculosis* más elevada del mundo occidental¹⁴¹. La Secretaría del Plan Nacional sobre el SIDA (SPNS) ha comunicado que los porcentajes globales de respuestas positivas a la PPD en los pacientes infectados por el VIH son del 15-16%¹⁴². Más de la mitad de los internos de instituciones penitenciarias con infección por el VIH son PPD-positivos¹⁴⁰.

Además de esta elevada frecuencia de coinfermedad tuberculosis-SIDA y de coinfección *M. tuberculosis*-VIH, la tuberculosis en el contexto de la infección por el VIH es importante por varias razones. En primer lugar hay que considerar que la tuberculosis es la única infección relacionada con el VIH transmisible de persona a persona, incluyendo la población normal inmunocompetente¹⁴³. En

segundo lugar, es una enfermedad curable si se diagnostica y trata adecuadamente¹⁴⁴. En tercer lugar, existe evidencia de que puede prevenirse en la población infectada por el VIH, como en el resto de la población, mediante quimioprofilaxis¹⁴⁵. Estos hechos, junto con la aparición de brotes de tuberculosis causados por organismos resistentes a múltiples drogas¹⁴⁶, justifican el enorme interés que la tuberculosis ha recuperado y la necesidad de crear estrategias para evitar su creciente aumento, en las que la quimioprofilaxis juega un papel fundamental.

Basándose en estudios que demostraron la eficacia de la profilaxis antituberculosa en pacientes con infección por el VIH y reacción positiva a la PPD^{147,148}, y en estudios que demostraron el alto porcentaje de pacientes con infección por el VIH con PPD positiva que desarrollan tuberculosis sin profilaxis (un 8% anual)¹⁴⁹⁻¹⁵¹, se recomienda que a todo paciente con infección por el VIH debe realizársele un test con PPD, y que aquellos que tengan una reacción a PPD mayor o igual a 5 mm, deben ser sometidos a quimioprofilaxis antituberculosa una vez descartada la presencia de tuberculosis activa¹⁴⁵. Aunque no está bien definido que fármacos emplear ni durante cuanto tiempo, los CDC recomiendan utilizar isoniacida durante 9 meses⁴³.

11.2.- UTILIDAD DEL USO DE OTROS ANTIGENOS DE RECUERDO PARA VALORAR UNA RESPUESTA NEGATIVA A LA PPD.

La inmunosupresión progresiva, predominantemente celular, provocada por el VIH, se puede traducir en una incapacidad para producir respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada a los antígenos de recuerdo (anergia

cutánea)^{50,63,152}. Así, se ha demostrado falta de respuesta a PPD entre personas asintomáticas con infección por el VIH, los cuales tenían alta probabilidad de haber adquirido la infección tuberculosa¹⁵³. Este dato indica que existe un grupo de pacientes infectados por *M. tuberculosis* con respuesta negativa a la PPD que quedan excluidos de programas de profilaxis debido a la negatividad de la prueba. Por lo tanto, una prueba tuberculínica negativa en el marco de la infección por VIH podría ser atribuida a una falta verdadera de exposición a la tuberculosis o simplemente a la incapacidad del paciente de manifestar una apropiada respuesta de hipersensibilidad retardada³⁴.

Por ello, en los pacientes con infección por el VIH, es de utilidad no sólo aplicar PPD, sino también realizar concomitantemente otros tests cutáneos de hipersensibilidad retardada con antígenos a los que la mayoría de la población haya estado expuesta ("antígenos de control"), con objeto de evaluar si la negatividad a la PPD es por ausencia de infección tuberculosa (PPD negativa pero respuesta a los antígenos de control) o está inducida por anergia secundaria a inmunodepresión (no respuesta a PPD ni a los antígenos de control)¹⁵⁴.

Aunque este fenómeno de anergia cutánea en personas infectadas por el VIH se correlaciona con el recuento de linfocitos T CD4+ (mayor probabilidad de anergia a menor recuento de linfocitos T CD4+)¹⁵⁵, el 10% de pacientes infectados con VIH y recuento de linfocitos T CD4+ mayor de 500/ μ L pueden mostrar anergia cutánea¹⁴⁹, y a la inversa, hasta el 27% de pacientes con recuento de linfocitos T CD4+ menor de 200/ μ L presentan respuestas cutáneas adecuadas de hipersensibilidad retardada¹⁵⁴. Por consiguiente, el grado de inmunosupresión medido por el recuento de linfocitos T CD4+ no debería ser

un factor selectivo para considerar a una persona candidata o no para el estudio de anergia. Otros factores distintos a los linfocitos T CD4+ deben jugar un papel importante en la presencia de anergia cutánea, pero estos factores no son bien conocidos.

11.3.- ANERGIA COMO FACTOR DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE TUBERCULOSIS ACTIVA EN EL PACIENTE CON INFECCION POR EL VIH.

Aparte de aquellos pacientes con positividad a la PPD, existen otros dos grupos de individuos con infección por el VIH en los que se ha demostrado un riesgo elevado de desarrollo de tuberculosis: aquellos que, independientemente de cómo sea su respuesta a la PPD, han tenido contacto con personas diagnosticadas de tuberculosis activa, y los pacientes anérgicos¹⁵⁶.

Así, diversos estudios en pacientes con infección por el VIH han evidenciado que los pacientes anérgicos tenían más riesgo de tuberculosis que los pacientes PPD-negativos no-anérgicos de la misma población^{151,152,157,158}. Un estudio en nuestro país demostró incluso mayor incidencia de enfermedad tuberculosa en los pacientes con infección por el VIH anérgicos que en pacientes con infección por el VIH PPD-positivos sin quimioprofilaxis¹⁵⁰. Además, entre los pacientes infectados por el VIH que tienen PPD positiva, los datos de otro estudio demostraron que aquellos que no respondieron a un antígeno de control tuvieron más riesgo de tuberculosis activa que los pacientes con PPD positiva que reaccionaron al antígeno de control¹⁵⁸. También, aunque el recuento de linfocitos T CD4+ en los pacientes con infección por el VIH+ ha mostrado relación inversa con el riesgo de tuberculosis activa, el ser anérgico ha sido asociado por sí mismo

con un riesgo elevado de tuberculosis, incluso después de que los datos fueran estratificados por el recuento de linfocitos T CD4+^{157,158}.

11.4.- ANERGIA Y DECISIONES RESPECTO A LA QUIMIOPROFILAXIS DE LA TUBERCULOSIS EN LA INFECCION POR EL VIH.

En 1991, la División para Eliminación de la tuberculosis de los CDC³⁴, basándose en el marcado beneficio obtenido con la administración de isoniacida en pacientes usuarios de drogas inyectadas (UDI) con infección por el VIH y que tenían reacciones cutáneas negativas a la PPD¹⁵⁹, recomendó que una vez demostrada la existencia de anergia cutánea en pacientes infectados por el VIH, la profilaxis antituberculosa fuera considerada para los anérgicos con mayor riesgo de infección tuberculosa: aquellos anérgicos que tuvieran contactos con enfermos con tuberculosis activa y aquellos anérgicos que pertenecieran a grupos donde la prevalencia de infección tuberculosa fuera del 10% o más (en EE.UU. estos grupos eran los UDI, presos, indigentes, inmigrantes y nacidos en Asia, Africa y Latinoamérica¹⁶⁰). Dado que en España la prevalencia de infección tuberculosa ha sido estimada en un 29%-30%^{143,161}, la recomendación de profilaxis podría ser extendida a todos los pacientes infectados por el VIH anérgicos. Esta recomendación se vio apoyada por los estudios comentados anteriormente que evidenciaron un mayor riesgo de tuberculosis activa en los pacientes anérgicos^{150-152,157,158}.

Sin embargo, dos estudios recientes de profilaxis con isoniacida (6 meses) en pacientes con infección por el VIH anérgicos en riesgo para infección por *M. tuberculosis*, han hecho variar estas recomendaciones, al mostrar uno de ellos un

riesgo bajo para el desarrollo de tuberculosis en pacientes anérgicos, y al mostrar el otro, falta aparente de beneficio de la quimioprofilaxis en dichos pacientes^{162,163}. El primer estudio, llevado a cabo en EE.UU, no evidenció efecto significativo de la profilaxis, a pesar de un 56% de reducción en la tasa de tuberculosis (de 0,9 por 100 personas-año en los que recibieron placebo a un 0,4 por 100 personas-año en los que recibieron isoniacida¹⁶²). El fallo para encontrar significación estadística con una reducción estimada del 56% en la aparición de tuberculosis pudo resultar de una tasa de tuberculosis en los receptores de placebo más baja de la esperada. Los investigadores concluyeron que a causa de la baja tasa de tuberculosis en el grupo placebo, la terapia preventiva tendría mínimo impacto en reducir la tasa de tuberculosis en pacientes con infección por el VIH y anérgicos, y resultaría en un alto número de pacientes sin infección tuberculosa que recibirían profilaxis. El otro estudio, llevado a cabo en Uganda, sí demostró una alta tasa de casos de tuberculosis (tres por 100 personas-año) en el grupo placebo, pero sólo una reducción, estadísticamente insignificante, del 17% en los receptores de isoniacida (es de destacar que este estudio sólo empleó un antígeno de control para determinar la presencia de anergia en un paciente sin respuesta a la PPD)¹⁶³.

En 1997, Los CDC, basándose principalmente en estos dos estudios, retiraron la recomendación de aplicar a los pacientes con infección por el VIH, de forma rutinaria, antígenos de control junto con PPD para valorar una respuesta negativa a la misma, de cara a la estrategia de quimioprofilaxis⁵⁰. Sin embargo, aparte de reconocer el valor de estos procedimientos como herramienta para obtener información de la competencia de la inmunidad celular en los pacientes

con infección por el VIH, se afirmó que, en situaciones especiales, el estudio de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada podría ayudar a tomar decisiones respecto a la quimioprofilaxis en situaciones seleccionadas (así algunos expertos han recomendado posteriormente la quimioprofilaxis en pacientes con infección por el VIH PPD-negativos o anérgicos que residan en instituciones que poseen un alto riesgo continuado de exposición a *M. tuberculosis*, como las instituciones penitenciarias)^{145,164}.

Un estudio reciente ha vuelto a plantear la cuestión de la profilaxis en los anérgicos al encontrar una reducción significativa en el riesgo de tuberculosis en los pacientes anérgicos que recibieron quimioprofilaxis frente a los anérgicos que no la recibieron¹⁶⁵, y en nuestro país hay autores que siguen recomendando en la actualidad la quimioprofilaxis en dichos pacientes¹⁶⁶.

11.5.- EL ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA COMO HERRAMIENTA PARA LA OBTENCION DE INFORMACION SOBRE LA INMUNIDAD CELULAR Y COMO FACTOR PRONOSTICO EN LA INFECCIÓN POR EL VIH.

Es bien conocido que la alteración funcional de las células T en el marco de la infección por el VIH precede a la depleción en el número de las mismas^{134,135}. El estudio de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada es un modo rápido, fácil y barato para valorar *in vivo* la alteración funcional de las células T¹³⁶, y ofrece, por tanto, importante información complementaria a la obtenida con los parámetros que miden la alteración cuantitativa de la inmunidad (recuento de subpoblaciones de linfocitos T) y los

parámetros que miden la replicación viral (cuantificación del ARN viral). No es bien conocido si la mejora en el recuento de los linfocitos T CD4+ tras la supresión de la carga viral con los modernos fármacos antirretrovirales se acompaña de una mejoría en las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada, lo cual podría servir como herramienta para medir la restauración funcional del sistema inmune tras el tratamiento antirretroviral¹⁶⁷.

El estudio de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada ofrece, además importante información pronóstica en los pacientes infectados por el VIH. Tras varios estudios, ha quedado claro que los pacientes con infección por el VIH con anergia cutánea constituyen un grupo especial de pacientes con mayor riesgo de progresión a enfermedad avanzada sintomática, SIDA y muerte, que los pacientes no anérgicos^{155,168-173}.

En la misma línea, dos estudios sugieren que la mortalidad puede estar incrementada en los pacientes con infección por el VIH que tienen tuberculosis activa y que no respondieron a PPD comparados con los pacientes del mismo grupo que sí respondieron a la PPD^{174,175}.

12.- ELECCION DE LOS ANTIGENOS PARA EL ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN LA INFECCION POR EL VIH.

Como ya hemos comentado, para valorar correctamente la capacidad del paciente para manifestar una respuesta de hipersensibilidad retardada, se deben aplicar aquellos antígenos de recuerdo que discriminen mejor la presencia de anergia, empleando antígenos a los que respondería la mayoría de la población

con inmunidad mediada por células intacta⁵⁴. En los pacientes con infección por el VIH, los antígenos recomendados por los CDC son, junto con la PPD, una pareja a elegir entre toxoide tetánico, *Candida* y antígeno del virus de la parotiditis aplicados por técnica de Mantoux^{34,50}. Otros autores prefieren, en cambio, el uso de MULTITEST^{136,176}. Los CDC recomiendan preferentemente el empleo de los antígenos administrados por técnica de Mantoux sobre MULTITEST en base a problemas técnicos con su uso. Aún cuando la concentración de antígeno cargado en el MULTITEST puede ser constante de lote a lote, la cantidad de antígeno depositada en la piel es desconocida y puede variar según la naturaleza de la piel del sujeto y el método de administración³⁴. Los autores que prefieren MULTITEST se basan en su facilidad de administración y menor riesgo potencial de accidentes por punción^{136,176}, y en el hecho de que, de los antígenos recomendados para administración por técnica de Mantoux, el antígeno del virus de la parotiditis es el único estandarizado, por lo que podría haber cierta variación de lote a lote en potencia y grado de respuesta³⁴.

A pesar de estas recomendaciones hasta la fecha no se han realizado estudios comparativos con las dos técnicas en pacientes infectados por el VIH.

II. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

1.- MARCO REFERENCIAL

Dentro de los mecanismos de defensa del huésped, la inmunidad celular, mediante la reacción de hipersensibilidad retardada mediada por los linfocitos T, es el principal factor de resistencia frente a infecciones por agentes de crecimiento intracelular como micobacterias, hongos, virus y protozoos¹⁷. El estudio de las respuestas de hipersensibilidad retardada mediante el empleo de pruebas cutáneas es un método fácil, rápido y eficaz, para la valoración clínica de la integridad de la inmunidad celular en un paciente³¹.

La anergia es aquel estado del organismo donde los linfocitos T han perdido su capacidad para reaccionar específicamente a un antígeno al cual estaban previamente sensibilizados⁶⁴. Mediante las pruebas cutáneas, la anergia se manifiesta como la incapacidad de reaccionar frente a antígenos a los que el paciente debe estar sensibilizado (denominados antígenos de recuerdo)³⁸.

Diversas situaciones clínicas pueden alterar la respuesta inmune celular e impedir la elaboración de una adecuada reacción de hipersensibilidad retardada provocando la aparición de anergia²⁰. De entre todas estas situaciones, es en la infección por el VIH donde esta alteración alcanza los niveles más profundos, debido al déficit progresivo en la función y en el número del linfocito T CD4+, principal diana del VIH y principal efector de la reacción de hipersensibilidad retardada⁸⁹.

En el marco de la infección por el VIH, el estudio de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada es útil por una serie de razones:

1. La profilaxis antituberculosa se basa en la positividad de la respuesta cutánea de hipersensibilidad retardada a la PPD¹⁴⁵.
2. El empleo junto con la PPD de otros antígenos de recuerdo (antígenos de control) permite la adecuada interpretación de una respuesta negativa a la PPD¹⁵⁴.
3. La falta de respuesta a las pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada identifica a pacientes con infección por el VIH con mayor riesgo de sufrir tuberculosis activa^{150-152,157,158}.
4. La identificación de pacientes con infección por el VIH que son anérgicos a las pruebas cutáneas puede ayudar a tomar decisiones respecto a la quimioprofilaxis antituberculosa en situaciones especiales^{145,164}.
5. El empleo de pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada es un método rápido, fácil y barato de obtener información cualitativa sobre el estado de la inmunidad celular¹³⁶, y complementa a la información cuantitativa obtenida con la determinación de las subpoblaciones linfocitarias y de la viremia plasmática.
6. El estudio de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada ofrece, además, importante información pronóstica al identificar a un subgrupo especial de pacientes con mayor riesgo de progresión a enfermedad avanzada y muerte^{155,168-173}.

2.- JUSTIFICACION DEL ESTUDIO

Para valorar correctamente la capacidad de un paciente con infección por el VIH para manifestar una respuesta de hipersensibilidad retardada, se deben

aplicar aquellos antígenos de recuerdo que discriminen mejor la presencia de anergia, empleando aquellos antígenos a los que respondería la mayoría de la población con inmunidad mediada por células intacta⁵⁴. Los CDC recomiendan en estos pacientes el empleo de una pareja de antígenos aplicados por técnica de Mantoux a elegir entre toxoide tetánico, *Candida* y antígeno del virus de la parotiditis^{34,50}. Otros autores, en cambio, prefieren el dispositivo de punción múltiple intradérmica MULTITEST debido a su facilidad de administración y menor riesgo potencial de accidentes por punción^{136,176}. A pesar de estas recomendaciones, hasta la fecha no se han realizado estudios comparativos con las dos técnicas en pacientes con infección por el VIH.

Aunque el fenómeno de anergia cutánea en personas infectadas por el VIH se correlaciona de forma inversa con el recuento de linfocitos T CD4+¹⁵⁵, existe un importante número de pacientes con anergia cutánea y recuentos altos de linfocitos T CD4+ y, a la inversa, pacientes con respuestas cutáneas adecuadas y recuentos bajos^{149,154}. Deben existir, por lo tanto, otros factores que se relacionen con la presencia de anergia cutánea, lo cual no ha sido bien estudiado.

Dado que la anergia cutánea refleja el deterioro funcional de las células T, la supresión de la viremia plasmática y la recuperación del recuento de linfocitos T CD4+, obtenidos tras HAART en los pacientes con infección por el VIH¹⁷⁷⁻¹⁷⁹, podría restaurar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada tras un período de tiempo, fenómeno que no es conocido. El estudio de dicho fenómeno, además de ofrecer información sobre la reconstitución funcional del sistema inmune, permitiría identificar a un subgrupo de pacientes

anérgicos que, al recuperar la capacidad de producir respuestas de hipersensibilidad retardada, reaccionan a PPD y, por tanto, se hacen subsidiarios de recibir quimioprofilaxis antituberculosa.

3.- OBJETIVOS DEL ESTUDIO

El objetivo general de este trabajo es el estudio de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada de los pacientes con infección por el VIH en nuestro medio, mediante la evaluación de la eficacia de distintos paneles antigénicos, el estudio de los parámetros clínicos, virológicos e inmunológicos que influyen en dichas respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada y el análisis de la variación en el tiempo de la anergia cutánea.

Los objetivos concretos son los siguientes:

1. Analizar la prevalencia de la anergia cutánea en los pacientes con infección por el VIH en nuestro medio mediante el uso simultáneo de dos paneles antigénicos, e investigar con cada panel la posible relación entre la ausencia de respuestas cutáneas y el grado de inmunosupresión. Previamente, en un grupo de controles sanos, se estudiarán las respuestas a distintas diluciones de los antígenos que no han sido evaluados en la población sana de nuestro medio, para aplicar a los pacientes aquellos antígenos y diluciones más eficaces para producir respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada.
2. Analizar en los pacientes con infección por el VIH de nuestro ámbito geográfico la prevalencia de respuestas positivas a cada uno de los antígenos de ambos paneles antigénicos: tuberculina y tres antígenos de control (antígeno de *C. albicans*, toxoide tetánico, antígeno del virus de la parotiditis)

- aplicados por técnica de Mantoux, y los siete antígenos administrados con el dispositivo de punción múltiple intradérmica MULTITEST.
3. Comparar la eficacia de ambos métodos (panel de cuatro antígenos por técnica de Mantoux frente a MULTITEST) para detectar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en estos pacientes, y observar si aplicando distintos puntos de corte para considerar una reacción como positiva varían los resultados.
 4. Estudiar dentro del panel de cuatro antígenos aplicados por técnica de Mantoux (PPD más los tres antígenos de control), qué pareja de antígenos de control es la que mejor discrimina la presencia de anergia cutánea.
 5. Conocer qué factores, entre una serie de parámetros demográficos, epidemiológicos, nutricionales, inmunológicos, virológicos y terapéuticos, se asocian a la aparición de anergia cutánea en la infección por el VIH, y cuáles lo hacen de forma independiente.
 6. Conocer qué porcentaje de pacientes con infección por el VIH anérgicos recuperan la capacidad de reaccionar a las pruebas cutáneas de hipersensibilidad retardada tras una segunda evaluación, y después de un período de tratamiento con HAART.
 7. Estudiar qué factores son los que se asocian al cambio de anérgico a reactor tras tratamiento con HAART en los pacientes con infección por el VIH.
 8. Conocer el porcentaje de pacientes anérgicos que tras pasar a ser reactores tras HAART muestran una respuesta positiva a PPD y, por tanto, son subsidiarios de recibir quimioprofilaxis antituberculosa.

III. MATERIAL Y METODOS

1.- DISEÑO DEL ESTUDIO

1.1.- ETAPAS DEL ESTUDIO.

El estudio fue realizado en tres etapas:

1.1.1.- Comparación de dos métodos para el estudio de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en pacientes con infección por el VIH: En esta primera etapa, mediante la aplicación simultánea de dos paneles antigénicos a cada paciente (panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux y panel de antígenos administrados a través de un dispositivo de punción múltiple percutánea), se comparó la eficacia de ambos métodos para detectar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada. Uno de los paneles, el cual no había sido estudiado en nuestro medio, tuvo que ser estudiado previamente en voluntarios sanos para probar su eficacia, antes de ser aplicado a los pacientes.

Tras conocer qué panel era el más eficaz en los pacientes, se estudiaron las tasas de respuestas positivas con distintas combinaciones de los antígenos de dicho panel.

1.1.2.- Estudio de las variables que se relacionan de manera independiente con la presencia de anergia cutánea en los pacientes con infección por el VIH: En una segunda etapa, empleando únicamente la combinación de antígenos de la etapa anterior que se consideró más útil para detectar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en los pacientes con infección por el VIH, se estudiaron aquellas variables que se relacionaron de forma independiente con la presencia de anergia a dicha combinación de antígenos.

1.1.3.- Estudio de las variables que se relacionan con la recuperación de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en pacientes con infección por el VIH previamente anérgicos: Finalmente, en una tercera etapa, se volvió a evaluar, con los mismos antígenos de la segunda fase, a los pacientes que resultaron anérgicos en dicha fase, tras un intervalo de tiempo de 6 a 18 meses. Ello se hizo con el fin de averiguar si los cambios en las variables predictoras de anergia de la segunda etapa se asociaban de forma independiente con el cambio de anérgico a reactor.

Todos los pacientes de esta fase, entre la primera y segunda evaluaciones con tests cutáneos, recibieron HAART.

1.2.- TIPO DE ESTUDIO¹⁸⁰⁻¹⁸².

Las dos primeras etapas de este trabajo corresponden a un estudio transversal. La tercera etapa corresponde a un estudio de cohortes prospectivo.

1.3.- PERIODO DE ESTUDIO.

La primera etapa del estudio se desarrolló entre el 29 de noviembre de 1995 y el 4 de marzo de 1997. La segunda fase se desarrolló entre el 5 de marzo de 1997 y el 30 de junio de 1998. La tercera fase del estudio se basa en pacientes anérgicos de la segunda fase a los que se le repitieron los tests cutáneos y terminó el 30 de septiembre de 1999 (fecha en la que se le repitieron las pruebas cutáneas al último paciente).

2.- POBLACION

2.1.- POBLACIÓN DIANA.

Pacientes con infección por el VIH, en cualquier estadio, sin evidencia clínica de infección oportunista activa o neoplasia.

2.2.- POBLACIÓN ACCESIBLE.

La muestra que se estudia se constituyó de forma no probabilística con todos los pacientes con infección por el VIH atendidos en las consultas externas de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla durante el período de estudio, atendiendo a los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

2.2.1.- Criterios de inclusión:

1. Infección por el VIH confirmada por ELISA y Western blot¹⁸³.
2. Consentimiento informado oral de los pacientes.

2.2.2.- Criterios de exclusión. Fueron los siguientes:

1. Infección oportunista activa o neoplasia: Debido a que las infecciones por numerosos microorganismos, la presencia de una neoplasia (o su tratamiento) y los procesos febriles en general, pueden alterar por sí mismos las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada^{20,80}, fueron excluidos del estudio los pacientes con fiebre o con evidencia o sospecha clínicas de infección oportunista activa o neoplasia en el momento de la aplicación de los tests cutáneos.
2. Pacientes con imposibilidad de retornar en 48-72 horas para la lectura de las reacciones a los tests cutáneos.

3. Pacientes con infección por el VIH con edad menor de 16 años.
4. Pacientes embarazadas.
5. Pacientes con historia de alergia al huevo: Durante la primera fase del estudio en la cual se utilizó antígeno del virus de la parotiditis, los pacientes con alergia al huevo fueron excluidos por consejo del fabricante de dicho antígeno por la posibilidad de hipersensibilidad cruzada con uno de los componentes de la solución antigénica.

3.- PROTOCOLO DE ESTUDIO

3.1.- TESTS CUTANEOS APLICADOS EN LA PRIMERA FASE DEL ESTUDIO: ESTUDIO PREVIO EN VOLUNTARIOS SANOS.

En España las respuestas cutáneas a los antígenos aplicados por técnica de Mantoux distintos a tuberculina no han sido bien estudiadas. Por lo tanto, antes de aplicar estos antígenos a los pacientes del estudio, era necesario conocer qué antígenos y que diluciones (de los no estandarizados) eran eficaces para detectar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en personas sanas de nuestro medio. Así, las respuestas a aquellos antígenos más utilizados (*C. albicans*, antígeno del virus de la parotiditis y toxoide tetánico)^{34,50}, empleando dos diluciones diferentes en los antígenos no estandarizados (diluciones utilizadas previamente en estudios fuera de nuestro país^{171,184}), fueron evaluadas en dos grupos de voluntarios sanos. Las respuestas al dispositivo de punción múltiple percutánea MULTITEST-IMC® en sujetos sanos no fueron analizadas porque este panel antigénico ya había mostrado su eficacia para detectar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en nuestro medio¹⁸⁵.

El primer grupo de sujetos sanos incluyó a 16 hombres y 14 mujeres (edad 29 ± 6 años) y en él se estudiaron las respuestas a los siguientes antígenos: *C. albicans* en dilución 1:100, toxoide tetánico en dilución 1:10, y antígeno del virus de la parotiditis en dilución estandarizada 1:10.000. El segundo grupo incluyó a 15 hombres y 15 mujeres de edades similares (28 ± 6 años) y en él se evaluaron las respuestas a los mismos antígenos pero modificando la concentración de los antígenos no estandarizados: *C. albicans* en dilución 1:10 y toxoide tetánico en dilución 1:5. Se consideró arbitrariamente que un antígeno producía una adecuada tasa de respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada cuando el porcentaje de respuestas positivas a dicho antígeno (induración ≥ 5 mm) fuera mayor o igual al 80%. Las tasas de respuestas positivas en el primer grupo fueron de 80,7% para antígeno del virus de la parotiditis, 23,1% para *C. albicans* en dilución 1:100, y 69,2% para toxoide tetánico en dilución 1:10. En el segundo grupo, las tasas de respuestas positivas fueron 80% para antígeno del virus de la parotiditis, 85,7% para *C. albicans* dilución 1:10, y 80% para toxoide tetánico en dilución 1:5.

Sobre la base de estos datos, los tres antígenos testados con las diluciones de 1:10 para *C. albicans* y 1:5 para toxoide tetánico, fueron seleccionados en conjunción con la PPD, para formar el panel antigénico a administrar por técnica de Mantoux a los pacientes.

3.2.- TESTS CUTANEOS APLICADOS EN LA PRIMERA FASE DEL ESTUDIO: ANTIGENOS APLICADOS A LOS PACIENTES.

A todos los pacientes se les aplicó en el brazo izquierdo el panel antigénico de cuatro antígenos administrados por técnica de Mantoux³², en una disposición romboidal, y en el brazo derecho, simultáneamente, el panel antigénico incluido en el dispositivo de punción múltiple percutánea MULTITEST-IMC[®].

La composición detallada de los cuatro antígenos administrados mediante técnica de Mantoux se refleja a continuación:

- 1) 0,1 ml del derivado purificado del antígeno proteico tuberculínico PPD que contiene 2 UT de PPD RT-23 (bioequivalentes a 5 UT de la tuberculina patrón internacional PPD-S⁴²) con Tween-80 (Tuberculina PPD Llorente, Llorente-Evans, Madrid).
- 2) 0,1 ml de extracto de *C. albicans* con fenol 0,5% como conservante, a una dilución 1:10 en suero salino isotónico (*Candida albicans* IDR, Ifidesa-Aristegui, Bilbao; lotes 950706, 951115 y 960306).
- 3) 0,1 ml de una suspensión estéril de vacuna de virus de la parotiditis inactivado con formaldehído y diluido en cloruro sódico isotónico con timerosal añadido como conservante en dilución 1:10.000 (Mumps Skin Test Antigen, Connaught Laboratories, Swiftwater, USA).
- 4) 0,1 ml de toxoide tetánico purificado (10 Lf/0.5 mL) y adsorbido con fosfato aluminico, con timerosal añadido como conservante, a una dilución 1:5 en suero fisiológico (Anatoxal Te Berna, Berna, Madrid; lote I-01).

Las diluciones de los antígenos de *C. albicans* y toxoide tetánico fueron preparadas por el Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Virgen del Rocío, y fueron renovadas cada quince días.

Para cada antígeno aplicado por técnica de Mantoux se empleó una jeringuilla de insulina B-D de 27 G sin espacio muerto (Plastipak 1 mL Test, Becton-Dickinson España, Madrid) con agujas del calibre 27 de 16 mm de longitud y bisel corto.

MULTITEST-IMC^R es un dispositivo acrílico con 8 cabezas, de las cuales 7 contienen 0,03 ml de los siguientes antígenos: tétanos, 550.000 unidades Merieux (UM) por mL; difteria, 1.100.000 UM/mL; *Streptococcus* (grupo C), 2.000 UM/mL; tuberculina 300.000 UI/mL; *Candida* 2.000 UM/mL; *Trichophyton*, 150 UM/mL; y *P. mirabilis* 140 UM/mL. La cabeza restante contiene una solución de glicerina 70% peso/volumen que sirve como control para asegurar la no sensibilidad del individuo a la glicerina (MULTITEST-IMC[®], Rhone-Poulenc, Institut Merieux, Lyon, Francia)⁶¹.

Los pasos de la técnica de aplicación de MULTITEST son los siguientes: retirar la película protectora adherente, limpiar con alcohol la cara anterior del antebrazo, quitar los capuchones protectores de cada cabeza precargada, sujetar el antebrazo estirando la piel, orientar la parte en T de MULTITEST hacia la cabeza del sujeto, y apoyar firmemente el dispositivo, ejerciendo una presión homogénea de las 8 cabezas sobre la piel del sujeto (instrucciones del fabricante).

3.3.- TESTS CUTÁNEOS APLICADOS A LOS PACIENTES EN LA SEGUNDA Y TERCERA FASES DEL ESTUDIO.

Tras conocer, en la primera fase del estudio, las tasas de respuesta a los dos paneles antigénicos y a las distintas combinaciones de antígenos del panel más eficaz, la siguiente combinación de antígenos administrada por técnica de Mantoux fue aplicada a los pacientes en la segunda y tercera fases del estudio (los fabricantes y las diluciones fueron los mismos que en la primera etapa del estudio):

1. PPD.
2. *C. albicans* (lotes 960905, 970224 y 971009).
3. Toxoide tetánico (lotes J-05, K-07 y K20).

Los tres antígenos fueron aplicados en el brazo izquierdo, con una disposición triangular.

3.4.- MEDICION E INTERPRETACION DE LAS RESPUESTAS A LOS TESTS CUTANEOS. CRITERIOS DE POSITIVIDAD DE LAS RESPUESTAS.

La aplicación y lectura de los tests cutáneos se llevó a cabo en el Hospital de Día del Servicio de Enfermedades Infecciosas del Hospital Universitario Virgen del Rocío por dos miembros del personal de enfermería que habían sido previamente entrenados. Los tests fueron leídos a las 48 horas. La base de la lectura la constituyó la presencia o ausencia de induración, que se determinó mediante palpación. Para los cuatro antígenos por técnica de Mantoux se consideró positiva una induración con un diámetro transversal ≥ 5 mm y para los antígenos administrados por MULTITEST una induración ≥ 2 mm.

3.5.- DEFINICIONES DE REACCION POSITIVA A UN PANEL ANTIGENICO Y DE ANERGIA EN LA PRIMERA FASE DEL ESTUDIO.

Fueron las siguientes:

1. **ANERGIA VERDADERA:** cuando no se especificaba a cuál de los paneles, se consideró a un paciente como verdadero anérgico cuando no presentó respuesta positiva a ninguno de los once antígenos administrados simultáneamente (los cuatro administrados por técnica de Mantoux y los siete de MULTITEST).
2. **REACCION POSITIVA A MULTITEST:** se consideró a un paciente reactor a MULTITEST (respuesta positiva a MULTITEST) cuando presentó al menos una induración positiva a cualquiera de los siete antígenos de los que consta.
3. **ANERGIA A MULTITEST:** se consideró a un paciente como anérgico a MULTITEST cuando no presentó ninguna induración positiva a ninguno de los siete antígenos administrados mediante esta técnica.
4. **REACCION POSITIVA AL PANEL DE ANTIGENOS APLICADOS POR TECNICA DE MANTOUX:** Se consideró a un paciente reactor al panel de antígenos administrados por técnica de Mantoux (respuesta positiva a dicho panel) cuando presentó una induración positiva a cualquiera de los cuatro antígenos administrados por esta técnica.
5. **ANERGIA AL PANEL DE ANTIGENOS APLICADOS POR TECNICA DE MANTOUX:** se consideró a un paciente como anérgico a los antígenos administrados por técnica de Mantoux cuando no presentó ninguna induración

positiva a ninguno de los cuatro antígenos administrados mediante esta técnica.

En esta fase se calculó además un *score* (suma en mm de las induraciones positivas) para cada panel antigénico.

3.6.- DEFINICION DE ANERGIA EN LA SEGUNDA Y TERCERA FASES DEL ESTUDIO.

- **ANERGIA:** En estas fases, se consideró a un paciente como anérgico cuando no presentó ninguna induración positiva a ninguno de los tres antígenos administrados (PPD, *C. albicans* y toxoide tetánico, administrados por técnica de Mantoux).
- **REACCION POSITIVA:** Se consideró a un paciente reactor al panel de antígenos administrados por técnica de Mantoux (respuesta positiva a dicho panel) cuando presentó una induración positiva a cualquiera de los tres antígenos administrados.

3.7.- MEDICION DE LOS PARAMETROS ANTROPOMETRICOS.

La medición directa de los parámetros antropométricos se realizó en el Hospital de Día en la misma fecha de la aplicación de los tests cutáneos. El peso en kg y la altura en cm fueron obtenidos con un medidor de talla y báscula convencionales. Para la medición de la circunferencia del brazo y el pliegue cutáneo tricaptal, el mismo personal que procedió a la lectura de los tests cutáneos fue el encargado de realizar la medición, tras haber sido entrenado en este cometido.

El pliegue cutáneo tricipital en mm fue medido siempre con el mismo calibrador de pliegues cutáneos (lipocalibre) siguiendo la siguiente técnica: en posición erecta y con el brazo no dominante relajado, paralelo al cuerpo del sujeto y flexionando el codo 90°, se midió con una cinta métrica la distancia entre el acromion y el olécranon en la cara posterior del brazo, marcando el punto medio. A continuación, se pellizcó con los dedos pulgar e índice la piel y la grasa subcutánea. Una vez asido el pliegue se colocaron los extremos del calibrador en el pliegue dos cm distal a los dedos. Se realizaron tres mediciones consecutivas del pliegue, dejando que los tejidos recuperasen su elasticidad, y se tomó el valor medio. El lipocalibre que se utilizó fue el tipo Harpeden (Cambridge Scientific Industries), uno de los tres lipocalibres aceptados para la toma de los pliegues junto con el tipo Langer y el tipo McGaw¹⁸⁶⁻¹⁸⁸.

La circunferencia del brazo en cm se midió en el mismo punto utilizando una cinta métrica inextensible y flexible, teniendo cuidado de no comprimir dicha cinta¹⁸⁶⁻¹⁸⁸.

A partir de estos cuatro parámetros antropométricos se dedujeron otros parámetros que se detallan en el apartado 4.2.2.5.

3.8.- DETERMINACIONES ANALÍTICAS.

Siempre que fue posible se citó a los pacientes para la realización de los tests cutáneos el mismo día que tenían cita para la extracción de muestras de sangre para los estudios analíticos necesarios: subpoblaciones linfocitarias, carga viral, perfil proteico nutricional (albúmina, prealbúmina, transferrina), beta-2-microglobulina y antigenemia p-24. En los casos que no fue posible, fueron

consideradas válidas las determinaciones analíticas obtenidas dentro de 60 días antes y 30 días después de la fecha de realización de los tests cutáneos. Las extracciones de muestras de sangre coincidieron con las realizadas para el seguimiento clínico protocolizado de los pacientes con infección por el VIH.

El análisis de la antigenemia p24 se realizó en suero utilizando un método de enzimoimmunoanálisis cuantitativo, realizando una acidificación de la muestra para la disociación de inmunocomplejos (ELISA, Cultek).

Las subpoblaciones de linfocitos T fueron cuantificadas por inmunofluorescencia directa usando anticuerpos monoclonales de la serie T y examen por citometría de flujo (Ortho Diagnostic Systems).

La cuantificación de la carga viral se realizó mediante la determinación en suero de ARN del VIH utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (HIV-Monitor, Amplicor, Roche). Los resultados se expresaron como copias de genoma por mL, calculando posteriormente el logaritmo decimal (\log_{10}) del número de copias por mL. El límite inferior de detección de la técnica fue de 100 copias/mL. A los pacientes con carga viral indetectable se les asignó un valor de 50 copias/mL.

3.9.- PROTOCOLO DE RECOGIDA DE DATOS.

La recogida de datos se realizó en un formulario previamente diseñado, un modelo del cual figura al final de esta sección. Los datos de filiación fueron recogidos al solicitar los tests cutáneos en las Consultas de Enfermedades Infecciosas. El resto de los datos de la primera parte del formulario se obtuvieron de la historia clínica del paciente. Los datos de la segunda parte del formulario

fueron cumplimentados por el personal del Hospital de Día encargado de la lectura de los tests cutáneos.

4.- VARIABLES ANALIZADAS

4.1.- VARIABLES ANALIZADAS EN LA PRIMERA FASE DEL ESTUDIO.

En la primera parte del estudio las variables estudiadas fueron:

1. ANERGIA VERDADERA.
2. REACCION POSITIVA AL PANEL DE ANTIGENOS ADMINISTRADOS POR TECNICA DE MANTOUX.
3. ANERGIA AL PANEL DE ANTIGENOS ADMINISTRADOS POR TECNICA DE MANTOUX.
4. REACCION POSITIVA A MULTITEST.
5. ANERGIA A MULTITEST.

Estas variables se han definido en el apartado 3.5. En esta fase se analizaron también las respuestas positivas a los distintos antígenos individuales de cada panel antigénico y las respuestas positivas a distintas combinaciones de tres de los cuatro antígenos de los que consta el panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux: PPD–*C. albicans*–toxóide tetánico; PPD–*C. albicans*–antígeno del virus de la parotiditis; PPD–toxóide tetánico–antígeno del virus de la parotiditis.

6. RECUENTO DE LINFOCITOS T CD4+ (por μ L).

4.2.- VARIABLES EN LA SEGUNDA FASE DEL ESTUDIO.

4.2.1.- Variable dependiente:

- ANERGIA (se ha definido previamente en apartado 3.6).

4.2.2.- Variables independientes: Las variables independientes pueden ser clasificadas en cinco grupos:

4.2.2.1.- Variables demográficas y epidemiológicas:

1. SEXO.
2. EDAD: edad en años en el momento de aplicar los tests cutáneos.
3. GRUPO DE RIESGO: la presencia o no de anergia en los distintos grupos de riesgo para la infección por el VIH fue analizada de dos formas. En primer lugar se comparó la presencia de anergia en los distintos grupos de riesgo para la infección por el VIH: hemofílicos, homosexuales, heterosexuales y UDI.
4. UDI: En segundo lugar, se agruparon en un mismo grupo los pacientes No UDI (hemofílicos, homosexuales y heterosexuales) y se compararon respecto a la presencia de anergia con los pacientes UDI (el grupo de riesgo que menos porcentaje de anergia presentó).

4.2.2.2.- Variables que reflejan la alteración del sistema inmune producida por el VIH:

5. ESTADIO DE LA INFECCION: Se dividieron los pacientes en dos grupos comparando la presencia de anergia en los pacientes que estaban clasificados previamente en estadio clínico A frente a aquellos en estadio clínico B ó C, según la clasificación de los CDC de 1993¹⁸⁹.

6. SIDA: diagnóstico o no previo de SIDA, según dicha clasificación de los CDC de 1993¹⁸⁹.
7. RECUENTO DE LINFOCITOS T CD4+: El número de linfocitos T CD4+ por μL se estratificó en cuatro grupos: menos de 50 por μL , de 50 a 199 por μL , de 200 a 499 por μL , e igual o mayor a 500 por μL .
8. PORCENTAJE DE LINFOCITOS T CD4+ (respecto al total de linfocitos del paciente).
9. RECUENTO DE LINFOCITOS T CD8+ (por μL).
10. COCIENTE CD4+/CD8+: Cociente entre el número de linfocitos T CD4+ y el número de linfocitos T CD8+.

4.2.2.3.- Variables que miden la actividad del VIH:

11. ANTIGENO P24: positivo o negativo.
12. BETA-2-MICROGLOBULINA (en mg/L).
13. LOGARITMO DE LA CARGA VIRAL: Representa el \log_{10} de la carga viral. A aquellos pacientes con carga viral por debajo del límite de detección de la técnica se le asignó una carga viral de 50 copias/mL, lo cual corresponde a un \log_{10} de 1,7.

4.2.2.4.- Variable relacionada con el tratamiento antirretroviral:

14. TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL: Indica si los pacientes llevaban más de un mes o no con tratamiento antirretroviral en el momento de recibir los tests cutáneos.

4.2.2.5.- Variables antropométricas y relacionadas con el estado nutricional del paciente. Estas variables pueden ser subdivididas en cinco grupos:

A.- Parámetros antropométricos básicos:

15. PESO: La relación entre el peso del paciente y la presencia o no de anergia cutánea se estudió de dos formas. En primer lugar se consideró el peso en kg del paciente como una variable cuantitativa.
16. PESO (% DEL IDEAL): En segundo lugar, se analizó el porcentaje del peso del paciente respecto al peso ideal según su edad y sexo. Para ello se siguieron los siguientes pasos¹⁸⁸:
- a) Cálculo del peso ideal del paciente obtenido de las tablas confeccionadas por Alastrué et al. para la población española¹⁹⁰.
 - b) Cálculo del porcentaje del peso del paciente respecto a su peso ideal:
Porcentaje = (peso medido / peso ideal) × 100.
 - c) Dado que para la mayoría de los parámetros nutricionales, un porcentaje menor del 75% respecto al ideal indica un grado de desnutrición al menos moderado¹⁸⁸, el porcentaje calculado se estratificó en dos grupos: porcentaje menor del 75% del peso ideal, y porcentaje igual o mayor al 75% del peso ideal. Esta estratificación en menor y mayor al 75% se utilizó también en los restantes parámetros nutricionales.
17. TALLA (en cm).
18. INDICE DE MASA CORPORAL: Al igual que con el peso, la relación entre el índice de masa corporal (IMC) del paciente y la presencia o no de anergia cutánea se estudió de dos formas. En primer lugar se consideró el IMC en kg/m² del paciente como una variable cuantitativa.

19. INDICE DE MASA CORPORAL (% DEL IDEAL): En segundo lugar, se analizó el porcentaje del IMC del paciente respecto al IMC ideal según su edad y sexo. Para ello se siguieron los siguientes pasos:

a) Cálculo del IMC del paciente¹⁸⁷:

$$\text{IMC} = \text{peso en kg} / (\text{talla en m})^2$$

b) Cálculo del IMC ideal del paciente obtenido de las tablas confeccionadas por Alastrué et al. para la población española¹⁹⁰.

c) Cálculo del porcentaje del IMC del paciente respecto a su IMC ideal:

$$\text{Porcentaje} = (\text{IMC medido} / \text{IMC ideal}) \times 100.$$

d) El porcentaje calculado se estratificó en dos grupos: porcentaje menor del 75% del IMC ideal, y porcentaje igual o mayor al 75% del IMC ideal.

20. CIRCUNFERENCIA DEL BRAZO: En primer lugar se consideró la circunferencia del brazo (CB) en cm del paciente como una variable cuantitativa.

21. CIRCUNFERENCIA DEL BRAZO (% DE LA IDEAL): En segundo lugar, se analizó el porcentaje de la CB del paciente respecto a la CB ideal según su edad y sexo. Para ello se siguieron los pasos ya mencionados para el cálculo del peso ideal. El porcentaje calculado se estratificó en dos grupos: porcentaje menor del 75% de la CB ideal, y porcentaje igual o mayor al 75% de la CB ideal.

B.- Parámetros que miden la reserva proteica muscular:

22. CIRCUNFERENCIA MUSCULAR DEL BRAZO: En primer lugar se consideró la circunferencia muscular del brazo (CMB) en cm como una variable cuantitativa.

23. CIRCUNFERENCIA MUSCULAR DEL BRAZO (% DE LA IDEAL): En segundo lugar, se analizó el porcentaje de la CMB del paciente respecto a la CMB ideal. Para ello se requiere previamente la medición del pliegue cutáneo tricípital (PCT):

a) Cálculo de la CMB del paciente¹⁸⁸:

$$\text{CMB} = \text{CB en cm} - (\text{PCT en cm} \times 3,1416)$$

b) Cálculo de la CMB ideal del paciente obtenido de las tablas confeccionadas por Alastrué¹⁹⁰.

c) Cálculo del porcentaje de la CMB del paciente respecto a su CMB ideal:
Porcentaje = $(\text{CMB medida} / \text{CMB ideal}) \times 100$.

d) Estratificación en dos grupos del porcentaje calculado: porcentaje menor del 75% de la CMB ideal, y porcentaje igual o mayor al 75% de la CMB ideal.

C.- Parámetros que miden la grasa corporal:

24. PLIEGUE CUTANEO TRICIPITAL: Siguiendo la misma metodología, en primer lugar se consideró el PCT en mm como una variable cuantitativa.

25. PLIEGUE CUTANEO TRICIPITAL (% DEL IDEAL): En segundo lugar, se analizó el porcentaje del PCT del paciente respecto al PCT ideal (para lo cual se siguió la misma sistemática que para el peso ideal). El porcentaje calculado se estratificó en dos grupos: porcentaje menor del 75% del PCT ideal, y porcentaje igual o mayor al 75% del PCT ideal.

26. AREA GRASA DEL BRAZO: La relación entre el área grasa del brazo (AGB) en cm² del paciente y la presencia o no de anergia cutánea se analizó como una variable cuantitativa. Para ello se siguieron los siguientes pasos¹⁸⁸.

a) Cálculo del área muscular del brazo de cada paciente (AMB):

$$AMB = (CMB)^2 / 4\pi$$

b) Cálculo del AGB:

$$AGB = \pi (CB / 2\pi)^2 - AMB.$$

27. INDICE ADIPOSO MUSCULAR DEL BRAZO: Al igual que hemos visto con otros parámetros, en primer lugar se consideró el índice adiposo muscular (IAMB) como una variable cuantitativa.

28. INDICE ADIPOSO MUSCULAR (% DEL IDEAL): En segundo lugar, se analizó el porcentaje del IAMB del paciente respecto al IAMB ideal. Para ello fue preciso calcular previamente el AGB. Los pasos a seguir fueron:

a) Cálculo del IAMB¹⁸⁸:

$$IAMB = AGB / AMB$$

b) Cálculo del IAMB ideal del paciente obtenido de las tablas de Alastrué¹⁹⁰.

c) Cálculo del porcentaje del IAMB del paciente respecto a su IAMB ideal:

$$\text{Porcentaje} = (IAMB \text{ medido} / IAMB \text{ ideal}) \times 100.$$

d) Estratificación del porcentaje calculado en menor del 75% del IAMB ideal e igual o mayor al 75% del IAMB ideal.

D.- Parámetros que miden la reserva proteica visceral:

29. ALBUMINA: Dado que una cifra de albúmina en sangre menor de 3 g/dL indica un grado de desnutrición al menos moderado¹⁸⁸, la cifra de albúmina se estratificó en dos grupos: menos de 3 g/dL e igual o mayor de 3 g/dL.

30. PREALBUMINA: Cifra de prealbúmina en mg/dL.

31. TRANSFERRINA: Cifra de transferrina en mg/dL.

E.- Indices pronósticos nutricionales:

32. INDICE PRONOSTICO NUTRICIONAL: Para cada paciente se analizó el índice pronóstico nutricional (IPN) de Mullen modificado en el momento de la aplicación de los tests cutáneos^{191,192}. Para ello se siguieron los siguientes pasos:

a) Cálculo del IPN del paciente según la siguiente fórmula:

$$\text{IPN (\%)} = 150 - (16,6 \times \text{ALBUMINA}) - (0,78 \times \text{PCT}) - (0,2 \times \text{TRANSFERRINA}).$$

b) Dado que los pacientes con un IPN mayor o igual a 50% tienen mayor riesgo de complicaciones derivadas de la alteración nutricional^{191,192}, el IPN calculado se estratificó en dos grupos: IPN igual o mayor a 50% e IPN menor de 50%.

33. PUNTUACION NUTRICIONAL: De cada paciente se obtuvo una puntuación basándose en el índice de Chang modificado^{193,194}. Para ello se siguieron los siguientes pasos:

a) La puntuación para cada paciente se obtuvo de la siguiente tabla:

Puntuación nutricional según el grado de desnutrición			
Determinación	Normal (1 punto)	Leve (2 puntos)	Moderada/grave (3 puntos)
Albúmina (g/dL)	> 3,5	3 – 3,5	< 3
IMC (% del ideal)	> 90	75 – 90	< 75
CMB (% de la ideal)	>90	75 – 90	< 75

- b) Los pacientes se estratificaron en dos grupos: pacientes con puntuación de 6 a 9 puntos (grado de desnutrición al menos moderado) y pacientes con puntuación de 3 a 5.

4.3.- VARIABLES EN LA TERCERA FASE DEL ESTUDIO.

4.3.1.- Variable dependiente:

CAMBIO DE ANERGICO A REACTOR: indicó si los pacientes anérgicos seguían como tales o bien se hacían reactores tras una segunda evaluación con tests cutáneos. Las definiciones de anérgico y reactor se recogen en el punto 3.6.

4.3.2.- Variables independientes: Se incluyeron las variables que en la segunda fase del estudio demostraron su asociación independiente con la presencia de anergia y cuatro variables nuevas.

- 1) **DIFERENCIA EN EL RECUESTO DE LINFOCITOS T CD4+:** Es la diferencia entre el recuento de linfocitos T CD4+ en el momento de la segunda administración de los tests cutáneos y el recuento de linfocitos T CD4+ en la primera administración de los mismos, en la cohorte de pacientes incluidos en la tercera fase del estudio.
- 2) **DIFERENCIA EN LA CARGA VIRAL:** Es la diferencia entre el \log_{10} de la carga viral en el momento de la primera evaluación con tests cutáneos y el \log_{10} de la carga viral en la segunda administración de los mismos.
- 3) **DIFERENCIA EN LA CMB:** Es la diferencia entre la CMB en el momento de la segunda evaluación con tests cutáneos y la CMB en la primera administración de los mismos.

- 4) DIAS TRANSCURRIDOS: Representa el número de días transcurridos entre las dos evaluaciones.

5.- ANALISIS DE LOS DATOS

5.1.- BASE DE DATOS.

Toda las variables recogidas en el formulario y otras obtenidas mediante cálculos matemáticos a partir de éstas fueron almacenadas en soporte informático en una base de datos diseñada con el programa DBASE IV. Para asegurar la confidencialidad de los datos sólo tuvieron acceso a dicha base de datos el doctorando y los directores del trabajo.

5.2.- TAMAÑO DE LA MUESTRA.

En la primera fase del estudio el tamaño de la muestra fue calculado para detectar un incremento del 25% en la tasa de respuestas positivas de un panel antigénico sobre el otro, asumiendo una tasa de respuestas positivas del 60% con el panel antigénico menos eficaz^{136,195-197}. Con una potencia del 95% y un nivel de significación del 0,05, el mínimo tamaño muestral requerido era de 264 pacientes (en cada uno de estos pacientes se aplicarían ambos paneles antigénicos). El cálculo se llevó a cabo mediante el programa estadístico Epi Info versión 6.04.

Con respecto a la segunda fase del trabajo se debe tener en cuenta que el cálculo del tamaño muestral en la estadística multivariante no está completamente consensuado. De acuerdo con Silva¹⁹⁸, el número de sujetos debe ser al menos igual a 10 veces el número de variables a considerar más uno.

En nuestro caso, el número de variables que se incluyeron finalmente en el análisis multivariante fue de 25, por lo que el número mínimo de pacientes a estudiar hubiera sido de 250. Dado que el porcentaje de anérgicos en algunos trabajos ronda alrededor del 30%^{150,152,154,199}, consideramos que un número de 75 anérgicos (el 30% de 250) sería bajo para nuestros propósitos, por lo que se multiplicó por dos el número mínimo de pacientes, hasta obtener 500.

En la tercera fase del estudio no se hizo cálculo del tamaño de la muestra, sino que se incluyeron a todos los pacientes anérgicos de la segunda parte del estudio que se seguían revisando en las consultas de Enfermedades Infecciosas.

5.3.- ANALISIS ESTADISTICO EN LA PRIMERA FASE DEL ESTUDIO.

El test de McNemar para datos apareados fue usado para comparar las respuestas obtenidas con los antígenos administrados por técnica de Mantoux frente a las respuestas obtenidas por MULTITEST^{200,201}. Este test fue utilizado también para comparar las respuestas entre dos antígenos individuales, y para comparar entre sí las respuestas obtenidas individualmente con distintas combinaciones de tres de los cuatro antígenos administrados mediante técnica de Mantoux. Las respuestas positivas se expresaron en porcentajes, calculando el intervalo de confianza del 95% (IC₉₅) de los mismos. El test de la *t* de Student fue usado para analizar la relación entre el recuento de linfocitos T CD4+ en el momento de la realización de los tests cutáneos y la presencia de anergia con cada uno de ambos paneles antigénicos. Un valor de *P* menor de 0,05 fue considerado como indicador de significación estadística.

5.4.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN LA SEGUNDA FASE DEL ESTUDIO.

Se realizó en primer lugar un análisis univariante de las diferencias existentes entre los pacientes con y sin anergia cutánea en cuanto a las variables estudiadas como posibles factores de riesgo para la aparición de anergia. Dado el alto número de pacientes incluidos, se asumió que todas las variables cuantitativas seguían una distribución normal²⁰², y fueron analizadas con el test de la *t* de Student para dos muestras independientes. Para todas las variables cuantitativas se calcularon la media, la desviación estándar (DE), la mediana y el rango. Las variables cualitativas fueron analizadas mediante el test de la Chi-cuadrado, calculando las *odds ratio* y sus IC₉₅. Se consideró que una variable tenía asociación estadística significativa con la aparición de anergia cuando el valor de *P* asociado a la prueba era menor de 0,05.

En segundo lugar se realizó un análisis de regresión logística múltiple paso a paso con el fin de determinar qué variables fueron predictoras independientes de la aparición de anergia cutánea en el paciente con infección por el VIH. Entraron en el análisis aquellas variables que en el análisis univariante habían mostrado una asociación con la aparición de anergia con una significación de *P* menor de 0,05.

5.5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN LA TERCERA FASE DEL ESTUDIO.

Las medias del conteo de linfocitos T CD4+/ μ L, del log₁₀ de la carga viral y de la CMB en el momento de la primera evaluación fueron comparadas con las medias de las mismas variables en el momento de la segunda evaluación mediante la *t* de Student para dos muestras apareadas. Posteriormente se

calcularon las nuevas variables *diferencia en el recuento de linfocitos T CD4+*, *diferencia en la carga viral*, *diferencia en la CMB* y *días transcurridos*, definidas en el apartado 4.3.2.

A continuación se realizó un análisis univariante con la variable *cambio de anérgico a reactor* como variable dependiente y, como variables independientes, las nuevas variables mencionadas y aquellas variables que se asociaron de forma independiente con la presencia de anergia en la segunda fase del estudio. Se consideró que una variable tenía asociación con el cambio de anérgico a reactor cuando el valor de P asociado a la prueba era menor de 0,05.

Finalmente se realizó un análisis de regresión logística múltiple paso a paso con el fin de determinar qué variables fueron predictoras independientes del cambio de anérgico a reactor. Entraron en el análisis aquellas variables que en el análisis univariante habían mostrado una significación de P menor de 0,10.

5.6.- PAQUETE ESTADÍSTICO.

Los datos de las tres partes de este trabajo fueron analizados mediante el paquete estadístico SPSS para Windows (versión 6.1, SPSS, Chicago).

IV. RESULTADOS

1.- COMPARACION DE DOS METODOS PARA EL ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH

1.1.- ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA POBLACION.

Durante 15 meses (entre el 29 de noviembre de 1995 y el 4 de marzo de 1997), las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada fueron estudiadas en 418 pacientes con infección confirmada por VIH (ELISA y Western blot) mediante la aplicación simultánea del panel de cuatro antígenos por técnica de Mantoux y del panel de siete antígenos liberados por MULTITEST. De estos 418 pacientes, 59 no retornaron en 48-72 horas para la lectura de las respuestas a los tests cutáneos, por lo que el estudio se completó en 359 pacientes.

De los 359 pacientes, 276 fueron hombres (77%) y 83 mujeres (23%). La edad media de los pacientes fue de 32 años (DE 8 años), la mediana 31 años y el rango 16-74 años.

El grupo de riesgo para la adquisición de la infección por el VIH se distribuyó como sigue: 199 pacientes tenían antecedentes de ser UDI, lo cual supuso un 55% de los pacientes, 77 (22%) tuvieron practicas heterosexuales de riesgo, 73 (20%) eran varones homosexuales y 10 (3%) eran hemofílicos. El 32,7% de los pacientes refería el antecedente de haber estado en prisión.

La cifra media de linfocitos T CD4+ de los pacientes en el momento de la aplicación de los tests cutáneos fue de 387/ μ L (DE 256/ μ L), con una mediana de 348/ μ L y un rango entre 2 y 1326/ μ L. Al estratificar por niveles de linfocitos T

CD4+, los porcentajes de pacientes con cifra menor a 50/ μ L, de 50 a 199/ μ L, de 200 a 499/ μ L e igual o mayor a 500/ μ L, fueron, respectivamente, 8,9%, 17,3%, 42,9% y 30,9%.

De los 359 pacientes, 126 (35%) cumplían criterios de SIDA según la clasificación de los CDC de 1993. La distribución por estadios fue como sigue: estadio A: 212 pacientes (59%); estadio B: 90 pacientes (25%); y estadio C: 57 pacientes (16%).

En el momento de la evaluación con los tests cutáneos, 151 pacientes (42%) estaban tomando tratamiento antirretroviral (monoterapia o biterapia con análogos de los nucleósidos).

1.2.- PREVALENCIA DE ANERGIA CUTANEA Y COMPARACION DE LAS RESPUESTAS A LOS DOS PANELES ANTIGENICOS.

La tabla I muestra las respuestas positivas de los pacientes a cada uno de los dos paneles antigénicos, así como los porcentajes de anergia verdadera y estratificando los datos según distintos niveles de linfocitos T CD4+. De los 359 pacientes, 94 (26,2%; IC₉₅: 21,7% – 30,7%) fueron verdaderos anérgicos, por lo que 265 (73,8%; IC₉₅: 69,3% – 78,3%) reaccionaron a alguno de los dos paneles. Hubo 212 pacientes (59,1%; IC₉₅: 54% – 64,1%) que reaccionaron simultáneamente a los dos paneles antigénicos. Analizando cada panel por separado, hubo 256 pacientes (71,3%; IC₉₅: 66,7% – 75,9%) con una respuesta positiva al panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux, y 221 (61,6%; IC₉₅: 56,5% – 66,6%) con respuesta positiva a MULTITEST.

TABLA I. Respuestas de los pacientes con infección por el VIH a MULTITEST y al panel de cuatro antígenos administrados por técnica de Mantoux, según distintos niveles de linfocitos T CD4+.

Linfocitos T CD4+ por μL	MT (-) AM (-)	AM (+)	MT(+)	MT(+) AM(+)	MT(+) AM(-)	MT(-) AM(+)	P*
< 50 n=32	26 (81,2%)	4 (12,5%)	5 (15,6%)	3 (9,3%)	2 (6,2%)	1 (3,1%)	NS
50 – 199 n=62	27 (43,5%)	33 (53,2%)	23 (37,1%)	21 (33,8%)	2 (3,2%)	12 (19,3%)	<0,02
200 – 499 n=154	34 (22,1%)	117 (76%)	103 (66,9%)	100 (65%)	3 (1,9%)	17 (11%)	<0,003
\geq 500 n=111	7 (6,3%)	102 (91,9%)	90 (81,1%)	88 (79,2%)	2 (1,8%)	14 (12,6%)	<0,005
Todos n=359	94 (26,2%)	256 (71,3%)	221 (61,6%)	212 (59,1%)	9 (2,5%)	44 (12,3%)	<0,0001

Los porcentajes entre paréntesis están calculados respecto al número de pacientes en cada estrato de linfocitos T CD4+.

MT= MULTITEST; AM = panel de antígenos administrados por técnica de Mantoux.

(+) = respuesta positiva; (-) = respuesta negativa.

*Los valores de P fueron determinados con el test de McNemar para datos apareados.

El número de pacientes con una respuesta positiva a los antígenos aplicados por técnica de Mantoux y simultáneamente anergia a MULTITEST fue de 44 (12,3%; IC₉₅: 9,5% - 15,6%), mientras que a la inversa, el número de pacientes con una respuesta positiva a MULTITEST y simultáneamente anergia a los antígenos aplicados por técnica de Mantoux fue sólo de 9 (2,5%; IC₉₅: 0,9% - 4,1%) ($P < 0.0001$, test de McNemar).

Como se observa en la tabla I, en todos los estratos de linfocitos T CD4+, excepto en aquellos pacientes con recuento inferior a 50/ μ L, el panel de antígenos por técnica de Mantoux produjo más respuestas positivas que MULTITEST, siendo estadísticamente significativas las diferencias. Si se hubieran agrupado en un mismo grupo los pacientes con menos de 50 linfocitos T CD4+/ μ L y los pacientes con 50-199/ μ L, el panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux se mostraba superior a MULTITEST también en dicho grupo, con diferencias significativas ($P < 0,05$, datos no mostrados en la tabla).

1.3.- RELACION DE LAS RESPUESTAS A AMBOS PANELES ANTIGENICOS CON EL CONTAJE DE LINFOCITOS T CD4+.

Con ambos paneles antigénicos se evidenció una asociación entre el número absoluto de linfocitos T CD4+ y la presencia o ausencia de respuesta positiva al panel antigénico. Así, la media de los linfocitos T CD4+ en los reactivos a MULTITEST fue de 468/ μ L *versus* 257/ μ L en los anérgicos a este dispositivo ($P < 0.001$). En los reactivos a los antígenos por técnica de Mantoux, la media de linfocitos T CD4+ fue de 458/ μ L *versus* 208/ μ L en los anérgicos a este panel antigénico ($P < 0.001$).

Además, como se observa en la tabla I, el porcentaje de respuestas positivas a cada panel aumentó progresivamente a medida que lo hacían los niveles de linfocitos T CD4+, lo cual se correspondía con el aumento del porcentaje de verdaderos anérgicos que se producía a medida que disminuía el recuento de linfocitos T CD4+.

1.4.- ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS A LOS ANTIGENOS INDIVIDUALES DE AMBOS PANELES ANTIGENICOS.

Las respuestas totales y estratificadas por niveles de linfocitos T CD4+, a cada uno por separado de los 11 antígenos administrados con los dos paneles, se muestran en la tabla II.

De los antígenos aplicados por técnica de Mantoux, *C. albicans* y toxoide tetánico produjeron tasas de respuestas positivas parecidas: 52,4% (IC₉₅: 47,2% - 57,6%) para *C. albicans* y 47,4% (IC₉₅: 42,2% - 52,6%) para toxoide tetánico (diferencia no significativa, test de McNemar). La tasa de respuestas positivas para el antígeno del virus de la parotiditis fue del 37,9% (IC₉₅: 32,9% - 42,9%), y para la PPD del 26,2% (IC₉₅: 21,6% - 30,7%). Hubo una diferencia significativa en la proporción de respuestas positivas con *C. albicans* y toxoide tetánico, respectivamente, respecto a la proporción de respuestas positivas con el antígeno del virus de la parotiditis ($P < 0,0001$ para *C. albicans* versus antígeno del virus de la parotiditis, y $P < 0,003$ para toxoide tetánico versus antígeno del virus de la parotiditis, test de McNemar).

TABLA II. Respuestas de los pacientes con infección por el VIH a los distintos antígenos aplicados por técnica de Mantoux y por MULTITEST, según distintos niveles de linfocitos T CD4+.

Linfocitos T CD4+ por μL	Tétanos	<i>C. albicans</i>	Parotiditis	PPD	Tb	Can	Tet	Tri	Dif	Est	Pro
< 50 n=32	3 (9,3%)	2 (6,2%)	3 (9,3%)	1 (3,1%)	2 (6,2%)	1(3,1%)	2 (6,2%)	1 (3,1%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (9,3%)
50 – 199 n=62	23 (37,1%)	20 (32,2%)	15 (24,2%)	4 (6,4%)	6 (9,6%)	13 (21%)	13 (21%)	1 (1,6%)	5 (8%)	1 (1,6%)	8 (13%)
200 – 499 n=154	71 (46,1%)	88 (57,1%)	62 (40,2%)	48 (31,1%)	55 (35,7%)	45 (29,2%)	52 (33,7%)	3 (1,9%)	6 (3,8%)	8 (5,1%)	15 (9,7%)
\geq 500 n=111	73 (65,7%)	78 (70,2%)	56 (50,4%)	41 (36,9%)	45 (40,5%)	41 (36,9%)	48 (43,2%)	6 (5,4%)	15 (13,5%)	7 (6,3%)	14 (12,6%)
Todos n=359	170 (47,4%)	188 (52,4%)	136 (37,9%)	94 (26,2%)	108 (30,1%)	100 (28%)	115 (32%)	11 (3,1%)	26 (7,2%)	16 (4,5%)	40 (11,1%)

Los porcentajes entre paréntesis están calculados respecto al número de pacientes en cada estrato de linfocitos T CD4+.

Antígenos de MULTITEST: Tb= tuberculina. Can= *Candida*. Tet= tétanos. Tri= *Trichophyton*. Dif= difteria. Est= *Streptococcus* (grupo C).

Pro= *Proteus mirabilis*.

Si se tiene en cuenta únicamente a los pacientes no anérgicos al panel de antígenos por técnica de Mantoux, las tasas de respuestas positivas para *Candida*, toxoide tetánico, antígeno del virus de la parotiditis y PPD fueron: 73%, 66%, 53% y 36,7%. Se debe señalar que de los 94 pacientes con respuesta positiva a PPD, 79 (84%) fueron UDI.

Hubo 24 pacientes (6,7%) que reaccionaron a *C. albicans* sin respuesta a los otros tres antígenos administrados por técnica de Mantoux. Diecisiete pacientes (4,73%) reaccionaron a toxoide tetánico sin respuesta a los otros tres antígenos administrados por técnica de Mantoux. Diez pacientes (2,8%) reaccionaron a PPD sin respuesta a los otros tres antígenos administrados por técnica de Mantoux. Finalmente, sólo 4 pacientes (1,1% del total de pacientes, 1,5% de los reactivos al panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux) reaccionaron al antígeno del virus de la parotiditis sin respuesta a los otros tres antígenos administrados por técnica de Mantoux.

Las respuestas positivas a cada uno de los siete antígenos liberados por MULTITEST fueron como sigue: Tétanos 32% (IC₉₅: 27,2% - 36,8%), tuberculina 30,1% (IC₉₅: 25,3% - 34,8%), *Candida* 28% (IC₉₅: 23,3% - 32,6%), *Proteus* 11,1% (IC₉₅: 7,8% - 14,3%), difteria 7,2% (IC₉₅: 4,5% - 9,9%), *Streptococcus* 4,5% (IC₉₅: 2,3% - 6,6%), y *Trichophyton* 3,1% (IC₉₅: 1,3% - 4,9%).

Los diámetros (media \pm DE) de las respuestas positivas a los antígenos aplicados por técnica de Mantoux fueron: PPD $15,6 \pm 6$ mm, antígeno del virus de la parotiditis $11,6 \pm 6$ mm, *C. albicans* $11,3 \pm 5$ mm y toxoide tetánico $8,9 \pm 5$ mm. Por otro lado, los diámetros de las respuestas positivas a los antígenos liberados por MULTITEST fueron: tuberculina 7 ± 4 mm, tétanos 6 ± 3 mm, difteria 4 ± 2

mm, *Candida* $3,7 \pm 2$ mm, *Trichophyton* $3,5 \pm 1$ mm, *Streptococcus* $3,3 \pm 1$ mm, y *Proteus* 3 ± 1 mm. La media del score (puntuación obtenida sumando los diámetros de las respuestas positivas a los distintos antígenos de MULTITEST) fue de 10 ± 6 mm. La media del score obtenida del mismo modo para los antígenos aplicados por técnica de Mantoux fue de $25,7 \pm 13$ mm. Si se hubieran considerado positivas las induraciones de 1-4 mm para los antígenos aplicados por técnica de Mantoux (no sólo las que eran ≥ 5 mm), el score medio hubiera sido de $24,5 \pm 14$ mm.

En 13 pacientes la PPD mostró una respuesta de 1-4 mm. En todos ellos se realizó un segundo test con PPD a la semana del primero buscando el efecto *booster*, obteniendo en 9 de ellos (69%) una respuesta positiva a PPD (≥ 5 mm). Es de destacar que 7 de estos 9 pacientes tenían una respuesta positiva a la tuberculina de MULTITEST.

Una comparación directa de las respuestas a la tuberculina de MULTITEST (*old tuberculin*) con la PPD aplicada por técnica de Mantoux mostró que 91 pacientes (25,3%) reaccionaron a ambos antígenos, 248 (69%) a ninguno de los dos, 17 (4,7%) reaccionaron a la tuberculina de MULTITEST pero no a PPD, mientras que 3 (0,8%) reaccionaron a PPD pero no a la tuberculina de MULTITEST ($P < 0.003$, test de McNemar). Usando la PPD como el estándar oro para la detección de infección tuberculosa, la tuberculina de MULTITEST tendría una sensibilidad de 97%, una especificidad del 94%, un valor predictivo positivo del 84% y un valor predictivo negativo del 99%.

A diferencia de lo ocurrido con la tuberculina, la comparación directa de las respuestas del antígeno de *Candida* de MULTITEST con *C. albicans* aplicada por

técnica de Mantoux, mostró una mayor superioridad de esta última para obtener respuestas positivas. Hubo 95 pacientes (26,4%) que reaccionaron a ambos antígenos, 166 (46,2%) a ninguno de los dos, 5 (1,4%) reaccionaron a *Candida* de MULTITEST pero no a *C. albicans* aplicada por técnica de Mantoux, mientras que 93 (25,9%) reaccionaron a *C. albicans* aplicada por técnica de Mantoux pero no a *Candida* de MULTITEST ($P < 0.0001$, test de McNemar).

Con el toxoide tetánico ocurrió lo mismo que con *Candida*. Hubo 104 pacientes (29%) que reaccionaron a ambos antígenos, 178 (49,6%) a ninguno de los dos, 11 (3%) reaccionaron a tétanos de MULTITEST pero no a toxoide tetánico aplicado por técnica de Mantoux, mientras que 66 (18,4%) reaccionaron a toxoide tetánico aplicado por técnica de Mantoux pero no a tétanos de MULTITEST ($P < 0.0001$, test de McNemar).

1.5.- ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS A DISTINTAS COMBINACIONES DE LOS ANTIGENOS DEL PANEL APLICADO POR TECNICA DE MANTOUX.

En el panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux, las tasas de respuestas positivas a las posibles combinaciones de PPD más dos de los tres antígenos que la acompañan, fueron: 70,2% (IC₉₅: 65,4% – 74,9%) para la combinación *C. albicans*-toxoide tetánico-PPD; 66,6% (IC₉₅: 61,7% – 71,5%) para la combinación *C. albicans*-antígeno del virus de la parotiditis-PPD; y 64,6% (IC₉₅: 59,6% – 69,5%) para toxoide tetánico-antígeno del virus de la parotiditis-PPD (IC₉₅: 68 - 77%).

La tabla III compara las respuestas a MULTITEST con las respuestas a cada una de estas combinaciones de tres antígenos aplicados por técnica de Mantoux.

TABLA III. Respuestas de los pacientes con infección por el VIH a MULTITEST *versus* tres combinaciones diferentes de PPD más dos de los tres antígenos que la acompañan en el panel administrado por técnica de Mantoux.

		MULTITEST		<i>P</i> *
		(+)	(-)	
Combinaciones de AM	<i>C. albicans</i> -toxoi- de tetánico-PPD	(+)	212 (59%)	<0,0001
		(-)	9 (2,5%)	
	<i>C. albicans</i> - parotiditis-PPD	(+)	203 (56%)	<0,03
		(-)	18 (5%)	
	Toxoi- de tetánico- parotiditis-PPD	(+)	198 (55%)	NS
		(-)	23 (6%)	

Los porcentajes entre paréntesis están calculados respecto al número total de pacientes.

AM = panel de antígenos administrados por técnica de Mantoux.

(+) = respuesta positiva; (-) = respuesta negativa.

*Los valores de *P* fueron determinados con el test de McNemar para datos apareados (el cual analiza las diferencias entre las casillas +/- y -/+).

Como se observa en la tabla III, las dos combinaciones que incluían a *C. albicans* (*C. albicans*-toxoides tetánico-PPD y *C. albicans*-antígeno del virus de la parotiditis-PPD) fueron superiores a MULTITEST para detectar respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada ($P < 0.0001$ y $P < 0,03$ respectivamente, test de McNemar), mientras que las respuestas obtenidas con la combinación toxoides tetánico-antígeno del virus de la parotiditis-PPD no fueron estadísticamente superiores a las obtenidas con MULTITEST.

Al analizar estos resultados estratificando por niveles de linfocitos T CD4+, la combinación de *C. albicans*-toxoides tetánico-PPD fue la única de las tres combinaciones que fue superior a MULTITEST, y no en todos los estratos de linfocitos T CD4+. Concretamente en el nivel de 200-499/ μL y en el nivel de $\geq 500/\mu\text{L}$, fue donde las diferencias fueron significativas, y no se encontraron diferencias en los pacientes con menor recuento de CD4+ (pacientes con menos de 50 CD4+/ μL y pacientes con 50-199 CD4+/ μL), aunque debe mencionarse que en el grupo con 50-199 CD4+/ μL se rozó la significación estadística ($P = 0,06$). Estos datos se muestran con más detalle en la tabla IV.

TABLA IV. Respuestas de los pacientes a MULTITEST versus la combinación de *C. albicans*-toxoides tetánico-PPD administrados por técnica de Mantoux al estratificar por niveles de linfocitos T CD4+.

		MULTITEST		<i>P</i> *
		(+)	(-)	
<i>C. albicans</i>- toxoides tetánico-PPD	CD4 < 50/μL n=32	(+)	3	NS
		(-)	26	
	CD4 50 – 199/μL N=62	(+)	21	NS (0,06)
		(-)	30	
	CD4 200 – 499/μL n=154	(+)	100	<0,005
		(-)	35	
	CD4 \geq 500/μL n=111	(+)	88	<0,005
		(-)	7	

*Los valores de *P* fueron determinados con el test de McNemar para datos apareados (el cual analiza las diferencias entre las casillas +/- y -/+).

1.6.- EFECTO DEL CAMBIO DEL PUNTO DE CORTE PARA CONSIDERAR UNA INDURACION COMO POSITIVA EN EL PANEL DE ANTIGENOS APLICADOS POR TECNICA DE MANTOUX.

Si el punto de corte para considerar una induración como positiva con los antígenos administrados por técnica de Mantoux se hubiera bajado de 5 mm a 2 mm, las diferencias entre ambos paneles antigénicos serían aún más evidentes. Así, el porcentaje de respuestas positivas para el panel de cuatro antígenos por técnica de Mantoux aumentaría de 71,3% a 75% (IC₉₅: 71% - 80%), y para las combinaciones de PPD más dos de los tres antígenos de control aumentaría como sigue: de 70,2% a 73% (IC₉₅: 68% - 78%) para la combinación *C. albicans*-toxoides tetánico-PPD; de 66,6% a 71% (IC₉₅: 66% - 76%) para la combinación *C. albicans*-antígeno de parotiditis-PPD; y de 64,6% a 72% (IC₉₅: 67% - 77%) para la combinación toxoides tetánico-antígeno de parotiditis-PPD ($P < 0,0001$ para las cuatro comparaciones de cada una de estas combinaciones con MULTITEST).

1.7.- ELECCION DE LOS ANTIGENOS A APLICAR EN LA SEGUNDA PARTE DEL ESTUDIO.

Una vez analizada las respuestas a ambos paneles y a los distintas combinaciones del panel más eficaz, se eligió la combinación de *C. albicans*-toxoides tetánico-PPD aplicados por técnica de Mantoux para ser empleada en la segunda parte del estudio, eliminando al antígeno del virus de la parotiditis, dada su escasa aportación a la batería formada por los otros tres antígenos (sólo uno de cada 100 pacientes era catalogado erróneamente como anérgico a los antígenos aplicados por técnica de Mantoux al no añadir este antígeno).

2.- ESTUDIO DE LAS VARIABLES QUE SE RELACIONAN DE MANERA INDEPENDIENTE CON LA PRESENCIA DE ANERGIA CUTANEA EN LOS PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH

2.1.- ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA POBLACION.

2.1.1.- Pacientes incluidos. Durante 14 meses (entre el 5 de marzo de 1997 y el 30 de junio de 1998), las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada fueron estudiadas mediante la aplicación de *C. albicans*, toxoide tetánico y PPD aplicados por técnica de Mantoux en 662 pacientes con infección confirmada por VIH. De estos 662 pacientes, 83 no retornaron en 48-72 horas para la lectura de las respuestas a los tests cutáneos, y otros 69 tuvieron incompleta la recogida de datos, por lo que el estudio se completó en 510 pacientes.

2.1.2.- Variable dependiente: anergia cutánea. Del total de pacientes, 176 (34,5%) fueron anérgicos, mientras que 334 (65,5%) fueron reactivos a alguno de los antígenos administrados.

2.1.3.- Variables independientes. En la tabla V y VI se resume el estudio descriptivo de los parámetros demográficos, epidemiológicos, nutricionales, inmunológicos, virológicos y terapéuticos de los pacientes.

Tabla V. Parámetros demográficos, epidemiológicos, nutricionales, inmunológicos, virológicos y terapéuticos en 510 pacientes con infección por el VIH. Estudio descriptivo de los parámetros cualitativos.

Parámetros	Porcentaje
Anergia	
Sí	34,5%
No	65,5%
Sexo	
Mujer	21,6%
Hombre	78,4%
Grupo de riesgo	
Hemofílicos	1,8%
Homosexuales	20,8%
Heterosexuales	17,6%
UDI	59,8%
Albúmina (g/dL)	
< 3	7,8%
≥ 3	92,2%
CB (% de la ideal)	
< 75	6,1%
≥ 75	93,9%
CMB (% de la ideal)	
< 75	5,3%
≥ 75	94,7%
IAMB (% del ideal)	
< 75	50%
≥ 75	50%
IMC (% del ideal)	
< 75	8,4%
≥ 75	91,6%
IPN (%)	
≥ 50	5,4%
< 50	94,6%
PCT (% del ideal)	
< 75	49,6%
≥ 75	50,4%
Peso (% del ideal)	
< 75	7,2%
≥ 75	92,8%
Puntuación nutricional (puntos)	
6 – 9	10,5%
3 – 5	89,5%
Estadio infección VIH	
B ó C	50,7%
A	49,3%

Tabla V (continuación). Parámetros demográficos, epidemiológicos, nutricionales, inmunológicos, virológicos y terapéuticos en 510 pacientes con infección por el VIH. Estudio descriptivo de los parámetros cualitativos.

Parámetros	Porcentaje
Linfocitos T CD4+/ μ L	
< 50	9,6%
50 – 199	18,2%
200 – 499	45,7%
\geq 500	26,5%
SIDA	
Sí	49,8%
No	50,2%
Antígeno p24	
Positivo	23%
Negativo	77%
Tratamiento antirretroviral	
Sí	52%
No	48%

CB=circunferencia braquial. CMB=circunferencia muscular del brazo. IAMB=índice adiposo muscular del brazo. IMC=índice de masa corporal. IPN=índice pronóstico nutricional. PCT=pliegue cutáneo tricípital. UDI=usuario de drogas inyectadas.

Tabla VI. Parámetros demográficos, epidemiológicos, nutricionales, inmunológicos, virológicos y terapéuticos en 510 pacientes con infección por el VIH. Estudio descriptivo de los parámetros cuantitativos.

Parámetros	Media	DE	Mediana	Rango
Edad (años)	33	7	32	16 – 66
AGB (cm ²)	16,6	9,3	14,2	4,07 – 66,05
Albúmina (g/dL)	4,01	0,7	3,9	0,8 – 6
CB (cm)	27,5	3,2	28	15 – 40
CMB (cm)	23,6	3,3	23,6	12,9 – 35,5
IAMB	0,39	0,28	0,3	0,08 – 1,91
IMC (kg/m ²)	23,06	3,2	22,8	16 – 40,2
PCT (mm)	12,6	6,7	11	4 – 39
Peso (kg)	67,2	11,02	67	40 – 118
Prealbúmina (mg/dL)	22,03	6,7	21,8	1,1 – 43
Talla (cm)	170,5	8	172	147 – 192
Transferrina (mg/dL)	278,1	63,5	274	82 – 505
Linfocitos T Cd4+/μL	348	255	320	1 - 1.816
Linfocitos T CD4+ (%)	19,4	10,3	19	0,2 – 57
Linfocitos T CD8+/μL	1.091	584	956	18 – 5.038
Linfocitos T: Cociente CD4+/CD8+	0,4	0,3	0,3	0,004 – 2,1
Beta-2-microglobulina (mg/L)	2,3	0,9	2,2	0,8 – 8,3
Carga viral: copias ARN/mL	185.142	588.602	13.182	50 – 8.849.106
Carga viral: log ₁₀	4,01	1,38	4,12	1,69 – 6,94

AGB=área grasa del brazo. CB=circunferencia braquial. CMB=circunferencia muscular del brazo. IAMB=índice adiposo muscular del brazo. IMC=índice de masa corporal. PCT=pliegue cutáneo tricipital.

2.2.- FACTORES DE RIESGO PARA LA APARICION DE ANERGIA CUTANEA EN LOS PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH: ANALISIS UNIVARIANTE.

Los resultados de este análisis se muestran en las tablas VII y VIII.

2.3.- FACTORES DE RIESGO PARA LA APARICION DE ANERGIA CUTANEA EN LOS PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH: ANALISIS MULTIVARIANTE.

Las variables que en el apartado anterior mostraron una asociación estadística (con un valor de P menor de 0,05) con la presencia de anergia cutánea fueron seleccionadas para el análisis multivariante. Los resultados de este análisis se expresan en la tabla IX.

Tabla VII. Factores de riesgo para la aparición de anergia cutánea.

Análisis univariante de factores cualitativos.

Factores	Prevalencia de anergia (%)	Odds ratio (IC ₉₅)	P
Sexo			
Mujer	44,7	1,7 (1,2 – 2,5)	0,002
Hombre	31,8	1	
Grupo de riesgo			NS
Hemofílicos	42,3	1,6 (0,7 – 3,6)	NS
Homosexuales	38,7	1,4 (0,9 – 1,9)	NS
Heterosexuales	37,5	1,3 (0,9 – 1,8)	NS
UDI	31,1	1	
UDI			
No	38,3	1,4 (1,07 – 1,7)	0,01
Sí	31,1	1	
Albúmina (g/dL)			
< 3	61,1	2,9 (1,1 – 7,6)	0,02
≥ 3	35,3	1	
CB (% de la ideal)			
< 75	87	14,4 (6 – 34,5)	<0,00001
≥ 75	31,6	1	
CMB (% de la ideal)			
< 75	92,5	26,5 (8,1 – 86,9)	<0,00001
≥ 75	31,7	1	
IAMB (% del ideal)			
< 75	35,1	1,01 (0,7 – 1,4)	NS
≥ 75	34,8	1	
IMC (% del ideal)			
< 75	52,2	2,2 (1,4 – 3,7)	0,001
≥ 75	32,7	1	
IPN (%)			
≥ 50	59,3	3,2 (1,4 – 7)	0,002
< 50	31,5	1	
PCT (% del ideal)			
< 75	40,9	1,7 (1,2 – 2,2)	0,0009
≥ 75	29,4	1	
Peso (% del ideal)			
< 75	45,5	1,5 (0,6 – 3,5)	NS
≥ 75	36	1	
Puntuación nutricional (puntos)			
6 – 9	64,3	3,5 (1,5 – 7,8)	0,001
3 – 5	34,2	1	
Estadio infección VIH			
B ó C	53,9	4,1 (3 – 5,6)	<0,00001
A	22,1	1	
Linfocitos T CD4+/ μ L			
< 50	90,7	70,3 (29,1 – 170,1)	<0,00001
50 – 199	55,2	8,9 (5,2 – 15,2)	<0,00001
200 – 499	27,7	2,8 (1,7 – 4,5)	0,00002
≥ 500	12,1	1	
SIDA			
Sí	58,1	5,7 (4,1 – 7,9)	<0,00001
No	19,5	1	

Tabla VII (continuación). Factores de riesgo para la aparición de anergia cutánea. Análisis univariante de factores cualitativos.

Factores	Prevalencia de anergia (%)	Odds ratio (IC ₉₅)	P
Antígeno p24			
Positivo	30,5	1,05 (0,5 – 2)	NS
Negativo	29,5	1	
Tratamiento antirretroviral			
Sí	41,4	2,05 (1,4 – 3)	0,0001
No	25,6	1	

Tabla VIII. Factores de riesgo para la aparición de anergia cutánea. Análisis univariante de factores cuantitativos.

Factores	Anérgicos n = 176 (34,5 %)			No anérgicos n = 334 (65,5 %)			P
	Media	(DE)	[mediana]	Media	(DE)	[mediana]	
Edad (años)	33,3	(8,1)	[32]	31,9	(6,9)	[31]	0,02
AGB (cm ²)	15,7	(8,3)	[12,7]	17,1	(9,8)	[14,5]	<0,05
CB (cm)	26,9	(3,4)	[27]	27,9	(3,5)	[28]	0,001
CMB (cm)	22,9	(3,4)	[23,1]	23,9	(3,3)	[23,7]	<0,001
IAMB	0,38	(0,24)	[0,3]	0,39	(0,27)	[0,31]	NS
IMC (kg/m ²)	22,4	(3,3)	[22,2]	23,2	(3,4)	[22,9]	<0,001
PCT (mm)	12,6	(6,4)	[11]	13,05	(7)	[12]	NS
Peso (kg)	64,7	(10,9)	[65]	67,6	(11,6)	[67]	<0,001
Prealbúmina (mg/dL)	20,9	(6,8)	[20,5]	21,9	(5,8)	[21,6]	NS
Talla (cm)	169,7	(8,4)	[170]	170,6	(7,7)	[170]	NS
Transferrina (mg/dL)	265,7	(70,7)	[264]	262,3	(52,6)	[260]	NS
Linfocitos T CD4+ (%)	13,3	(9,6)	[12]	22,8	(9,5)	[22,6]	<0,001
Linfocitos T CD8+/ μ L	949,8	(635,4)	[816,5]	1107,8	(578,5)	[993]	<0,001
Cociente CD4+/CD8+	0,25	(0,23)	[0,19]	0,46	(0,28)	[0,41]	<0,001
Beta-2-microglobulina (mg/L)	2,6	(1,09)	[2,5]	2,2	(0,7)	[2,1]	0,001
Carga viral: log ₁₀	4,62	(1,28)	[4,84]	3,68	(1,15)	[3,81]	<0,001

Abreviaturas para las tablas VII y VIII: AGB=área grasa del brazo. CB=circunferencia braquial. CMB=circunferencia muscular del brazo. IAMB=índice adiposo muscular del brazo. IMC=índice de masa corporal. IPN=índice pronóstico nutricional. PCT=pliegue cutáneo tricipital. UDI=usuario de drogas inyectadas.

Tabla IX. Factores de riesgo que se asociaron de forma independiente con la presencia de anergia cutánea.

Variable	Beta	Error E	P	Odds ratio	IC 95%
Estadio infección VIH B ó C	0,8282	0,2735	0,0025	2,29	1,34 - 3,91
Linfocitos T CD4+/ μ L					
200 – 499	0,5184	0,3503	0,1389	1,68	0,84 - 3,34
50-199	1,2230	0,3984	0,0021	3,40	1,56 - 7,42
< 50	2,6684	0,8576	0,0019	14,42	2,68 - 77,42
Log ₁₀ de la carga viral	0,3643	0,0946	0,0001	1,44	1,20 - 1,73
CMB	-0,1308	0,0408	0,0013	0,88	0,81 - 0,95
Constante	0,1249	1,0090	0,9015		

	Inicial	Final	Diferencia	gl	P
-2 Log Verosimilitud	451,9785	363,577	88,401	6	<0,0001
Bondad de ajuste		347,134			

Ecuación de regresión que ajusta el modelo:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(0,1249 + 0,8282 \text{ estadio B ó C} + 0,5184 \text{ CD4 } 200-499 + 1,2230 \text{ CD4 } 50-199 + 2,6684 \text{ CD4 } <50 + 0,3643 \text{ log carga viral} - 0,1308 \text{ CMB})}}$$

CMB= circunferencia muscular del brazo.

De la tabla IX se deducen los siguientes hechos:

1. Los pacientes con estadio B ó C tuvieron 2,29 veces más riesgo de anergia cutánea que los pacientes en estadio A.
2. A medida que el nivel de linfocitos T CD4+ disminuye, aumenta sustancialmente el riesgo de anergia. Así, con respecto a los pacientes con una cifra de linfocitos T CD4+ igual o superior a 500/ μ L, un nivel de menos de 50/ μ L multiplica el riesgo de anergia por 14,42; un nivel de 50-199 lo multiplica por 3,40; y un nivel de 200-499 lo multiplica por 1,68 (aunque en esta última comparación la diferencia no fue significativa: IC₉₅ 0,84 – 3,34).
3. Por cada incremento en una unidad del log₁₀ de la carga viral (o lo que es lo mismo, al multiplicar por 10 la carga viral) la probabilidad de ser anérgico aumenta un 44% (el riesgo de anergia se multiplica por 1,44).
4. Por cada cm que aumenta la CMB, el riesgo de anergia “aumenta” 0,88 veces, o lo que es lo mismo, disminuye un 14% (1/0,88=1,14).
5. Con el modelo multivariante obtenido se puede calcular la probabilidad de anergia en función de las características de los pacientes (factores de riesgo incluidos en la ecuación). Así por ejemplo, la probabilidad de anergia para un paciente en estadio C, con una cifra actual de linfocitos T CD4+ menor de 50/ μ L, una carga viral de 100.000 copias/mL (log₁₀ = 5) y una CMB de 20 cm, sería, como se deduce de la ecuación siguiente, del 94%:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(0,1249 + 0,8282 + 2,6684 + (0,3643 \times 5) - (0,1308 \times 20)}} = 0,94$$

3.- ESTUDIO DE LAS VARIABLES QUE SE RELACIONAN CON LA RECUPERACION DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH PREVIAMENTE ANERGICOS.

3.1.- ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA POBLACION.

3.1.1.- Pacientes incluidos. En esta tercera fase del estudio se repitieron los tests cutáneos a los pacientes anérgicos de la etapa anterior tras un periodo de 6 a 18 meses. Del total de 176 anérgicos de la segunda fase del estudio, a 156 pacientes se les repitieron y leyeron las respuestas al panel antigénico formado por los mismos antígenos de la etapa anterior (*C. albicans*, toxoide tetánico y PPD aplicados por técnica de Mantoux). Esta tercera etapa terminó el 30 de septiembre de 1999 (fecha en la que se le repitieron las pruebas cutáneas al último paciente).

3.1.2.- Tratamiento antirretroviral. Los 156 pacientes recibieron HAART durante el intervalo de tiempo entre la primera y segunda valoración de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada. En el momento de la segunda evaluación todos los pacientes estaban recibiendo HAART durante un periodo continuado de al menos 3 meses.

3.1.3.- Variable dependiente: cambio de anérgico a reactor. De los 156 pacientes, 100 (64,1%; IC₉₅: 56,6% - 71,6%) cambiaron de anérgicos a reactores tras la segunda determinación de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada con los tests cutáneos, mientras que 56 (35,9%; IC₉₅: 28,4% - 43,4%) permanecieron anérgicos.

3.1.4.- Respuestas positivas a PPD en la segunda evaluación con tests cutáneos. Siete de los 156 pacientes previamente anérgicos presentaron respuesta positiva a PPD en la segunda evaluación con tests cutáneos, lo cual representa un 4,5% (IC₉₅: 1,2% - 7,7%) de los pacientes anérgicos en la primera evaluación y un 7% de los pacientes que cambiaron de anérgicos a rector (IC₉₅: 1,2% - 12%).

3.1.5.- Estudio descriptivo de las variables que se analizaron para investigar el cambio de anérgico a rector. Se incluyeron las variables que en la segunda fase del estudio demostraron su asociación independiente con la presencia de anergia y cuatro nuevas variables que ya han sido definidas en *Material y Métodos*.

3.1.5.1.- RECUENTO DE LINFOCITOS T CD4+ EN LA PRIMERA EVALUACION. La cifra media de linfocitos T CD4+ de los 156 pacientes de esta fase en el momento de la primera evaluación fue de 218/ μ L (DE 189/ μ L), la mediana 183/ μ L y el rango de 1 a 915. Al estratificar por niveles de linfocitos T CD4+, 34 pacientes (21,8%) tuvieron una cifra menor a 50 linfocitos T CD4+ por μ L, 49 (31,4%) tuvieron de 50 a 199 linfocitos T CD4+ por μ L, 59 (37,8%) de 200 a 499 linfocitos T CD4+ por μ L, y 14 (9%) tuvieron una cifra de linfocitos T CD4+ igual o mayor a 500 por μ L.

3.1.5.2.- LOGARITMO DE LA CARGA VIRAL EN LA PRIMERA EVALUACION. Los 156 pacientes tenían en el momento de la primera evaluación con los tests cutáneos una carga viral media de 362.275 copias de ARN/mL (DE 952.452 copias/mL) mientras que la mediana era de 60.000

copias/mL (rango 50 – 8.849.106 copias/mL). El \log_{10} de la carga viral medio fue de 4,49 (DE 1,29) y la mediana 4,77 (rango 1,7 – 6,94).

3.1.5.3.- ESTADIO DE LOS PACIENTES EN EL MOMENTO DE LA PRIMERA EVALUACION: De los 156 pacientes, 97 (62,2%) estaban clasificados en estadio B ó C de los CDC de 1993 en el momento de la primera evaluación, y 59 (37,8%) estaban clasificados en estadio A.

3.1.5.4.- CMB EN EL MOMENTO DE LA PRIMERA EVALUACION: La media de la CMB fue de 23,37 cm (DE 3,5 cm), la mediana 23,4 y el rango de 13 a 35,4.

3.1.5.5.- DIFERENCIA EN EL RECuento DE LINFOCITOS T CD4+. Hubo un aumento significativo del número de linfocitos T CD4+ en el momento de la segunda evaluación con tests cutáneos respecto a la primera evaluación. Así, la media del número de linfocitos T CD4+ pasó de 218/ μ L a 295,8/ μ L (DE 211) en el momento de la segunda evaluación ($P < 0,001$).

La media de la nueva variable (diferencia entre el número de linfocitos T CD4+ en el momento de la segunda evaluación con tests cutáneos y el número de linfocitos T CD4+ en el momento de la primera evaluación) fue de 77,5/ μ L (DE 160/ μ L), la mediana 46/ μ L y el rango de -252 a 606/ μ L.

3.1.5.6.- DIFERENCIA EN LA CARGA VIRAL. Hubo una disminución significativa del \log_{10} de la carga viral en el momento de la segunda evaluación con tests cutáneos respecto a la primera. Así, la media del \log_{10} de la carga viral pasó de 4,49 a 3,18 (DE 1,52) en la segunda evaluación ($P < 0,001$).

La media de la nueva variable (diferencia entre el \log_{10} de la carga viral en el momento de la primera evaluación con tests cutáneos menos el \log_{10} de la

carga viral en el momento de la segunda evaluación) fue de 1,31 (DE 1,49), la mediana 1,12 y el rango de -2,92 a 4,86.

3.1.5.7.- DIFERENCIA EN LA CMB. La variación en la CMB fue insignificante. La media de la CMB pasó de 23,37 cm a 23,39 en la segunda evaluación.

La media de la nueva variable (diferencia entre la CMB en el momento de la segunda evaluación con tests cutáneos menos la CMB en el momento de la primera evaluación) fue de 0,028 (DE 3,05 cm), la mediana 0,19 cm y el rango de -12,1 a 13,7 cm.

3.1.5.8.- DIAS TRANSCURRIDOS: La media de días transcurridos entre las dos evaluaciones fue de 351 días (DE 110 días), la mediana 346 y el rango de 182 a 533.

3.2.- FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CAMBIO DE ANERGICO A REACTOR EN LA INFECCION POR EL VIH: ANALISIS UNIVARIANTE.

Los resultados de este análisis se muestran en las tablas X y XI.

3.3.- FACTORES QUE INFLUYEN EN EL CAMBIO DE ANERGICO A REACTOR EN LA INFECCION POR EL VIH: ANALISIS MULTIVARIANTE.

Las variables que en el apartado anterior mostraron una asociación con el cambio de anérgico a reactor con un valor de P menor de 0,10 fueron seleccionadas para el análisis multivariante. Los resultados de este análisis se expresan en la tabla XII.

Tabla X. Factores que influyen en el cambio de anérgico a reactor en la infección por el VIH. Análisis univariante de factores cualitativos.

Factores*	Cambio de anérgico a reactor	Odds ratio (IC ₉₅)	P
Estadio infección VIH A B ó C	74,1% 57,3%	2,1 (1,04 – 4,4) 1	<0,04
Linfocitos T CD4+/μL ≥ 500 200 – 499 50 – 199 < 50	85,7% 71,2% 57,1% 52,9%	5,3 (1,03 – 27,5) 2,2 (0,9 – 5,3) 1,2 (0,5 – 2,9) 1	NS (0,071) <0,04 NS (0,076) NS

*Ambas variables fueron medidas en la primera evaluación con tests cutáneos.

Tabla XI. Factores que influyen en el cambio de anérgico a reactor en la infección por el VIH. Análisis univariante de factores cuantitativos.

Factores	Cambio a reactor N = 100 (64,1 %)			Persisten anérgicos n = 56 (35,9 %)			P
	Media	DE	Mediana	Media	DE	Mediana	
Linfocitos T CD4+ en la 1ª evaluación	246	205	220	167	143	144	0,01
Log ₁₀ de la carga viral (1ª evaluación)	4,36	1,29	4,63	4,74	1,26	4,96	NS (0,089)
CMB en la 1ª evaluación	23,5	3,5	23,3	23,1	3,7	23,8	NS
Diferencia en linfocitos T CD4+/μL	114,1	162,5	92	12,2	133,4	0	<0,001
Diferencia en log ₁₀ de carga viral	1,68	1,45	1,61	0,62	1,3	0,24	<0,001
Diferencia en la CMB (cm)	0,34	2,7	0,62	-0,54	3,57	-0,78	NS
Días transcurridos	346	113	343	362	107	371	NS

CMB=circunferencia muscular del brazo.

Tabla XII. Factores que se asociaron de forma independiente con el cambio de anérgico a reactor.

Variable	Beta	Error E	P	Odds ratio	IC 95%
Diferencia en CD4 (por mm ³)	0,0064	0,0019	0,0005	1,0065	1,0026 - 1,0101
Diferencia en log de carga viral	0,5567	0,1562	0,0004	1,7450	1,2847 - 2,3699
Linfocitos T CD4+/mm ³ basales			0,0005		
50 – 199	0,6935	0,5697	NS	2,0007	0,6550 - 6,1111
200 – 499	1,8325	0,5977	0,0022	6,2497	1,9367 - 20,1658
≥ 500	3,7642	1,0216	0,0002	43,1302	5,8232 – 319,4293
Constante	-1,6495	0,5318	0,0019		

	Inicial	Final	Diferencia	GI	P
-2 Log Verosimilitud	197,4290	169,857	27,572	2	<0,0001
Bondad de ajuste		164,554			

Ecuación de regresión que ajusta el modelo:

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(-1,6495 + 0,0064 \text{ diferencia CD4} + 0,5567 \text{ dif. carga viral} + 0,6935 \text{ CD4 50-199} + 1,8325 \text{ CD4 200-500} + 3,7642 \text{ CD4} > 500)}}$$

De la tabla XII se deducen los siguientes hechos:

1. Por cada aumento en 1 linfocito T CD4+/ μ L entre la primera y segunda evaluación con tests cutáneos, la probabilidad de cambiar de anérgico a reactor se multiplica por 1,0065. Esto implica que, por ejemplo, un aumento en 50 linfocitos T CD4+/ μ L multiplicaría por 1,4 la probabilidad de cambiar de anérgico a reactor ($e^{50 \times 0,0064} = 1,4$), un aumento en 100 linfocitos T CD4+/ μ L multiplicaría por 1,9 la probabilidad de cambiar de anérgico a reactor ($e^{100 \times 0,0064} = 1,9$), y un aumento en 200 linfocitos T CD4+/ μ L lo multiplicaría por 3,6 ($e^{200 \times 0,0064} = 3,6$).
2. Por cada reducción en un logaritmo de la carga viral entre la primera y segunda evaluación con tests cutáneos, la probabilidad de cambiar de anérgico a reactor se multiplica por 1,74 (o lo que es lo mismo, aumenta un 74%). Una reducción mayor, por ejemplo, en 2 logaritmos de carga viral, multiplicaría por 3 la probabilidad de cambiar de anérgico a reactor ($e^{2 \times 0,5567} = 3$).
3. Los pacientes que tuvieron mayores recuentos de linfocitos en la primera evaluación con tests cutáneos (cuando fueron diagnosticados de anérgicos) tuvieron mayor probabilidad de cambiar de anérgicos a reactores en la segunda evaluación. Los pacientes anérgicos con recuento igual o mayor a 500 CD4/ μ L y los pacientes anérgicos con 200-499 CD4/ μ L, tuvieron 43 y 6 veces, respectivamente, más probabilidades de dejar de ser anérgicos que los pacientes con recuento de CD4 más bajo (menos de 50 CD4/ μ L). Los pacientes con 50-199 CD4/ μ L tuvieron las mismas probabilidades de dejar

de ser anérgicos que los pacientes con menos de 50 CD4/ μ L (*odds ratio* 2, pero IC₉₅ 0,6 – 6).

4. Con el modelo multivariante obtenido se puede calcular la probabilidad del cambio de anérgico a reactor en función de las características de los pacientes. Así por ejemplo, la probabilidad de cambiar de anérgico a reactor para un paciente con un recuento basal cuando se diagnosticó de anérgico de 250 linfocitos T CD4+/ μ L, un aumento en 100 linfocitos T CD4+/ μ L en la segunda evaluación y una reducción de 1,5 logaritmos de carga viral con respecto a la primera evaluación, sería del 84%.

$$P = \frac{1}{1 + e^{-(-1,6495 + 0,0064 \times 100 + 0,5567 \times 1,5 + 1,8325)}} = 0,84$$

V. DISCUSION

PRIMERA PARTE: COMPARACION DE DOS METODOS PARA EL ESTUDIO DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH

1.- PREVALENCIA DE ANERGIA CUTANEA EN LOS PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH.

La prevalencia de anergia en una población depende del número de antígenos que se utilicen para investigarla, del tipo de antígenos, de la inmunidad previa de la población a dichos antígenos, de la preparación de los mismos (diluciones), del criterio para considerar una reacción como positiva, y del estado clínico de los pacientes^{54,154,170,195,203-206}. Por lo tanto, a la hora de analizar porcentajes de anergia cutánea en determinados grupos de pacientes, se debe tener en cuenta si los antígenos empleados se han mostrado eficaces para producir respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en la población sana de cada área geográfica¹⁷¹.

Prevalencia de anergia en nuestro estudio. En la primera parte de este trabajo hemos observado que el 26% de los pacientes con infección por el VIH de nuestro medio no mostró ninguna respuesta positiva a los antígenos de MULTITEST ni a los antígenos del panel aplicado por técnica de Mantoux, y fueron considerados por lo tanto verdaderos anérgicos. MULTITEST ya había mostrado su eficacia para detectar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en la población sana en nuestro medio¹⁸⁵. Los antígenos del panel aplicado por técnica de Mantoux fueron seleccionados tras

mostrar una tasa adecuada de respuestas positivas en un grupo de voluntarios sanos de edad similar a la de los pacientes. Estos datos, unido al alto número de antígenos empleados, hacen que el porcentaje de anergia obtenido en nuestro estudio refleje correctamente la prevalencia de dicho fenómeno en la población de pacientes con infección por el VIH de nuestro entorno geográfico.

Prevalencia de anergia en otros estudios. Ningún estudio sobre hipersensibilidad retardada en pacientes con infección por el VIH ha investigado la administración conjunta de MULTITEST y un panel de antígenos administrados por técnica de Mantoux, por lo que los porcentajes de anergia de estos pacientes en la literatura están basados en uno u otro método. Un resumen de todos estos estudios se muestra en la tabla XIII.

TABLA XIII. Resumen de los estudios que han evaluado la presencia de anergia cutánea en pacientes con infección por el VIH.

Autor (año)	País	Antígenos	Induración positiva (mm)	Nº pacientes VIH+	CD4/μL (M=media, m=mediana)	Anérgicos
Sears ²⁰³ 1987	EE.UU.	Tétanos 1:10 Parotiditis <i>Candida</i> 1:100 <i>Trichophyton</i> 1:30	1	347 (homosexuales)	No aportado	20%
Selwyn ¹⁴⁹ 1989	EE.UU.	MULTITEST PPD	2 (PPD: 10)	217 (UDI)	No aportado	27%
Greenspan ¹⁶⁸ 1991	EE.UU.	PPD <i>Candida</i> Parotiditis <i>Trichophyton</i>	5	55 (estadio B)	No aportado	Progresores a SIDA: 82% No progresores: 8%
Graham ¹⁵² 1992	EE.UU.	Parotiditis <i>Candida</i> 1:100 PPD	2 (PPD: 5)	109 (UDI)	67% con CD4>350	33%
French ²⁰⁷ 1992	Australia	MULTITEST	2	72 (estadios B ó C)	<200 la mayoría	58%
Birx ¹⁷¹ 1993	EE.UU.	Parotiditis Tétanos 1:10 Tétanos 1:100 <i>Candida</i> 1:10 <i>Candida</i> 1:100 <i>Trichophyton</i> 1:30 PPD	5	1236	59,3% con CD4>500 30,4% con CD4 200-500 10,3% con CD4<200	5% si CD4>500 11% si CD4 200-500 38% si CD4<200
Markowitz ¹⁹⁵ 1993	EE.UU.	PPD <i>Trichophyton</i> 1:100 Parotiditis <i>Candida</i> 1:100	5	1171 (estadio A ó B)	M=438 (m=410)	43,9%
Guelar ¹⁵¹ 1993	España	MULTITEST PPD	2 (PPD: 5)	322 de 742 PPD(-)	377	73%

TABLA XIII (continuación). Resumen de los estudios que han evaluado la presencia de anergia cutánea en pacientes con infección por el VIH.

Autor (año)	País	Antígenos	Induración positiva (mm)	Nº pacientes VIH+	CD4/μL (M=media, m=mediana)	Anérgicos
Moreno ¹⁵⁰ 1993	España	SK-SD ¹ <i>Candida</i> ¹ PPD ¹	1 (PPD: 5)	374	m=467 Anérgicos m=135 PPD(+) m=684 PPD(-) no anérgicos m=564	30%
Pape ¹⁴⁷ 1993	Haití	PPD Parotiditis <i>Candida</i> <i>Trichophyton</i>	5	118 (asintomáticos)	No aportado	1,7%
Blatt ¹⁵⁵ 1993	EE.UU.	Parotiditis <i>Candida</i> 1:500 Tétanos 1:5 <i>Trichophyton</i> 1:500 PPD	5 (PPD: 10)	889	7,1% con CD4<200 11,6% con CD4:200-400 81% con CD4>400 57% con CD4>600	59,4% si CD4<200 16,3% si CD4200-400 5,4% si CD4>400 total 10,6%
Villarino ¹⁸⁴ 1994	EE.UU.	Tétanos 1:5 <i>Candida</i> 1:100 Parotiditis PPD	3 (PPD: 5)	15 (inmigrantes)	No aportado	20%
Gordin ¹⁷² 1994	EE.UU.	MULTITEST	2	336 (estadio B)	M=347 en anérgicos M=358 en reactivos Todos CD4:200-500	37%
Huebner ¹⁵⁴ 1994	EE.UU.	Tétanos 1:5 Parotiditis <i>Candida</i> sin diluir PPD	3 (PPD: 5)	479 (ambulatorios)	M=349 Anérgicos M=155. No anérgicos M=437	31%
Webster ²⁰⁸ 1995	EE.UU.	Parotiditis Tétanos PPD	2 (PPD: 5)	671, todos PPD(-) (22% con SIDA)	M=331	73,8%

TABLA XIII (continuación). Resumen de los estudios que han evaluado la presencia de anergia cutánea en pacientes con infección por el VIH.

Autor (año)	País	Antígenos	Induración positiva (mm)	Nº pacientes VIH+	CD4/μL (M=media, m=mediana)	Anérgicos
Antonucci ¹⁵⁷ 1995	Italia	MULTITEST PPD	2 (PPD: 5)	2695	38,4% con CD4<200	61,2%
Caiaffa ²⁰⁹ 1995	EE.UU.	PPD <i>Candida</i> 1:100 Parotiditis	3	401 (UDI)	36% con CD4<350	36%.
Chin ²¹⁰ 1996	EE.UU.	PPD Parotiditis <i>Candida</i> 1:100	1	491	20% con <200 31% 200-400 49% con >400	36%
Gourevitch ¹⁹⁹ 1996	EE.UU.	PPD MULTITEST	2	160 (UDI)	No aportado	32,9%
Janis ²¹¹ 1996	EE.UU.	MULTITEST PPD	2 (PPD: 5)	52 (hospitalizados)	M=195, m=80 63% con CD4<200	63%
Graham ¹⁹⁶ 1996	EE.UU.	PPD Parotiditis <i>Candida</i>	3	942 (UDI)	No aportado	43%
Miller ¹³⁶ 1996	Tanzania	MULTITEST	2	90 (54% sintomáticos)	No aportado	43,3%
Markowitz ¹⁵⁸ 1997	EE.UU.	Parotiditis PPD	1 (PPD: 5)	1130 (sin SIDA)	M=436, m=410 50% con CD4>400 50% con CD4<400	54%
Hecker ²¹² 1997	Uganda	<i>Candida</i> 1:500 PPD	1 (PPD: 5)	58, todos PPD(-)	M=329 25% con CD4<200	59%
Maas ²¹³ 1998	Holanda	MULTITEST	Score $\geq 3^2$	136 (asintomáticos)	M=335 Anérgicos M=246 No anérgicos M=355	18,4%
Wendland ²¹⁴ 1999	Suiza	MULTITEST	2	26	49% con CD4<250 51% con CD4>250	50%

TABLA XIII (continuación). Resumen de los estudios que han evaluado la presencia de anergia cutánea en pacientes con infección por el VIH.

Autor (año)	País	Antígenos	Induración positiva (mm)	Nº pacientes VIH+	CD4/ μ L (M=media, m=mediana)	Anérgicos
Wilkinson ²¹⁵ 1999	Australia	MULTITEST	2	28 (todos 6 meses de AZT)	M=192	82%
Klein ²⁰⁵ 1999	EE.UU.	<i>Candida</i> 1:100 Tétanos 1:10 Parotiditis PPD	2 y 5 ³ (PPD: 5)	721 (mujeres)	23% con CD4<200 48% con CD4 200-499 29% con CD4>500	41,3% si punto de corte 2 mm 52,4% si punto de corte 5 mm
Klein ¹⁹⁷ 1999	EE.UU.	<i>Candida</i> 1.100 Tétanos 1:10 Parotiditis PPD	2 ⁴ (PPD: 5)	436 (mujeres)	17,3% con CD4 <200 50,5% con CD4 200-500 32,2% con CD4>500	38,7%
Vigano ²¹⁶ 1999	Italia	MULTITEST	3	25 (niños sintomáticos, clases 2 y 3)	Clase 2: M=518 Clase 3: M=109	69% de los de clase 2 100% de los de clase 3
Mezzaroma ²¹⁷ 1999	Italia	MULTITEST	2	21 (todos estadio C)	M=20	100%
Connick ²¹⁸ 2000	EE.UU.	<i>Candida</i> Parotiditis <i>Trichophyton</i> PPD	10	34 (todos con AZT)	CD4 100-300 m=192	100%

¹Se utilizaron concentraciones crecientes de PPD (2,5,25 U), de SK-SD (4,40,100 U) y de *Candida* (1:100 y 1:10) si no se obtenían respuestas positivas con la dosis inicial.

²Score: suma en mm de los diámetros de las induraciones ≥ 2 mm partido por número de induraciones ≥ 2 mm.

³Analiza los dos puntos de corte para considerar una induración como positiva (2 y 5 mm).

⁴El autor refiere que analiza de nuevo los resultados con un punto de corte de 5 mm con resultados similares.

SK-SD=estreptocinasa-estreptodornasa. UDI=usuario de drogas inyectadas.

Como se observa en la tabla, el porcentaje de anérgicos varió enormemente en los 32 estudios reseñados, recogándose porcentajes entre el 1,7% y el 100%. Asimismo, el número, dilución y tipo de antígenos, el criterio de positividad de la induración, el marco geográfico y las características clínicas y estado de inmunosupresión de los pacientes fue muy variable, lo que condiciona las enormes diferencias en la prevalencia de anergia.

Anergia a MULTITEST. En nuestro estudio, el porcentaje de anérgicos a MULTITEST fue del 38,4%. Esta cifra es similar al 37% descrito por Gordin¹⁷² en 336 pacientes en estadio B con un recuento medio de linfocitos T CD4+ de 350/ μ L, y cercana al 32,9% descrito por Gourevitch¹⁹⁹ en 160 usuarios de drogas inyectadas (ambos estudios realizados en EE.UU.), y al 43,3% descrito por Miller¹³⁶ en 90 pacientes en Tanzania. Estudios en pacientes con un grado de inmunosupresión más severo que el de nuestros pacientes han mostrado porcentajes de anergia a MULTITEST mucho mayores, como el 58% observado por French en Australia, en 72 pacientes sintomáticos con recuento de linfocitos T CD4+ inferior a 200/ μ L²⁰⁷, el 63% observado por Janis en 52 pacientes hospitalizados con recuento medio de linfocitos T CD4+ de 195/ μ L (mediana 80/ μ L)²¹¹, y el 82% descrito por Wilkinson en Australia en pacientes con recuento medio de linfocitos T CD4+ de 192/ μ L²¹⁵. Cuando el grado de inmunodepresión es muy severo, el porcentaje de anergia descrito con MULTITEST ha llegado al 100%, como lo reflejado en un estudio con pocos pacientes en Italia con recuento medio de linfocitos T CD4+ de 20/ μ L²¹⁷. A la inversa, Maas, en Holanda²¹³, en un trabajo con 136 pacientes asintomáticos,

ha descrito un porcentaje de anergia del 18,4%, cifra considerablemente inferior a la recogida en nuestro trabajo.

Anergia al panel antigénico aplicado por técnica de Mantoux. Un 28,7% de los 359 pacientes de la primera parte de este trabajo fueron anérgicos al panel de cuatro antígenos aplicados por técnica de Mantoux. Este resultado es similar al 31% obtenido por Huebner en EE.UU. en un estudio con los mismos antígenos que los aplicados por técnica de Mantoux a nuestros pacientes (PPD, *Candida*, antígeno del virus de la parotiditis, toxoide tetánico) en 479 pacientes ambulatorios con una cifra media de linfocitos T CD4+ de 349/ μ L¹⁵⁴. En España, Moreno describió un porcentaje de anérgicos similar (30%) pero empleando un panel antigénico distinto (PPD, *Candida*, SK-SD)¹⁵⁰. Markowitz describe un porcentaje de anergia mayor (43,9%) en una población con menor grado de inmunosupresión que la nuestra (media de linfocitos T CD4+ de 438/ μ L, mediana de 410/ μ L y ningún paciente en estadio C)¹⁹⁵. La explicación de este resultado puede ser explicada por el empleo de *Trichophyton* en vez de toxoide tetánico en ese estudio y la mayor dilución de *Candida* utilizada. Con el mismo panel que Markowitz pero en pacientes con infección avanzada por el VIH, el porcentaje de anergia llegó al 100% en un estudio reciente con pocos pacientes²¹⁸. A la inversa, en un estudio con el mismo panel antigénico que el empleado por nosotros pero en pacientes poco inmunodeprimidos, el porcentaje de anérgicos fue del 20%¹⁸⁴. Esta cifra ha llegado ha ser tan baja como el 1,7% descrito en un estudio en Haití en pacientes con infección por el VIH asintomáticos¹⁴⁷.

2.- RELACION DE LAS RESPUESTAS A AMBOS PANELES ANTIGENICOS CON EL RECUENTO DE LINFOCITOS T CD4+.

En nuestro trabajo con ambos paneles antigénicos se evidenció un incremento significativo en el porcentaje de anergia a medida que disminuyó el recuento de linfocitos T CD4+ (ver tabla I en *Resultados*). Esta relación inversa de la presencia de anergia con el recuento de linfocitos T CD4+ ha sido ampliamente reseñada^{150,152-155,171,172,195,203,205,209,211,219,220}. Por ejemplo, en un estudio en nuestro país¹⁵⁰, la mediana de los linfocitos T CD4+ en los anérgicos, en los no anérgicos con PPD negativa y en los no anérgicos con PPD positiva fue de 135/ μ L, 564/ μ L y 684/ μ L respectivamente. En otro estudio en EE.UU. con el mismo panel de antígenos por técnica de Mantoux que el empleado por nosotros, la media en los anérgicos fue de 155/ μ L mientras que en los retores fue de 437/ μ L¹⁵⁴.

En nuestro estudio el incremento en el porcentaje de anérgicos a menor recuento de linfocitos T CD4+ fue particularmente intenso en los pacientes con recuento inferior a 50/ μ L, donde más del 80% de los pacientes fueron anérgicos a uno o ambos paneles antigénicos (ver tabla I de *Resultados*). Por el contrario, los pacientes con infección por el VIH con recuento igual o mayor a 500 CD4+/ μ L, tuvieron una tasa de respuestas positivas que puede considerarse muy similar a la de la población sana para el panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux (92% de respuestas positivas) y algo inferior a la de la población sana para MULTITEST (81% de respuestas positivas). Las tasas de anergia cutánea en las series históricas en la población sana usando distintos antígenos y concentraciones varían del 5 al 10%^{33,37,185,221,222}.

Estas diferencias entre el panel de antígenos aplicado por técnica de Mantoux y MULTITEST en los pacientes con recuento igual o mayor a 500 linfocitos T CD4+/ μ L pueden estar influidas por el menor volumen de cada antígeno inoculado con MULTITEST (0,03 mL frente a 0,1 mL en los antígenos aplicados por técnica de Mantoux). Este menor volumen podría ser pequeño para producir respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada, al menos detectables, en no pocos pacientes de este subgrupo con poca inmunosupresión pero, al fin y al cabo, con posibilidades de alguna disfunción cualitativa de la inmunidad celular (la cual puede preceder a la caída en el recuento de linfocitos T CD4+)^{134,135}.

3.- ANALISIS DE LAS RESPUESTAS INDIVIDUALES A LOS ANTIGENOS DE AMBOS PANELES ANTIGENICOS.

En nuestro estudio, dentro del panel de antígenos por técnica de Mantoux, *Candida* y toxoide tetánico fueron los antígenos más eficaces para poner de manifiesto las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada (52,4% y 47,4% de respuestas positivas respectivamente), con diferencia significativa con las respuestas obtenida con antígeno del virus de la parotiditis y PPD (37,9% y 26,2% respectivamente).

La tabla XIV resume los estudios que han descrito las respuestas positivas a los antígenos individuales de un panel antigénico aplicado por técnica de Mantoux en los pacientes con infección por el VIH.

TABLA XIV. Resumen de los estudios que describen las respuestas individuales a los antígenos de un panel aplicado mediante técnica de Mantoux en pacientes con infección por el VIH.

Autor Año	País	Antígenos	Respuestas Positivas	CD4/ μ L M=media, m=mediana	Induración positiva (mm)
Greenspan ¹⁶⁸ 1991	EE.UU.	PPD <i>Candida</i> Parotiditis <i>Trichophyton</i>	6,8% 34,4% 34,4% 6,8%	No datos	5
Graham ¹⁵² 1992	EE.UU.	PPD Parotiditis <i>Candida</i> 1:100	13,8% 46,4% 52,9%	67% CD4>350	PPD 5 Resto 2
Markowitz ¹⁹⁵ 1993	EE.UU.	PPD <i>Trichophyton</i> 1:100 Parotiditis <i>Candida</i> 1:100	5,5% 12,7% 34,3% 28%	M=438 m=410	5
Pape ¹⁴⁷ 1993	Haití	PPD Parotiditis <i>Candida</i> <i>Trichophyton</i>	53,4% 12,7% 53,4% 34,7%	No datos	5
Blatt ¹⁵⁵ 1993	EE.UU.	PPD Parotiditis <i>Candida</i> 1:500 Tétanos 1:5 <i>Trichophyton</i> 1:500	1,8% 61% 53,2% 73,5% 33,2%	81% CD4>400	PPD 10 Resto 5
Villarino ¹⁸⁴ 1994	EE.UU.	PPD Tétanos 1:5 <i>Candida</i> 1:100 Parotiditis	27% 47% 60% 21%	No datos	PPD 5 Resto 3
Huebner ¹⁵⁴ 1994	EE.UU.	PPD Tétanos 1:5 Parotiditis <i>Candida</i> sin diluir	12% 45% 35% 57%	M=349	PPD 5 Resto 3
Caiaffa ²⁰⁹ 1995	EE.UU.	PPD <i>Candida</i> 1:100 Parotiditis	12,2% 44,8% 40,4%	36% CD4<350	PPD 5 Resto 3
Markowitz ¹⁵⁸ 1997	EE.UU.	PPD Parotiditis	6% 42%	M=436 m=410	PPD 5 Parotiditis 1
Klein ²⁰⁵ 1999	EE.UU.	PPD <i>Candida</i> 1:100 Tétanos 1:10 Parotiditis	3,9% 30,9% y 20,2% ¹ 38% y 30,5% ¹ 32,9% y 21,8% ¹	23% CD4<200	PPD 5 Resto 2 y 5 ¹
Klein ¹⁹⁷ 1999	EE.UU.	PPD <i>Candida</i> 1.100 Tétanos 1:10 Parotiditis	2,8% 28,6% 42,2% 33,7%	17,3% CD4<200	PPD 5 Resto 2
Connick ²¹⁸ 2000	EE.UU.	<i>Candida</i> Parotiditis <i>Trichophyton</i> PPD	C 9% 0% 0% 0%	m=192	10

¹Analiza 2 puntos de corte: 2 y 5 mm.

Antígenos más utilizados y más eficaces de los paneles antígenos aplicados por técnica de Mantoux. De los 12 estudios reseñados en la tabla, en 11 se utilizó *Candida* en el panel antigénico y en siete de ellos^{147,152,154,168,184,209,218} fue el antígeno con mayor tasa de respuestas positivas (en uno de esos estudios obtuvo igual número de respuestas positivas que PPD¹⁴⁷ y en otro igual número de respuestas positivas que el antígeno del virus de la parotiditis¹⁶⁸). En cinco de los 12 estudios se utilizó toxoide tetánico, siendo en tres de ellos el antígeno con mayor tasa de respuestas positivas^{155,197,205}. El antígeno del virus de la parotiditis se utilizó en los 12 estudios, obteniendo la máxima tasa de respuestas en tres de ellos^{158,168,195} (en uno de ellos con igual número de respuestas positivas que *Candida*¹⁶⁸ y en otro fue el único antígeno que acompañó a PPD¹⁵⁸). Hay que reseñar también que en un estudio en Haití, PPD y *Candida* produjeron el mayor porcentaje de respuestas positivas con igual número de respuestas cada una¹⁴⁷. Cinco de los 12 estudios usaron *Trichophyton* como uno de los antígenos del panel, obteniéndose tasas de respuestas positivas normalmente inferiores a *Candida*, toxoide tetánico y antígeno del virus de la parotiditis^{147,155,168,195,218}. PPD se utilizó en todos los estudios.

En cinco estudios en EE.UU.^{154,155,184,197,205}, donde el panel antigénico aplicado por técnica de Mantoux utilizó los mismos antígenos que nuestro panel aplicado por la misma técnica, se describieron las respuestas individuales a cada antígeno. En tres de ellos toxoide tetánico fue el que dio mayor tasa de respuestas positivas^{155,197,205} (aunque se debe reseñar que dos de estos estudios son del mismo autor y con una población muy similar^{197,205}), siendo *Candida* la más eficaz en los otros dos trabajos^{154,184}.

Porcentajes de respuestas a cada antígeno del panel aplicado por técnica de Mantoux. El porcentaje de respuestas positivas a *Candida* en los estudios recogidos en la tabla XIV (exceptuando un estudio con pocos pacientes con enfermedad avanzada por el VIH²¹⁸) varió del 28% al 60%, obteniéndose porcentajes similares al 52,4% encontrado por nosotros en tres de los estudios (52,9%¹⁵², 53,4%¹⁴⁷ y 53,2%¹⁵⁵).

El porcentaje de respuestas positivas a toxoide tetánico varió del 38% al 75,5%, obteniéndose porcentajes similares al 47,4% encontrado por nosotros en dos de los estudios (47%¹⁸⁴ y 45%¹⁵⁴).

Con respecto al antígeno del virus de la parotiditis el porcentaje varió del 12,7% a 61%, obteniéndose porcentajes similares al 37,9% obtenido en nuestro trabajo en dos estudios (35%¹⁵⁴ y 40%²⁰⁹).

El porcentaje de respuestas positivas a PPD varió en los 12 estudios reseñados en la tabla y en otros seis estudios más^{149-151,157,199,211} entre el 0% y el 53,4%. En nuestro trabajo se obtuvo un porcentaje del 26,2%, similar al 29% descrito en nuestro país por Moreno en 1993¹⁵⁰ en un estudio donde el 84% de los pacientes eran UDI, similar también al 27% descrito en inmigrantes en EE.UU.¹⁸⁴, y similar al 23% descrito en UDI en el mismo país¹⁴⁹. Estas cifras contrastan con el 15 -16% de respuestas positivas a PPD en pacientes con infección por el VIH de nuestro país informado recientemente por la SPNS¹⁴².

Esta mayor proporción de pacientes PPD positivos en nuestro estudio puede obedecer a varios factores: una parte de los datos de los pacientes del informe de la SPNS se obtiene de pacientes ingresados por lo que el riesgo de anergia y por lo tanto de PPD falsamente negativa puede ser mayor; probablemente la tasa de

infección tuberculosa en los pacientes con infección por el VIH en nuestro medio sea superior a la del resto de España (Andalucía es la comunidad autónoma con mayor porcentaje de pacientes con infección por el VIH del total de pacientes con tuberculosis³⁴); y por último, un alto porcentaje (32,7%) de nuestros pacientes refería el antecedente de estancia en prisión, factor que como se sabe se relaciona con una alta incidencia de infección tuberculosa (un porcentaje mayor del 50,6% de los reclusos fueron PPD positivos en un estudio en Instituciones Penitenciarias en nuestro país llevado a cabo en 1.998³⁴). En nuestros pacientes, como en otros estudios¹⁵⁰, la mayor parte de los pacientes infectados por el VIH con PPD positiva fueron UDI (84%).

Influencia del grado de inmunización previa a los diferentes antígenos con las tasas de respuestas positivas. Aparte de las diferencias en las diluciones de los antígenos no estandarizados (*Candida*, toxoide tetánico), el distinto punto de corte para considerar una reacción como positiva y el distinto grado de inmunosupresión de los pacientes, las diferencias en las respuestas individuales a cada antígeno en todos estos estudios se explican también por el diferente grado de inmunización previa de los pacientes en cada área geográfica. Por ejemplo, el estudio donde se obtuvieron mayor tasa de respuestas positivas a toxoide tetánico (73,5%) es un estudio realizado en pacientes infectados por el VIH del ejército americano donde todos los pacientes estaban previamente vacunados con ese antígeno¹⁵⁵. El estudio que obtuvo mayor tasa de respuestas positivas a PPD (53,4%) fue un estudio en pacientes infectados por el VIH asintomáticos en Haití, donde el 60-70% de la población adulta tiene respuesta

positiva a la PPD por exposición a *M. tuberculosis* o a la administración de rutina de la vacuna con BCG¹⁴⁷.

Respuestas a los antígenos individuales de MULTITEST. De los siete antígenos administrados con MULTITEST, los tres antígenos con mayor tasa de respuesta positiva en nuestro estudio fueron tétanos (32%), tuberculina (30,1%) y *Candida* (28%).

La tabla XV resume los estudios que han descrito las respuestas positivas a los antígenos individuales de MULTITEST en los pacientes con infección por el VIH.

Tabla XV. Resumen de los estudios que describen las respuestas individuales a los antígenos de MULTITEST en pacientes con infección por el VIH.

Autor Año	País	Antígenos	Respuestas Positivas	CD4/ μ L (media)	Pacientes sintomáticos	Induración positiva
Karlisson ¹⁷⁰ 1996	Suecia	Tétanos <i>Candida</i> Tuberculina Difteria <i>Proteus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Trichophyton</i>	71,8% 65,9% 60% 36% 25% 18,8% 15,3%.	No datos	0%	2 mm
Miller ¹³⁶ 1996	Tanzania	Tétanos <i>Candida</i> Tuberculina Difteria <i>Proteus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Trichophyton</i>	10% 32% 32% 9% 6% 4% 7%	No datos	54%	2 mm
Maas ²¹³ 1998	Holanda	Tétanos <i>Candida</i> Tuberculina Difteria <i>Proteus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Trichophyton</i>	54% 60% 15% 54% 64% 32% 28%	335	0%	2 mm

En los tres estudios que se muestran en la tabla se observa como predominaron en dos de los estudios las respuestas positivas a tétanos, *Candida* y tuberculina^{136,170}, mientras que en el otro predominaron las respuestas a tétanos, *Candida*, *Proteus* y difteria²¹³. Los resultados más parecidos a los obtenidos en nuestro trabajo (donde el 41% de los pacientes pertenecieron a los estadios B ó C) son los reflejados por Miller¹³⁶. En ese trabajo sobre 90 pacientes, de los cuales 54% tenían enfermedad sintomática por el VIH, las tasas de respuesta positiva a los antígenos que produjeron mayor número de respuestas fueron 32% para tuberculina, 32% para *Candida* y 10% para toxoide tetánico. Estos resultados contrastan con el alto porcentaje de respuestas observadas a los antígenos de MULTITEST en los otros dos trabajos resumidos en la tabla, pero en estos trabajos todos los pacientes con infección por el VIH reclutados estaban asintomáticos^{170,213}.

Respuestas a los antígenos individuales en pacientes con escaso grado de inmunosupresión medida por el recuento de linfocitos T CD4+. En nuestro estudio, en pacientes con recuento de linfocitos T CD4+ inferior a 50/ μ L, ningún antígeno produjo una tasa de respuestas positivas mayor del 10%. En los pacientes con recuento igual o mayor a 500 CD4+/ μ L, las respuestas a *Candida*, toxoide tetánico, antígeno del virus de la parotiditis y PPD administrados por técnica de Mantoux fueron del 70,2%, 65,7%, 50,4% y 36,9%, respectivamente. Las series históricas que han descrito las respuestas positivas a toxoide tetánico entre controles normales han mostrado respuestas positivas del 50% al 90%, dependiendo de la edad, concentración del antígeno y tiempo desde la última

inmunización con toxoide tetánico^{36,55,58}. Similarmente a toxoide tetánico, las respuestas a *Candida* han variado en los controles históricos del 52% al 92%, dependiendo de la dilución del antígeno usado^{36,37,58,222}. Con respecto al antígeno del virus de la parotiditis, las respuestas normales en controles históricos han sido reseñadas en el rango de 52% al 75%^{37,221,222}. Las respuestas a *Trichophyton* en los controles históricos han variado del 28% al 53%^{36,221,222}, lo cual indica su escasa utilidad el estudio de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada comparado con los otros antígenos de control.

Según estas cifras, las respuestas a *Candida*, toxoide tetánico y antígeno del virus de la parotiditis administrados por técnica de Mantoux en los pacientes con recuento igual o mayor a 500 CD4+/ μ L de nuestro estudio se podrían considerar (sobre todo para los dos primeros) en el rango de la normalidad. Sin embargo, estos antígenos produjeron una tasa de respuestas positivas mayor o igual al 80% en el grupo de voluntarios sanos de nuestro estudio, por lo que debe considerarse que aún en el subgrupo de pacientes con infección por el VIH con menor grado de inmunosupresión (medida por el recuento de linfocitos T CD4+) existe una diferencia con respecto a la población sana en el grado de respuesta individual a cada uno de estos tres antígenos aplicados por técnica de Mantoux (aunque como mencionamos antes, la respuesta conjunta al panel completo fue superior al 90%).

Con respecto a PPD, la tasa de respuesta positiva en la población normal varía enormemente según el grado de exposición a *M. tuberculosis* (distinto según el área geográfica y distinto en una misma zona según determinados factores de riesgo) y la frecuencia de vacunación con BCG⁴³. Nuestros pacientes

con recuento igual o mayor a 500 CD4+/ μ L tuvieron una tasa de PPD positiva del 36,9%, superior al 29-30% estimado para la población sana en España^{143,161}, lo cual se debe principalmente a la influencia ya comentada de la drogadicción parenteral y del antecedente de estancia en prisión en nuestros pacientes⁴³.

Con respecto a los antígenos individuales de MULTITEST, las respuestas en controles sanos han sido descritas en nuestro país en 1476 personas¹⁸⁵. Los antígenos con mayor tasa de respuestas positivas fueron tuberculina 77%, *Candida* 58%, tétanos y difteria 37% cada uno, *Streptococcus* 33,7%, *Proteus* 26,2% y *Trichophyton* 13,2%. Las tasas de respuestas positivas a estos antígenos en nuestros pacientes con recuento igual o mayor a 500 linfocitos T CD4+/ μ L fueron claramente inferiores para todos ellos excepto para tétanos (ver tabla II).

Resumen de los principales aspectos relativos a los antígenos individuales de cada panel antigénico. De la información analizada de la literatura en los párrafos anteriores y cotejada con nuestros datos podemos destacar los siguientes aspectos con respecto a los antígenos individuales:

1. La tasa de respuesta a cada antígeno en la literatura es muy variable y depende, entre otros, del grado de inmunosupresión de los pacientes y del grado de sensibilización previa de la población a dichos antígenos.
2. Junto con la PPD, los antígenos más usados por técnica de Mantoux fueron *Candida* y antígeno del virus de la parotiditis.
3. Los antígenos individuales usados por técnica de Mantoux más eficaces fueron *Candida* y toxoide tetánico.

4. Los antígenos más eficaces de MULTITEST fueron *Candida*, toxoide tetánico y tuberculina.
5. Las respuestas a PPD están muy influenciadas por la drogadicción parenteral y por el antecedente de estancia en instituciones penitenciarias.
6. Aún en los pacientes con menor grado de inmunosupresión se observa una diferencia importante en las respuestas de cada antígeno individual respecto a la población sana.

4.- COMPARACION DE LA EFICACIA DE MULTITEST Y DEL PANEL DE ANTIGENOS APLICADOS POR TECNICA DE MANTOUX PARA DETECTAR LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA.

Como ya se comentó en *Introducción*, para el estudio de las respuestas de hipersensibilidad retardada en los pacientes con infección por el VIH, los CDC recomiendan el uso de los antígenos aplicados por técnica de Mantoux sobre MULTITEST^{34,50}, recomendación que se basa en ciertos inconvenientes derivados de la técnica de administración de MULTITEST³⁴. Así, además de los referidos en la tabla XIV, en numerosos estudios se han analizado las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en los pacientes con infección por el VIH utilizando los antígenos aplicados por técnica de Mantoux^{150,162,163,169,171,173,196,203,204,208,210,212,220}. Sin embargo, al igual que los referenciados en la tabla XV, otros muchos autores han utilizado MULTITEST por su facilidad de administración y menor riesgo de accidentes por punción ya comentados^{149,151,153,157,165,166,172,176,199,207,211,214-217,219,223-225}.

Comparación de la eficacia de MULTITEST y del panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux en nuestro estudio. Nuestro estudio es el primero y único que ha comparado en los pacientes con infección por el VIH ambos métodos para el estudio de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada²²⁶. En este trabajo, la aplicación de un panel de antígenos por técnica de Mantoux fue más útil que MULTITEST para detectar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en los pacientes con infección por el VIH. Con la aplicación de PPD y tres antígenos de control aplicados por técnica de Mantoux (*Candida*, antígeno del virus de la parotiditis y toxoide tetánico), un 10% menos de pacientes fueron clasificados como anérgicos que con MULTITEST (respuestas positivas a ambos paneles 71,3% y 61,6% respectivamente).

Además de las desventajas técnicas teóricas del método de aplicación de los antígenos con MULTITEST mencionadas en *Introducción*, los distintos volúmenes de antígeno en cada panel (como ya se comentó) y la distinta elaboración de los antígenos comunes a ambos paneles (*Candida*, toxoide tetánico, tuberculina) deben haber jugado un papel en la menor potencia de MULTITEST para producir respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada. Ello queda reflejado también en el mayor diámetro de las induraciones de los antígenos del panel aplicado por técnica de Mantoux (*score* medio 24 mm) que de los antígenos de MULTITEST (*score* medio 10 mm), y explicaría la diferencia en las respuestas a dos de los antígenos comunes de ambos paneles (*Candida* y toxoide tetánico). Así, pese a que el tamaño para considerar a una induración como positiva fue menor para los antígenos de MULTITEST que para los antígenos aplicados por técnica de Mantoux (2 y 5 mm respectivamente) la capacidad de producir respuestas

positivas a dos de los antígenos comunes, *Candida* y toxoide tetánico, fue claramente mayor con dichos antígenos aplicados por técnica de Mantoux que dichos antígenos aplicados por MULTITEST (52,4% frente a 28% para *Candida*; 47,4% frente a 32% para toxoide tetánico).

Para el tercer antígeno común en ambos paneles, sin embargo, detectamos un mayor porcentaje de respuestas positivas con la tuberculina de MULTITEST que con la tuberculina-PPD (30,1% frente a 26,2%, con 17 pacientes con reacción a la primera sin reacción a la segunda frente a 3 pacientes con reacción a la segunda sin reacción a la primera). Este fenómeno ha sido descrito previamente tanto para pacientes con infección por el VIH como para pacientes sin la infección^{33,62,211}. Por ejemplo, en una serie de 403 pacientes con cáncer, los porcentajes de respuesta a la tuberculina de MULTITEST y a la PPD fueron respectivamente 45% frente a 18%³³. En otro estudio con 77 controles sanos, los porcentajes fueron 70% y 52% respectivamente, con 15 pacientes con reacción a la primera sin reacción a la segunda frente a 1 con reacción a la segunda sin reacción a la primera⁶². Finalmente, en un estudio con 304 pacientes hospitalizados (15% con infección por el VIH) el 31,6% reaccionó a la tuberculina de MULTITEST y el 19,7% a PPD, con 48 pacientes con reacción a la primera sin reacción a la segunda frente a 12 con reacción a la segunda sin reacción a la primera. En dicho estudio, 7 de 48 pacientes con infección por el VIH reaccionaron a la tuberculina de MULTITEST, mientras que ninguno de ellos reaccionó a PPD²¹¹. Una explicación para la mayor reactividad a la tuberculina de MULTITEST puede ser que el uso de esa tuberculina pone de manifiesto respuestas de hipersensibilidad retardada a antígenos que son comunes a *M.*

tuberculosis y a otras micobacterias atípicas, por lo que una respuesta positiva puede reflejar la sensibilización a micobacterias atípicas más que la inmunidad a *M. tuberculosis*^{33,207}. Este argumento podría ser una explicación para la alta tasa de respuestas positivas de la tuberculina de MULTITEST en la población sana española (77%).

El efecto de retestar con PPD (fenómeno *booster* o "de empuje") a aquellos sujetos con respuesta negativa a PPD pero con respuesta positiva a la tuberculina de MULTITEST no ha sido estudiado. De nuestros 13 pacientes con PPD inicial de 1–4 mm los cuales fueron retestados con PPD a la semana, 9 mostraron una respuesta positiva (≥ 5 mm) en el retest, y de estos 9, en 7 la tuberculina de MULTITEST había sido positiva en el momento del primer test con PPD. Dado que el efecto *booster* puede manifestarse no sólo con reacciones débilmente positivas a la PPD inicial sino con reacciones igual a cero a la misma⁴⁵, es posible que una parte de los reactores a tuberculina de MULTITEST sin reacción a PPD sean pacientes con infección por *M. tuberculosis* que requieran de un segundo retest con PPD para detectar dicha infección.

MULTITEST versus el panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux en personas sin infección por el VIH. En personas sin infección por el VIH hay tres estudios que han comparado la eficacia de MULTITEST y de un panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux para producir respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada. La mayor eficacia de los antígenos administrados por el método de Mantoux sobre MULTITEST ha sido descrita por Christou en un estudio con pacientes quirúrgicos en Canadá²²⁷. MULTITEST y

cinco antígenos administrados por técnica de Mantoux (PPD, *Candida*, antígeno del virus de la parotiditis, *Trichophyton* y SK-SD) fueron inoculados al ingreso a 237 pacientes que posteriormente fueron sometidos a cirugía. En dicho estudio el score medio para MULTITEST fue de 7,7 mm y para el panel de antígenos administrados por técnica de Mantoux 20,5 mm. El porcentaje de respuestas positivas al panel de antígenos por técnica de Mantoux (al menos una induración ≥ 5 mm) fue del 81% y el de MULTITEST de 68,7%, si bien hay que tener en cuenta que el criterio de positividad de MULTITEST fue un score ≥ 2 mm en mujeres y ≥ 7 mm en hombres. Hubo un 40% de pacientes con score de MULTITEST igual a cero a la vez que tenían un score mayor que cero con los antígenos aplicados por técnica de Mantoux, frente a un 11% con resultado inverso (score igual a cero con los antígenos aplicados por técnica de Mantoux y score de MULTITEST mayor a cero).

Sin embargo, en otros dos estudios (uno en voluntarios sanos en Australia y otro en pacientes con cáncer en EE.UU, no hubo evidencia de que los antígenos aplicados por el método de Mantoux fueran más eficaces que MULTITEST^{33,62}. El estudio australiano analizó las respuestas a MULTITEST y a un panel de 6 antígenos aplicados por técnica de Mantoux (*Candida*, antígeno del virus de la parotiditis, *Trichophyton*, "tuberculina", SK-SD y toxoide tetánico) en 77 pacientes, con un criterio para considerar una induración positiva de 2 mm con ambos paneles. En este estudio no se dan las tasas de reacciones positivas ni de anergia a cada panel, sino que se informa de un buen grado de correlación entre ambos paneles con respecto al número de respuestas positivas por paciente⁶². En el estudio americano, 403 pacientes con cáncer fueron estudiados con

MULTITEST y un panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux que contenía *Candida*, dermatofitina, SK-SD, PPD y antígeno del virus de la parotiditis (criterio para induración positiva ≥ 5 mm para los antígenos aplicados por técnica de Mantoux y ≥ 2 mm para los de MULTITEST). En ese estudio aunque más pacientes reaccionaron a MULTITEST (81% versus 72%), no hubo diferencia significativa (el 14% reaccionó a MULTITEST sin reacción al panel aplicado por técnica de Mantoux y el 11,7% reaccionó al panel aplicado por técnica de Mantoux sin reacción a MULTITEST)³³. Estos dos últimos estudios descritos, al igual que el estudio de Christou²²⁷, destacaron el mayor tamaño (mayor del doble) del score de las respuestas positivas del panel aplicado por técnica de Mantoux con respecto al de MULTITEST ya señalado por nosotros.

Comentarios finales a la comparación de MULTITEST versus el panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux. Tras analizar estos estudios y compararlos con nuestros resultados, puede concluirse que, si bien ambos paneles en personas sanas o en pacientes sin alteración de la inmunidad celular pueden ser iguales de efectivos (los pacientes oncológicos del estudio americano podrían ser considerados no afectados de disfunción de la inmunidad celular en base al alto número de reacciones positivas a MULTITEST que manifestaron³³), en los pacientes con infección por el VIH, MULTITEST es menos potente para producir respuestas cutáneas detectables de hipersensibilidad retardada.

5.- EFECTO DEL CAMBIO DEL PUNTO DE CORTE PARA CONSIDERAR UNA REACCION COMO POSITIVA.

El punto de corte para considerar una reacción positiva, en los estudios que han empleado MULTITEST para el análisis de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en los pacientes con infección por el VIH, uniformemente han mantenido el criterio de 2 mm para considerar una reacción como positiva. Sin embargo, los estudios que han empleado en estos pacientes un panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux han utilizados distintos puntos de corte para definir la positividad de la induración en los antígenos que acompañan a la PPD. Así, algunos autores han elegido como induración positiva un diámetro ≥ 5 mm^{155,169,171,173,195,204,220}, otros un diámetro ≥ 2 mm^{152,162,197,208}, otros ≥ 3 mm^{154,184,196,209}, otros 1 mm o "cualquier induración"^{150,158,163,203,210,212}, y un estudio ≥ 10 mm²¹⁸. El lógico mayor porcentaje de respuestas positivas a menor punto de corte queda bien reflejado en un estudio en pacientes con infección por el VIH que analizó varios puntos de corte (1,2,3,4 y 5 mm)²⁰⁵. En ese estudio, la tasa de respuestas positivas para *Candida*, toxoide tetánico y antígeno del virus de la parotiditis aumentó del 20,2%, 30,5% y 21,8% respectivamente al 30,9%, 38% y 32,9% respectivamente, al bajar el punto de corte de ≥ 5 mm a ≥ 2 mm.

Los CDC recomiendan un punto de corte de 5 mm⁵⁰ en base a que reacciones menores de 5 mm han sido detectadas en respuesta al diluyente sin el antígeno (la induración puede ser una inflamación inespecífica asociada con la inserción de la aguja en la piel)²²⁸. En nuestro estudio un diámetro de 5 mm fue considerado el criterio para definir una induración como positiva, basándonos en

las recomendaciones de los CDC⁵⁰ y en un estudio que realizó biopsias de las induraciones positivas¹⁷¹. En dicho estudio se analizaron las respuestas de hipersensibilidad retardada en 1236 pacientes con infección por el VIH tras ser estudiadas previamente en un grupo de 50 voluntarios sanos. Veinte de los 50 voluntarios fueron biopsiados, con una concordancia casi del 100% entre la lectura de la induración (≥ 5 mm) y el resultado de la biopsia. De 29 induraciones leídas como positivas con *Candida* 1:10 o toxoide tetánico 1:10, 26 (90%) tuvieron un diagnóstico inequívoco en la biopsia de reacción de hipersensibilidad retardada. Las otros tres induraciones leídas como positivas tuvieron un resultado en la biopsia "dudoso" en base a infiltrado mononuclear pero de bajo grado. Ninguna de las induraciones leídas como positivas tuvieron una biopsia negativa. De 11 biopsias del lugar de inoculación con lecturas negativas, ninguna tuvo hallazgos histopatológicos positivos¹⁷¹.

Efectos del cambio de punto de corte para considerar una induración positiva en nuestro estudio. Si el punto de corte para considerar una induración como positiva con los antígenos administrados por técnica de Mantoux se hubiera bajado de 5 mm a 2 mm en nuestro estudio, las diferencias entre ambos paneles antigénicos habrían sido aún mayores, y el porcentaje de respuestas positivas para el panel de cuatro antígenos por técnica de Mantoux aumentaría de 71,3% a 75%, con lo que un 13% menos de pacientes serían clasificados como anérgicos con los antígenos aplicados por técnica de Mantoux que con MULTITEST (en vez de un 10% menos con el punto de corte en 5 mm).

6.- ELECCION DE LA MEJOR COMBINACION DE LAS POSIBLES DE PPD MAS DOS ANTIGENOS DE CONTROL.

Aunque actualmente los CDC no recomiendan el uso rutinario de los antígenos de control para tomar decisiones respecto a la profilaxis antituberculosa, con vistas a formular posibles recomendaciones en un futuro respecto al uso de los tests cutáneos en los pacientes con infección por el VIH, los CDC recomiendan que los estudios que se realicen en este sentido sean más uniformes y empleen, junto con PPD, una pareja de antígenos aplicados por técnica de Mantoux a elegir entre *Candida*, antígeno del virus de la parotiditis y toxoide tetánico, con un punto de corte de 5 mm (aunque se reconoce que para clasificar correctamente como no anérgicos a algunos pacientes pueden hacer falta más de dos de estos antígenos)^{34,50}.

En nuestro estudio, una vez demostrado que el panel de PPD más tres antígenos de control (*Candida*, antígeno del virus de la parotiditis y toxoide tetánico) aplicados por técnica de Mantoux era más eficaz que MULTITEST para detectar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en los pacientes con infección por el VIH, se analizaron las respuestas a las combinaciones de PPD más dos de los tres antígenos de control para seleccionar la combinación más eficaz de las tres posibles (*C. albicans*-toxoide tetánico-PPD, *C. albicans*-antígeno del virus de la parotiditis-PPD, toxoide tetánico-antígeno del virus de la parotiditis-PPD). De las tres combinaciones posibles, la combinación que obtuvo el mayor porcentaje de respuestas positivas fue la combinación de *C. albicans*-toxoide tetánico-PPD, con un porcentaje de 70,2%. Con esta combinación sólo un 1% de los pacientes serían clasificados erróneamente como anérgicos con

respecto a la combinación de PPD más los tres antígenos de control, ya que sólo 4 pacientes (1,1% del total, 1,5% de los reactivos al panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux) reaccionaron al antígeno del virus de la parotiditis sin respuesta a los otros tres antígenos administrados por técnica de Mantoux.

Esta combinación de *C. albicans*-toxoides tetánico-PPD siguió siendo significativamente superior a MULTITEST para detectar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada (40 pacientes reaccionaron a la combinación *C. albicans*-toxoides tetánico-PPD sin respuesta a MULTITEST frente a 9 con reacción a MULTITEST sin reacción a la mencionada combinación). Además esta combinación fue la única de las tres que fue superior a MULTITEST al estratificar por el nivel de linfocitos T CD4+ (excepto en el subgrupo de pacientes más inmunodeprimidos con el menor recuento de linfocitos T CD4+, donde hubo escasas respuestas positivas a ambos paneles).

Efecto de suprimir uno de los antígenos del panel aplicado por técnica de Mantoux en otros estudios. La similar sensibilidad encontrada en nuestro estudio con la combinación de *Candida*-toxoides tetánico-PPD y el panel completo *Candida*-toxoides tetánico-antígeno del virus de la parotiditis-PPD (70,2% y 71,3% respectivamente) ha sido observada también en un estudio en 349 pacientes con infección por el VIH en EE.UU. que usó el mismo panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux que nosotros¹⁵⁴. En dicho estudio, la adición de antígeno del virus de la parotiditis a la combinación *Candida*-toxoides tetánico-PPD no incrementó apenas la capacidad para detectar respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada (69% de respuestas con el panel completo formado

por *Candida*-toxoides tetánico-antígeno del virus de la parotiditis-PPD y 68% con la combinación *Candida*-toxoides tetánico-PPD). En otro estudio en más de 300 pacientes hospitalizados pero sin infección por el VIH se obtuvieron datos similares⁴⁹, y aunque en dicho estudio se recomendó el uso de los tres antígenos de control (*C. albicans*, toxoide tetánico y antígeno del virus de la parotiditis) para valorar posibles falsos negativos de PPD debido a anergia, el porcentaje de anergia a las combinaciones *Candida*-toxoides tetánico-PPD y *Candida*-toxoides tetánico-antígeno del virus de la parotiditis-PPD fueron 18% y 16%, respectivamente.

Consideraciones finales sobre los antígenos a emplear para la detección de respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en pacientes con infección por el VIH. Considerando los datos obtenidos en nuestro estudio y los datos de los últimos estudios comentados, las recomendaciones de los CDC^{34,50} y teniendo en cuenta el coste económico de los diferentes antígenos (el antígeno del virus de la parotiditis tiene un coste mucho más elevado que el de los otros tres antígenos juntos), la combinación *Candida*-toxoides tetánico-PPD sería el panel antigénico más aconsejable para utilizar en el estudio de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en los pacientes con infección por el VIH en nuestro medio. Este panel fue el que utilizamos en la segunda y tercera partes de este trabajo.

SEGUNDA PARTE: ESTUDIO DE LAS VARIABLES QUE SE RELACIONAN DE MANERA INDEPENDIENTE CON LA PRESENCIA DE ANERGIA CUTÁNEA EN LOS PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH.

Los factores que se relacionan con la presencia de anergia en los pacientes con infección por el VIH no son bien conocidos, y hay muy pocos estudios que hayan abordado este tema. Como se ha mencionado anteriormente, sí es bien conocida la relación inversa que existe entre anergia cutánea en personas infectadas por el VIH y el recuento de linfocitos T CD4+^{150,152-155,171,172,195,203,205,209,211,219,220}. Sin embargo, existe un número importante de pacientes con infección por el VIH con anergia cutánea y recuento elevado de linfocitos T CD4+ y viceversa, pacientes con respuestas cutáneas adecuadas de hipersensibilidad retardada y recuento bajo de linfocitos T CD4+^{34,149,154,195}. Así, en un estudio que empleó PPD, *Trichophyton*, antígeno del virus de la parotiditis y *Candida* en más de 1.000 pacientes con infección por el VIH, aproximadamente el 25% de los pacientes con más de 600 CD4+/ μ L fueron anérgicos y aproximadamente el 18% de los pacientes con menos de 100 CD4+/ μ L fueron reactivos¹⁹⁵. Por lo tanto, otros factores no bien estudiados distintos al recuento de linfocitos T CD4+ deben jugar un papel en la presencia de anergia cutánea en los pacientes con infección por el VIH.

Estudios que han investigado la asociación de anergia con factores distintos al recuento de linfocitos T CD4+. Sólo seis estudios en la literatura han analizado con cierta profundidad los posibles factores distintos al recuento de

linfocitos T CD4+ que se relacionan de forma independiente con la presencia de anergia cutánea en los pacientes con infección por el VIH^{152,154,195,203,209,213}.

Markowitz¹⁹⁵ y Graham¹⁵² realizaron dos análisis muy parecidos de dichos factores. Las variables analizadas fueron prácticamente las mismas: recuento de linfocitos T CD4+, drogadicción parenteral, sexo, edad, estatus socioeconómico y raza. El primero de dichos estudios analizó también el referir antecedente de reacción positiva a la PPD. En el primero de los estudios el recuento de linfocitos T CD4+ y el antecedente de reacción positiva a la PPD fueron los únicos factores que se asociaron de forma independiente a la presencia de anergia, mientras que en el segundo, el único factor asociado fue el recuento de los linfocitos T CD4+.

En la misma línea que los estudios anteriores, Sears²⁰³ realizó un estudio en pacientes homosexuales con infección por el VIH con escasas variables predictoras. El recuento de linfocitos T CD4+ fue la única que se asoció de forma independiente con la presencia de anergia cutánea en un estudio que incluyó además la edad, linfocitos totales, linfocitos T CD8+, seropositividad para citomegalovirus, IgG sérica y grado de promiscuidad.

Huebner¹⁵⁴ y Caiaffa²⁰⁹ realizaron dos análisis parecidos que se caracterizaron por incluir más variables relacionadas directamente con la infección por el VIH. En ambos estudios los antígenos utilizados incluyeron a *Candida*, antígeno del virus de la parotiditis y PPD (y toxoide tetánico en el primero de dichos estudios). Las variables incluidas en ambos estudios fueron: recuento de linfocitos T CD4+, drogadicción parenteral, edad, sexo, raza, historia de candidiasis oral, uso previo de zidovudina e historia de síntomas constitucionales relacionados con la infección por el VIH (diarrea crónica,

linfadenopatía crónica). Además el primero de dichos estudios incluyó las variables historia de sarcoma de Kaposi, historia de neumonía por *Pneumocystis carinii*, homosexualidad y anemia; y el segundo las variables SIDA previo, antecedentes de profilaxis con isoniacida, índice de masa corporal y una serie de variables relacionadas con el estatus socioeconómico. Las variables que mostraron relación independiente con la presencia de anergia en el primero de los estudios fueron el recuento de linfocitos T CD4+, historia de sarcoma de Kaposi, candidiasis oral, neumonía por *P. carinii* y raza blanca (para explicar la asociación entre raza blanca y anergia, el autor comentó la hipótesis de que los pacientes de raza blanca, la mayoría homosexuales, probablemente llevaran más tiempo infectados por el VIH y tuvieran mayor grado de inmunosupresión). Las variables que mostraron relación independiente con la presencia de anergia en el segundo de los estudios fueron el recuento de linfocitos T CD4+, SIDA previo y tratamiento con zidovudina.

Finalmente, más recientemente, Maas²¹³, utilizando MULTITEST, realizó un estudio multivariante centrado en variables relacionadas con la alteración de la inmunidad celular producida por el VIH y variables que medían la actividad del virus. Las variables incluidas además del recuento de linfocitos T Cd4+ fueron el recuento de linfocitos T CD8+, recuento de linfocitos T CD3+, la carga viral, la antigenemia p24, presencia de cepas inductoras de sincitios y la reactividad de las células T *in vitro* a diversos estímulos (fitohemaglutinina y anticuerpos monoclonales específicos de los linfocitos T CD2+, CD3+ y CD28+). El modelo multivariante final incluyó el recuento de linfocitos T CD4+, la antigenemia p24 y

la baja reactividad a los anticuerpos monoclonales como variables predictoras de anergia.

Como puede apreciarse todos estos estudios comentados tienen dos características comunes. En primer lugar, todos incluyeron al factor más conocido que se relaciona con la presencia de anergia, el recuento de linfocitos T CD4+, y en todos fue un predictor independiente para la misma. En segundo lugar, ningún estudio incluyó, a la vez, variables relacionadas con el deterioro de la inmunidad celular producida por el VIH, variables que midieran el grado de replicación viral y variables que analizaran el estado nutricional de los pacientes.

Variables que se relacionaron de forma independiente con la presencia de anergia cutánea en los pacientes con infección por el VIH en nuestro estudio. Nuestro estudio es el primero que incluye simultáneamente variables inmunológicas, virológicas y nutricionales en un modelo multivariante para la investigación de los factores que predicen la anergia cutánea en los pacientes con infección por el VIH.

Numerosos factores entre una serie de parámetros demográficos, epidemiológicos, nutricionales, inmunológicos, virológicos y terapéuticos, fueron analizados buscando su asociación con la presencia de anergia cutánea. Aunque muchos de estos parámetros en el análisis univariante se asociaron con la presencia de anergia, tras el análisis multivariante, sólo cuatro de estos factores, el estadio B ó C de la infección por el VIH según la clasificación de los CDC de 1.993¹⁸⁹, el nivel de linfocitos T CD4+, el \log_{10} de la carga viral y la CMB, fueron

predictores independientes de la presencia de anergia cutánea en los pacientes con infección por el VIH (ver tablas VII, VIII y IX en *Resultados*).

Recuento de linfocitos T CD4+ como variable predictora de la presencia de anergia. Al igual que en los seis estudios comentados anteriormente, en nuestro estudio encontramos una potente relación inversa entre el recuento de linfocitos T CD4+ y la presencia de anergia. Así, con respecto a los pacientes con un recuento de linfocitos T CD4+ igual o superior a 500/ μ L, los pacientes con menos de 50/ μ L tuvieron 14 veces más riesgo de anergia; los pacientes con 50-199 CD4+/ μ L tuvieron 3,4 veces más riesgo; y los pacientes con 200-499 CD4+/ μ L tuvieron 1,7 veces más riesgo. Es de destacar el cambio en estas odds ratio del análisis multivariante tras ajustar los resultados por las otras variables predictoras con respecto a las odds ratio del análisis univariante (70,3, 8,9 y 2,8 respectivamente, tabla VII).

Resultados parecidos ofrecen los otros estudios comentados: Huebner¹⁵⁴ encontró que los pacientes con menos de 200 CD4+/ μ L y aquellos con 200-500 CD4+/ μ L tuvieron 15 y 3,7 veces, respectivamente, más riesgo de anergia que los pacientes con más de 500 CD4+/ μ L. Markowitz¹⁹⁵ encontró que los pacientes con menos de 200 CD4+/ μ L tuvieron 9 veces más riesgo de anergia que los pacientes con más de 600 CD4+/ μ L, Graham¹⁵² encontró que aquellos con menos de 200 CD4+/ μ L tuvieron 13 veces más riesgo de anergia que un grupo de personas sin infección por el VIH, y finalmente, Caiaffa²⁰⁹ encontró 2,7 veces más riesgo en los pacientes con menos de 350 CD4+/ μ L con respecto a aquellos con más de 500 CD4+/ μ L.

La asociación inicial entre anergia y tratamiento antirretroviral encontrada en nuestro estudio en el análisis univariante y perdida en el análisis multivariante estuvo probablemente confundida por el hecho de que el tratamiento antirretroviral, en la mayoría de los casos, indica infección más prolongada por el VIH e inmunosupresión más pronunciada (en un análisis aparte los pacientes con tratamiento antirretroviral tuvieron recuentos de linfocitos T CD4+ significativamente más bajos que los pacientes sin tratamiento: 273/ μ L versus 468/ μ L, $P < 0,001$).

Estadio de la infección por el VIH como variable predictora de la presencia de anergia. Otra de las variables que se relacionaron de forma independiente con la presencia de anergia en nuestro estudio fue el estadio previo de la infección por el VIH. Los pacientes en estadio B ó C tuvieron 2,3 veces más riesgo de ser anérgicos que los pacientes asintomáticos (estadio A).

Dado que en una mayoría de pacientes puede existir una relación entre el recuento de CD4+/ μ L y el estadio de la infección por el VIH, el que el estadio de la infección sea un predictor independiente de los linfocitos T CD4+ explicaría la situación de aquellos pacientes que tuvieron en el pasado una caída en los linfocitos T CD4+ que favoreció la aparición de una infección oportunista (y por lo tanto la clasificación en estadio B ó C) y que tras tratamiento antirretroviral recuperan los linfocitos T CD4+; si en este momento se realizan tests cutáneos, la aparición de anergia indicaría que a pesar de la recuperación del número de linfocitos T CD4+ la recuperación funcional de la respuesta inmune es incompleta¹⁶⁷.

En dos de los seis estudios comentados anteriormente se encontraron resultados que indican que los pacientes en estadio avanzado tuvieron más riesgo de anergia independientemente del recuento de linfocitos T CD4+. Huebner¹⁵⁴ encontró que los pacientes con antecedentes de sarcoma de Kaposi, candidiasis oral y neumonía por *P. carinii* (entidades todas de los estadios grupos B ó C) tuvieron 11, 2 y 2 veces respectivamente más riesgo de anergia que los pacientes sin estas entidades. Caiaffa²⁰⁹, por su parte, encontró que los pacientes con diagnóstico previo de SIDA según la definición de 1987 de los CDC²²⁹ (muchos de los cuales podrían ser considerados en estadio C) tuvieron 4 veces más riesgo de anergia.

Carga viral como variable predictora de la presencia de anergia. La replicación del VIH ha sido implicada tanto directa como indirectamente en las deficiencias de la función inmune de la infección por el VIH. La replicación del VIH podría empeorar la función inmune directamente a través de los efectos inmunosupresores de las proteínas virales²³⁰ o indirectamente a través de un aumento de la activación del sistema inmunológico (la replicación del VIH se correlaciona con niveles aumentados de mediadores de activación celular, dicho nivel aumentado se asocia a peor pronóstico y existe una disminución marcada de estos mediadores tras la terapia antirretroviral^{231,232}).

En nuestro estudio, la replicación del VIH medida a través de la determinación del log₁₀ de la carga viral en el momento de la realización de los tests cutáneos, fue un predictor independiente de anergia. En el análisis univariante, el log₁₀ de la carga viral en los anérgicos fue de 4,62 (equivalente a

41.687 copias/mL) frente a 3,68 (equivalente a 4.786 copias/mL) en los no anérgicos. Tras el análisis multivariante se observó que la probabilidad de ser anérgico aumentaba aproximadamente 1,5 veces al aumentar un logaritmo la carga viral (al multiplicar por 10 el número de copias de ARN/mL). Dado que la carga viral puede tener una variación importante en pocas semanas²³³, la relación independiente de la carga viral medida en el momento de realizar los tests cutáneos con la anergia puede indicar, posiblemente, que la carga viral medida en ese momento refleja de algún modo el promedio de la carga viral en un período de al menos meses anterior a tal medición, período en el que la replicación mantenida del VIH provocaría la alteración cualitativa de la inmunidad celular manifestada en forma de anergia^{230,231}.

La relación encontrada en nuestro estudio entre la carga viral y la presencia de anergia puede ser reflejo de los fenómenos inmunopatogénicos explicados en la teoría de Clerici y Shearer¹³¹, la cual trata de explicar los mecanismos que provocan la progresión a un estado avanzado de inmunosupresión en la infección por el VIH. Este estado avanzado viene definido por la pérdida del control de la replicación viral por los linfocitos T CD8+, con el consiguiente aumento de la viremia plasmática y una caída más rápida del número de las células T CD4+ en los ganglios linfáticos y en la sangre. Este deterioro, según estos autores, reflejaría el cambio de una respuesta al VIH de tipo Th1 al tipo Th2. Como ya se comentó en *Introducción*, las células T CD4+ tipo Th1 segregan linfocinas (por ejemplo, IL-2 e IFN- γ) que favorecen tanto las respuestas citotóxicas como las respuestas de hipersensibilidad retardada, mientras que las células T CD4+ tipo Th2 producen linfocinas (por ejemplo IL-4 e IL-10) que promueven la síntesis de

anticuerpos y suprimen las respuestas de hipersensibilidad retardada¹⁵⁻¹⁷. La aparición de anergia puede reflejar las fases precoces de este cambio, lo cual sugiere un pobre pronóstico^{131,234}.

Sólo uno de los seis estudios anteriores analizó la influencia de la carga viral en la presencia de anergia cutánea, sin encontrar relación con la misma²¹³. Este distinto resultado respecto a la relación carga viral-anergia con respecto a lo encontrado en nuestro trabajo puede obedecer principalmente al escaso grado de inmunosupresión de los pacientes en el estudio comentado y al escaso número de pacientes anérgicos: el número total de pacientes en tal estudio fue de 136, lo cual unido a que todos eran asintomáticos (un 31% seroconvirtieron durante el período de estudio), hizo que el porcentaje de anérgicos fuera pequeño (18%), por lo que sólo se incluyeron 25 anérgicos en dicho estudio. Además, la batería antigénica empleada fue MULTITEST, con lo que es posible, dado los resultados de la primera parte de nuestro trabajo, que varios pacientes fueran falsos anérgicos, lo cual podría influir en los resultados (es de destacar que los autores compararon las respuestas a MULTITEST en los pacientes con un grupo de 24 voluntarios sanos sin encontrar diferencias significativas).

El estado nutricional en la infección por el VIH como variable predictora de la presencia de anergia. La infección por el VIH lleva consigo, además del deterioro inmunológico, un importante déficit nutricional y una progresiva pérdida de peso²³⁵⁻²³⁸. Generalmente este tipo de desnutrición suele ser mixta, es decir, proteico-calórica, lo que implica no sólo una pérdida de peso y una depleción de la masa muscular, sino que se produce una alteración

de las medidas antropométricas y de los marcadores biológicos^{235,236}. Cuando el cuadro de malnutrición es severo se define con el término de *wasting syndrome*, condición clínica en la que se produce una pérdida de la masa corporal mayor del 10% del peso basal en ausencia de infección oportunista, enfermedad tumoral, diarrea crónica asociada o cualquier otra causa capaz de producir pérdida de peso^{189,239}.

Dos estudios realizados en nuestro país han señalado la importancia del fenómeno de la desnutrición en estos pacientes. Así, en uno de ellos, el 86,5% de los pacientes infectados, en su primera visita ya estaban malnutridos, siendo mucho más grave esta malnutrición en estadíos más avanzados de la enfermedad²⁴⁰. Miralles ha estudiado el estado nutricional de 319 pacientes seguidos en consultas encontrando que el 53% de los varones, y el 51% de las mujeres estaban desnutridos²⁴¹.

A pesar de esta asociación entre infección por VIH y la presencia de desnutrición, y a pesar de que la desnutrición es una causa bien conocida de alteración de la inmunidad celular y de la presencia de anergia^{38,73,242-249}, ninguno de los seis estudios anteriores hizo una valoración adecuada del estado nutricional en los pacientes y tan sólo uno de los estudios hizo una valoración muy indirecta del mismo a través de la medición del índice de masa corporal, sin encontrar relación con la presencia de anergia²⁰⁹.

En la valoración del estado nutricional proteico-calórico se miden una serie de parámetros nutricionales e índices antropométricos que dan idea de la afectación de los diferentes compartimentos corporales: compartimento proteico, representado por las proteínas estructurales (musculares) y funcionales

(viscerales); y compartimento graso, el cual constituye la reserva calórica²⁵⁰. En nuestro estudio, parámetros de los compartimentos grasos, muscular y visceral mostraron su relación con la presencia de anergia en el análisis univariante. De todos ellos, la CMB, parámetro que mide el compartimento muscular^{187,188,250,251,252}, fue el parámetro nutricional que mostró asociación independiente con la presencia de anergia cutánea. Por cada cm de aumento en la CMB el riesgo de anergia disminuía un 14% en los pacientes.

La asociación inicial entre anergia y sexo encontrada en el análisis univariante y no ratificada en el análisis multivariante fue probablemente confundida por el hecho de que las mujeres tienen menor CMB que los hombres¹⁹⁰. Así, en un análisis aparte la media de la CMB en las mujeres fue de 20,4 cm frente a 24,3 cm en los hombres ($P < 0,001$).

Una vez conocidos los factores que se relacionaron con el deterioro de la inmunidad celular manifestado en forma de anergia cutánea, estuvimos en condiciones de analizar si las posibles mejorías en las variables predictoras de anergia, tras un período de terapia antirretroviral altamente activa, se relacionaban con la recuperación de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en los anérgicos.

TERCERA PARTE: ESTUDIO DE LAS VARIABLES QUE SE RELACIONAN CON LA RECUPERACION DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN PACIENTES CON INFECCION POR EL VIH PREVIAMENTE ANERGICOS.

1.- RECUPERACION DE LAS RESPUESTAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA TRAS LA TERAPIA ANTRRETROVIRAL

Las estrategias terapéuticas en los pacientes con infección por el VIH tienen el objetivo final de restaurar, o al menos mantener, las respuestas de la inmunidad celular contra las infecciones oportunistas²⁰⁷. La terapia antirretroviral con inhibidores de la proteasa en combinación con inhibidores de la transcriptasa inversa (HAART) resulta en una reducción drástica y prolongada en la carga viral plasmática y un incremento progresivo en el número de linfocitos T CD4+ circulantes en la mayoría de los pacientes tratados^{177-179,253}. La disminución de la morbilidad y la mortalidad que se observa en pacientes con enfermedad avanzada por el VIH tras tratamiento con HAART indica que el incremento en el conteo de células T CD4+ circulantes se asocia con una mejoría en la función de las células T^{167,254-257}.

En los últimos años, un número importante de estudios realizados con estímulos *in vitro* (a diferencia del estudio *in vivo* con pruebas cutáneas), han investigado si esta supresión de la carga viral y el aumento de linfocitos T CD4+ tras HAART se traduce en la mejoría cualitativa de la función de las células T^{204,214,216-218,253,256,258-263}. Por el contrario, son muy pocos los estudios que han

estudiado la mejoría cualitativa en las células T mediante el estudio de pruebas cutáneas.

Estudios que han analizado *in vitro* la recuperación funcional de las células T tras tratamiento antirretroviral. Estos estudios *in vitro*, realizados con un pequeño número de pacientes (de 15 a 49 pacientes), han demostrado que tras meses de supresión sostenida de la carga viral con HAART, el porcentaje de células T CD4+ productoras de IL-2, IL-10 e IL-12^{258,261}, las respuestas proliferativas a fitohemaglutinina y las respuestas a antígenos de recuerdo y proteínas del VIH^{204,216-218,253,259-263} y la reactividad de las células T CD4+ en respuesta a antígenos de citomegalovirus, *M. tuberculosis*, *C. albicans* y *Mycobacterium avium*^{214,218,256}, mejoraron ostensiblemente.

Estudios que han analizado mediante pruebas cutáneas la recuperación funcional de las células T tras tratamiento antirretroviral. Si nos atenemos a trabajos que hayan evaluado la restauración de las respuestas de inmunidad celular tras tratamiento antirretroviral mediante el estudio *in vivo* de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en pacientes previamente anérgicos, la información existente es muy limitada.

French, en dos estudios realizados en la época de los primeros análogos de los nucleósidos^{207,264}, evaluaron las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada con MULTITEST antes y tras 6 meses de tratamiento con zidovudina. En el primer estudio²⁶⁴, en 11 de 19 pacientes con depresión persistente de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad

retardada medidas en varias ocasiones antes del tratamiento con zidovudina, detectaron a los tres y seis meses de tratamiento una mejoría evidente en tales respuestas. Los pacientes que no mostraron esta mejoría tenían enfermedad por VIH más evolucionada. En el segundo estudio²⁰⁷, analizaron aisladamente los cambios en la positividad de la tuberculina de MULTITEST, observando como en el 40% de 64 pacientes con tuberculina negativa, esta se hizo positiva (>2 mm) tras 3-6 meses de zidovudina, frente a un grupo de 29 pacientes sin zidovudina donde la tuberculina permaneció negativa en casi todos ellos (como grupo, estos 29 controles recibieron 153 tests con MULTITEST y sólo en cuatro ocasiones en tres pacientes hubo un a respuesta a tuberculina). Los autores concluyeron que los cambios en las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada no fueron consecuencia de la repetición de los tests, sino efecto de la restauración de la inmunidad celular a antígenos micobacterianos con el tratamiento.

En una línea parecida, otro estudio²²⁵ evaluó la mejoría en las respuestas a MULTITEST tras tratamiento con IL-2, como complemento del tratamiento antirretroviral. La IL-2 es una citocina segregada por los linfocitos T activados que causa aumento en la proliferación y en la función de los linfocitos T CD4+, CD8+, linfocitos B y células *natural killer in vitro*²⁶⁵, y cuya producción y respuesta a la misma son deprimidas por el VIH²⁶⁶. Ciento quince pacientes con linfocitos T CD4+ entre 200 y 500/ μ L en tratamiento antirretroviral fueron randomizados a tratamiento con o sin IL-2. Tras un año de tratamiento, la IL-2 mejoró las respuestas a MULTITEST en base a un incremento en el *score* en mm, pero no en el número de reacciones positivas, pese a que los pacientes fueron vacunados

con toxoide tetánico y difteria (antígenos que forman parte de MULTITEST). Los autores concluyeron que el tratamiento con IL-2 mejoraba la inmunidad celular pero no provocaba la restauración de la inmunidad perdida.

En la época de la terapia con HAART, tres estudios han analizado la restauración de la inmunidad celular empleando MULTITEST para analizar las respuestas de hipersensibilidad retardada. Wendland²¹⁴ estudió los cambios en las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en 26 pacientes basalmente y tras 6 meses de HAART. Cinco de 13 anérgicos (38%) reaccionaron a MULTITEST tras 6 meses de HAART. Mezzaroma²¹⁷, también con MULTITEST pero en pacientes más severamente inmunodeprimidos (21 pacientes anérgicos, con menos de 50 CD4/ μ L y en estadio C de los CDC), objetivó una marcada mejoría en el recuento de linfocitos T CD4+, una mejoría discreta en las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada (el 19% de los anérgicos cambiaron a reactivos) y una mejoría más marcada en las pruebas *in vitro*, tras 24 meses de HAART. Finalmente, en un estudio reciente²¹⁶, 25 niños (edad media 10 años) con infección por el VIH sintomática (16 en clase 2 y 9 en clase 3 de la clasificación de los CDC de 1994²⁶⁷ para la infección por el VIH en niños) fueron evaluados con MULTITEST antes y después de 12 meses de terapia con HAART. Dentro de los niños en clase 2, la positividad a MULTITEST cambió de un 31% a un 81% tras HAART, y dentro de la clase 3, de un 0% a un 44%.

Empleando antígenos aplicados por técnica de Mantoux, hay muy pocos datos con respecto a la restauración de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada tras HAART. Tan sólo un estudio en 34 pacientes²¹⁸

con una media de CD4 de menos de 200/ μ L analizó este fenómeno tras 12 meses de HAART. En dicho estudio se analizaron individualmente las respuestas cutáneas a cada antígeno, obteniendo diferencias marcadas en las respuestas a *Candida* (respuestas basales y a los 12 meses de 9% y 33%, respectivamente), y al antígeno del virus de la parotiditis (0% y 23% respectivamente), sin cambios significativos en las respuestas a *Trichophyton* y PPD. Hay que señalar que el punto de corte para considerar una induración positiva en este estudio fue 10 mm. El número de pacientes anérgicos al panel antigénico que dejaron de serlo no fue referido.

Consideraciones sobre los estudios que han analizado la recuperación funcional de las células T tras tratamiento antirretroviral. De los estudios referidos se deben hacer las siguientes consideraciones:

1. La restauración del sistema inmune tras el tratamiento antirretroviral se ha estudiado principalmente con estudios *in vitro*.
2. Los escasos estudios con pruebas cutáneas han empleado casi exclusivamente MULTITEST.
3. El número de pacientes en estos estudios ha sido muy pequeño.
4. No hay ningún estudio que dé datos sobre el porcentaje de pacientes anérgicos a un panel antigénico aplicado por técnica de Mantoux que dejan de serlo tras HAART.

Porcentaje de pacientes que cambiaron de anérgicos a reactores en nuestro estudio. Nuestro estudio es el primero que aporta datos sobre el

porcentaje de pacientes anérgicos a un panel de antígenos aplicados por técnica de Mantoux que dejan de serlo tras haber recibido terapia con HAART, haciéndolo además en un grupo considerable de pacientes (comparado con el número de pacientes en los estudios comentados).

De 156 pacientes anérgicos a un panel formado por *Candida*, antígeno del virus de la parotiditis y PPD, 100 (64%) reaccionaron a alguno de estos antígenos tras una segunda evaluación realizada entre 6 y 18 meses de la primera. Todos los pacientes recibieron terapia con HAART en algún momento durante ese período.

Aunque existen estudios que han analizado los cambios en las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en el tiempo mediante antígenos aplicados por técnica de Mantoux en los pacientes con infección por el VIH, en dichos estudios los pacientes no recibieron tratamiento con HAART ni ninguna modificación terapéutica reseñable por los autores^{197,209,210}. Con un panel antigénico formado por PPD, *Candida* y antígeno del virus de la parotiditis (en uno de dichos estudios además se incluyó a toxoide tetánico¹⁹⁷), los autores encontraron en la primera evaluación un porcentaje de anergia que varió entre el 36% y el 38% (número de pacientes con infección por el VIH incluidos: 401-491). Tras una segunda evaluación realizada tras un intervalo de tiempo que varió entre 9 y 18 meses, y durante el cual no se describen cambios en el tratamiento de los pacientes (ninguno de los cuales recibía HAART), el 15%²⁰⁹, el 31%²¹⁰ y el 36,1%¹⁹⁷, respectivamente, de los pacientes anérgicos en la primera evaluación cambiaron a reactores.

La terapia con HAART fue la principal diferencia entre los pacientes de nuestro estudio y los de los estudios mencionados, y explicaría el mayor porcentaje de pacientes que cambiaron del estado de anérgico al de reactor (64%). Por lo tanto, aunque nuestro estudio no fue diseñado para comparar pacientes con HAART y sin HAART, la comparación con los estudios anteriores sugiere que dicha terapia se asocia claramente con la restauración de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en los pacientes con infección por el VIH.

2.- RECUPERACION DE PACIENTES PARA QUIMIOPROFILAXIS ANTITUBERCULOSA TRAS LA RECUPERACION DE LAS RESPUESTAS CUTANEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA.

La restauración de las respuestas de hipersensibilidad retardada tras el tratamiento antirretroviral permite recuperar un número de pacientes infectados por *M. tuberculosis* que debido a anergia cutánea no mostraron respuesta positiva a la PPD en la primera evaluación. Tras la mejoría funcional del sistema inmune conseguida, esos pacientes son finalmente capaces de desarrollar una respuesta positiva a una segunda evaluación con PPD. En función de dicha positividad a la PPD, los pacientes serían candidatos para recibir quimioprofilaxis antituberculosa⁴³.

Estudios que han analizado el efecto de retestar con PPD a pacientes con infección por el VIH sin respuesta previa a la misma. El efecto de un retest con PPD ha sido estudiado de dos formas en los pacientes infectados por

el VIH. En primer lugar se ha valorado el porcentaje de pacientes que, tras un primer test con PPD negativo, muestran una respuesta positiva tras un retest efectuado un corto tiempo después (efecto *booster*⁴⁵), generalmente tras un periodo de menos de un mes^{154,208,212}. En estos estudios, el porcentaje de pacientes con infección por el VIH recuperados para profilaxis, o lo que es lo mismo, la rentabilidad del retest, varió en función de la prevalencia de la infección tuberculosa en el marco geográfico donde se desarrolló el estudio (de un 2,7% a un 7% en EE.UU.^{154,208}, y un 29% en Uganda²¹²).

En segundo lugar, se ha analizado el efecto de un segundo test con PPD tras un período de tiempo más largo, donde es improbable el efecto *booster*^{45,149}, y donde la nueva positividad a la PPD en el retest puede indicar o bien la adquisición de una infección reciente por *M. tuberculosis* o bien la recuperación de la hipersensibilidad retardada a la PPD, la cual estaba deprimida en el momento del primer test, tras una mejoría funcional del sistema inmune. El primer supuesto se sospecharía más en el caso de aquellos pacientes que en la primera evaluación eran PPD-negativos pero no anérgicos a los antígenos de control; el segundo supuesto se sospecharía más en aquellos pacientes que en la primera evaluación eran PPD-negativos y anérgicos a los antígenos de control¹⁵⁷.

Con relación al primer supuesto, Selwyn, en EE.UU., encontró que un 11% de pacientes UDI con infección por el VIH cambiaron de PPD-negativos a PPD-positivos al año del primer test¹⁴⁹. Por su parte, Antonucci, en Italia¹⁵⁷, observó que de 604 pacientes PPD-negativos no anérgicos, tras un segundo test al año, un 2,2% convirtieron a PPD-positivos. La alta tasa de conversión referida en el

primero de los estudios refleja el alto riesgo para la adquisición de nueva infección tuberculosa en el colectivo de pacientes UDI⁴³.

Porcentaje de pacientes anérgicos que mostraron respuesta positiva a PPD tras la segunda evaluación en nuestro estudio. Con relación al segundo supuesto comentado arriba, en nuestro estudio, siete de los 100 pacientes previamente anérgicos que cambiaron a reactores presentaron una respuesta positiva a PPD, o lo que es lo mismo, tras la restauración de las respuestas de hipersensibilidad retardada, un 7% de los pacientes que cambiaron a reactores fueron rescatados para recibir profilaxis antituberculosa.

Hay muy pocos datos en la literatura sobre el porcentaje de pacientes anérgicos que al cambiar a reactores convierten la PPD. Tan sólo en uno de los estudios descritos anteriormente²¹⁰, de 54 pacientes anérgicos que al año cambiaron a reactores, sólo 2 mostraron respuesta positiva a PPD (3,7%). Este menor porcentaje respecto al 7% de nuestro estudio probablemente refleje la menor prevalencia de la infección por *M. tuberculosis* en comparación a nuestro medio.

En resumen, la repetición de los tests cutáneos tras un período de tratamiento con HAART tiene la doble utilidad de dar información sobre la posible restauración funcional del sistema inmune y de rescatar un porcentaje importante de pacientes que se benefician de la quimioprofilaxis antituberculosa.

3.- ANALISIS DE LOS FACTORES QUE SE RELACIONARON CON LA RECUPERACIÓN DE LAS RESPUESTAS CUTÁNEAS DE HIPERSENSIBILIDAD RETARDADA EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH.

En nuestro estudio, intentamos confirmar la hipótesis, por la cual, cambios en las variables que se relacionaban de forma independiente con la presencia de anergia y que eran susceptibles de ser “mejoradas” con el tratamiento antirretroviral, influían en la recuperación de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en los pacientes con infección por el VIH.

Como era previsible, en el momento de la segunda evaluación con tests cutáneos y tras un período de tratamiento con HAART, se observó una mejoría clara en el recuento de linfocitos T CD4+ y en el log₁₀ de la carga viral. Sin embargo, aunque se ha descrito una mejoría en el estado nutricional medido por aumento de peso tras HAART²¹⁷, no observamos cambios en el estado nutricional medido por la CMB, parámetro que se asoció de forma independiente con la presencia de anergia cutánea en la segunda parte de este trabajo.

Factores que se asociaron con el cambio de anérgico a reactor en nuestro estudio. En el análisis univariado, observamos que los pacientes que cambiaron de anérgicos a reactores tuvieron un mayor incremento en el recuento de linfocitos T CD4+ y una mayor caída en la carga viral. También se observó que aquellos pacientes con un recuento basal de linfocitos T CD4+ más bajo en el momento de la primera evaluación con tests cutáneos o aquellos pacientes que estaban clasificados estadios B ó C de los CDC en la primera evaluación, fueron

más susceptibles de permanecer anérgicos en la segunda evaluación. Tras el análisis multivariante, todos estos factores siguieron mostrando una relación independiente con el cambio de anérgico a reactor, excepto el estar clasificado en estadio B ó C.

Nivel basal de linfocitos T CD4+ y cambio de anérgico a reactor. La asociación entre el nivel basal de linfocitos T CD4+ y el cambio de anérgico a reactor fue muy clara: los pocos pacientes anérgicos con recuento igual o mayor a 500 CD4+/ μ L en la primera evaluación y los pacientes anérgicos con 200-499 CD4+/ μ L, tuvieron 43 y 6 veces, respectivamente, más probabilidades de dejar de ser anérgicos que los pacientes con el recuento de linfocitos T CD4+ más bajo (menos de 50 CD4+/ μ L). No hubo, sin embargo, diferencia entre los dos grupos de pacientes con menores recuentos de linfocitos T CD4+: los pacientes con 50-199 CD4+/ μ L tuvieron las mismas probabilidades de dejar de ser anérgicos que los pacientes con menos de 50 CD4+/ μ L (*odds ratio*=2, pero *IC*₉₅: 0,6 – 6).

Los tres estudios comentados anteriormente, en los que se describe la variación temporal de la anergia en la infección por el VIH^{197,209,210}, encontraron también una correlación clara entre la cifra basal de linfocitos T CD4+ de los pacientes anérgicos en la primera evaluación y el cambio a reactor. Así, Chin²¹⁰ observó que el cambio de anérgico a reactor se produjo en el 18% de los pacientes con recuento basal de linfocitos T CD4+ inferior a 200/ μ L, en el 24% de aquellos con 200-400/ μ L, en el 44% de aquellos con 400-600/ μ L y en el 48% de aquellos con más de 600/ μ L. Datos similares ofreció Klein¹⁹⁷, siendo los porcentajes de 17,4% para los pacientes con recuento menor a 200/ μ L, 38,1%

para aquellos con 200-500/ μ L, y 63,6% para aquellos con más de 500/ μ L. Expresado de forma inversa, Caiiffa²⁰⁹, observó que, para cada nivel de linfocitos T CD4+, las *odds ratio* de permanecer anérgico en la segunda evaluación (utilizando a pacientes que fueron reactivos en las dos visitas como categoría de referencia) fueron 11,2 para aquellos pacientes con menos de 350 linfocitos T CD4+/ μ L, 6,4 para aquellos con 350-500/ μ L y 2,4 (IC₉₅ 0,9 – 5,9) para aquellos con más de 500/ μ L.

Estos datos dejan claro que la restauración funcional de la inmunidad celular, medida por la recuperación de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada tras HAART, depende del grado de inmunosupresión del que se parte (medido por el recuento de linfocitos T CD4+) a la hora de iniciar tal tratamiento.

El hecho de que en el modelo multivariante, los pacientes en estadio B ó C, los cuales en el análisis univariante se asociaron con el cambio de anérgico a reactor, no fuesen incluidos, se debe a que la relación inicial encontrada estaba probablemente confundida por el recuento de linfocitos T CD4+ (en un análisis aparte se observó que los pacientes anérgicos de los estadios B y C tuvieron un menor nivel de linfocitos T CD4+/ μ L, $P=0,00002$).

Relación de los cambios en el recuento de linfocitos T CD4+ con el cambio de anérgico a reactor. En los estudios mencionados en el párrafo anterior no se comparó el cambio de anérgico a reactor con los cambios en el recuento de los linfocitos T CD4+ ni en la carga viral entre las dos evaluaciones. En nuestro estudio se observó que independientemente del recuento basal de

linfocitos T CD4+, un incremento en el número de linfocitos T CD4+ entre las dos evaluaciones se asoció con el cambio a reactor. Así, por ejemplo, un aumento en 100 linfocitos T CD4+/ μ L en la segunda evaluación multiplicaba casi por 2 la probabilidad de cambiar a reactor.

Relación de los cambios en la carga viral con el cambio de anérgico a reactor. Del mismo modo, una reducción en la carga viral tuvo el mismo efecto, y así por ejemplo, una reducción en 1 logaritmo multiplicaba por 1,7 la probabilidad de cambiar a reactor. En relación con estos últimos resultados, Wendland²¹⁴, en 26 pacientes testados con MULTITEST basalmente y tras 6 meses de HAART, también encontró una asociación independiente entre la reducción de la carga viral y la mejora en las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada.

Los mecanismos posibles por los cuales la reducción en la carga viral puede provocar una mejoría en las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada independientemente de los cambios en los linfocitos T CD4+ se basan en la corrección de los siguientes fenómenos:

1. Una elevada viremia plasmática está asociada con elevados niveles de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), el cual puede alterar la fase del reclutamiento celular de la respuesta inmune²³¹.
2. El VIH, por sí mismo, puede inducir cambios en las funciones de las células presentadoras de antígenos de la piel, por tanto alterando las respuestas de hipersensibilidad retardada²⁶⁴.

3. Los viriones del VIH o proteínas solubles como la gp160 pueden interactuar con los receptores de quimiocinas requeridos para el reclutamiento de las células inflamatorias²⁶⁸.

El que el aumento del número de linfocitos T CD4+ y la disminución de la carga viral sean independientes en su relación con la restauración funcional de la inmunidad celular medida en forma de la recuperación de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada, da idea de la complejidad de los mecanismos inmunopatogénicos en la infección por el VIH, y se relaciona de algún modo con las siguientes observaciones recogidas en la literatura:

1. Existen pacientes sin disminución de la carga viral tras tratamiento con HAART, los cuales, pese a ello, pueden tener un incremento llamativo en el número de linfocitos T CD4+, una mejora en las respuestas linfoproliferativas *in vitro*, así como curación de infecciones oportunistas crónicas^{217,269}.
2. Pacientes que experimentan marcadas reducciones en los niveles de carga viral tras tratamiento antirretroviral pueden no experimentar una restauración completa del recuento de linfocitos T CD4+¹⁶⁷, e incluso hasta un 20% de pacientes pueden progresar rápidamente a SIDA pese a una baja replicación viral²⁷⁰.
3. Al revés, un 10-25% de pacientes con alta carga viral no muestran tal progresión rápida a SIDA²⁷⁰.

Ausencia de relación entre la carga viral basal y el cambio de anérgico a reactor. El que la carga viral basal se relacione (como hemos visto en la segunda

parte del estudio) de forma independiente con la presencia de anergia, pero no se relacione con el cambio de anérgico a reactor, a diferencia del recuento basal de linfocitos T CD4+ puede explicarse en varias etapas:

1. Una viremia elevada, a través de los mecanismos que ya hemos comentado (efectos inmunosupresores de las proteínas virales y aumento de los mediadores de activación celular^{230,231,268}), puede provocar marcados defectos en la función de las células T.
2. Un marcador precoz de este defecto inmune es la incapacidad para responder a antígenos de recuerdo *in vitro* o *in vivo* (anergia a las pruebas cutáneas)¹⁷³.
3. Estas alteraciones de las células T preceden a la disminución de su número en sangre periférica^{134,135}.
4. Si en estos pacientes con anergia secundaria a la elevada carga viral, el tratamiento antirretroviral consigue reducir la carga viral antes de que se produzca un descenso significativo en las cifras de linfocitos T CD4+, estos pacientes podrían recuperar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada (es decir, no habría una relación entre carga viral alta y el permanecer como anérgico en una segunda evaluación).
5. Por el contrario, los pacientes donde la anergia se debe a un deterioro más severo del sistema inmunológico, donde aparte de las alteraciones funcionales de los linfocitos T también hay una importante disminución de su número, tendrían más dificultades para recuperar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada (es decir, existiría una clara relación entre el nivel basal bajo de linfocitos T CD4+ y el permanecer anérgico en la segunda evaluación).

Tras el análisis de estos datos, podríamos considerar que la restauración de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada, la cual se asocia con el aumento del número de linfocitos T CD4+ y la disminución de la carga viral tras un período de terapia con HAART, es una forma útil de obtener información sobre la restauración funcional o cualitativa del sistema inmune, que complementa la información cuantitativa de los cambios en el recuento de linfocitos T CD4+ y en la carga viral.

VI. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de anergia cutánea, tras la aplicación simultánea de dos paneles antigénicos que liberan en su conjunto once antígenos, en los pacientes adultos con infección por el VIH de nuestro medio sin evidencia de infección oportunista ni neoplasia en el momento de la evaluación, es del 26%.
2. La prevalencia de anergia cutánea y el grado de respuesta a cada uno de los dos paneles antigénicos dependen claramente del grado de inmunosupresión de estos pacientes.
3. El panel antigénico aplicado por técnica de Mantoux formado por PPD y tres antígenos de control, *C. albicans* en dilución 1:10, toxoide tetánico en dilución 1:5 y el antígeno del virus de la parotiditis, es superior al dispositivo de punción múltiple intradérmica MULTITEST para producir respuestas cutáneas detectables de hipersensibilidad retardada.
4. Esta mayor eficacia del panel antigénico aplicado por técnica de Mantoux sobre MULTITEST se produce tanto con un punto de corte, para considerar una induración como positiva para los antígenos del primer panel, de 5 mm como con un punto de corte de 2 mm, el cual aumenta aún más las diferencias con MULTITEST.

5. Los antígenos del panel aplicado por técnica de Mantoux que producen una tasa mayor de respuestas positivas son *C. albicans* y toxoide tetánico. Las respuestas positivas a PPD varían entre el 3% y el 37% según el nivel de linfocitos T CD4+ de los pacientes. De los siete antígenos liberados por MULTITEST, tétanos, tuberculina y *Candida* producen la mayor tasa de respuestas positivas.

6. De las tres posibles combinaciones de PPD más dos de los tres antígenos de control aplicados por técnica de Mantoux, la combinación más eficaz es la de *C. albicans*-toxoide tetánico-PPD (sólo uno de cada 100 pacientes es catalogado erróneamente como anérgico al panel administrado por técnica de Mantoux al no añadir el antígeno del virus de la parotiditis). Esta combinación también es superior a MULTITEST para detectar las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada.

7. En los pacientes con infección por el VIH, son factores de riesgo independientes para la aparición de anergia cutánea al panel formado por PPD, *C. albicans* y toxoide tetánico aplicados por técnica de Mantoux, el nivel de linfocitos T CD4+, el estar clasificado previamente en estadio B ó C, el logaritmo de la carga viral y la circunferencia muscular del brazo.

8. El 64% de los pacientes anérgicos a dicho panel recuperan la capacidad de producir respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en una segunda evaluación con el mismo panel a los 6 – 18 meses y tras recibir tratamiento con terapia antirretroviral de alta eficacia.

9. Los factores que se asocian de forma independiente con la recuperación de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada en los pacientes anérgicos son el nivel de linfocitos T CD4+ en la primera evaluación, la diferencia del logaritmo decimal de la carga viral entre las evaluaciones primera y segunda, y la diferencia del recuento de linfocitos T CD4+ entre las dos evaluaciones.

10. Tras la restauración de las respuestas cutáneas de hipersensibilidad retardada, un 7% de los pacientes que cambian de anérgico a reactor son rescatados para recibir profilaxis antituberculosa al detectarse en ellos una reacción positiva a PPD.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. Delves PJ, Roitt IM. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000; 343:37-49.
2. Tramont EC. Mecanismos de defensa generales o inespecíficos del huésped. En: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE, eds. *Enfermedades infecciosas. Principios y práctica*, 3ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1991:35-42.
3. Fresno M. Inmunidad e infecciones. En: Rozman C, ed. *Medicina interna*, 13ª ed. Madrid: Mosby-Doyma Libros, 1995:2725-2729.
4. Haynes BF, Fauci AS. Introducción al sistema inmunitario. En: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, eds. *Harrison. Principios de medicina interna*, 14ª ed. Madrid: McGraw-Hill, 1998:1991-2017.
5. Imboden JB. Linfocitos T y células asesinas naturales. En: Stites DP, Terr AI, Parslow TG, eds. *Inmunología básica y clínica*, 9ª ed. México: El Manual Moderno, 1998:147-164.
6. Janeway CA. The T cell receptor as a multicomponent signaling machine: CD4/CD8 coreceptors and CD45 in T cell activation. *Ann Rev Immunol* 1992; 10:645-674.
7. Henkart PA. Lymphocyte-mediated cytotoxicity: Two pathways and multiple effector molecules. *Immunity* 1994; 1:343-346.
8. Schwartz RH. T-lymphocyte recognition of antigen in association with gene products of the major histocompatibility complex. *Ann Rev Immunol* 1985; 3:237-261.
9. Allen PM. Antigen processing at the molecular level. *Immunol Today* 1987; 8:270-273.
10. Cresswell P. Antigen recognition by T lymphocytes. *Immunol Today*. 1987; 8:67-69.
11. Jaraquemada D, Martí M. Presentación de antígenos a células T: diferentes vías de procesamiento para moléculas de clase I y clase II del complejo principal de histocompatibilidad. *Inmunología* 1991; 10:109-117.
12. Robey E, Allison JP. T-cell activation: Integration of signals from the antigen receptor and costimulatory molecules. *Immunol Today* 1995; 16:306-310.
13. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Citocinas. En: Stites DP, Terr AI, Parslow TG, eds. *Inmunología básica y clínica*, 9ª ed. México: El Manual Moderno, 1998:165-192.
14. Paul WE, Seder RA. Lymphocytes responses and cytokines. *Cell* 1994; 76:241-252.
15. Mosmann TR, Coffman RL. T_H1 and T_H2 cells: Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Ann Rev Immunol* 1989; 7:145-173.

16. Romagnani S. Type 1 T helper and type 2 T helper cells: functions, regulation and role in protection and disease. *Int J Clin Lab Res* 1991; 21:152-158.
17. Black CA. Delayed type hypersensitivity: Current theories with an historic perspective. *Dermatol Online J* 1999; 5:7.
18. Rieder MJ. Immunopharmacology and adverse drug reactions. *J Clin Pharmacol* 1993; 33:316-323.
19. Leyva-Cobián F. Lesiones por reacciones de hipersensibilidad retardada. En: Rozman C, ed. *Medicina interna*, 13ª ed. Madrid: Mosby-Doyma Libros, 1995:2763-2766.
20. Dwyer JM. Anergy. The misterious loss of immunoligical energy. *Prog Allergy* 1984; 35:15-92.
21. Phair JP. Delayed hypersensitivity skin testing: uses and pitfalls. *Curr Clin Top Infect Dis* 1988; 9:215-221.
22. Belsito DV. The diagnostic evaluation, treatment, and prevention of allergic contact dermatitis in the new millenium. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:409-420.
23. Mathews KP. Clinical spectrum of allergic and pseudoallergic drug reactions. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 74:558-566.
24. Romagnoli P, Spinass GA, Sinigaglia F. Gold-specific T cells in rheumatoid arthritis patients treated with gold. *J Clin Invest* 1992; 89:254-258.
25. Boros DL. Granulomatous inflammation. *Prog Allergy* 1978; 24:183-268.
26. Saltini C, Winestock K, Kirby M, et al. Maintenance of alveolitis in patients with cronic beryllium disease by beryllium-specific helper T cells. *N Engl J Med* 1989; 320:1103-1109.
27. Rose C, King TE. Controversies in hypersensitivity pneumonitis. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:1-2.
28. Agostini C, Adami F, Semenzato G. New pathogenetic insights into the sarcoid granuloma. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12:71-76.
29. Steinmuller D. Which T cells mediate allograft rejection? *Transplantation* 1985; 40:229-233.
30. Cooper MD, Lawton AR. Inmunodeficiencias primarias. En: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, eds. *Harrison. Principios de medicina interna*, 14ª ed. Madrid: McGraw-Hill, 1998:2024-2034.
31. Tellado-rodriíguez J, Christou NV. Clinical assessment of host defense. *Surg Clin North Am* 1988; 68:41-55.

32. Huebner RE, Schein MF, Bass JB. The tuberculin skin test. *Clin Infect Dis* 1993; 17:968-975.
33. Reuben JM, Hersh EM. Delayed hypersensitivity responses of cancer patients to recall antigens using a new "Multitest" applicator. *Ann Allergy* 1984; 53:390-394.
34. Centers for Disease Control and Prevention. Purified protein derivative (PPD)-tuberculin anergy and HIV infection: guidelines for anergy testing and management of anergic persons at risk of tuberculosis. *MMWR* 1991;40(RR-5):27-33.
35. Kniker WT, Anderson CT, Roumiantzeff M. The Multi-Test system: a standardized approach to evaluation of delayed hypersensitivity and cell-mediated immunity. *Ann Allergy* 1979;43:73-79.
36. Kniker WT, Anderson CT, McBride JL, Roumiantzeff M, Lesourd B. Multitest CMI for standardized measurement of delayed cutaneous hypersensitivity and cell-mediated immunity: normal values and proposed scoring systems for healthy adults in the USA. *Ann Allerg* 1984;52:75-82.
37. Ahmed AR, Blose DA. Delayed-type hypersensitivity skin testing. *Arch Dermatol* 1983;119:934-945.
38. Pensanti EL. The negative tuberculin test: tuberculin, HIV, and anergy panels. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:1699-1709.
39. American Thoracic Society. What is PPD-S?. A statement by the Committee on Diagnostic Skin Testing. *Am Rev Respir Dis* 1969; 99:460-461.
40. American Thoracic Society. Centers for Disease Control. The tuberculin skin test. *Am Rev Respir Dis* 1981; 124:356-363.
41. Snider DE. The tuberculin skin test. *Am Rev Respir Dis* 1982; 125:108-118.
42. Lobo CA, Pérez E. Biopotencia de las tuberculinas utilizadas en España. *Med Clin (Barc)* 1995; 105:599.
43. Centers for Disease Control and Prevention. American Thoracic Society. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. *MMWR* 2000; 49(RR-6):1-51.
44. Snider DE. Bacille Calmette-Guérin vaccinations and tuberculin skin tests. *JAMA* 1985; 253:3438-3439.
45. Thompson NJ, Glassroth JL, Snider DE, et al. The booster phenomenon in serial tuberculin testing. *Am Rev Respir Dis* 1979; 119:587-597.
46. Proceedings of the task force on guidelines for standardizing old and new technologies used for the diagnosis and treatment of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 82:487-526.
47. Zack M, Fulkerson L. Clinical reliability of stabilized and nonstabilized PPD. *Am Rev Respir Dis* 1970; 102:91-93.

48. Edwards PQ. Tuberculin negative? *N Engl J Med* 1972; 286:373-374.
49. Wright PW, Crutcher JE, Holiday DB. Selection of skin test antigens to evaluate PPD anergy. *J Fam Pract* 1995;41:59-64.
50. Centers for Disease Control and Prevention. Anergy skin testing and preventive therapy for HIV-infected persons: revised recommendations. *MMWR* 1997;46(RR-15):1-10.
51. Neuvonen P, Salo M, Viljanen M, et al. Delayed hypersensitivity skin testing of 150 volunteers. *Allergy* 1985; 40:208-212.
52. Duboczy BO. Repeated tuberculin tests at the same site in tuberculin-positive patients. *Am Rev Respir Dis* 1964; 90:77-79.
53. Palmer DL, Reed WP. Delayed hypersensitivity skin testing: I. Response rates in a hospital population. *J Infect Dis* 1974;130:132-137.
54. Sokal JE. Measurement of delayed skin-test responses. *N Engl J Med* 1975; 293:501-502.
55. Fairshter RD, Thornton DB, Gottschalk HR, Slater LM, Galant SP. In vivo and in vitro cell-mediated immunity to tetanus toxoid in adults. *J Allergy Clin Immunol* 1980;66:452-457.
56. Callaghan JT, Petersen BH, Smith WC, Epinette WW, Ransburg RC. Delayed hypersensitivity to mumps antigen in humans. *Clin Immunol Immunopathol* 1983;26:102-110.
57. Delafuente JC, Eisenberg JD, Hoelzer DR, Slavin RG. Tetanus toxoid as an antigen for delayed cutaneous hypersensitivity. *JAMA* 1983;249:3209-3211.
58. Gordon EH, Krouse HA, Kinney JL, Stiehm ER, Klaustermeyer WB. Delayed cutaneous hypersensitivity in normals: choice of antigens and comparison to in vitro assays of cell-mediated immunity. *J Allergy Clin Immunol* 1983;72:487-494.
59. Galant SP, Flod N, Shimizu I, et al. Relationship between cutaneous delayed hypersensitivity and cell-mediated immunity in vitro responses assessed by diphtheria and tetanus toxoid. *J Allergy Clin Immunol* 1977; 60:247-253.
60. Franz ML, Carella JA, Galant SP. Cutaneous delayed hypersensitivity in a healthy pediatric population: Diagnostic value of diphtheria-tetanus toxoids. *The Journal of Pediatrics* 1976; 88:975-977.
61. Cainzos M, Potel J, Puente JL. Valoración del estado de anergia con Multitest® en pacientes quirúrgicos. *Rev Quir Esp* 1988; 15:163-168.
62. Frazer IH, Collins EJ, Fox JS, Jones B, Oliphant RC, Mackay IR. Assessment of delayed-type hypersensitivity in man: a comparison of the "Multitest" and conventional intradermal injection of six antigens. *Clin Immunol Immunopathol* 1985;35:182-190.
63. Hegde HR. Anergy, AIDS and tuberculosis. *Med Hypotheses* 1995;45:433-440.

64. Bianco NE. The immunopathology of systemic anergy in infectious diseases: a reappraisal and new perspectives. *Clin Immunol Immunopathol* 1992; 62:253-257.
65. Makinodan T, Kay MB. Age influence on the immune system. *Adv Immunol* 1980; 29:287-330.
66. Roberts-Thomson IC, Whittingham S, Youngchaiyud U, et al. Aging, immune responses, and mortality. *Lancet* 1974; 1:368-370.
67. Waldorf DS, Wilkens RF, Decker JL. Impaired delayed hypersensitivity in aging population: association with antinuclear reactivity and rheumatoid factor. *JAMA* 1968; 203:831-834.
68. Miller RA. Age associated decline in precursor frequency for different T cell mediated reactions, with preservations of helper or cytotoxic effect per precursor cell. *J Immunol* 1984; 132:63-68.
69. Gardner ID. The effect of aging on susceptibility to infection. *Rev Infect Dis* 1980; 2:801-810.
70. Jacoby DR, Olding LB, Oldstone MBA. Immunologic regulation of fetal-material balance. *Adv Immunol* 1984; 35:157-208.
71. Weinberg ED. Pregnancy-associated depression of cell-mediated immunity. *Rev Infect Dis* 1984; 6:814-831.
72. Brunham RC, Martin DH, Hubbard TW, et al. Depression of the lymphocyte transformation response to microbial antigens and to phytohemagglutinin during pregnancy. *J Clin Invest* 1983; 72:1629-1638.
73. Chandra RK. Nutrition, immunity and infection: Present knowledge and future directions. *Lancet* 1983; 1:688-691.
74. Keusch GT, Scrimshaw NS. Selective primary health care strategies for control disease in the developing world. XXIII. Control of infection to reduce the prevalence of infantile and childhood malnutrition. *Rev Infect Dis* 1986; 8:273-287.
75. Beisei WR, Edelman R, Nauss K, et al. Single-nutrient effects on immunologic functions. *JAMA* 1981; 1:53-58.
76. Sugarman B. Zinc and infection. *Rev Infect Dis* 1983; 5:137-147.
77. Rouse BT, Horohov DW. Immunosuppression in viral infections. *Rev Infect Dis* 1986; 8:850-873.
78. Tosato G, Blaese RM. Epstein-Barr virus infection and immunoregulation in man. *Adv Immunol* 1985; 37:99-149.
79. Grierson H, Purtilo DT. Epstein-Barr virus infections in males with the X-linked lymphoproliferative syndrome. *Ann Intern Med* 1987; 106:538-545.
80. Palmer DL, Reed W. Delayed hypersensitivity skin testing. II. Clinical correlates and anergy. *J Infect Dis* 1974; 130:138-143.

81. Christou NV, McLean APH, Meakins JL. Host defense in blunt trauma: interrelationships of kinetics of anergy and depressed neutrophil function, nutritional status and sepsis. *J Trauma* 1980; 20:833-841.
82. Grossman J, Baum J, Gluckman J, et al. The effect of aging and acute illness on delayed hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 1975; 55:268-275.
83. Romagnani S, Ferrini PLR, Ricci M. The immune derangement in Hodgkin's Disease. *Semin Hematol* 1985; 22:41-55.
84. Lang JM, Girón C, de León J, et al. Delayed cutaneous hypersensitivity testing in untreated Hodgkin's disease using a standardized new device. *Biomedicine* 1980; 33:62-64.
85. Twomey JJ, Laughter AH, Farrow S, et al. Hodgkin's disease: An immunodepleting and immunosuppressive disorder. *J Clin Invest* 1975; 56:467-475.
86. McMurray DN. Mechanisms of anergy in tuberculosis. *Chest* 1980; 77:4-5.
87. Sansonetti P, Lagrange PH. The immunology of leprosy: speculations on the leprosy spectrum. *Rev Infect Dis* 1981; 3:422-469.
88. Sams WM, Jorizzo JL, Snyderman R, et al. Chronic mucocutaneous candidiasis. Immunologic studies of three generations of a single family. *Am J Med* 1979; 67:948-959.
89. Fauci AS, Pantaleo G, Stanley S, et al. Immunopathogenic mechanisms of HIV infection. *Ann Intern Med* 1996; 124:654-663.
90. Rohatgi PK, Goldstein RA. Immunopathogenesis, immunology, and assessment of activity of sarcoidosis. *Ann Allergy* 1984; 52:316-328.
91. Daniele RP, Dauber JH, Rossman MD. Immunologic abnormalities in sarcoidosis. *Ann Intern Med* 1980; 92:406-416.
92. Vourlekis JS, Sawyer RT, Newman LS. Sarcoidosis: developments in etiology, immunology, and therapeutics. *Adv Intern Med* 2000; 45:209-257.
93. Teirstein AS. Kveim antigen: what does it tell us about causation of sarcoidosis? *Semin Respir Infect* 1998; 13:206-211.
94. Beeken WL, Sessions JT Jr, Bozyski EM. Correlations between clinical, blood leukocyte, and skin test data in the National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology* 1979; 77:921-924.
95. Hersh EM, Gutterman JU, Mavligit GM. Anergy in cancer. *Int J Dermatol* 1976; 15:112-120.
96. Murray HW. Interferon-gamma, the activated macrophage, and the host defense against microbial challenge. *Ann Intern Med* 1988; 108:595-608.

97. Bitter T. In vivo study of cell-mediated immunity during the onset of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1971; 14:152-155.
98. Goldblum SE, Reed WP. Host defense and immunologic alterations associated with chronic hemodialysis. *Ann Intern Med* 1980; 93:597-613.
99. Smirnoff M, Patt C, Seckler B, et al. Tuberculin and anergy skin testing of patients receiving long-term hemodialysis. *Chest* 1998; 113:25-27.
100. Woeltje KF, Mathew A, Rothstein M, et al. Tuberculosis infection and anergy in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998; 31:848-852.
101. Fauci AS, Dale DC, Balow JE. Glucocorticosteroid therapy: mechanisms of action and clinical considerations. *Ann Intern Med* 1976; 84:304-315.
102. Meulemann J, Katz P. The immunologic effects, kinetics and use of glucocorticosteroids. *Med Clin North Am* 1985; 69:805-816.
103. Lew W, Oppenheim JJ, Matsushima K. Analysis of the suppression of IL-1 α and IL-1 β production in human peripheral blood mononuclear adherent cells by a glucocorticoid hormone. *J Immunol* 1988; 140:1895-1902.
104. Winkelstein A. Terapéutica inmunosupresora. En: Stites DP, Terr AI, Parslow TG, eds. *Inmunología básica y clínica*, 9ª ed. México: El Manual Moderno, 1998:1007-1028.
105. Hess AD. Mechanisms of action of cyclosporine: Considerations for the treatment of autoimmune diseases. *Clin Immunol Immunopathol* 1993; 68:220-228.
106. U.S. Multicenter FK506 Liver Study Group. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. *N Engl J Med* 1994; 331:1110-1115.
107. Wade JJ, Rolando N, Hayllar K, et al. Bacterial and fungal infections after liver transplantation: An analysis of 284 patients. *Hepatology* 1995; 21:1328-1326.
108. Bodey GP, Hersh EM, Valdivieso M, et al. Effects of cytotoxic and immunosuppressive agents on the immune system. *Postgrad Med* 1975; 58:67-74.
109. Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1993; 328:327-335.
110. Fauci AS. The human immunodeficiency virus: Infectivity and mechanisms of pathogenesis. *Science* 1988; 239:617-622.
111. Staprans SI, Feinberg MB. Natural history and immunopathogenesis of HIV-1 disease. In: Sande MA, Volberding PA, eds. *The medical management of AIDS*, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company 1995:38-64.
112. Levy JA. Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Microbiol Rev* 1993; 57:183-289.

113. Fauci AS, Lane HC. Enfermedad por el virus de la inmunodeficiencia humana: SIDA y procesos relacionados. En: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, eds. Harrison. Principios de medicina interna, 14^a ed. Madrid: McGraw-Hill, 1998: 2034-2107
114. Pantaleo G, Graziosi C, Demarest JF, et al. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature* 1993; 362:355-358.
115. Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, et al. HIV1 dynamics *in vivo*: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996; 271:1582-1586.
116. Embreston J, Zupancic M, Ribas JL, et al. Massive covert infection of helper T lymphocytes and macrophages by HIV during the incubation period of AIDS. *Nature* 1993; 362:359-362.
117. Weiss RA. HIV receptors and the pathogenesis of AIDS. *Science* 1996; 272:1885-1886.
118. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Interleukin 8 and related chemotactic cytokines CXC and CC chemokines. *Adv Immunol* 1994; 55:97-179.
119. Graziosi C, Soudeyns H, Rizzardi GP, et al. Immunopathogenesis of HIV infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998; 14 (Suppl 2):s135-s142.
120. Cocchi F, De Vico AL, Garzino-Demo A, et al. Identification of Rantes, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science* 1995; 270:1811-1815.
121. Paxton WA, Martin SR, Tse D, et al. Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposures. *Nature Med* 1996; 2:412-417.
122. Gaynor R. Cellular factors involved in the regulation of HIV-1 expression. *AIDS* 1992; 6:347-363.
123. Baeuerle PA, Baltimore D. NF-kB: Ten years after. *Cell* 1996; 87:13-20.
124. Michie CA, Cohen J. The clinical significance of T-cell superantigens. *Trends Microbiol* 1998; 6:61-65
125. Schattner E, Laurence J. HIV-induced T-lymphocyte depletion. *Clin Lab Med* 1994; 14:221-238.
126. Cai Q, Huang XL, Rappocciolo G, et al. Natural killer cell responses in homosexual men with early HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1990; 3:669-676.
127. O'Connor L, Huang DC, O'Reilly LA, et al. Apoptosis and cell division. *Curr Opin Cell Biol* 2000; 12:257-263.

128. Ameisen JC. Programmed cell death and AIDS: from hypothesis to experiment. *Immunol Today* 1992; 13:388-391.
129. Li CJ, Friedman DJ, Wang C, et al. Induction of apoptosis in uninfected lymphocytes by HIV-1 Tat protein. *Science* 1995; 268:429-431.
130. Empson M, Bishop GA, Nightingale B, et al. Atopy, anergic status, and cytokine expression in HIV-infected subjects. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103:833-842.
131. Clerici M, Shearer GM. A TH1-TH2 switch is a critical step in the etiology of HIV infection. *Immunol Today* 1993; 14:107-111.
132. Graziosi C, Pantaleo G, Gantt KR, et al. Lack of evidence for the dichotomy of TH1 and TH2 predominance in HIV-infected individuals. *Science* 1994; 265:248-252.
133. Clerici M, Lucey DR, Berzofsky JA, et al. Restoration of HIV-specific cell-mediated immune responses by interleukin-12 *in vitro*. *Science* 1993; 262:248-252.
134. Lane HC, Masur H, Gelmann EP, et al. Correlation between immunologic function and clinical subpopulations of patients with the acquired immune deficiency syndrome. *Am J Med* 1985; 78:417-422.
135. Miedema F, Petit AJ, Terpstra FG, et al. Immunological abnormalities in human immunodeficiency virus (HIV)-infected asymptomatic homosexual men. HIV affects the immune system before CD4+ T helper cell depletion occurs. *J Clin Invest* 1988; 82:1908-1914.
136. Miller WC, Thielman NM, Swai N, et al. Delayed-type hypersensitivity testing in Tanzanian adults with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1996; 12:303-308.
137. Centers for Disease Control and Prevention. Estimates of future global tuberculosis morbidity and mortality. *MMWR* 1993; 42:961-964.
138. Hopewell PC. Impact of human immunodeficiency virus infection on the epidemiology, clinical features, management, and control of tuberculosis. *Clin Infect Dis* 1992; 15:540-547.
139. Grupo de trabajo del PMIT. Incidencia de la tuberculosis en España: resultados del Proyecto Multicéntrico de Investigación en Tuberculosis (PMIT). *Med Clin (Barc)* 2000; 114:530-537.
140. Ministerio de Sanidad y Consumo. Plan Nacional sobre el SIDA. Control de la tuberculosis en relación con la epidemia de infección VIH/SIDA. Recomendaciones del Consejo Asesor Clínico del Plan Nacional sobre el SIDA 1999; nº 14:1-16.
141. De March-Ayuela P, García A. La evolución de la infección VIH/SIDA en los países desarrollados. Impacto sobre la tuberculosis. *Med Clin (Barc)* 1993; 100:187-193.
142. Guerra L. Control de la tuberculosis y su relación con la epidemia de infección por VIH: recomendaciones del Plan Nacional sobre el SIDA. *Rev Esp Sanid Peni* 1999; 1:89-90.

143. Moreno S, Bouza E. Quimioprofilaxis de la tuberculosis en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). *Rev Esp Quimioterap* 1993; 6:17-19.
144. Small PM, Schechter GF, Goodman PC, et al. Treatment of tuberculosis in patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1991; 324:289-294.
145. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention and treatment of tuberculosis among patients infected with human immunodeficiency virus: principles of therapy and revised recommendations. *MMWR* 1998; 47(RR-20):1-58.
146. Edlin BR, Tokars JI, Grieco MH, Crawford JT, Williams J, Sordillo E, et al. An outbreak of multidrug-resistant tuberculosis among hospitalized patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1992; 326:1514-1521.
147. Pape JW, Jean SS, Ho JL, et al. Effect of isoniazid prophylaxis on incidence of active tuberculosis and progression of HIV infection. *Lancet* 1993; 342:268-272.
148. Wadhawan D, Mwansa N, Tembo G, et al. Isoniazid prophylaxis among patients with HIV-1 infections (Abstract ThB 510). Sixth International Conference on AIDS, San Francisco, 1990, p 249.
149. Selwyn PA, Hartel D, Lewis VA, et al. A prospective study of the risk of tuberculosis among intravenous drug users with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1989; 320:545-550.
150. Moreno S, Baraia-Etxaburu J, Bouza E, et al. Risk for developing tuberculosis among anergic patients infected with HIV. *Ann Intern Med* 1993;119:194-198.
151. Guelar A, Gatell JM, Verdejo J, et al. A prospective study of the risk of tuberculosis among HIV-infected patients. *AIDS* 1993;7:1345-1349.
152. Graham NM, Nelson KE, Solomon L, et al. Prevalence of tuberculin positivity and skin test anergy in HIV-1-seropositive and -seronegative intravenous drug users. *JAMA* 1992;267:369-373.
153. Selwyn PA, Sckell BM, Alcabes P, Friedland GH, Klein RS, Schoenbaum EE. High risk of active tuberculosis in HIV-infected drug users with cutaneous anergy. *JAMA* 1992;268:504-509.
154. Huebner RE, Schein MF, Hall CA, Barnes SA. Delayed-type hypersensitivity anergy in human immunodeficiency virus-infected persons screened for infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Infect Dis* 1994;19:26-32.
155. Blatt SP, Hendrix CW, Butzin CA, et al. Delayed-type hypersensitivity skin testing predicts progression to AIDS in HIV-infected patients. *Ann Intern Med* 1993;119:177-184.
156. Moreno S, Guerrero C, Ramírez C. Tuberculosis. En: Soriano V, González-Lahoz J, eds. *Manual del SIDA*, 3ª ed. Barcelona: Idepsa, 1999: 322-334.

157. Antonucci G, Girardi E, Raviglione M, Ippolito G. Risk factors for tuberculosis in HIV-infected persons. *JAMA* 1995;274:143-148.
158. Markowitz N, Hansen NI, Hopewell PC, et al. Incidence of tuberculosis in the United States among HIV-infected persons. *Ann Intern Med* 1997; 126:123-132.
159. Jordan TJ, Lewit EM, Montgomery RL, et al. Isoniazid as preventive therapy in HIV-infected intravenous drug abusers. A decision analysis. *JAMA* 1991; 265:2987-2991.
160. Rieder HL, Cauthen GM, Kelly GD, et al. Tuberculosis in the United States. *JAMA* 1989; 262:385-389.
161. Ayuela PM. Situación actual de la tuberculosis en España. *Med Clin (Barc)* 1991; 97:463-472.
162. Gordin FM, Matts JP, Miller C, et al. A controlled trial of isoniazid in persons with anergy and human immunodeficiency virus infection who are at high risk for tuberculosis. *N Engl J Med* 1997;337:315-320.
163. Whalen CC, Johnson JL, Okwera A, et al. A trial of three regimens to prevent tuberculosis in ugandan adults infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1997; 337:801-808.
164. Salive ME, Vlahov D, Brewer TF. Coinfection with tuberculosis and HIV-1 in male prison inmates. *Public Health Rep* 1990; 105:307-310.
165. Gourevitch MN, Hartel D, Selwyn PA, et al. Effectiveness of isoniazid chemoprophylaxis for HIV-infected drug users at high risk for active tuberculosis. *AIDS* 1999; 13:2069-2074.
166. Martínez E, Cuadra F, Solera J, et al. Evaluación de dos pautas de quimioprofilaxis tuberculosa en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Med Clin (Barc)* 2000; 115:161-165.
167. Emery S, Lane HC. Immune reconstitution in HIV infection. *Curr Opin Immunol* 1997; 9:568-572.
168. Greenspan D, Greenspan JS, Overby G, et al. Risk factors for rapid progression from hairy leukoplakia to AIDS: A nested case-control study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1991; 4:652-658.
169. Blatt SP, McCarthy WF, Bucko-Krasnicka B, et al. Multivariate models for predicting progression to AIDS and survival in human immunodeficiency virus-infected persons. *J Infect Dis* 1995; 171:837-844.
170. Karlsson A, Moberg L, Bratt G, et al. An eleven year follow-up of delayed-type hypersensitivity testing for the identification of HIV-1 infected patients at increased risk of developing AIDS. *Scand J Infect Dis* 1996; 28:125-130.
171. Birx DL, Brundage J, Larson K, et al. The prognostic utility of delayed-type hypersensitivity skin testing in the evaluation of HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1993; 6:1248-1257.

172. Gordin FM, Hartigan PM, Klimas NG, et al. Delayed-type hypersensitivity skin tests are an independent predictor of human immunodeficiency virus disease progression. *J Infect Dis* 1994; 169:893-897.
173. Dolan MJ, Clerici M, Blatt SP, et al. In vitro T cell function, delayed-type hypersensitivity skin testing, and CD4+ T cell subset phenotyping independently predict survival time in patients infected with human immunodeficiency virus. *J Infect Dis* 1995;172:79-87.
174. Elliot AM, Halwiindi B, Hayes RJ, et al. The impact of human immunodeficiency virus on mortality of patients treated for tuberculosis in a cohort study in Zambia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995; 89:78-82.
175. Whalen C, Okwera A, Johnson J, et al. Predictors of survival in human immunodeficiency virus-infected patients with pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:1977-1981.
176. Colebunders RL, Lebughe I, Nzila N, et al. Cutaneous delayed-type hypersensitivity in patients with human immunodeficiency virus infection in Zaire. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1989;2:576-578.
177. Hammer SM, Squires KE, Hughes MD, et al. A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cells counts of 200 per cubic millimeter or less. *N Engl J Med* 1997; 337:725-733.
178. Gulick RM, Mellors JW, Havir D, et al. Treatment with indinavir, zidovudine, and lamivudine in adults with human immunodeficiency virus infection and prior antiretroviral therapy. *N Engl J Med* 1997; 337:734-739.
179. Collier AC, Coombs RW, Schoenfeld DA, et al. Treatment in human immunodeficiency virus infection with saquinavir, zidovudine, and zalcitabine. *AIDS Clinical Trials Group. N Engl J Med* 1996; 334:1011-1017.
180. Bailar III JC, Louis TA, Lavori PW, et al. A classification for biomedical research reports. En: Bailar III JC, Mosteller F, eds. *Medical uses of statistics*, 2ª ed. Boston: NEJM Books, 1992: 141-156.
181. Newman TB, Browner WS, Cummings SR, et al. Diseño de un nuevo estudio: II. Estudios transversales y estudios de casos y controles. En: Hulley SB, Cummings SR, eds. *Diseño de la investigación clínica*, 1ª ed. Diseño de la investigación clínica. Un enfoque epidemiológico. Madrid: Doyma, 1992: 83-95.
182. Dawson-Saunders B, Trapp RG. Planes de estudio en investigación médica. En: Dawson-Saunders B, Trapp RG, eds. *Bioestadística médica*, 1ª ed. México: El Manual Moderno, 1993: 7-21.
183. Soriano V, Machuca A, Gutiérrez M. Diagnóstico serológico. En: Soriano V, González-Lahoz J, eds. *Manual del SIDA*, 3ª ed. Barcelona: Idepasa, 1999: 82-97.
184. Villarino ME, Geiter LJ, Schulte JM, et al. Purified protein derivative tuberculin and delayed-type hypersensitivity skin testing in migrant farm workers at risk for tuberculosis and HIV coinfection. *AIDS* 1994; 8:477-481.

185. Caínzos M, Culebras J, Lozano F, et al. A study of the delayed hypersensitivity response in healthy people in Spain: Spanish national tables. *J Parenter Enteral Nutr* 1993;17:454-457.
186. Alastrué A, sitges A, Jaurrieta E, et al. Valoración de los parámetros antropométricos en nuestra población. *Med Clin (Barc)* 1982; 78:407-415.
187. Mataix J, Llopis J. Evaluación del estado nutricional. En: Serra LL, Aranceta J, Mataix J, eds. *Nutrición y salud pública. Métodos, bases científicas y aplicaciones*. Barcelona: Masson, 1995: 73-89.
188. Martínez-Tutor MJ, Giráldez J. Valoración nutricional de pacientes con nutrición artificial, parámetros y consideraciones (1ª parte). *Farm Clin* 1992; 9:319-332.
189. Centers for Disease Control and Prevention. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR* 1992;41(RR17):1-19.
190. Alastrué A, Rull M, Camps I, et al. Nuevas normas y consejos en la valoración de los parámetros antropométricos en nuestra población: índice adiposo-muscular, índices ponderales y tablas de percentiles de los datos antropométricos útiles en una valoración nutricional. *Med Clin (Barc)* 1988; 91:223-236.
191. Mullen JL, Buzby GP, Waldman MT, et al. Prediction of operative morbidity and mortality by preoperative nutritional assessment. *Surg Forum* 1979; 30:80-82.
192. Buzby GP, Mullen JL, Matthews DC, et al. Prognostic nutritional index in gastrointestinal surgery. *Am J Surg* 1980; 130:160-167.
193. Chang RWS: Nutritional assessment using a microcomputer. 1. Programme design. *Clin Nutr* 1984; 3:67-73.
194. Chang RWS, Richardson R. Nutritional assessment using a microcomputer. 2. Programme evaluation. *Clin Nutr* 1984; 3:75-82.
195. Markowitz N, Hansen NI, Wilcosky TC, et al. Tuberculin and anergy testing in HIV-seropositive and HIV-seronegative persons. *Ann Intern Med* 1993;119:185-193.
196. Graham NMH, Galai N, Nelson KE. Effect of isoniazid chemoprophylaxis on HIV-related mycobacterial disease. *Arch Intern Med* 1996; 156:889-894.
197. Klein RS, Sobel J, Flanigan T, et al. Stability of cutaneous anergy in women with or at risk for HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998; 19:421-425.
198. Silva LC. Tamaños de muestra y números de variables independientes. En: Silva LC, ed. *Excursión a la regresión logística en ciencias de la salud*, 1ª ed. Madrid: Díaz de Santos, 1995: 77-79.
199. Gourevitch MC, Hartel D, Schoenbaum EE, et al. Lack of association of induration size with HIV infection among drug users reacting to tuberculin. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:1029-1033.

200. Altman DG. Comparing groups - categorical data. In: Altman DG ed. *Practical statistics for medical research*. London: Chapman & Hall, 1991;229-276.
201. Dawson-Saunders B, Trapp RG. Estimación y comparación de proporciones. En: Dawson-Saunders B, Trapp RG, eds. *Bioestadística médica*, 1ª ed. México: El Manual Moderno, 1993: 165-186.
202. Dawson-Saunders B, Trapp RG. Estimación y comparación de medias. En: Dawson-Saunders B, Trapp RG, eds. *Bioestadística médica*, 1ª ed. México: El Manual Moderno, 1993: 115-141.
203. Sears SD, Fox R, Brookmeyer R, Leavitt R, Polk BF. Delayed hypersensitivity skin testing and anergy in a population of gay men. *Clin Immunol Immunopathol* 1987;45:177-183.
204. Valdez H, Smith KY, Landay A, et al. Response to immunization with recall and neoantigens after prolonged administration of an HIV-1 protease inhibitor-containing regimen. *AIDS* 2000; 14:11-21.
205. Klein RS, Flanigan T, Schuman P, et al. Criteria for assessing cutaneous anergy in women with or at risk for HIV infection. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103:93-98.
206. Hickie C, Hickie I, Silove D, et al. Delayed-type hypersensitivity skin testing: normal values in the Australian population. *Int J Immunopharmacol* 1995; 17:629-634.
207. French MAH, Mallal SA, Dawkins RL. Zidovudine-induced restoration of cell-mediated immunity to mycobacteria in immunodeficient HIV-infected patients. *AIDS* 1992; 6:1293-1297.
208. Webster CT, Gordin FM, Matts JP, et al. Two-stage tuberculin skin testing in individuals with human immunodeficiency virus infection. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151:805-808.
209. Caiaffa WT, Graham NM, Galai N, Rizzo RT, Nelson KE, Vlahov D. Instability of delayed-type hypersensitivity skin test anergy in human immunodeficiency virus infection. *Arch Intern Med* 1995;155:2111-2117.
210. Chin DP, Osmond D, Page-Shafer K, et al. Reliability of anergy skin testing in persons with HIV infection. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1982-1984.
211. Janis EM, Allen DW, Glesby MJ, et al. Tuberculin skin test reactivity, anergy, and HIV infection in hospitalized patients. *Am J Med* 1996;100:186-192.
212. Hecker MT, Johnson JL, Whalen CC, et al. Two-step tuberculin skin testing in HIV-infected persons in Uganda. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:81-86.
213. Maas JJ, Roos MTL, Keet IPM, et al. In vivo delayed-type hypersensitivity skin test anergy in human immunodeficiency virus type 1 infection is associated with T cell nonresponsiveness in vitro. *J Infect Dis* 1998; 178:1024-1029.

214. Wendland T, Furrer H, Vernazza PL, et al. HAART in HIV-infected patients: restoration of antigen-specific CD4 T-cell responses *in vitro* is correlated with CD4 memory T-cell reconstitution, whereas improvement in delayed type hypersensitivity is related to a decrease in viraemia. *AIDS* 1999; 13:1857-1862.
215. Wilkinson J, Zaunders J, Carr A, et al. CD8+ anti-human immunodeficiency virus suppressor activity (CASA) in response to antiretroviral therapy: Loss of CASA is associated with loss of viremia. *J Infect Dis* 1999; 180:68-75.
216. Vigano A, Dally L, Bricalli D, et al. Clinical and immuno-virologic characterization of the efficacy of stavudine, lamivudine, and indinavir in human immunodeficiency virus infection. *J Pediatr* 1999; 135:675-682.
217. Mezzaroma I, Carlesimo M, Pinter E, et al. Long-term evaluation of T-cell subsets and T-cell function after HAART in advanced stage HIV-1 disease. *AIDS* 1999; 13:1187-1193.
218. Connick E, Lederman MM, Kotzin BL, et al. Immune recostitution in the first year of potent antiretroviral therapy and its relationship to virologic response. *J Infect Dis* 2000; 181:358-363.
219. Borleffs JCC, Vrehan HM, Bosboom-Kalsbeek KC, et al. Delayed-type hypersensitivity skin testing in patients with HIV infection. *AIDS* 1991; 5:110-112.
220. Alonso A, Coduri CL, Bignone ML, et al. Comparison among delayed-type skin tests, serum IgE levels and peripheral blood CD4 in HIV-positive patients. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1997; 7:183-185.
221. Morris DL, Hersh EM, Hsi BP, Gutterman JU, Marshall MM, Mavligit GM. Recall antigen delayed-type hypersensitivity skin testing in melanoma and acute leukemia patients and their associates. *Cancer Res* 1979;39:219-226.
222. Stimpson PG, Paty JG Jr, Hudson T, et al. Delayed hypersensitivity skin testing for assessing anergy in the mid-south. *South Med J*, 1976; 69:424-426.
223. Bratt G, von Krogh G, Moberg L, et al. Intradermal testing with multiple recall antigens for identification of cell-mediated immune deficiency in homosexual men. *Clin Immunol Immunopathol* 1986;41:206-215.
224. Stricker RB, Goldberg B, Mills LB, et al. Improves results of delayed-type hypersensitivity skin testing in HIV-infected patients treated with topical dinitrochlorobenzene. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33:608-611).
225. Carr A, Emery S, Lloyd A, et al. Outpatient continuous intravenous interleukin-2 or subcutaneous, polyethylene glycol-modified interleukin-2 in human immunodeficiency virus-infected patients: A randomized, controlled, multicenter study. *J Infect Dis* 1998; 178:992-999.
226. Martínez-Marcos FJ, López-Cortés LF, Pachón J, et al. Comparison of two methods for the assessment of delayed-type hypersensitivity skin responses in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1330-1334.

227. Christou NV, Boisvert G, Broadhead M, Meakins J. Two techniques of measurement of the delayed hypersensitivity skin test response for the assessment of bacterial host resistance. *World J Surg* 1985;9:798-806.
228. Huebner RE, Villarino ME, Snider DE. Tuberculin skin testing and the HIV epidemic. *JAMA* 1992; 267:409-410.
229. Centers for Disease Control and Prevention. Revision of the CDC surveillance case definition for acquired immunodeficiency syndrome. *MMWR* 1987; 36s:3-16.
230. Fauci AS. Multifactorial nature of human immunodeficiency virus disease: Implications for therapy. *Science* 1993; 262:1011-1018.
231. Fahey JL, Taylor JM, Manna B, et al. Prognostic significance of plasma markers of immune activation, HIV viral load and CD4 T-cell measurements. *AIDS* 1998; 12:1581-1590.
232. Giorgi JV, Majchrowicz MA, Johnson TD, et al. Immunologic effects of combined protease inhibitor and reverse transcriptase inhibitor therapy in previously treated chronic HIV-1 infection. *AIDS* 1998; 12:1833-1844.
233. De Mendoza C, Soriano V. Carga viral y monitorización del tratamiento antirretrovírico. En: Soriano V, González-Lahoz J, eds. *Manual del SIDA*, 3ª ed. Barcelona: Idepsa, 1999: 752-763.
234. Kornbluth RS, McCutchan JA. Skin test responses as predictors of tuberculous infection and of progression in HIV-infected persons. *Ann Intern Med* 1993; 119:241-243.
235. Polo R. Nutrición e infección por VIH. En: Soriano V, González-Lahoz J, eds. *Manual del SIDA*, 3ª ed. Barcelona: Idepsa, 1999: 529-548.
236. Polo R. Importancia de la nutrición en la infección VIH. En: Polo R, ed. *Manual de nutrición y SIDA*, 1ª ed. Madrid: Gráficas Jomagar, 1998: 22-27.
237. Task force on nutrition support and AIDS. *Nutrition* 1989; 5:39-46.
238. Miján A. Nutrición VIH y SIDA. En: García-Luna PP, ed. *Introducción a la nutrición clínica y dietética*. Sevilla: Junta de Andalucía. Consejería de Salud, 1990: 149-163.
239. Nahlen BL, Chu SY, Nwanyanwu OC, et al. HIV wasting syndrome in the United States. *AIDS* 1993; 7:183-188.
240. Wheeler D, Gibert C, Launer C, et al. Weight loss as predictor of survival and disease progression in HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998; 18:80-85.
241. Miralles C, Pérez-Méndez LF, Ocampo A, et al. Estudio epidemiológico del estado nutricional de pacientes con VIH del Área Sur de Pontevedra usuarios de drogas, seguidos en la consulta de VIH. *Pub Of Seisida* 1996; 7:128-131.

242. Smythe PM, Schonland M, Brereton-Stiles GC, et al. Thymolympathic deficiency and depression of cell-mediated immunity in protein-calorie malnutrition. *Lancet* 1971; 2:939-944.
243. Law DK, Dudrick SJ, Abdou NI. Immunocompetence of patients with protein-calorie malnutrition: the effects of nutritional repletion. *Ann Intern Med* 1973; 79:545-550.
244. McFarlane H. Cell mediated immunity in protein-calorie malnutrition. *Lancet* 1971; 2:1146.
245. McFarlane H, Hamid J. Cell-mediated immune response in malnutrition. *Clin Exp Immunol* 1973; 13:153-164.
246. Sinha DP, Bang FB. Protein and calorie malnutrition, cell-mediated immunity, and BCG vaccination in children from rural West Bengal. *Lancet* 1976; 2:531-534.
247. Chandra RK, Scrimshaw NS. Immunocompetence in nutritional assessment. *Am J Clin Nutr* 1980; 33:2694-2697.
248. Chandra RK. Nutrition and immunology: from basic observations to clinical applications. *Rec Adv Clin Nutr* 1984; 2:221-225.
249. Chandra RK. Immunodeficiency in under-nutrition and over-nutrition. *Nutr Rev* 1981; 39:225-231.
250. Fernández ML. Valoración del estado nutricional. En: García-Luna PP, ed. *Introducción a la nutrición clínica y dietética*. Sevilla: Junta de Andalucía. Consejería de Salud, 1990: 45-56.
251. González B, Gómez C, Iglesias C, et al. Detección y valoración nutricional en el paciente VIH. En: Polo R, ed. *Manual de nutrición y SIDA*, 1ª ed. Madrid: Gráficas Jomagar, 1998: 80-89
252. Alastrué A, Sitges A, Jaurieta E, et al. Valoración antropométrica del estado de nutrición: normas y criterios de desnutrición y obesidad. *Med Clin (Barc)* 1983; 80:691-699.
253. Autran B, Carcelain G, Li TS, et al. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis, and function in advanced HIV disease. *Science* 1997; 277:112-116.
254. Hogg RS, O'Shaughnessy MV, Gataric N, et al. Decline in deaths from AIDS due to new antiretrovirals. *Lancet* 1997; 349:1294.
255. Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med* 1998; 338:853-860.
256. Li TS, Tubiana R, Katlama C, et al. Log-lasting recovery in CD4 T-cell function and viral load reduction after highly active antiretroviral therapy in advanced HIV-1 disease. *Lancet* 1998; 351:1682-1686.

257. Cameron DW, Heath-Chiozzi M, Danner S, et al. Randomized placebo-controlled trial of ritonavir in advanced HIV-1 disease. The Advanced HIV Disease Ritonavir Study Group. *Lancet* 1998; 351:543-549.
258. Weiss L, Ancuta P, Girard PM, et al. Restoration of normal interleukin-2 production by CD4⁺ T cells of human immunodeficiency virus-infected patients after 9 months of highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 1999; 180:1057-1063.
259. Kelleher AD, Carr A, Zaunders J, et al. Alterations in the immune response of human immunodeficiency virus (HIV)-infected subjects treated with an HIV-specific protease inhibitor, ritonavir. *J Infect Dis* 1996; 173:321-329.
260. Lederman MM, Connick E, Landay A, et al. Immunologic responses associated with 12 weeks of combination antiretroviral therapy consisting of zidovudine, lamivudine, and ritonavir: results of AIDS Clinical Trials Group Protocol 315. *J Infect Dis* 1998; 178:70-79.
261. Angel JB, Kumar A, Parato K, et al. Improvement in cell-mediated immune function during potent anti-human immunodeficiency virus therapy with ritonavir plus saquinavir. *J Infect Dis* 1998; 177:898-904.
262. Rinaldo CR Jr, Liebman JM, Huang XL, et al. Prolonged suppression of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) viremia in persons with advanced disease results in enhancement of CD4 T cell reactivity to microbial antigens but not to HIV-1 antigens. *J Infect Dis* 1999; 179:329-336.
263. Pontesilli O, Kerkhof-Garde S, Notermans DW, et al. Functional T cell reconstitution and human immunodeficiency virus-1-specific cell-mediated immunity during highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 1999; 180:76-86.
264. French MAH, Cameron PU, Grimsley G, et al. Correction of human immunodeficiency virus-associated depression of delayed-type hypersensitivity (DTH) after zidovudine therapy: DTH, CD4⁺ T-cell numbers, and epidermal Langerhans' cell density are independent variables. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 55:86-96.
265. Smith KA. Interleukin-2: inception, impact, and implications. *Science* 1988; 240:1169-1176.
266. Barcellini W, Rizzardì GP, Borghi MO, et al. TH1 and TH2 cytokine production by peripheral blood mononuclear cells from HIV-infected patients. *AIDS* 1994; 8:757-762.
267. Centers for Disease Control and Prevention. Revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. *MMWR* 1994; 43(RR12):1-10.
268. Littman DR. Chemokine receptors: keys to AIDS pathogenesis? *Cell* 1998; 93:677-680.

-
269. Gray CM, Schapiro JM, Winters MA, et al. Changes in CD4+ and CD8+ T cell subset in response to highly active antiretroviral therapy in HIV type 1-infected patients with prior protease inhibitor experience. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998; 14:561-569.
270. Mellors JW, Muñoz A, Giorgi JV, et al. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med* 1997; 126:946-954.

FRANCISCO JAVIER MARTINEZ MARCO
ANALISIS DE LAS RESPUESTAS (CONVENES) DE
HIERJENIBILIDAD RETARDADA EN PERSONAS INFECTADAS
POR EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

acordó otorgarle la medalla de SOBREJACIENTE CUM LAUDE

UNANIMIDAD

Sevilla, 12 de MARZO 2001

El Vocal.

El Vocal.

El Vocal.



El Presidente.

El Secretario.

El Doctorado.



