

# Informe Final Fase I

## Validación de Pruebas Rápidas de VIH en Población General

---

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social  
Laboratorio Nacional de Salud  
Programa Nacional de Prevención y Control de ITS, VIH y Sida  
Unidad de VIH / Universidad del Valle de Guatemala



“Esta publicación está financiada por los Centros para el Control y Prevención de enfermedades (CDC) bajo Acuerdo Cooperativo número 1U51GH00011-05 “Implementación de la Ciencia en Salud Pública en Guatemala y la Región Centro Americana bajo el Plan de Emergencia del Presidente de los Estados Unidos para el alivio del SIDA (PEPFAR)” entre Universidad del Valle de Guatemala y los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC). Los hallazgos y conclusiones en este reporte son aquellos del (os) autor(es) y no necesariamente representa los puntos de vista de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) o el Gobierno de los Estados Unidos de América.





**DGRVCS-D-065-2014**  
Guatemala, 07 de febrero de 2014

Químico  
**Sergio Domingo Ortiz Martínez**  
Jefe  
Laboratorio Nacional de Salud  
Presente.

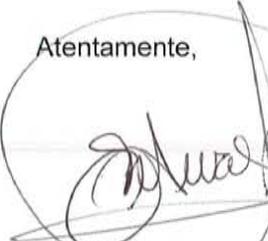
Químico Ortiz:

Por este medio se da respuesta al oficio REF: LNS-0020-01-2014, de fecha 16 de enero 2014 en relación al **Informe Final Fase I, Validación de Pruebas Rápidas de VIH en Población General**; solicitando la aprobación del mismo a esta Dirección, en lo que respecta a su contenido.

Por lo anteriormente descrito, esta dirección no tiene ningún inconveniente para avalar el mismo.

Sin otro particular, me suscribo de usted.

Atentamente,

  
**Lic. Marco Tulio Chacón Arevalo**  
Dirección General de Regulación,  
Vigilancia y Control de la Salud



  
**Vo. Bo. Ing. Manuel Gilberto Galván Estrada**  
Vice-Ministerio Técnico



Adj.: lo indicado  
Ref.: Of. REF: LNS-J-0020-01-2014  
Mau

6ta. Av. 3-45 zona 11 PBX: 2444-7474 / portal.mspas.gob.gt

[www.guatemala.gob.gt](http://www.guatemala.gob.gt)



Dr. Jorge Alejandro Villavicencio Álvarez  
Ministro de Salud Pública y Asistencia Social

Lic. William Edgardo Sandoval Pinto  
Viceministro Administrativo

Dr. Marco Vinicio Arévalo Veras  
Viceministro de Hospitales

Ing. Manuel Gilberto Galván Estrada  
Viceministro Técnico

Dr. Edgar Lara Caballeros  
Director de la Dirección General del  
Sistema Integral de Atención en Salud

Dr. Jorge David Juárez Fernández  
Director de la Dirección de Regulación,  
Vigilancia y Control de la Salud

Quim. Sergio Ortíz  
Jefe del Laboratorio Nacional de Salud

Licda. Leticia Castillo Signor  
Coordinadora Unidad Central de Referencia  
Para la Vigilancia Epidemiológica

Dra. Ana Castellanos  
Jefa Departamento de Regulación de los Programas  
de Atención a las personas-DRPAP

Dr. Ernesto Ponce Bedoya  
Coordinador del Programa Nacional de Prevención y  
Control de ITS, VIH y Sida

### Equipo de Investigación

Dra. Claudia Samayoa, Investigadora Principal	PNS
Licda. Leticia Castillo Signor, Investigadora Asociada	UCREVE-LNS
Dra. Flora E. Arana Figueroa, Investigadora Asociada	Unidad VIH/CES/UVG
Ms. William Miller, Investigador Asociado	Unidad VIH/CES/UVG

### Equipo Evaluador

Dra. Flora E. Arana Figueroa	Unidad VIH-CES-UVG
Licda. Paola Marchorro	UCREVE-LNS
Licda. Claudia Escobar	UCREVE-LNS
Licda. Verónica Girón	PNS-MSPAS
Licda. Claudia Mérida	SIAS-MSPAS
Licda. Andrea López	UCREVE-LNS
Dra. Mirna Miranda	Unidad VIH/CES/UVG
Tec. Aura Ramos	UCREVE-LNS

### Equipo de Apoyo

Dra. Zonia Pinzón	PNS
Dra. Ileana Rabanales	Área Guatemala Central
Dra. Jeanette Gutiérrez	Centro de Salud No. 2 ITS
Dra. Sonia Morales Miranda	Unidad VIH/CES/UVG
Dra. Sandra Juárez	CDC-GAP-CAP
Dr. Daniel Frade	OPS, Guatemala
Dra. Karelia Ramos	OPS
Dr. Sergio Aguilar	OPS
Licda. Sheilee Díaz	UCREVE-LNS

### Aprobado por:

Comité de Ética del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social  
Comité de Ética del Centro de Estudios en Salud de la Universidad del Valle de Guatemala

## Agradecimientos:

- Organización Panamericana de la Salud, Guatemala
- Programa Nacional de Control y Prevención de ITS, VIH/Sida
- Unidad de VIH, Centro de Estudios en Salud, Universidad del Valle de Guatemala
- Oficina Regional CDC-GAP-CAP
- Unidad Central de Referencia para la Vigilancia Epidemiológica (UCREVE) del Laboratorio Nacional de Salud (LNS)
- Programa Nacional de Medicina Transfusional y Bancos de Sangre
- Unidades de Atención Integral (UAI) del Hospital Juan José Ortega de Coatepeque y la Clínica Familiar "Luis Angel García" Hospital General San Juan de Dios.
- Centro de Salud No. 2 de ITS Zona 3
- Distribuidores de Pruebas rápidas que participaron en la Validación



## ÍNDICE

I.	Introducción .....	11
II.	Objetivos.....	13
III.	Justificación.....	15
IV.	Antecedentes .....	17
V.	Metodología.....	41
VI.	Resultados .....	45
VII.	Discusión de resultados .....	53
VIII.	Conclusiones .....	55
IX.	Recomendaciones.....	57
X.	Bibliografía.....	59
XI.	Anexos.....	61



# I.

## Introducción

La infección por VIH es un problema de salud pública, afecta a la sociedad en general con prioridad en grupos específicos como mujeres en edad fértil, recién nacidos, lactantes, trabajadores (as) del sexo y hombres que tienen sexo con hombres. La transmisión de VIH al niño supone la adquisición de un padecimiento crónico que potencialmente acorta la esperanza de vida, y que conlleva un enorme costo humano, social y económico.

Según los datos del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS), el 25% de las mujeres embarazadas en Guatemala tienen acceso a la prueba de VIH y aproximadamente el 23% a la prueba de sífilis. Toda mujer embarazada debería ser evaluada para VIH y sífilis durante su control prenatal. En el estudio multicéntrico en 2002-2003, se encontró que el 53.1% de las trabajadoras sexuales y el 33.5% de los hombres que tienen sexo con hombres se habían hecho la prueba de VIH en el último año. Sin embargo estos niveles de cobertura son subóptimos, dado que la norma establece una prueba cada 6 meses para grupos en más alto riesgo.

El primer algoritmo diagnóstico y validación de pruebas rápidas para VIH en la región Centroamericana fue realizado en Guatemala en el 2003 a solicitud del Programa Nacional de ITS, VIH y SIDA y financiado por USAID, realizado por la Unidad de Entrenamiento e Investigación en Entomología Médica de Guatemala y los Centros de Control y Prevención de Enfermedades de Atlanta, GA (MERTU/G). Es recomendable que las pruebas sean revalidadas cada tres años, por lo que se hizo necesario hacer una selección de las pruebas disponibles en el comercio en Guatemala, que tuvieran respaldo por algún organismo internacional (OPS, OMS, USAID, CDC, entre otros).

El trabajo se realizó en dos fases, la primera fase utilizando sueros conocidos para validar 10 pruebas rápidas para VIH, siendo éstas 8 de tercera generación y 2 de cuarta generación. En base a los resultados se agruparon en pruebas de primera línea con mayor sensibilidad y de segunda línea con mayor especificidad; además de recomendar un algoritmo utilizando dichas pruebas.

La segunda fase se realizará con sangre completa en mujeres embarazadas, utilizando aquellas pruebas que permitan el uso de sangre completa, tanto para VIH y sífilis.



## II.

---

# Objetivos

### A. Generales

- 1 Actualizar y validar el algoritmo diagnóstico de VIH utilizando pruebas rápidas recomendadas por OPS/OMS, como herramientas para la toma de decisiones diagnósticas para el control de la infección por VIH.

### B. Específicos

- 1 Validar y estandarizar a nivel nacional, el uso de pruebas rápidas en el tamizaje y diagnóstico de VIH en suero.
- 2 Actualizar el algoritmo diagnóstico de VIH.



## III.

---

# Justificación

El algoritmo diagnóstico y la validación de pruebas rápidas para diagnóstico de infecciones por VIH desarrollado en el 2003 en Guatemala, fue el primero en la región centroamericana. De esta validación sugirió el uso de la combinación de dos pruebas rápidas dentro de las que se incluyeron como primera prueba Determine y como confirmatorias Effora, OraQuick e Instant Screen, estas presentan problemas de disponibilidad y costo en el país.

En los últimos años han surgido nuevas alternativas diagnósticas y se han mejorado las que han estado en el comercio con precios más accesibles. Debido a esto y al tiempo que ha estado vigente el algoritmo diagnóstico es recomendable revalidar nuevas pruebas diagnósticas de infecciones por VIH para contar con una lista de pruebas aprobadas para su uso dentro del algoritmo nacional oficial.



## IV. Antecedentes

Las pruebas rápidas son ensayos inmunocromatográficos de tamizaje, son una herramienta útil para el diagnóstico presuntivo de VIH, son fáciles de realizar, el resultado se obtiene rápidamente, requiere de poco equipo de laboratorio, su costo es bajo y lo más importante es que poseen alta sensibilidad y buena especificidad.

Las pruebas se han basado en uno de los cuatro principios inmunodiagnósticos:

- Aglutinación de partículas
- Inmunodot (tira reactiva)
- Inmunofiltración
- Inmunocromatografía

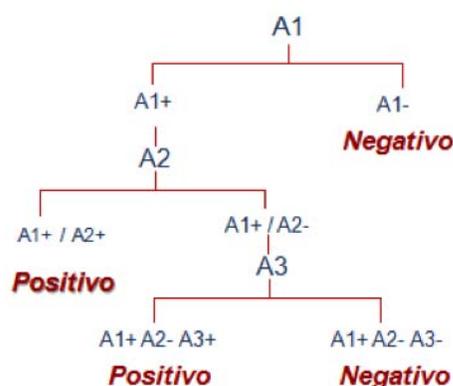
En la actualidad hay pruebas de tercera generación que utilizan péptidos recombinantes sintéticos de VIH-1, VIH-2 y subgrupo O, en forma diferenciada para la detección de anticuerpos; y de cuarta generación que adicionalmente detectan el antígeno p24.

Las pruebas rápidas utilizadas para diagnóstico deben tener una sensibilidad igual o superior a 99% y una especificidad superior o cercana a 98%, idealmente corroborada por estudios externos a las compañías fabricantes.

La validación de pruebas está destinada a complementar el algoritmo diagnóstico, el cual depende del comportamiento de la epidemia de cada país. Las pruebas rápidas de tamizaje deben utilizarse como reemplazo a la prueba de ELISA, en circunstancias en las cuales la capacidad de laboratorio requerida para su realización es inexistente (por ejemplo, laboratorios de centros de salud, entre otros).

Dado que Guatemala presenta una epidemia concentrada en las poblaciones de hombres que tienen sexo con hombres y transgénero femeninas, se puede considerar que para el diagnóstico de la infección con VIH en población general la utilización de un algoritmo secuencial para poblaciones con prevalencia menor al 5%, recomendado por organismos internacionales, que incluye dos pruebas rápidas y una confirmatoria (ELISA o Western Blot).

Algoritmo secuencial - prevalencia < 5%



La primera validación de pruebas rápidas fue realizada en el 2003, dando lugar a la validación en paralelo del primer algoritmo diagnóstico de VIH en Guatemala y el primero realizado en Centro América.

Este sugirió el uso de la combinación de dos pruebas rápidas dentro de las que se incluyen como primera prueba Determine VIH 1/2 y como confirmatorias Effora, OraQuick e Instant Screen, estas presentan problemas de disponibilidad y costo en el país. Se consideró el uso de un ELISA para casos de discordancia. Todos los resultados fueron validados contra ELISA y Western Blot.

El algoritmo vigente establece la utilización de dos pruebas de diferente principio, pudiendo hacer las siguientes combinaciones:

- Prueba Rápida + Prueba Rápida
- Prueba Rápida + ELISA
- ELISA + Prueba Rápida
- ELISA + ELISA

El Laboratorio Nacional en 2003 evaluó 80 pruebas de Hexagon HIV lote H206, dando como resultado un 100% de concordancia con el Gold estándar (ELISA); siendo este solo un informe técnico.

En 2008 el Laboratorio Regional de Referencia en Panamá (LRR) con apoyo del Centro de Control de Enfermedades de Atlanta Georgia (CDC por sus siglas en inglés) y Fundación Clinton, realizaron una validación de pruebas rápidas para la región Centroamericana y del Caribe, por medio de la cual se hicieron recomendaciones de que pruebas podían ser utilizadas por los Ministerios de Salud de la región para el tamizaje y diagnóstico de infecciones por VIH.

Los valores parámetros para la validación fueron:

- Sensibilidad mayor o igual a 99%
- Especificidad mayor o igual a 98%
- VVP mayor o igual a 95%
- VVN mayor o igual a 98%

Las pruebas que fueron sometidas a validaciones y los resultados de las mismas por parte del Laboratorio Regional de Referencia en Panamá se describen en la tabla No. 1.

**Tabla No. 1** Validaciones realizadas por el Laboratorio Regional de Referencia en Panamá

Prueba	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN	Otros	Venta Guatemala
Stat Pak Disptick (suero)	98.59	100	100	99.32	Inserto en inglés	NO
Stat Pak Disptick (punción capilar)	98.25	100	100	99.2	Inserto en inglés	NO
DoubleCheckGold HIV1/2	98.1	100	100	99.02	-	SI
Colloidal Gold	100	99.54	99.12	100	Inserto en inglés	NO
Retrocheck HIV	98.26	100	100	99.08	Inserto en inglés	NO
Tri-line HIV1 1/2/O	99.09	100	100	99.58	-	SI
SD HIV-1 / 2 3.0	100	100	100	100	Presento 29 de 350 reactividad para VIH 2	SI

Fuente: Informes de las Validaciones por parte del LRR

En 2010, la casa comercial Labymed S.A. entrego un informe al Laboratorio Nacional de Salud, con los resultados del estudio *“Validación de la prueba rápida SD Bioline HIV-1/2 3.0 para la determinación cualitativa de anticuerpos contra VIH”*, realizado por la Asociación de Salud Integral “ASI”, teniendo como objetivo validar dicha prueba en la población que acude a la clínica. Los resultados fueron validados contra los resultados de una prueba rápida (Determine VIH 1/2) y un ELISA. La sensibilidad de 100%, Especificidad de 99.8%, VPP de 97.9% y VPN de 100%. Dentro de las observaciones efectuadas se incluye *“La prueba SD Bioline HIV-1/2 3.0 no presento resultados no específicos para HIV-1, pero si se observaron bandas débiles para HIV-2. Esta situación debe ser considerada en especial cuidado en la capacitación de los usuarios, ya que en laboratorios clínicos pequeños, en los que solo se cuente con esta prueba, puede dar lugar a confusión”*.

En la presente validación se evaluaron 10 pruebas rápidas; ocho de tercera generación donde se incluyeron Accu-Tell, Anarapid HIV 1/2/O Tri-Line, Determine HIV- 1 / 2, DoubleCheckGold, Hexagon HIV, Rapid HIV 1/2/O Tri-Line, SD HIV 1-2, SD HIV/Syphilis; y dos de cuarta generación donde se incluyeron Determine HIV 1 / 2 Ag/ Ab y SD Ag/Ab, validandose esta solamente para la línea de anticuerpos.

La selección de las pruebas rápidas se hizo en base a que tuvieran un aval de organizaciones internacionales, dentro de las que se incluyeron Organización Panamericana de la Salud (OPS), Organización Mundial de la Salud (OMS), CDC, LRR, entre otros; presentaran una sensibilidad y especificidad de 99%, disponibilidad en el país, precio accesible y con antecedentes de haber sido utilizadas por el Ministerio de Salud y Asistencia Social.

En la tabla No.2, se enumeran los antígenos presentes en cada una de las pruebas, anticuerpos que detectan, sensibilidad y especificidad teóricos y tiempos de lectura para cada una de las pruebas según el inserto del fabricante.

Tabla No. 2. Pruebas rápidas de VIH evaluadas

Nombre de la Prueba	Antígenos presentes	Detección	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Tiempo de Lectura
<b>Accu-Tell</b>	Proteínas recombinantes altamente reactivas a VIH-1 y VIH-2	Todos los anticuerpos	100	100	15 minutos y no leer luego de 20 minutos
<b>Anarapid HIV 1/2/0 Tri-line</b>	Antígeno recombinante de VIH-1 y sub-tipo O, VIH-2	Todos los anticuerpos	99.9	99.8	20 minutos No leer luego de 20 minutos
<b>Determine HIV- ½</b>	Anticuerpos frente al VIH-1 y VIH-2	Todos los anticuerpos	99.91	99.75	15 minutos y máximo 60 minutos
<b>DoubleCheckGold</b>	Proteínas recombinantes de envoltura y gag de VIH-1 y VIH-2	Todos los anticuerpos	99.9	99.6	15 minutos y no leer luego de 25
<b>Hexagon HIV</b>	VIH-1 gp41, p24, gp120. VIH-2 Antígenos recombinantes gp36	Todos los anticuerpos	>99.99	99.6	10 minutos y no leer mayor a 20 minutos
<b>RAPID HIV 1/2/0 Tri-line</b>	Antígeno recombinante de VIH-1 y sub-tipo O, VIH-2	Todos los anticuerpos	>99.9	99.6	20 minutos No leer luego de 20 minutos
<b>SD HIV 1-2</b>	VIH-1 p24/gp41. VIH-2 2 gp 36	IgG, IgM, IgA	100	99.8	20 minutos
<b>SD HIV/ Syphilis Duo</b>	Antígenos recombinantes VIH-1 gp 41, VIH-2 gp 36 y Subtipo O	Todos los anticuerpos	100	99.6	5 a 20 minutos
<b>Determine HIV Ag/ Ab combo</b>	VIH-1 p24 y antígenos y péptidos sintéticos recombinantes VIH-1/2	Todos los anticuerpos	100	Anticuerpos: 99.23 Antígeno: 99.66	20 minutos Hasta 30 minutos
<b>SD HIV Ag/Ac</b>	VIH-1 p24 y antígenos recombinantes VIH-1/2	IgG, IgM, IgA	100	99.8	20 minutos No leer luego de 30 minutos

Fuente: Insertos de las pruebas rápidas

## Información de ejecución e interpretación de resultados proporcionada en los insertos de cada una de las pruebas evaluadas

**Nota:** Según la normativa internacional los resultados se reportan como “Reactivo” a una prueba. Si un individuo presenta dos pruebas Reactivas se da como un caso positivo a anticuerpos anti VIH. En los textos que a continuación se utilizan provenientes de los insertos de las diferentes pruebas, catalogan un Reactivo como Positivo.



### FUNDAMENTO:

Ensayo inmunocromatográfico rápido afianzado por un complejo coloidal de oro para la detección de anticuerpos contra el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) en suero o plasma humano. La prueba inicia con la adición de la muestra al pozo, el complejo antígeno-conjugado coloidal de oro en que se encuentra embebida la membrana reacciona con los anticuerpos contra VIH presentes en el suero o plasma de la muestra, formando así un complejo conjugado/anticuerpos VIH. La mezcla continúa migrando a lo largo de la membrana, el complejo conjugado/anticuerpos VIH es capturado por un segundo anticuerpos al pozo, el complejo antígeno-conjugado coloidal de oro en que se encuentra embebida la membrana reacciona con los anticuerpos contra VIH presentes en el suero o plasma de la muestra, formando así un complejo conjugado/anticuerpos VIH. La mezcla continúa migrando a lo largo de la membrana, el complejo conjugado/anticuerpos VIH es capturado por un segundo anticuerpos inmovilizado en la membrana formando una banda coloreada en la región del test. Una muestra negativa no produce la banda correspondiente al test debido a la ausencia del complejo coloidal de oro/anticuerpos VIH. Los antígenos usados en el conjugado con proteínas recombinantes que corresponden a las regiones altamente inmunorreactivas del VIH-1 y VIH-2. Una banda coloreada aparece en la región del control al final del procedimiento del test sin importar el resultado de la prueba. El tiempo de lectura es de 15 minutos.

## Interpretación de Resultados:

**Negativo:** Solo una banda de color rosado aparece en la región de control (C). No aparece ninguna banda en la región del test (T).

**Positivo:** En adición a la banda control, una banda de distinta coloración también aparece en la región del test (T).

**Inválido:** La total ausencia de bandas de color en ambas regiones es un indicador de un error en el procedimiento y/o un deterioro del reactivo.

**Limitaciones:** Solamente las muestras que no estaban hemolizadas y con buena fluidez pueden ser utilizadas en esta prueba.

Muestras frescas son las mejores, sin embargo, muestras refrigeradas también pueden utilizarse.

No agitar la muestra: Insertar la pipeta justo debajo de la superficie de la muestra y tome la cantidad necesaria.

## Anarapid HIV 1/2 / O Tri-Line



### FUNDAMENTO:

Prueba rápida para la detección cualitativa de anticuerpos para VIH-1 VIH-2 y subtipo O, en sangre completa, suero o plasma.

Es un inmunoensayo cualitativo de membrana basado en la detección de anticuerpos a HIV-1, HIV-2 y subtipo O en sangre entera, suero o plasma. La membrana está impregnada con antígeno recombinante de HIV en las regiones de la línea de prueba, T1 y T2. La línea de prueba T1 está impregnada con antígenos HIV-1 y subtipo O y la línea de prueba T2 con antígeno HIV-2. Durante la prueba, la muestra reacciona con partículas recubiertas de antígeno de HIV. La mezcla migra cromatográficamente en la membrana por la acción de capilar y reacciona con el antígeno recombinante de HIV en la región de la línea de prueba.

Tiempo de lectura 10 minutos, no interpretar resultados luego de 20 minutos.

### Interpretación de resultados:

**Positivo:** Dos o tres líneas coloreadas distintas aparecen. Una línea siempre debe aparecer en región de la línea de control (C) y otra o dos líneas coloreadas deben aparecer en las regiones de prueba (T1 y/o T2).

**NOTA:** La intensidad del color en la región de la línea de prueba (T1 y T2), variará dependiendo de la concentración de anticuerpos de VIH presentes en la muestra. Por consiguiente, cualquier sombra de color en la región de línea de prueba debe ser considerada positiva.

**Negativo:** Una línea coloreada aparece en la región del control (C). Ninguna línea coloreada aparece en las regiones de la línea de prueba.

**Inválido:** La línea del control no aparece. Puede deberse a volumen de muestra insuficiente o procedimiento incorrecto. Repita la prueba con un nuevo dispositivo. Si el problema persiste, descarte la prueba y avise al distribuidor.

**Limitaciones:** Esta prueba indicará, solo la presencia de anticuerpos a HIV en la muestra y no debe usarse como un único criterio para el diagnóstico de infección por HIV-1, HIV-2 y/o subtipo O.

Es una prueba de tamizaje, no debe de usarse los resultados para determinar el serotipo de infección por HIV.

Debido a la posible reactividad cruzada, la existencia de líneas en T1 y T2 NO necesariamente indica coinfección de HIV-1, HIV-2 y subtipo O.

## Determine HIV- 1/2



### FUNDAMENTO:

Ensayo inmucocromatográfico cualitativo *in vitro* de lectura visual para la detección de anticuerpos frente a los VIH-1 y VIH-2, en suero, plasma o sangre completa. La muestra se añade a la superficie absorbente, mientras esta traspasa el área del conjugado, lo reconstituye y se mezcla con el conjugado coloide de selenio-antígenos. Esta mezcla migra por la fase sólida hasta llegar a los antígenos recombinantes y péptidos sintéticos inmovilizados en la ventana de resultados del paciente. Para asegurar la validez de los resultados, este ensayo incluye una barra de control del procedimiento.

### Interpretación de Resultados:

**Positivo:** Tanto en la ventana de control ("Control") como en la ventana de resultados del paciente ("Patient") aparecen barras rojas. Cualquier tipo de tonalidad roja que pueda aparecer en la ventana de resultados del paciente implica que el resultado es positivo (reactivo).

**Negativo:** En la ventana de control ("Control") aparece una barra roja y en la ventana de resultados del paciente ("Patient") no aparece una barra roja.

**No Válido:** Si no aparece una barra roja en la ventana de Control del ensayo, el resultado no es válido y debe repetir el ensayo (aunque haya aparecido una barra roja en la ventana de resultados del paciente).

**Limitaciones:**

La prueba está diseñada para detectar anticuerpos frente a VIH-1 y VIH-2 en suero, plasma y sangre humanos. Otros fluidos o mezclas de sueros pueden no proporcionar resultados exactos.

La intensidad de la barra del paciente no se relaciona necesariamente con el título de anticuerpo en la muestras.

Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección con VIH. Puede darse un resultado negativo en las circunstancias siguientes:

- Niveles bajos del anticuerpo (por ejemplo especímenes tempranos de seroconversión) que están por debajo del límite de detección del ensayo.
- Infección con una variante del virus que no se detecta tan fácilmente con la configuración de esta prueba.
- Anticuerpos frente a VIH en pacientes que no reaccionan a los antígenos específicos utilizados en la configuración de la prueba.
- Manipulación de la muestra tal que resulta en la pérdida de la multivalencia del anticuerpo de VIH.

Por estas razones debe tenerse cuidado en la interpretación de resultados negativos. Estos resultados de ensayo se deben considerar en conjunto con otros datos clínicos (por ejemplo síntomas o factores de riesgo).

Las muestras positivas deben ser confirmados usando otro método y los resultados deberían ser evaluados a la luz de la evaluación clínica total antes de realizar un diagnóstico.

Las muestras de plasmas o sangre completa que contengan anticoagulantes que no sean EDTA pueden proporcionar resultados incorrectos.

# DoubleCheckGold



## FUNDAMENTO:

Es un inmunoensayo rápido de un solo uso basado en inmunocromatografía. Emplea reactivos únicos para la detección rápida y segura de anticuerpos a VIH-1 y VIH-2 en suero y plasma humanos sin instrumental.

Las proteínas recombinantes que representan las regiones inmunodominantes de las proteínas envoltura y gag de VIH-1 y VIH-2 son inmovilizados en la región de prueba de la tira de nitrocelulosa y un agente bioquímico que reconoce anticuerpos humanos es dispersado en la región de control de la tira. Las proteínas de VIH-1 y VIH-2, unidas a oro coloidal son impregnadas por debajo de la región de prueba del dispositivo. Una banda estrecha de la membrana de nitrocelulosa es también sensibilizada como región de control. La prueba inicia al agregar la muestra en la ventana del dispositivo, luego se agregan dos gotas de reactivo de lavado que facilitan el flujo de la muestra dentro del dispositivo y sobre la tira de análisis. Los anticuerpos específicos a las proteínas VIH-1 y VIH-2 reaccionarán con las partículas conjugadas del oro coloidal. Los complejos de anticuerpos de proteína VIH-oro coloidal se desplazan por cromatografía a lo largo de la membrana de nitrocelulosa hacia las regiones de prueba y control del dispositivo de pruebas. La aparición de la banda de control indica que se ha realizado la prueba correctamente. Lectura de resultados al final de 15 minutos.

## Interpretación de Resultados:

Debe sospecharse que toda línea de prueba con color tenue representa una reacción positiva, y debe investigarse más a fondo para averiguar si es así.

Para confirmar el funcionamiento adecuado de la prueba y demostrar que los resultados son válidos, la línea de control debe aparecer en todos los dispositivos. Si falta la línea de control interno, el resultado deberá considerarse inválido y deberá repetirse la prueba.

- Limitaciones:** Deben seguirse detenidamente el procedimiento de prueba y la interpretación de resultados de la prueba cuando se verifique la presencia de anticuerpos VIH en suero y plasma.
- Esta prueba es un ensayo de tamizaje. Puesto que la producción de anticuerpos al VIH puede experimentar un retraso tras la exposición inicial, la no-reactividad al realizar esta prueba no debe considerarse como prueba concluyente de que el paciente no ha estado expuesto a VIH o infectado por él.
- Esta prueba está destinada a realizar solamente pruebas de muestras sin diluir. Las muestras no deben diluirse antes de realizar las pruebas.
- Es posible que los individuos inmunodeficientes o inmunocomprometidos infectadas de VIH-1 y VIH-2 no produzcan anticuerpos al virus. Realizar pruebas con un estuche diseñado para detectar anticuerpos daría resultados negativos y no sería un método de prueba fiable para estos pacientes.
- Los bebés y niños muy pequeños pueden recibir anticuerpos de una madre infectada o es posible que no produzcan anticuerpos ante una infección. Por consiguiente es necesario proceder con sumo cuidado al interpretar los resultados.
- El SIDA y el ARC (Complejo Relacionado al SIDA) son síndromes clínicos y su diagnóstico sólo puede establecerse clínicamente.
- Los resultados de esta prueba no pueden usarse por sí solos para diagnosticar el SIDA. Un resultado negativo no descarta la posibilidad de exposición a VIH o infección con el VIH.

## HEXAGON HIV



### FUNDAMENTO:

Ensayo inmunocromatográfico de tercera generación, emplea antígenos recombinantes que representan las regiones inmunodominantes, de las proteínas de envoltura de los virus VIH-1 y VIH-2. Los antígenos de captura gp41 y p24 del VIH-1 son fijados sobre la membrana sobre la línea de prueba 1 y el antígeno de captura gp36 del VIH-2, es inmovilizado en la línea de prueba 2.

Leer los resultados de 5 a 20 minutos, pero no interpretar después de 20 minutos.

### Interpretación de la prueba:

- Negativo:** Solo la línea control (C), aparece coloreada en la parte superior de la ventana rectangular indicando la realización apropiada del ensayo y el funcionamiento correcto de los reactivos.
- Positivo:** Aparición de una o dos líneas coloreadas adicionales debajo del línea C, indica un resultado positivo para anticuerpos del VIH-1 (línea 1) y/o VIH-2 (línea en 2) en la muestra. Debido a una reactividad cruzada importante, los anticuerpos anti VIH-1 pueden reaccionar con los antígenos del VIH-2 y viceversa. Dos líneas coloreadas pueden aparecer, aunque la infección sea producida por un solo virus.

Aún una línea débil debe interpretarse como resultado reactivo. Intensidades diferentes entre las líneas de prueba y la línea control puede ocurrir, pero éstas son irrelevantes para la interpretación.

**No válido:** Si no aparece ninguna línea de control, aún si aparece una línea de prueba, repita la prueba con un nuevo test.

**Limitaciones:** No utilizar sangre hemolizada ni sueros diluidos. Posiblemente los pacientes inmunosuprimidos o inmunocomprometidos no producen anticuerpos anti-VIH por consiguiente, las pruebas diseñadas para la detección de anticuerpos no son más que un método diagnóstico dudoso para estos pacientes.

## RAPID HIV 1/2 / O Tri-Line



### FUNDAMENTO:

Prueba rápida inmunocromatográfica de un paso, para detección cualitativa de anticuerpos para VIH-1 VIH-2 y subtipo O, en sangre completa, suero o plasma.

Es un inmunoensayo cualitativo de membrana que detecta anticuerpos a HIV-1, HIV-2, y subtipo O en sangre entera, suero o plasma. La membrana está impregnada con antígeno recombinante de HIV en las regiones de la línea de prueba, T1 y T2. La línea de prueba T1 está impregnada con antígenos HIV-1 y subtipo O y la línea de prueba T2 con antígeno HIV-2. Durante la prueba, la muestra reacciona con partículas recubiertas de antígeno de HIV. La mezcla migra cromatográficamente en la membrana por la acción de capilar y reacciona con el antígeno recombinante de HIV en la región de la línea de prueba.

Tiempo de lectura 10 minutos, no interpretar resultados luego de 20 minutos.

### Interpretación de resultados:

**Positivo:** Dos o tres líneas coloreadas distintas aparecen. Una línea siempre debe aparecer en región de la línea de control (C) y otra o dos líneas coloreadas deben aparecer en las regiones de prueba (T1 y/o T2).

**NOTA:** La intensidad del color en la región de la línea de prueba (T1 y T2), variara dependiendo de la concentración de anticuerpos de VIH presentes en la muestra. Por consiguiente, cualquier sombra de color en la región de línea de prueba debe ser considerada positiva.

**Negativo:** Una línea coloreada aparece en la región del control (C). Ninguna línea coloreada aparece en las regiones de la línea de prueba.

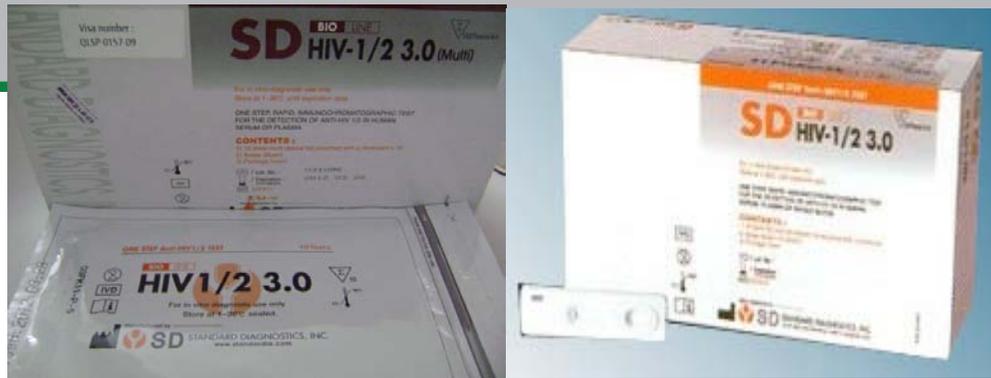
**Inválido:** La línea del control no aparece. Puede deberse a volumen de muestra insuficiente o procedimiento incorrecto. Repita la prueba con un nuevo dispositivo. Si el problema persiste, descarte la prueba y avise al distribuidor.

**Limitaciones:** Esta prueba indicará, solo la presencia de anticuerpos a HIV en la muestra y no debe usarse como un único criterio para el diagnóstico de infección por HIV-1, HIV-2 y/o subtipo O.

Es una prueba de tamizaje, no debe de usarse los resultados para determinar el serotipo de infección por HIV.

Debido a la posible reactividad cruzada, la existencia de líneas en T1 y T2 NO necesariamente indica coinfección de HIV-1, HIV-2 y subtipo O.

## SD Bioline HIV-1/2 3.0



### FUNDAMENTO:

Prueba rápida cualitativa de tercera generación, permite diferenciar resultados entre infecciones por VIH-1 y VIH 2. Detecta anticuerpos (IgG, IgM e IgA) específicos contra VIH, en suero humano, plasma o sangre completa.

Prueba inmunocromatografica que contiene antígenos HIV-1 (p24 y gp41) y HIV-2 (gp36), con conjugado coloidal dorado de alto grado de sensibilidad (100%) y especificidad (99.8%). Lectura entre 5 y 20 minutos

### Interpretación de la prueba:

Al igual que todas las pruebas rápidas, la banda en la línea de control, indica que la prueba está funcionando adecuadamente.

Las bandas de color aparecerán en la mitad y sección derecha de la ventana de resultados. Estas bandas son la línea de prueba HIV 1 y 2.

**Negativo:** La sola presencia de una banda de control (C) dentro de la ventana de resultados indicativos de un resultado negativo.

**Positivo:** La presencia de dos líneas tanto línea de control (C) y la línea de prueba (1) dentro de la ventana de resultados indica un resultado positivo HIV-1 (Reactivo)

La presencia de dos líneas tanto línea de control (C) y la línea de prueba (2) dentro de la ventana de resultados indica un resultado positivo para HIV-2 (Reactivo)

La presencia de tres líneas tanto línea de control (C), la línea de prueba (1) y la línea de prueba (2) dentro de la ventana de resultados indica un resultado positivo para HIV-1 y/o HIV-2.

- Si la intensidad de color de la línea de prueba 1 es más oscura que la línea de prueba 2, este resultado se puede interpretar como positivo para VIH-1.
- Si la intensidad del color de la línea de prueba 2 es más oscura que la línea de prueba 1, este resultado se puede interpretar como positivo para HIV-2.

**Precaución:** Aunque un resultado positivo para HIV-1 y HIV-2 en un paciente es un caso raro, es posible debido a una homología en la secuencia de aminoácidos entre HIV-1 y HIV-2, se debe realizar una prueba confirmatoria como Western Blot etc.

**No válidos:** La ausencia de la línea de control (C) dentro de la ventana después de realizar la prueba, indica un resultado inválido. Es posible que no hayan seguido las instrucciones correctamente, o que la prueba se hubiese deteriorado. Se recomienda nuevamente analizar la muestra.

**Limitaciones:** Aun cuando un resultado positivo indique infección con virus VIH-1 o VIH-2, se puede hacer un diagnóstico de SIDA, sólo en forma clínica, es decir si el individuo satisface la definición de caso para el SIDA según criterios de los centros para el control de la enfermedad. Para muestras con resultados positivos repetidos, deben realizarse pruebas complementarias más específicas.

La prueba inmunocromatográfica por sí sola no se puede utilizar para diagnosticar SIDA, incluso si hay presencia de anticuerpos contra VIH-1, VIH-2 en la muestra del paciente.

Un resultado negativo en un momento dado no descarta la posibilidad de infección por VIH-1, VIH-2. La muestra puede contener niveles bajos de anticuerpos.

# SD Bioline HIV/Syphilis Duo



## FUNDAMENTO:

SD BIOLINE HIV/Syphilis Duo es un ensayo inmunocromatográfico de fase sólida para la detección cualitativa de anticuerpos de todos los isotipos (IgG, IgM, IgA) específicos de VIH-1/2 y/o *Treponema pallidum* (TP) simultáneamente en suero, plasma o sangre completa.

Esta prueba contiene una tira de membrana que está impregnada con antígeno de captura recombinante de VIH-1 (gp41), antígeno de captura recombinante de VIH-2 (gp36) y antígeno recombinante de VIH-sub O en la región de la banda de prueba 1 y antígenos recombinantes de *Treponema pallidum* (17KDa) en la región de la banda de prueba 2, respectivamente. El antígeno recombinante de VIH-1/2 (gp41, gp36) conjugado de oro coloidal, el conjugado de oro coloidal de antígenos recombinantes de *Treponema pallidum*, la muestra del paciente y el diluyente de ensayo se mueven cromatográficamente a lo largo de la membrana a la región de prueba (T) y forma una línea visible como formas complejas de partículas de oro antígeno-anticuerpo-antígeno con alto grado de sensibilidad y especificidad.

## Interpretación de los resultados:

Una banda de color aparecerá en la sección izquierda de la ventana de resultados y muestra que la prueba está funcionando correctamente. Esta es la banda de control.

La sección derecha de la ventana de resultados indica los resultados de la ventana de resultados de la prueba. Si aparece otra banda de color en la sección derecha de la ventana de resultados, esta banda es la banda de prueba.

- Negativo:** La presencia de sólo una banda de color púrpura dentro de la ventana de resultados indica un resultado negativo
- Positivo:** La presencia de dos líneas como la línea control (C) y la línea 1 (1) dentro de la ventana de resultados indica un resultado positivo de VIH-1/2.
- La presencia de dos líneas como la línea de control (C) y la línea 2 (2) dentro de la ventana de resultados indica un resultado positivo para sífilis.
- La presencia de tres líneas como línea control (C). Línea 1 (1) y líneas 2 (2) dentro de la ventana de resultados indica un resultado positivo de VIH-1/2 y sífilis.
- Inválido:** Si la banda de color púrpura no es visible en la ventana de resultados después de realizar la prueba, el resultado se considera inválido. Es posible que no se hayan seguido las instrucciones correctamente o la prueba puede haberse deteriorado. Se recomienda que esta muestra sea reexaminada.

# Alere Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo



## FUNDAMENTO

Inmunoensayo *in vitro*, cualitativo con lectura visual, para la detección simultánea del antígeno no inmuno-complejo VIH-1 p24 en forma libre, y anticuerpos de VIH-1 y VIH-2, en suero, plasma o sangre completa. La presencia únicamente de una respuesta al antígeno, indica que la infección se encuentra en una fase temprana. Los antígenos utilizados son del tipo recombinante y péptidos sintéticos.

## Interpretación de Resultados:

### Positivo a Anticuerpos:

Aparecen barras de color rojo en la ventana de control (C) identificada con la etiqueta control y en la ventana de la barra de anticuerpos identificada con la etiqueta Ab de la tira. Cualquier color claramente rojo o rojo grisáceo en la ventana del paciente se debe interpretar como positivo (reactivo).

### Positivo al antígeno (p24):

Aparecen barras de color rojo en la ventana de control (C) identificada con la etiqueta control y en la ventana de la barra de antígenos identificada con la etiqueta Ag de la tira. Cualquier color claramente rojo o rojo grisáceo en la ventana del paciente se debe interpretar como positivo (reactivo). La presencia únicamente de una respuesta al antígeno, indica que la infección se encuentra en una fase temprana.

### Positivo a anticuerpos y positivo al antígeno (p24):

Aparecen barras de color rojo en la ventana de control (C) identificada con la etiqueta control y en la ventana de la barra de antígenos identificada con la etiqueta Ag de la tira y en la ventana de la barra de anticuerpos identificada con la etiqueta Ab de la tira. Cualquier color claramente rojo o rojo grisáceo en la ventana del paciente se debe interpretar como positivo (reactivo).

**Negativo:** Aparece una barra de color en la ventana de control (C) identificada con la etiqueta control y no aparece ninguna barra de color rojo en las ventanas del paciente de la tira, identificadas con la etiqueta Ab y Ag.

**No Válido:** Si no hay una barra roja en la ventanilla de Control (C), incluso si aparece una banda en una de las ventanillas del paciente, el resultado es inválido y debería ser repetido.

**Limitaciones del procedimiento:**

La intensidad de la barra Ab y Ag no tiene correlación con el título de anticuerpos y antígenos del paciente.

Ninguna prueba provee seguridad absoluta de que un espécimen no contiene niveles bajos del antígeno VIH-1 p24 y/o anticuerpos del VIH-1 y VIH-2, tales como los que están presentes en una etapa muy temprana de la infección.

Un resultado negativo tanto para anticuerpos de VIH como para antígeno p24, no impide la posibilidad de haberse expuesto a una infección por virus de VIH-1 o VIH-2

Un resultado positivo para anticuerpos de VIH, con un resultado negativo para antígeno p24, no impide la posibilidad de una infección aguda.

Los resultados positivos, deberían ser confirmados usando otro método y los resultados deberían ser evaluados a la luz de la evaluación clínica total antes de realizar un diagnóstico.

# SD Bioline HIV Ag/Ab Combo



## FUNDAMENTO:

SD BIOLINE VIH Ag/Ab Combo, método de cuarta generación, es una prueba rápida, cualitativa para la detección simultánea del antígeno p24 del VIH y los anticuerpos a todos los isotipos (IgG, IgM, IgA) específicos para el VIH-1, incluyendo subtipo O y/o VIH-2, utilizando antígenos recombinantes HIV-1 y HIV-2.

## Interpretación de la prueba:

Al igual que todas las pruebas rápidas, la banda en la Línea de Control, indica que la prueba está funcionando adecuadamente.

- Negativo:** La presencia solamente de la banda control (C) dentro de la ventana de resultados indica un resultado negativo.
- Inválido:** La ausencia de la banda control (C), independientemente de la presencia de otra banda se considera un resultado inválido.
- Positivo:** La presencia de dos bandas, una en el control (C) y en la línea No. 2 indica la presencia de antígeno p24, interpretándose como una infección reciente  
La presencia de dos bandas una en el control (C) y otra en la línea No. 1 indica la presencia de anticuerpos anti VIH-1 / 2.

La presencia de tres bandas, control Línea No. 1 y No. 2 indican la presencia de antígeno p24 (infección temprana) y de anticuerpos anti VIH-1 / 2.



## V.

# Metodología

*La presente validación fue realizada por el Laboratorio Nacional de Salud (LNS), Programa Nacional de ITS-VIH y Sida (PNS), Universidad del Valle de Guatemala/Unidad de VIH (UVG), con apoyo de Organización Panamericana de la Salud (OPS).*

### A. Población de Estudio

La población de estudio fue conformada por 452 muestras de sueros, donde se incluyeron 244 reactivos y 208 no reactivos, a la presencia de anticuerpos para VIH.

Los sueros fueron proporcionados por el Programa Nacional de Medicina Transfusional y Bancos de Sangre, la Unidad Central de Referencia para la Vigilancia Epidemiológica (UCREVE) del Laboratorio Nacional de Salud (LNS), Unidades de Atención Integral (UAI) y Centros de Salud (C/S) de la red de servicios; distribuido de la siguiente manera:

El 100% de las muestras negativas fueron proporcionadas por el Programa Nacional de Medicina Transfusional de Bancos de Sangre.

Las muestras positivas fueron proporcionadas por las Unidades de Atención Integral del Hospital Juan José Ortega de Coatepeque (89%), el Laboratorio Nacional de Salud (5%), Centro de Salud No. 2 de ITS Zona 3 (5%) y la Asociación de Salud Integral (1%).

### B. Criterios de Inclusión:

Sueros provenientes de serotecas de los diferentes servicios de salud, que atienden población general, donadores, personas viviendo con VIH y poblaciones en más alto riesgo y vulnerabilidad. Todos los sueros fueron referidos al Laboratorio Nacional de Salud con un diagnóstico inicial realizado mediante una o dos pruebas rápidas o un ELISA. Estos fueron verificados por el LNS con un ELISA de 4ta. generación de Quimioluminiscencia (Gold Estándar). A los sueros se les asignó una nueva codificación, desligándose de su identificación inicial para ingresarlos en una base de datos.

### C. Criterios de Exclusión:

Se excluyeron 20 sueros por presentar al menos uno de los siguientes criterios:

- Cadena de frío inadecuada
- Volumen menor de 600 µL
- Muestras hemolizadas
- Muestras lipémicas

### D. Control de Calidad:

**Panel Control:** seroteca del Laboratorio Nacional de Salud, que fueron sueros positivos provenientes de otros estudios (encuestas, validaciones, entre otros) con un resultado conocido tanto por prueba rápida como por ELISA.

**Sueros de Referencia:** sueros negativos provenientes de Programa Nacional de Medicina Transfusional de Bancos de Sangre, previamente evaluados con una prueba rápida y un ELISA.

**Control de calidad:** todos los sueros fueron verificados por el LNS con un ELISA de 4ta. generación de Quimioluminiscencia (Gold Estándar).

**Sueros discordantes:** a estos se les realizó Western Blot para confirmar su resultado, de estos 4 fueron eliminados por resultado indeterminado.

### E. Pruebas Rápidas a validar:

La validación se realizó en las instalaciones del Laboratorio Nacional de Salud por un equipo evaluador; las pruebas rápidas que se validaron en esta primera fase son las que se mencionan en la Tabla No. 3; donde se mencionan tipo de prueba, lote evaluado y la fecha de vencimiento de las mismas.

De acuerdo al algoritmo establecido en el país en base al tipo de epidemia, se necesitan 2 pruebas para la evaluación de los casos reactivos. Según la OPS en su documento "Guía práctica para la implementación de pruebas fiables y eficientes para el diagnóstico de VIH", propone que puede utilizarse dos pruebas rápidas realizando como primera línea la que sea más sensible, y si fuera necesaria una segunda prueba como segunda línea que sea más específica. Todo esto en base a la recomendaciones de OPS para que los costos en los servicios de salud no sean elevados.

**Tabla No. 3.** Lotes y fechas de vencimiento de cada una de las pruebas evaluadas

Nombre de la Prueba	Tipo de Prueba	Lotes Evaluados	Fecha de Vencimiento
Accu-Tell	3a. Generación	2012051602	05/2014
Anarapid HIV 1/2/O Triline	3a. Generación	HIV203007	01/2014
Determine HIV 1/2	3a. Generación	40563K100	26/04/2013
DoubleCheckGold	3a. Generación	12022715	01/11/2013
Hexagon HIV	3a. Generación	10005	10/2012
RAPID HIV 1/2/O Triline	3a. Generación	HIV1060028	04/2013
SD HIV 1/2	3a. Generación	23398	30/01/2013
SD HIV/Syphilis Duo	3a. Generación	RDT1202	24/04/2014
Determine HIV Ag/Ab combo	4a. Generación	36202K100	26/04/2012
		36018K100	
SD Ag/Ab	4a. Generación	RDT1103	21/09/2012

Fuente: Información de los kits



## VI. Resultados

### A. Resultados Obtenidos

Se evaluaron un total de 452 muestras, de las cuales 244 son positivas y 208 negativas. Se realizó la tabulación de los datos por cada prueba para poder obtener los valores comparados con el gold estándar como se muestra en la Tabla No. 4. La primera fase de validación de las pruebas se realizó en dos tiempos, esto debido a que tres de cinco pruebas dieron reactividad a VIH 2, lo cual fue considerado como un inconveniente. Se incluyeron cinco pruebas más con el fin de obtener mayor número de pruebas validadas. El volumen de suero de algunas muestras no fue suficiente para validar el segundo grupo de pruebas, por lo que el total de sueros evaluados para cada grupo son diferentes. Las pruebas con un asterisco fueron las evaluadas inicialmente, ver tabla No.4.

**Tabla No. 4.** Resultados de la evaluación de las Pruebas rápidas de VIH

Tipo	Prueba Evaluada	Verdadero Positivo	Verdadero Negativo	Falso Positivo	Falso Negativo	Falso Positivo VIH 2	TOTAL
3a.	Accu-Tell	239	205	0	2	N/A	446
3a.	Anarapid HIV 1/2/0 Tri-line	239	204	1	2	76	446
3a.	Determine HIV 1 y 2	241	202	3	0	N/A	446
3a.	DoubleCheckGold	238	204	1	4	N/A	447
3a.	Hexagon HIV *	244	207	0	1	35	452
3a.	RAPID HIV 1/2/0 Tri-line *	243	206	1	2	32	452
3a.	SD HIV 1-2 *	243	207	1	1	34	452
3a.	SD HIV/ Syphilis Duo	239	203	2	2	N/A	446
4a.	Determine HIV Ag/Ab combo *	245	206	0	0	N/A	451
4a.	SD HIV Ag/Ac *	244	206	1	1	N/A	452

Fuente: Análisis de la base de datos de la validación

Luego de la limpieza y análisis de la base de datos, se obtuvieron los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y coeficiente *Kappa*, junto con su intervalo de confianza como se muestra en las tablas No.5, 6 y 7.

**Tabla No. 5.** Sensibilidad y Especificidad de las pruebas evaluadas

Tipo	Prueba evaluada	Sensibilidad %	Intervalo de confianza 95%	Especificidad %	Intervalo de confianza 95%
3a.	Accu-Tell	99.17	97.82 - 100	100	99.76 – 100
3a.	Anarapid HIV 1/2/0 Tri-line	99.17	97.82 - 100	99.51	98.31 – 100
3a.	Determine HIV-1/2	100	99.79 - 100	98.54	96.65 – 100
3a.	DoubleCheckGold	98.35	96.53 - 100	99.51	98.31 – 100
3a.	Hexagon HIV	99.59	98.59 - 100	100	99.76 – 100
3a.	RAPID HIV 1/2/0 Tri-line	99.18	97.85 - 100	99.52	98.33 – 100
3a.	SD HIV 1-2	99.59	98.58 - 100	99.52	98.34 – 100
3a.	SD HIV/ Syphilis Duo	99.17	97.82 - 100	99.02	97.43 – 100
4a.	Determine HIV Ag/Ab combo	100	99.80 - 100	100	99.76 – 100
4a.	SD HIV Ag/Ac	99.59	98.59 - 100	99.52	98.33 – 100

Fuente: Análisis de la base de datos de la validación

**Tabla No. 6.** Valor predictivo positivo y Valor predictivo negativo de las pruebas evaluadas

Tipo	Prueba evaluada	Valor predictivo positivo %	Intervalo de confianza 95%	Valor predictivo negativo %	Intervalo de confianza 95%
3a.	Accu-Tell	100	99.79 - 100	99.03	97.46 – 100
3a.	Anarapid HIV 1/2/0 Tri-line	99.58	98.56 - 100	99.03	97.45 – 100
3a.	Determine HIV-1/2	98.77	97.18 - 100	100	99.75 – 100
3a.	DoubleCheckGold	99.58	98.55 - 100	98.08	95.97 – 100
3a.	Hexagon HIV	100	99.80 - 100	99.52	98.34 – 100
3a.	RAPID HIV 1/2/0 Tri-line	99.59	98.58 - 100	99.04	97.47 – 100
3a.	SD HIV 1-2	99.59	98.58 - 100	99.52	98.34 – 100
3a.	SD HIV/ Syphilis Duo	99.17	97.82 - 100	99.02	97.43 – 100
4a.	Determine HIV Ag/Ab combo	100	99.80 - 100	100	99.76 – 100
4a.	SD HIV Ag/Ac	99.59	98.59 - 100	99.52	98.33 – 100

Fuente: Análisis de la base de datos de la validación

El coeficiente *Kappa* implica que las pruebas tendrán aproximadamente los mismos resultados que la prueba de referencia (ver tabla No. 7), siempre y cuando se aplique en una población con las mismas características de la presente validación.

**Tabla No. 7.** Coeficiente Kappa de las pruebas evaluadas

Tipo	Prueba evaluada	Coeficiente Kappa	Intervalo de confianza IC 95%	
3a.	Accu-Tell	0.9910	0.9785	1.000
3a.	Anarapid HIV 1/2/0 Tri-line	0.9865	0.9712	1.000
3a.	Determine HIV-1/2	0.9864	0.9712	1.000
3a.	DoubleCheckGold	0.9775	0.9579	0.9971
3a.	Hexagon HIV	0.9955	0.9868	1.000
3a.	RAPID HIV 1/2/0 Tri-line	0.9866	0.9716	1.000
3a.	SD HIV 1-2	0.9911	0.9788	1.000
3a.	SD HIV/ Syphilis Duo	0.9819	0.9643	0.9996
4a.	Determine HIV Ag/Ab combo	1.000	1.000	1.000
4a.	SD HIV Ag/Ac	0.9911	0.9788	1.000

Fuente: Análisis de la base de datos de la validación

En la misma no se toma en cuenta los valores de VIH 2, ya que no se cuenta con la información suficiente para establecer una sensibilidad y especificidad de las pruebas con respecto a VIH 2, y los sueros evaluados no fueron corridos por un método que sea considerado gold estándar para VIH 2.

## B. Evaluación de Sueros VIH 2 Reactivos en CDC Atlanta

Se enviaron cuarenta y cuatro sueros para evaluar VIH 2 a CDC de Atlanta con la prueba de Multispot, de los cuales cuarenta y tres fueron confirmados para VIH 1 y falsos reactivos para VIH 2 y un suero como positivo para VIH 2 que no pudo ser confirmado por pruebas moleculares.

## C. Observaciones durante la Ejecución de las Pruebas

### Accu-Tell

#### Ventajas:

- Buen desempeño
- Envoltorio fácil de abrir, contiene pipeta para muestra.
- La prueba viene dispuesta de manera que no se contamine el área de inoculación de la muestra.
- Cuenta con suficiente espacio para identificación.
- El kit incluye el diluyente de muestra.
- La banda de control y de prueba se observan de manera clara y de color intenso.
- Obtenido el resultado de la prueba este permanece estable.
- La presentación es de 30 pruebas por paquete, por lo que permite su distribución a servicios de salud en cantidades menores.

*Desventajas:*

- El cassette es completamente blanco lo que dificulta visualizar el área que identifica lo que detecta cada banda.
- La pipeta provista en la prueba no tiene indicado la marca para 10 ul o su equivalente en gotas.
- No puede utilizarse sangre completa, únicamente suero o plasma.

## Anarapid HIV 1/ 2 / O Tri-Line

*Ventajas:*

- La presentación es en cajas de 50 pruebas, por lo que permite su distribución a servicios de salud en cantidades menores.
- El kit incluye pipeta para dispensar la muestra y buffer de corrida.
- Cuenta con espacio suficiente para la identificación de la prueba.
- Puede utilizarse sangre completa, suero o plasma.
- Fácil de manejar, sólo se agrega una gota de suero y una de Buffer.
- Identificación clara de cada banda.
- El tiempo de lectura de los resultados es rápido (luego de 10 minutos).

*Desventajas:*

- El inserto del kit esta en idioma inglés.
- Setenta y seis (76) muestras dieron reacción para HIV-1 y HIV-2; el inserto indica que esto puede deberse a una reacción cruzada.
- Las líneas de control y de prueba dan coloraciones tenues.
- El empaque de la prueba no está claramente identificado.
- La cantidad de muestra varía si se utiliza sangre completa y suero o plasma.

## Determine HIV- 1/2

*Ventajas:*

- Buen desempeño.
- Tarjeta de fácil almacenamiento.
- Genera poco material de desecho.
- El diseño del empaque evita la contaminación.
- Cuenta con suficiente espacio para identificación.
- El resultado permanece estable.
- Utiliza la misma cantidad de muestra para sangre completa, suero o plasma.
- Está bien identificado el lugar donde deben aparecer las bandas de control y la de prueba como "patient".

*Desventajas:*

- Fue necesario repetir 11 pruebas de 446 (2.46%), por desplazamiento incompleto.
- La presentación de 100 pruebas no permite su distribución a servicios de salud en cantidades menores.
- El kit no incluye el buffer de corrida, ni pipetas descartables para dispensar la muestra.
- En algunas pruebas la muestra no corrió, luego llegado el tiempo indicado en el procedimiento.

## DoubleCheckGold

### *Ventajas:*

- Buen desempeño.
- Cuenta con suficiente espacio para identificación de la prueba.
- El resultado es estable.
- Utiliza la misma cantidad de muestra para suero o plasma.

### *Desventajas:*

- Las pruebas no siempre vienen colocadas dentro del empaque correctamente, al momento de sacar la prueba del envoltorio, se tiene contacto con el área de inoculación de muestra.
- La presentación de 100 pruebas no permite su distribución a servicios de salud en cantidades menores.
- El cassette es completamente blanco lo que dificulta identificar el área donde deben aparecer las bandas de control y test.
- El kit no incluye pipetas descartables para dispensar la muestra.
- No puede utilizarse con sangre completa.
- En la parte superior del cassette en algunas muestras se observó smear para ambos resultados.

## HEXAGON HIV

### *Ventajas:*

- Hay dos presentaciones de 40 y 100 pruebas para su fácil distribución.
- El kit incluye pipeta para dispensar la muestra y buffer de corrida.
- Cuenta con suficiente espacio para la identificación de la prueba.

### *Desventajas:*

- Es necesario utilizar micropipeta de volumen variable, dependiendo el tipo de muestra que se utilice.
- Treinta y seis (36) muestras dieron reacción para HIV-1 y HIV-2, el inserto indica que aunque es poco probable que un paciente tenga una infección por ambos virus, es necesario verificarlo.
- La cantidad de muestra varía si se utiliza sangre completa, suero o plasma.
- Las pruebas no pueden guardarse como referencia porque luego del tiempo recomendado en el inserto todas las bandas dan una reacción reactiva.

## RAPID HIV 1/ 2 / O Tri-Line

### *Ventajas:*

- La presentación es en cajas de 20 pruebas, por lo que permite su distribución a servicios de salud en cantidades menores.
- El kit incluye pipeta para dispensar la muestra y buffer de corrida.
- Cuenta con espacio suficiente para la identificación de la prueba.
- Puede utilizarse sangre completa, suero o plasma.
- Fácil de manejar ya que la cantidad de muestra a agregar se cuantifica por gotas.
- El tiempo de lectura de los resultados es rápido (luego de 10 minutos).

*Desventajas:*

- Treinta y tres (33) muestras dieron reacción para HIV-1 y HIV-2. El inserto indica que esto puede deberse a una reacción cruzada.
- La cantidad de muestra varía si se utiliza sangre completa y suero o plasma.

**SD Bioline HIV-1/2 3.0***Ventajas:*

- El kit incluye una lanceta, pipeta y buffer de corrida.
- Cuenta con suficiente espacio para la identificación de la prueba.
- Dentro del inserto se describe claramente que la línea 1 detecta anticuerpos anti VIH-1 y la línea 2 detecta anticuerpos anti VIH-2 y los números que identifican las bandas, se visualizan adecuadamente.

*Desventajas:*

- La cantidad de muestra varía si se utiliza sangre completa y suero o plasma.
- Algunas muestras no se desplazaron hacia la zona de reacción, por lo que fue necesario repetir el ensayo.
- Los resultados no son estables después del tiempo establecido (5 - 20 minutos).
- Treinta y cuatro (34) muestras dieron reacción para HIV-1 y HIV-2. El inserto indica que aunque es poco probable que un paciente tenga una infección por ambos virus, es necesario verificarlo.
- Las cajas no siempre traen el número indicado de pruebas.
- Las pruebas no siempre vienen colocadas dentro del empaque correctamente, al momento de sacar la prueba del envoltorio, se tiene contacto con el área de inoculación de muestra

**SD Bioline HIV/Syphilis Duo***Ventajas:*

- Buen desempeño.
- La presentación es en cajas de 30 pruebas, por lo que permite su distribución a servicios de salud en cantidades menores.
- El kit incluye diluyente, pipetas, lancetas y toallitas con alcohol.
- Se puede utilizar con sangre completa, suero o plasma.
- El resultado es estable.

*Desventajas:*

- No tiene espacio suficiente para la identificación de muestra.
- No utiliza la misma cantidad de muestra para sangre completa, suero o plasma.
- En la parte superior del cassette en algunas muestras se observó smear para ambos resultados.

**Alere Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo***Ventajas:*

- Buen desempeño, amigable.
- Tarjeta de fácil almacenamiento.
- El diseño del empaque evita la contaminación.

- Cuenta con suficiente espacio para identificación de la prueba.
- El resultado es estable.
- Utiliza la misma cantidad de muestra para suero, plasma o sangre completa.
- Bien identificado con las letras Ab para anticuerpos y Ag para antígeno.

#### *Desventajas:*

- Fue necesario repetir 4 pruebas de 474 (0.84%), por ser invalidas por falta desplazamiento o falla en el control.
- La presentación de 100 pruebas no permite su distribución a servicios de salud en cantidades menores.
- El kit no incluye el buffer de corrida, ni pipetas descartables para dispensar la muestra.

## **SD Bioline HIV Ag/Ab Combo**

#### *Ventajas:*

- El kit incluye una lanceta y pipeta para dispensar la muestra.
- Utiliza la misma cantidad de muestra para suero, plasma o sangre completa.
- Presenta una cubierta transparente que protege el marco de lectura y no permite contacto directo con la membrana de reacción (evitando contaminación).

#### *Desventajas:*

- No cuenta con espacio suficiente para la rotulación del cassette.
- Aunque las áreas de lectura están bien identificadas al ser del mismo color de la base blanca dificulta su localización visual.
- En el cassette, no se describe que la línea 1 detecta anticuerpos y la línea 2 detecta antígeno, esto puede provocar confusión a la interpretación, y pensar que se refiere a VIH-1 y VIH-2, aunque dentro del inserto esto si se describe claramente.
- Entre el punto de inoculación y la ventana de lectura, se encuentra un área coloreada en la que se observan bandas inespecíficas que pueden dar confusión a la lectura de los resultados.
- Los resultados no son estables.
- Las cajas no siempre traen el número indicado de pruebas.
- Las pruebas no siempre vienen colocadas dentro del empaque correctamente.



## VII.

# Discusión de resultados

Como se observa en la Tabla No. 5 donde se incluyen los resultados de sensibilidad y especificidad, la prueba de cuarta generación Determine HIV Ag/Ab Combo es la única con un 100% de sensibilidad y especificidad, y le sigue la prueba de tercera generación Determine HIV-1/2 con un 100% de sensibilidad y 98.54% de especificidad. Es importante destacar que las pruebas de cuarta generación solamente fueron validadas para anticuerpos.

La sensibilidad de la prueba de cuarta generación SD HIV Ag/Ab, y las pruebas de tercera generación SD HIV-1/2 y Hexagon HIV es de 99.59%. La sensibilidad para las cinco pruebas restantes son: Rapid HIV 99.18%, SD HIV/Syphilis Duo 99.17%, Accu-Tell 99.17%, Anarapid HIV 99.03% y DoubleCheckGold 98.35%.

La especificidad de las pruebas de tercera generación son: Hexagon HIV y Accu-Tell 100%; Anarapid HIV 99.58%, SD HIV-1/2 y Rapid HIV 99.52%, DoubleCheckGold 99.51%, SD HIV/Syphilis Duo 99.02% y Determine HIV-1/2 98.54%; y las de cuarta generación Determine HIV Ag/Ab Combo 100% y SD HIV Ag/Ab 99.52%.

En la Tabla No. 4, se observa que cuatro pruebas de tercera generación muestran reactividad para VIH 2, siendo estas Anarapid HIV, Hexagon HIV, Rapid HIV y SD HIV-1/2. Cuarenta y cuatro sueros fueron enviados a CDC de Atlanta, para su identificación, gestión realizada por la Universidad del Valle de Guatemala. De estas solamente una muestra fue positiva para VIH 2, que no pudo confirmarse por métodos moleculares.

En la región no se han encontrado casos de VIH 2, por lo que no se cuenta con los reactivos necesarios para poder llegar a la identificación del mismo. Las implicaciones epidemiológicas y de terapia antirretroviral al reportar casos reactivos para VIH 2 sin una adecuada confirmación, conllevarían a confusión y gastos innecesarios para el país desde su confirmación como caso positivo para VIH 2 y tratamiento del mismo.

Todas las pruebas tienen tanto ventajas como desventajas a la hora de su realización, se debe evaluar para qué se quieren utilizar y en qué lugares para poder elegir la mejor opción a la hora de utilizarse como prueba validada en un algoritmo diagnóstico.

Esta validación enfoca dos valores importantes que son la sensibilidad y especificidad de las pruebas, ya que con estos dos valores se pueden recomendar que pruebas puedan utilizarse para la propuesta de primera y segunda línea para la revisión del algoritmo diagnóstico de VIH.



## VIII.

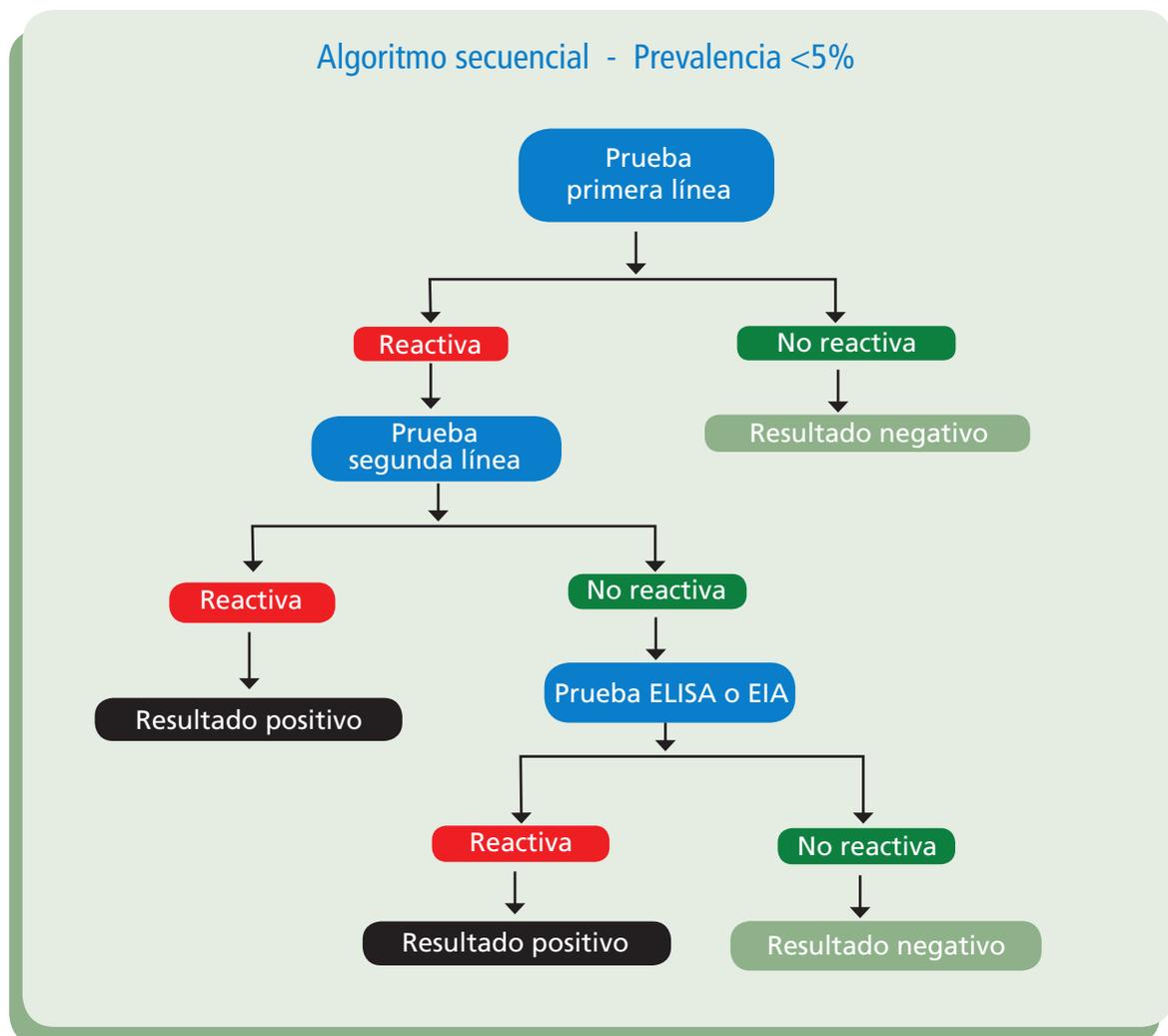
# Conclusiones

- La única prueba con un 100% de sensibilidad y especificidad fue Determine HIV Ag/Ab Combo que es una prueba de cuarta generación.
- Determine HIV-1/2 tiene un 100% de sensibilidad, aunque un 98.54% de especificidad.
- Según su especificidad, las pruebas de tercera generación que tienen un 100% son Hexagon HIV y Accu-Tell.
- Se encontraron cuatro pruebas de tercera generación que muestran reactividad para VIH 2, las cuales son Anarapid HIV, Hexagon HIV, Rapid HIV y SD HIV-1/2.
- De las 44 muestras enviadas a CDC de Atlanta para la identificación de VIH 2, solamente una fue positiva.
- Las pruebas que detectan VIH 1 y VIH 2 por separado pueden llegar a dar confusión a la hora de dar resultados.
- En la región no se han encontrado casos de VIH 2, por lo que no se justifica utilizar reactivos e insumos para su identificación.
- Todas las pruebas tienen tanto ventajas como desventajas a la hora de su realización, por lo que debe evaluarse el propósito de su uso, los lugares a utilizarse y costos.



## IX. Recomendaciones

En base a los resultados de las pruebas evaluadas y lo mencionado anteriormente en la metodología, se recomienda el siguiente algoritmo diagnóstico para población en general, el cual es:



Para el algoritmo diagnóstico en suero preferiblemente utilizar como pruebas de mayor sensibilidad:

- Determine HIV 1/2
- Determine HIV Ag/Ab combo.

Aquellas muestras que sean reactivas con cualquiera de estas dos pueden ser confirmadas con las pruebas de segunda línea por su especificidad:

- Accu-Tell,
- SD HIV Ag/Ac
- DoubleCheckGold.

SD HIV/ Syphilis Duo aunque sus valores de sensibilidad y especificidad no fueron las ideales, se considera que es necesario evaluarla en las maternidades por facilitar el diagnóstico en paralelo de sífilis.

En la Tabla No. 8 se enumeran en orden de preferencia las pruebas de primera y de segunda línea que pueden ser utilizadas.

Las pruebas que no fueron incluidas como primera y segunda línea, son aquellas que presentaron reactividad a VIH 2. El uso de estas se recomienda única y exclusivamente por personal profesional de laboratorio para su interpretación; siempre y cuando no exista la posibilidad de adquirir las de segunda línea.

**Tabla No. 8.** Recomendación del Uso de Pruebas rápidas de VIH

Prueba Evaluada	Sensibilidad	Especificidad	Orden Pruebas*
	%	%	
Determine HIV 1/2	100	98.54	1era Línea
Determine HIV Ag/Ab combo	100	100	1era Línea
Accu-Tell	99.17	100	2da Línea
SD HIV Ag/Ac	99.59	99.52	2da Línea
DoubleCheckGold	98.35	99.51	2da Línea
Hexagon HIV	99.59	100	
SD HIV -1/2	99.59	99.52	
RAPID HIV 1/2/0 Tri-line	99.18	99.52	
SD HIV/ Syphilis Duo	99.17	99.02	
Anarapid HIV 1/2/0 Tri-line	99.03	99.58	

Fuente: Análisis de la base de datos de la validación

\* Según estrategia OPS

## X.

# Bibliografía

- MSPAS, PNCP ITS VIH y Sida. *Estudio Multicéntrico Centroamericano de Prevalencia de VIH/ITS y Comportamientos en Hombres que Tienen Sexo con otros Hombres en Guatemala*. Mayo 2003
- MSPAS, PNCP ITS VIH y Sida. *Estudio multicéntrico centroamericano de prevalencia de VIH/ITS y comportamiento en mujeres trabajadoras sexuales en Guatemala*. Ciudad de Guatemala: MSPAS, 2003 mayo
- MSPAS, USAID, MERTU/CDC. *Proyecto para el fortalecimiento del sistema nacional de vigilancia epidemiológica del VIH/sida: seroprevalencia del VIH en sitios centinela*. Guatemala, 2002-2003
- Sexton J, Garnett G, Rottingen JA. Metaanalysis and metaregression in interpreting study variability in the impact of sexually transmitted diseases on susceptibility to HIV infection. *Sex Transm Dis*. 2005; 32(6):351-7
- Gavin L, MacKay AP, Brown K, Harrier S, Ventura SJ, Kann L, *et al*. Sexual and reproductive health of persons aged 10-24 years - United States, 2002-2007. *MMWR Surveill Summ*. 2009; 58(6):1-58
- Organización Panamericana de la Salud. *Guía clínica para la eliminación de la transmisión maternoinfantil del VIH y de la sífilis congénita en América Latina y el Caribe*. Washington, D.C.: OPS, 2009
- Management Sciences for Health. *HIV/AIDS Procurement: Summary of HIV Test Kits*. <http://www.msh.org/projects/rpmpplus/WhatWeDo/HIV-AIDS/TestKits/ProductSummary.cfm?action=ProductName>, (updated 2005; last accessed 2010 11 agosto).



# XI.

## Anexos

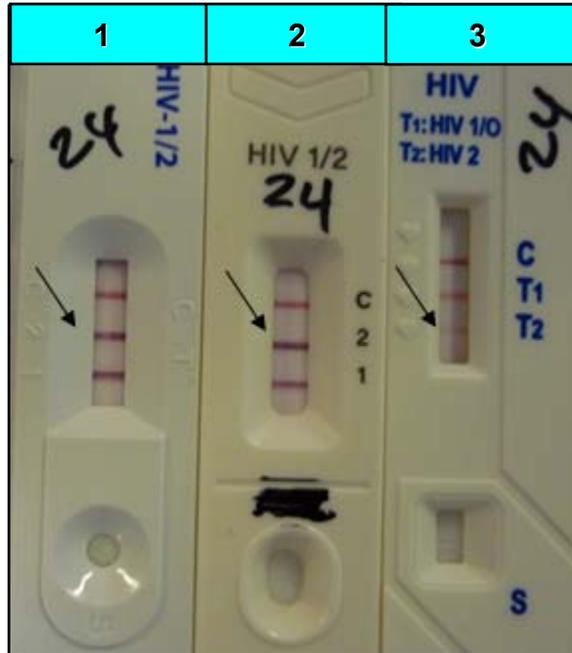
### I. Resultados de Validación Pruebas Rápidas HIV Fase III-2003

Prueba	Sensibilidad	Especificaciones
Determine suero	1.0	0.9982
Determine S.C.	1.0	0.9982
Efoora suero	1.0	0.9822
Efoora S.C.	1.0	0.9911
InstanScreen Suero	1.0	1.0000
InstanScreen S.C.	1.0	1.0000
OraQuick Oral	0.963	0.9797
OraQuick Suero	1.0	1.0000
OraQuick S.C.	1.0	0.9981

Listado de pruebas recomendadas para utilizar en el diagnóstico serológico de infecciones por VIH

## II. Observaciones durante la ejecución de las Pruebas Validadas

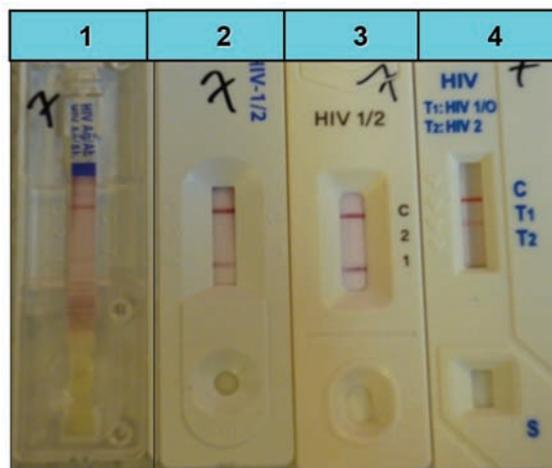
### a. Reactividad a VIH 1 y VIH 2



1. SD HIV 1/2; 2. Hexagon HIV; 3. Rapid HIV 1/2/0 Tri-Line.

En las tres pruebas se observa reactividad a los dos serotipos: VIH 1 y 2. Las flechas señalan VIH 2.

### b. Reactividad a VIH 1



1. SD HIV Ag/Ac; 2. SD HIV1/2; 3. Hexagon HIV; 4. Rapid HIV 1/2/0 Tri-Line. Se observa reactividad solo para VIH 1. En la No.1 no se detecto antígeno viral, pero si anticuerpos anti VIH.

## c. Resultados Inválidos para Determine



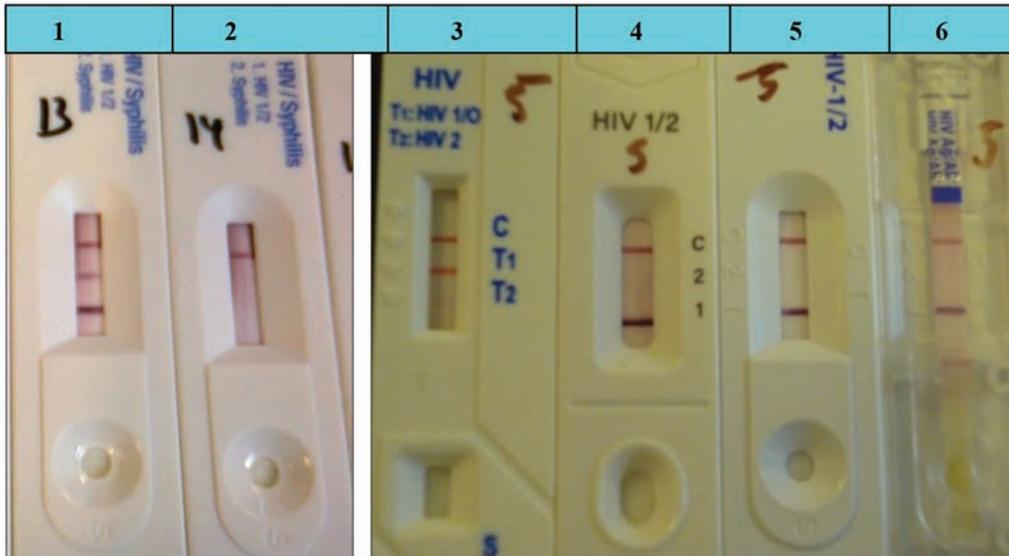
**Determine HIV Ag/Ac:** 1. Reactivo; 2. No Reactivo; 3. Inválido; 4. No Reactivo; todos no reactivos a antígeno; 5. Reactivo; 6. Inválido; 7. Inválido, estas dos últimas la muestra no corrió hasta el punto de control; 8. Incongruencia entre información del lote entre la bolsa del kit y las pruebas.

## d. Prueba sin Identificación

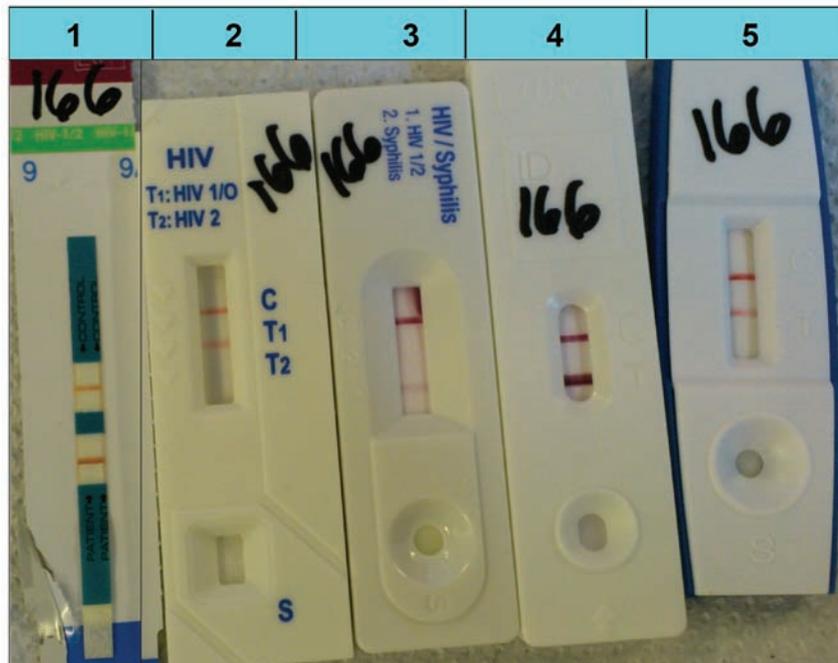


**SD HIV / Syphilis Duo:** Observe que la prueba No. 3 evidencia falta de identificación del casete.

e. Resultados de diferentes pruebas



1. SD HIV/ Syphilis Duo, resultado reactivo para VIH y Sífilis; 2. SD HIV/ Syphilis Duo, resultado no reactivo para VIH y Sífilis; 3. Rapid HIV 1/2/0 Tri-line, resultado reactivo para VIH 1 y 2; 4. Hexagon HIV; 5. SD HIV1-2; 6. SD HIV Ag/Ac, resultados reactivos a VIH 1.



1. Determine HIV 1/2 2. Rapid HIV 1/2/0 Tri-Line; 3. SD HIV/ Syphilis Duo 4. Accu-Tell; 5. DoubleCheckGold, resultados reactivos a VIH 1.





Impresión Magna Terra editores  
(5ta. avenida 4-75 zona 2, ciudad de Guatemala) en diciembre de 2013.  
[www.magnaterraeditores.com](http://www.magnaterraeditores.com)  
Tiraje en papel bond 80 gramos • 1000 ejemplares.