

Propuesta de nuevos algoritmos para el diagnóstico de VIH

Presidenta de la Nación
Dra. Cristina Fernández de Kirchner

Ministro de Salud
Dr. Juan Luis Manzur

Secretario de Promoción y Programas Sanitarios
Dr. Máximo Andrés Diosque

Subsecretaria de Promoción y Control de Riesgos
Dra. Marina Kosacoff

Director de Sida y ETS
Dr. Carlos Falistocco

Autores

Bioq. María Belén Bouzas

Jefa de División Análisis Clínicos. Hospital de Infecciosas "Francisco Muñiz".

Bioq. Analia Cudola

Jefa de Departamento Laboratorio Central. Ministerio de Salud Pública de Córdoba.

Dr. Horacio Salomón

Director Instituto Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida.

Edición y corrección

Cecilia Dávila

Diseño

Guadalupe Iglesias y Carolina Berdiñas

Diagramación

Andrés Venturino (OPS/OMS Argentina)

Dirección de Sida y ETS, Ministerio de Salud de la Nación.
Argentina, 2013

Está permitida la reproducción total o parcial de este material y la información contenida, citando fuente.

Propuesta de nuevos algoritmos para el diagnóstico de VIH

REPÚBLICA ARGENTINA, 2013

Introducción	5
Propósito	6
Algoritmos propuestos para centros de salud o testeo voluntario	7
Algoritmos para laboratorios clínicos	10
Diagnóstico de VIH-2	13
Aseguramiento de la calidad	15
Agradecimientos	17
Referencias	18

El diagnóstico de retrovirus y en particular el de VIH se basa en la detección de anticuerpos. Desde 1989 las recomendaciones para el algoritmo diagnóstico han comprendido el empleo en forma secuencial de un ensayo de tamizaje caracterizado por una alta sensibilidad, seguido por un ensayo suplementario o confirmatorio, de mayor especificidad, en aquellas muestras reiteradamente reactivas. Dentro de este último grupo de ensayos, el Western Blot ha sido el más extensamente utilizado, acompañado de una serie de criterios para su interpretación.

Los enzimoimmunoensayos (EIE) han sido ampliamente empleados debido a la excelente sensibilidad que poseen. Los ensayos de aglutinación de partículas de gelatina también son frecuentemente utilizados debido a la ventaja que poseen de no necesitar un equipamiento complejo a pesar de requerir de dos horas para la obtención de resultados. En los últimos años, los tests rápidos (TR) han ganado importancia en el diagnóstico de la infección por VIH, ya que la sensibilidad y especificidad han sido mejoradas, siendo en muchos casos comparables con aquellas del algoritmo convencional basado en EIE y Western Blot. Estos ensayos están basados en técnicas de inmunodot, aglutinación, inmunocromatografía. El tipo de muestra a utilizar incluye sangre entera, suero o plasma, mostrando una sensibilidad y especificidad similares en cualquiera de los tres tipos de muestras para aquellos ensayos basados en técnicas inmunocromatográficas o de micro aglutinación. La mayoría de estos TR pueden ser realizados dentro de los 30 minutos.

Es importante resaltar que en los centros de testeo o de salud, el objetivo propuesto a partir del testeo es distinguir eficientemente individuos no infectados de aquellos posiblemente infectados y que requieren de evaluación médica. Una alta sensibilidad minimiza los falsos negativos, disminuyendo el número de subdiagnósticos. El uso de dos o más TR permite identificar falsos positivos mejorando la precisión del estudio. En cambio, en el testeo llevado a cabo en los laboratorios, la sensibilidad y especificidad son igualmente importantes, debido a que la información que se brinda al médico debe ser lo más precisa posible, de manera de poder realizar un diagnóstico definitivo.

Propósito

En virtud del avance tecnológico de los distintos ensayos para el tamizaje y diagnóstico de la infección por VIH-1, y en conjunción con la necesidad de ampliar el acceso al diagnóstico, nuevas estrategias son propuestas. Estos algoritmos surgen con el fin de ser implementados en distintos escenarios: desde centros de salud o testeo voluntario y laboratorios clínicos. En general los laboratorios clínicos usan ensayos categorizados como de mayor complejidad, sin embargo algunos de ellos pueden elegir un TR como un ensayo dentro del algoritmo.

De manera que el objetivo que se persigue a través de estos algoritmos es:

1. Ampliar el acceso al diagnóstico.
2. Acelerar la derivación de aquellos individuos identificados como positivos o presuntamente positivos a servicios de salud para el seguimiento y tratamiento de su infección por VIH.
3. Mejorar en términos de tiempo y recursos el diagnóstico de VIH.

La implementación de nuevos algoritmos implica desafíos estructurales y operacionales. Estructurales en lo que se refiere a políticas y leyes, y operacionales en lo que se refiere a capacitación y entrenamiento, como así también al desarrollo de protocolos dirigidos a un aseguramiento de la calidad. Es por ello que en la implementación de los algoritmos es conveniente que los mismos sean validados en paralelo con el utilizado en la actualidad, siendo necesario que los centros de testeo trabajen con los laboratorios de su área programática correspondiente o eventualmente con el centro de referencia local.

El testeo en estos sitios se basa exclusivamente en el empleo de TR, ya sea utilizando uno solo o bien dos o tres ensayos combinados en serie. Estas dos últimas estrategias tienen como objetivo aumentar el valor predictivo del resultado positivo en este tipo de centros de diagnóstico. En este caso el uso de varios TR en forma combinada también busca facilitar la derivación médica en el mismo día con el fin de proveer seguimiento y tratamiento. A su vez en el uso combinado de TR se está considerando que a medida que la prevalencia disminuye, el porcentaje de falsos positivos se incrementa, resultando en un menor valor predictivo positivo.

Es claro que ninguna de estas estrategias aumenta la sensibilidad del tamizaje de manera que todo individuo con una exposición reciente de alto riesgo debería ser analizado por otro tipo de algoritmo que considere la detección de RNA de VIH por métodos moleculares.

Algoritmo 1: TAMIZAJE CON ÚNICO TEST RÁPIDO

Ventajas:

- Este algoritmo identifica con mayor precisión individuos no infectados.
- Identifica aquellos que deben ser estudiados posteriormente.
- Es importante para aquellos lugares donde los estudios referentes a aseguramiento de la calidad de muchos productos no es posible.

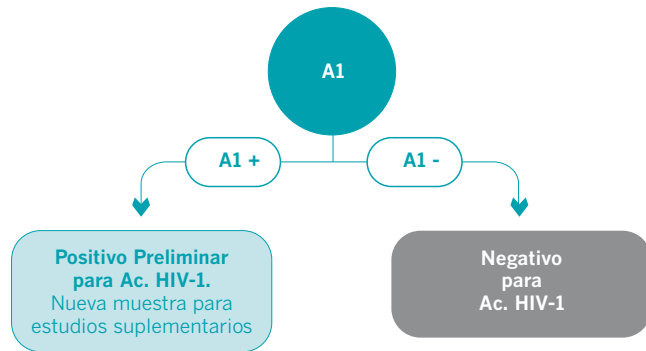
Desventajas:

- Algunos resultados preliminares pueden ser falsos positivos.
- Pacientes con infección aguda pueden resultar en falsos negativos.
- Una incorrecta derivación y seguimiento de los pacientes con resultados positivos puede ocasionar que los mismos no reciban sus estudios confirmatorios.

Este algoritmo es el más empleado pero es necesario conocer: la performance (sensibilidad y especificidad) de los ensayos, la tasa de falsos negativos, la tasa de falsos positivos o bien la tasa de personas infectadas con WB indeterminados.

Un elemento importante es que la consejería post test debe proveer información sobre el significado de un resultado negativo.

ALGORITMO 1. TAMIZAJE CON ÚNICO TEST RÁPIDO



Algoritmo 2: TAMIZAJE CON DOS TESTS RÁPIDOS COMBINADOS EN SERIE

La sensibilidad del test A1 debe ser igual o mayor a la del test A2, y considerando que ambos ensayos van a ser realizados en sangre. Es conveniente que la consideración de la sensibilidad no sea sobre la reportada por el fabricante sino la reportada por programas de precalificación de ensayos como es el de la OMS o bien programas de validación de ensayos como el de la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID) en colaboración con el Centro para el Control de Enfermedades (CDC).

Esta estrategia busca diferenciar positivos de falsos positivos. La bibliografía también muestra un aumento de la especificidad al combinar dos ensayos de 99,87% (IC 99,75%-99,98%) al 100% (IC 99,97%-100%).

Ventajas:

- Este algoritmo detecta eficientemente la mayoría de individuos no infectados.
- Mejora el valor predictivo del positivo cuando dos TR son positivos.

Desventajas:

- Al igual que el anterior pero en menor medida produce falsos positivos.
- En el contexto de una infección aguda pueden ocurrir falsos negativos.
- Representa un mayor desafío en términos generales de aseguramiento de la calidad.

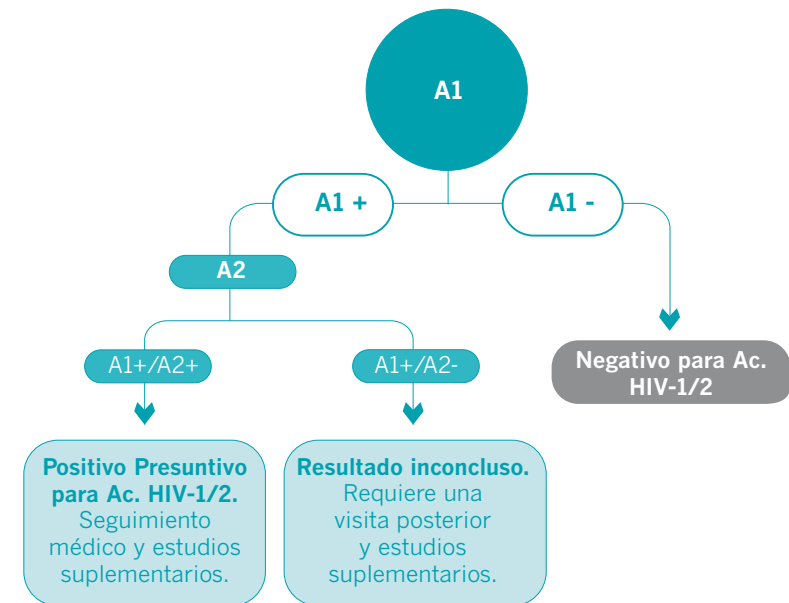
Es necesario conocer la tasa de falsos negativos del TR utilizado como A1 en distintos escenarios de alta y baja prevalencia. Es también necesario conocer la eficiencia en la derivación de pacientes con ambos tests positivos versus lo planteado en el algoritmo 1 con el empleo de un solo test. Finalmente también es importante conocer con

el fin de reevaluar el algoritmo, cuántos de los pacientes con resultados discordantes entre los dos tests rápidos vuelven para estudios suplementarios.

Existen diseños de otros algoritmos que incluyen el uso combinado de tests rápidos que emplean como primer ensayo dispositivos donde el tipo de muestra usada es saliva seguido posteriormente de otro (en forma secuencial) que utiliza sangre. El objetivo de dicha estrategia es aumentar el valor predictivo positivo del primer ensayo utilizado con muestra de saliva. En nuestro medio, dado que estos dispositivos no están comercialmente disponibles, no nos referiremos específicamente a ellos.

Finalmente otras estrategias incluyen el uso combinando de hasta tres tests rápidos distintos, buscando asegurar el menor estrés posible al paciente a través de aumentar el valor predictivo de un resultado positivo. En todos los casos se debe tener en cuenta que el ensayo más sensible para infecciones tempranas deberá ser utilizado en primera instancia. Esta estrategia de ir aumentando el número de ensayos se encuentra en relación directa con la disminución de la prevalencia.

ALGORITMO 2. TAMIZAJE CON DOS TESTS RÁPIDOS COMBINADOS EN SERIE



A1 Test rápido de igual o mayor sensibilidad que A2. A2 Test rápido distinto de A1

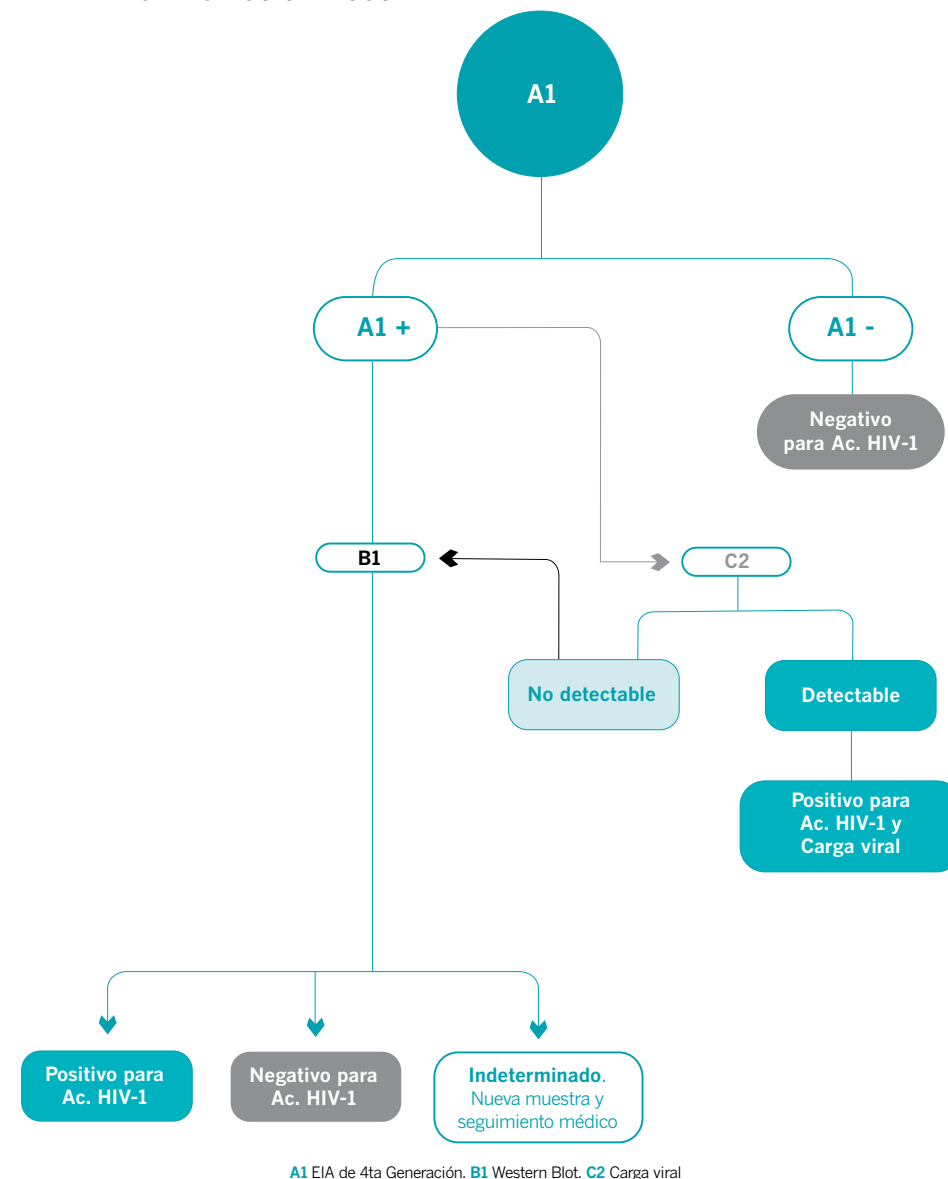
Algoritmos para laboratorios clínicos

Los laboratorios clínicos emplean en general ensayos categorizados como de mediana o alta complejidad. Esto no implica que ciertos laboratorios incorporen en su algoritmo un TR para aquellas muestras encontradas positivas en el primer ensayo. En general en nuestro país los algoritmos de diagnóstico de infección incluyen enzimoensayos tradicionales (EIA), ya sea manuales o automatizados, ensayos de quimioluminiscencia (CIA) en su mayoría de 4^{ta} generación, es decir, con la capacidad de detectar antígeno y anticuerpos. También se encuentran aquellos ensayos agrupados bajo la denominación de simples (inmunocomb y aglutinación de partículas) en su mayoría con capacidad para detectar anticuerpos pero no antígeno p24. Siguiendo el algoritmo convencional, aquellas muestras repetidamente reactivas son estudiadas por un test suplementario que es el WB, con un amplio consenso de utilizar como criterio para su interpretación el establecido por el CDC/ASTPHL. Dicha determinación es costosa y en muchos laboratorios, debido al bajo número de muestras positivas, la realización del mismo se encuentra extendida en el tiempo haciendo que la devolución del resultado se vea demorada. De manera que los nuevos algoritmos intentan reemplazar el uso del WB como primera opción de método suplementario o confirmatorio, limitándolo a un número menor de muestras. Es claro que un número pequeño no es confirmado, y es informado como WB indeterminado o negativo. La combinación de dos ensayos de tamizaje aumenta el valor predictivo a un valor de 99,6%, eliminando el uso del WB en un 98,9 % de los casos. Por otro lado, varios reportes han mostrado que la incorporación de carga viral de VIH (o detección de ácidos nucleicos) como opción confirmatoria resuelve entre el 93-97% de las muestras EIA Reactiva/WB positiva. Estos datos sustentan el uso de este ensayo que en nuestro medio se traduciría en ensayos de carga viral, requiriendo estudios serológicos suplementarios para aquellos con resultados EIA Reactivo/Carga viral No detectable.

Es importante resaltar que cualquier combinación de dos ensayos en el cual el primero tenga la capacidad de detectar Agp24 y el siguiente no la tenga, la discordancia en los resultados entre el primero y el segundo obliga a evaluar también la posibilidad de una infección aguda.

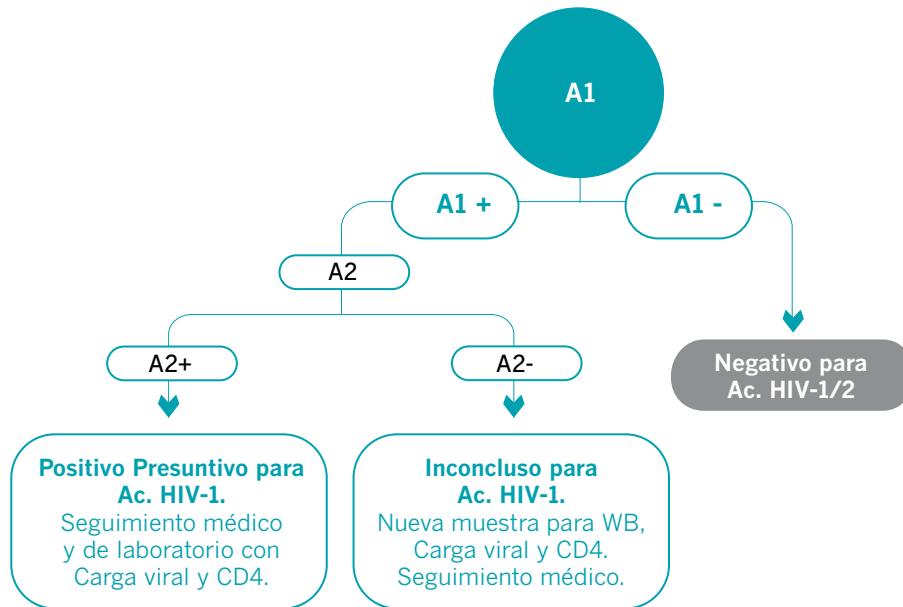
En el documento se describen dos algoritmos para este escenario, uno para laboratorios que disponen de métodos moleculares (Algoritmo 1), y otro para laboratorios sin acceso a pruebas moleculares, requiriendo su derivación a centros de referencia (Algoritmo 2).

ALGORITMO 1. INMUNOENSAYO CON ENSAYO SUPLEMENTARIO MOLECULAR PARA LABORATORIOS CLÍNICOS



Diagnóstico de VIH-2

ALGORITMO 2. COMBINACIÓN DE DOS INMUNOENSAYOS PARA VIH-1/2 PARA LABORATORIOS CLÍNICOS



A1 EIA de 4ta Generación. A2 EIA de 4ta Generación de distinto formato o test rápido

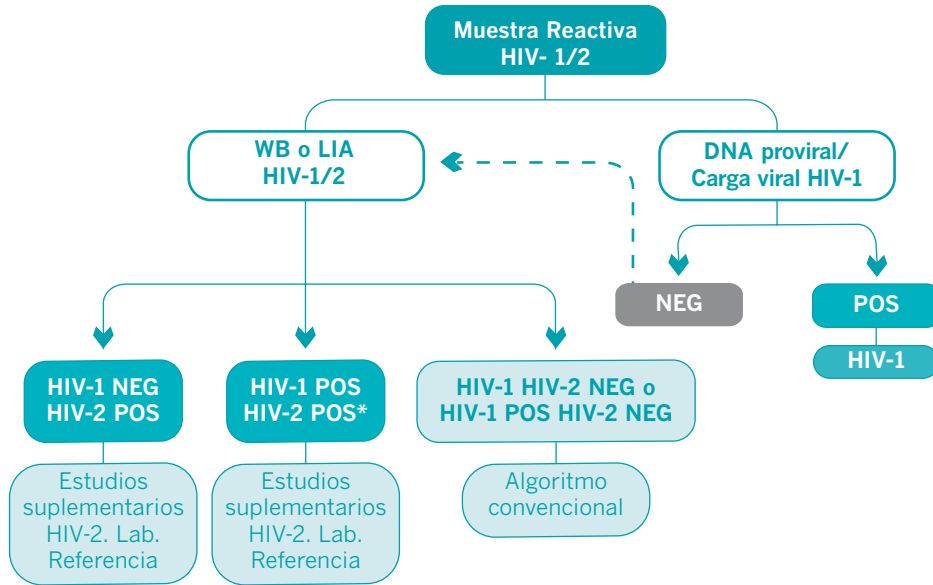
En la Argentina hasta el momento no se ha detectado la circulación de VIH-2. Los pocos estudios epidemiológicos realizados al respecto fueron llevados a cabo muy tempranamente, en las décadas del '80 y del '90. El único caso confirmado fue el de un paciente de origen africano que llegó como inmigrante a nuestro país. Más recientemente, Uruguay ha confirmado el diagnóstico de cuatro casos, todos ellos en pacientes provenientes de África. En los Estados Unidos se llevan reportados 68 casos entre 1996-2006, y en la totalidad de los mismos todos los individuos tenían lazos con África del Oeste.

Dado el contexto epidemiológico en la Argentina, el diagnóstico de VIH-2 debería considerarse en los siguientes casos:

1. parejas sexuales, transfusión de sangre o intercambio de jeringas con individuos de zonas endémicas para VIH-2,
2. sospecha clínica de sida, con un recuento bajo de células CD4, con ausencia o patrón inusual para anticuerpos de VIH-1 y negativo para ácidos nucleídos de VIH-1.

En nuestro país la mayoría de los ensayos comerciales están licenciados para detectar anticuerpos anti VIH-1 y VIH-2, lo cual es importante ya que dichos ensayos detectan el 100% de las muestras verdaderas positivas para VIH-2. En contraposición, casi la totalidad de los ensayos que detectan ácidos nucleídos (DNA o RNA) para VIH-1 no pueden detectar VIH-2 (el ensayo molecular Beacons Easy Q para carga viral de VIH-1 ha mostrado tener reacción cruzada con VIH-2), de manera que un resultado molecular positivo para VIH-1 descarta totalmente la posibilidad de que se trate de un VIH-2 (a excepción de una infección dual por ambos). De manera que toda muestra con un tamizaje positivo por un ensayo capaz de detectar VIH-1/2 y con un riesgo epidemiológico para VIH-2 deberá ser estudiada con un método que permita tener una primera discriminación serológica entre VIH-1 y VIH-2 (por ej. Western Blot o ensayo de línea con antígenos específicos para VIH-2), y eventualmente ser confirmados por métodos moleculares por un centro de referencia.

ALGORITMO DE DIAGNÓSTICO DE VIH-2



* Es necesario hacer diluciones con el fin de diferenciar reacciones cruzadas. Seguir las instrucciones del instructivo del ensayo.

La expansión de los tests rápidos debe ir acompañada por programas de calidad que permitan monitorear la performance del test, mejorar la precisión del mismo e implementar en forma sistemática herramientas que mejoren la calidad del testeo rápido.

En lo que respecta a la precisión del ensayo hay por los menos cuatro factores importantes:

1. la calidad del test al momento de la fabricación,
2. la calidad del producto al momento de su utilización,
3. la selección del test y del algoritmo, y
4. la calidad del testeo en el lugar en que se realiza.

Es importante resaltar que existen dos programas internacionales de precalificación de ensayos cuyo objetivo es asegurar la calidad de los ensayos disponibles. Uno es de la OMS, el cual es llevado adelante a través de su centro colaborativo en Bélgica desde el año 2001, y el otro es el del Centro para el Control de Enfermedades (CDC) en colaboración con la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID). Esto permite conocer la performance de los distintos equipos, particularmente en países donde no hay evaluación o conocimiento sobre la performance de los mismos. El criterio de aceptabilidad en la performance incluye una sensibilidad del 99% y una especificidad igual o superior al 98%, consistente con los requerimientos de la Agencia de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) y el programa de precalificación de OMS. En la selección de los TR es importante que los mismos sean apropiados para los operadores y para el lugar donde se van a utilizar, y si bien la mayoría –como se mencionó anteriormente– puede ser realizado dentro de los 30 minutos, aquellos que son realizados entre los 10 y 15 minutos son preferidos ya que permiten el testeo y la consejería en el mismo momento. En referencia a los algoritmos, la elección de realizarlo en serie o paralelo es importante y depende de varios factores. La OMS recomienda en serie porque en general requieren menos tests y mejora los costos. En este caso el primer ensayo debe ser más sensible, seguido por uno más específico como segundo ensayo. Los algoritmos en paralelo requieren menos tiempo para su realización pero incrementan los costos. El valor predictivo positivo de dos tests secuenciales positivos (con una especificidad >99%) es superior al 90% en poblaciones de baja prevalencia (0.1%) y superior al 99% en poblaciones con 1% de prevalencia.

Dentro de las cuestiones que impactan la calidad del testeo rápido se incluyen:

1. el uso de kits validados,

2. entrenamiento del personal con énfasis en el aseguramiento de la calidad que incluya la distribución de un control de calidad externo, y
3. el uso de un registro de eventos estandarizado. Los dos últimos puntos permiten certificar al personal y al lugar que realiza los estudios.

Para concluir, es necesario remarcar la importancia de una fluida comunicación en términos de entrenamiento, controles de calidad y registros que aseguren la calidad entre los centros de testeo y los laboratorios de mayor complejidad y referencia.

Agradecimientos

Los autores agradecen la revisión del presente manuscrito al Dr. Manuel Gómez Carrillo del Instituto de Investigaciones Biomédicas en Retrovirus y Sida (INBRIS), a la Lic. Inés Zapiola de la Unidad de Virología del Hospital de Infecciosas "F. J. Muñoz" y a la Bioq. María Gabriela Barbas del área de Biología Molecular del Laboratorio Central del Ministerio de Salud de Córdoba.

Referencias

1. World Health Organization. OPERATIONAL CHARACTERISTICS OF COMMERCIAL-
LY AVAILABLE ASSAYS TO DETERMINE ANTIBODIES TO VIH-1 AND/OR VIH-2 IN
HUMAN SERA. 1999. Disponible en: www.who.int/diagnostics_laboratory/en/
2. World Health Organization. VIH SIMPLE/RAPID ASSAYS: OPERATIONAL CHARAC-
TERISTICS (PHASE I) REPORT 12 WHOLE BLOOD SPECIMENS Blood Safety and Clinical
Technology January 2002. Disponible en: www.who.int/diagnostics_laboratory/en/
3. Centers for Disease Control and Prevention. 2004. Notice to Readers: Protocols for
Confirmation of Reactive Rapid VIH Tests. MMWR; 53(10): 221-222.
Disponible: www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5310a7.htm
4. World Health Organization, US Department of Health and Human Services, Cen-
ters for Disease Control and prevention. Guidelines for Assuring the Accuracy and
Reliability of VIH Rapid Testing: Applying the Accuracy and Reliability of VIH Rapid
Testing: Applying a Quality System approach. World Health Organization 2005.
5. World Health Organization, Centers for Disease Control and Prevention,
UNAIDS, VIH Rapid Test Training Package. 2006.
[www.who.int/diagnostics_laboratory/documents/guidance/VIHtraining_overview/
en/](http://www.who.int/diagnostics_laboratory/documents/guidance/VIHtraining_overview/en/)
6. Centers for Disease Control and Prevention. 2008 February. FDA-Approved Rapid
VIH Antibody Screening Tests.
Disponible: www.cdc.gov/VIH/topics/testing/rapid/rt-comparison.htm
7. Centers for Disease Control and Prevention. 2008 September. Rapid VIH Testing.
Disponible: www.cdc.gov/VIH/rapid_testing
8. VIH Testing Algorithms. A status Report. A publication from the ASSOCIATION
OF PUBLIC HEALTH LABORATORIES and the CENTERS FOR DISEASE CONTROL &
PREVENTION. 2009
9. World Health Organization. VIH ASSAYS: OPERATIONAL CHARACTERISTICS. REPORT
16 RAPID ASSAYS . 2009. Disponible en: www.who.int/diagnostics_laboratory/en/
10. USAID Bureau for Global Health.
[www.usaid.gov/our_work/global_health/aids/TechAreas/Treatment/testkit_explain.
pdf](http://www.usaid.gov/our_work/global_health/aids/TechAreas/Treatment/testkit_explain.pdf). 2010

Dirección de Sida y ETS

Av. 9 de Julio 1925, piso 9 - Ala Moreno
(C1073ABA) Ciudad Autónoma de Buenos Aires
(005411) 4379-9017
dir-sida-ets@msal.gov.ar
www.msal.gov.ar/sida



**Elegí
Saber**

EL TEST ES LA ÚNICA MANERA
DE SABER SI TENÉS VIH O NO