



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Evaluación de las pruebas confirmatorias disponibles en Colombia para el diagnóstico de la infección por VIH-1: Western blot e inmunoblots de péptidos sintéticos y proteínas recombinantes

Esther Cristina Barros Liñan

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina
Maestría de Infecciones y Salud en el Trópico
Bogotá, D.C.
2015

Evaluación de las pruebas confirmatorias disponibles en Colombia para el diagnóstico de la infección por VIH-1: Western blot e inmunoblots de peptidos sintéticos y proteínas recombinantes

Esther Cristina Barros Liñan

Trabajo de grado para optar al título de:
Magister en Infecciones y Salud en el Trópico.

Directores

Mauricio Beltrán Duran
Gloria Rey Benito
Myriam Consuelo López Páez

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina
Maestría de Infecciones y Salud en el Trópico
Bogotá, D.C.
2015

Resumen

La infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) es uno de los problemas de salud pública que afecta a la población mundial.

Dentro de las estrategias para el abordaje de la infección esta la realización del diagnóstico, el cual permite el acceso al tratamiento adecuado y una atención integral con el objetivo de prevenir la progresión de la infección a SIDA.

El diagnóstico de la infección por VIH generalmente inicia con la realización de ensayos para determinar la presencia de anticuerpos al virus, estos ensayos reciben el nombre de pruebas presuntivas. Los resultados reactivos en estas pruebas iniciales requieren la confirmación de la presencia de anticuerpos con ensayos de inmunoblots los cuales son elaborados con péptidos sintéticos (inmunoensayos en línea-LIA) o con proteínas propias del virus (Western blot)

El presente trabajo muestra los resultados de las características de desempeño de las pruebas confirmatorias disponibles en Colombia para el diagnóstico de la infección por VIH y la concordancia entre los métodos de inmunoensayos en Línea y el western blot a partir de unas muestras caracterizadas

Palabras Claves: VIH- Inmunoensayos en Línea- Western Blot.

Abstract

Infection with Human Immunodeficiency Virus (HIV) is one of the public health problems affecting the world population. Among the strategies for addressing this infection making the diagnosis, which allows access to appropriate treatment and comprehensive care in order to prevent progression of infection to AIDS.

The diagnosis of HIV infection usually starts with the tests to determine the presence of antibodies to the virus; these assays are called presumptive tests. The reagents results in these initial tests require confirmation of the presence of antibodies immunoblot assays which are made with synthetic peptides (Line immunoassays -LIA) or own virus proteins (Western blot)

This paper shows the results of the performance characteristics of confirmatory tests available in Colombia for the diagnosis of HIV infection and agreement between the methods of line immunoassays and western blot assays

Keywords: HIV, Western Blot, line immunoassays (LIA)

Contenido

	Pág.
Resumen y Abstract	V
Lista de tablas	IX
Lista de Anexos	IXI
Lista de abreviaturas y glosario	XI
Introducción	1
1. Antecedentes	5
2. Justificación	9
3. Objetivos	11
3.1 Objetivo general.....	11
3.2 Objetivos específicos	11
4. Marco teórico	13
4.1 Características del virus de VIH	13
4.2 Patogenia y evolución natural de la infección por VIH.....	14
4.3 Epidemiología de la infección por VIH.....	16
4.4 Diagnóstico de la infección por VIH.....	18
4.5 Validación de métodos de ensayos de laboratorio	26
5. Metodología	31
5.1 Ensayos utilizados en la validación	31
5.2 Matrices	32
5.3 Estimación del tamaño de muestra	32
5.4 Obtención de las muestras	33
5.5 Ejecución e interpretación de los ensayos	36
5.6 Parámetros a evaluar.....	39
6. Resultados	41
6.1 Resultados Validación secundaria Ensayo INNO- LIA	41
6.2 Resultados Validación secundaria Ensayo HIV blot 2,2	44
6.3 Resultados Validación secundaria Ensayo DAVIH Blot.....	48
6.4 Comparación entre los resultados experimentales observados con los métodos y las declaraciones del fabricante	53

6.5 Resultados de la concordancia entre los ensayos de western blot y los inmunoblots de péptidos sintéticos y proteínas recombinantes	56
7. Discusión.....	59
8. Conclusiones y recomendaciones	65
8.1 Conclusiones.....	65
8.2 Recomendaciones.....	67
Anexos.....	68
Bibliografía	85

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Caracterización de muestras	35
Tabla 2. Distribución de muestras del panel de OPS con información de otros por marcadores serológicos positivos	35
Tabla 3. Anticuerpos detectados con HIV blot 2.2	37
Tabla 4. Anticuerpos detectados con DAVIH BLOT	38
Tabla 5. Resultados ejercicio de Acuerdo y concordancia INNO-LIA	42
Tabla 6. Definición de variables tabla de contingencia para los Métodos de ensayo	42
Tabla 7. Tabla contingencia ensayo INNOLIA	43
Tabla 8. Resultados ejercicio de Acuerdo y concordancia HIV blot 2.2	45
Tabla 9. Tabla de contingencia Ensayo HIV Blot 2,2	46
Tabla 10. Muestras sin anticuerpos detectables para VIH con resultados indeterminados para HIV Blot 2.2	47
Tabla 11. Resultados indeterminados en muestras con otros marcadores serológicos positivos para HIV Blot 2.2	47
Tabla 12. Patrones de positividad en muestras indeterminadas por HIV blot 2.2	48
Tabla 13. Resultados acuerdo y concordancia DAVIH Blot	49
Tabla 14. Tabla de contingencia ensayo DAVIH Blot	50

X Evaluación de las pruebas confirmatorias disponibles en Colombia para el diagnóstico de la infección por VIH-1: Western blot e inmunoblots de péptidos sintéticos y proteínas recombinantes

Tabla 15. Muestras con resultados indeterminados para DAVIH Blot	51
Tabla 16. Resultados indeterminados en muestras con otros marcadores serológicos positivos método DAVIH Blot	51
Tabla 17. Patrones de positividad en muestras indeterminadas DAVIH Blot	52
Tabla 18. Estudio de sensibilidad de la reactividad del antígeno vírico	54
Tabla 19. Fases infección aguda y resultados obtenidos con los métodos	62

Lista de Anexos

	Pág.
Anexo1. Caracterización de la muestras y resultados por método	69
Anexo 2. Patrones de bandas observadas en las muestras sin anticuerpos detectables para VIH (No reactivas/ Negativas) para cada método	78
Anexo 3. Resumen de los resultados por Método	83
Anexo 4. Resultados inmunoensayos utilizados en la caracterización de las muestras del panel mixto PRB205 (M	84

Lista de abreviaturas y glosario

ADN: Acido Desoxirribonucleico

ARN: Acido Ribonucleico

CDC: Centro para el control de enfermedades

EIA: Enzimoinmunoensayo

ELISA: Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas

ELFA: Inmunoensayo de fluorescencia ligado a enzima

FDA: Food Drug Administration

HTLV: Virus Linfotrofico de Células T Humano

IB: inmunoblot

IFI: Inmunofluorescencia Indirecta

ISO: International Standards Organization

Anti-HBc: anticuerpos al core del virus de la Hepatitis B

HBsAg: Antigeno de superficie de Hepatitis B

VHC: Virus de Hepatitis C

VIH: Virus Inmunodeficiencia Humana

LIA: inmunoensayos en línea

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

SIVIGILA: Sistema de Vigilancia Epidemiológica.

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia humana adquirida

WB: Western blot

Introducción

Las pruebas diagnósticas son una herramienta importante en la práctica clínica, su utilización permite determinar la presencia o ausencia de un determinado evento en salud, así como la toma de decisiones sobre el tratamiento y el pronóstico de las diferentes infecciones o enfermedades.

En el caso particular de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el diagnóstico es la puerta de entrada para el acceso a la atención en salud y el inicio de un tratamiento adecuado. En el diagnóstico de la infección por VIH existen dos tipos de pruebas diagnósticas para la detección de anticuerpos: las pruebas presuntivas y las pruebas confirmatorias. Las pruebas presuntivas permiten orientar sobre una probable infección con el virus y las pruebas confirmatorias son usadas para confirmar si las muestras con resultados reactivos en las pruebas presuntivas tienen anticuerpos específicos contra el VIH. Se han desarrollado diferentes pruebas confirmatorias para el diagnóstico de la infección por VIH, entre ellas están las que utilizan antígenos propios del virus como la inmunoelectrotansferencia o Western blo (WB), la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y las que utilizan péptidos sintéticos y proteínas recombinantes como los inmunoblots o inmonoensayos en línea (LIA).

La primera prueba confirmatoria desarrollada para el diagnóstico de la infección por VIH fue el Western blot y todavía hoy sigue siendo la prueba de elección, sin embargo los ensayos que utilizan péptidos sintéticos y proteínas recombinantes cada vez son más utilizados como una alternativa diagnóstica, debido a que su lectura e interpretación es más fácil, al usar péptidos sintéticos se disminuye la probabilidad de encontrar resultados inconcluyentes o indeterminados y su costo es relativamente más bajo.

La manifestación más grave de la infección por VIH, es el SIDA, trastorno que se caracteriza por una pérdida gradual de la inmunidad celular que conduce a la aparición de infecciones oportunistas, neoplasias, y otras complicaciones de las que cabe mencionar las neurológicas y hematológicas.

La principal vía de transmisión del VIH es la sexual y en los primeros años luego de su descubrimiento en 1981, la infección estuvo asociada a ciertos grupos vulnerables como los hombres que tienen sexo con hombres y las trabajadoras sexuales, este hecho agrega a la infección una dimensión social, determinada por condiciones culturales, económicas, morales, institucionales y políticas, que se reflejan en el estigma y discriminación a la que son sometidos las personas infectadas con VIH.

Teniendo en cuenta las implicaciones clínicas y el impacto social que tiene la infección por VIH, lo que se espera de un resultado diagnóstico es que sea confiable, una de las maneras de demostrar la confiabilidad de dichos resultados es la validación de las metodologías utilizadas; en términos generales la validación de un método es el proceso mediante el cual se realiza la confirmación a través de estudios de laboratorio y el aporte de evidencias objetivas que dicho método cumple los requisitos y características particulares y específicas para el cual fue diseñado.

El diagnóstico de la infección por VIH generalmente está establecido por algoritmos que define cada país o región de acuerdo a sus recursos, recomendaciones de agencias internacionales en salud, guías de manejo clínico entre otras. En Colombia existe la Guía clínica para el manejo de VIH/SIDA, que fue reglamentada mediante la resolución 3442 de 2006 y es la normatividad vigente para el abordaje de la infección por VIH, en esta guía están aprobados los ensayos de WB e IFI para la realización del diagnóstico confirmatorio. Los inmunoblots de péptidos sintéticos a pesar de no estar incluidos en la guía de manejo, se encuentran disponibles para su distribución y comercialización en el país.

Con el presente trabajo se busca establecer si las diferentes pruebas confirmatorias disponibles en el país funcionan de acuerdo a las características definidas por el fabricante y determinar el grado de concordancia entre las pruebas de WB y los inmunoensayos de péptidos sintéticos y proteínas recombinantes. En la actualidad la prueba de IFI no se encuentran disponible en el país, debido a las dificultades para realizar su producción, por lo tanto no se tendrá en cuenta para la evaluación.

1. Antecedentes

Desde los inicios de la epidemia de la infección por VIH en el año 1981, las pruebas de laboratorio han sido un componente importante para la vigilancia y la detección de la infección por el virus, estableciéndose la importancia de asegurar la calidad de las pruebas utilizados y el uso de ensayos estandarizados o licenciados. Los primeros ensayos para el diagnóstico de la infección por VIH, fueron autorizadas por la FDA en 1985, inicialmente para su uso en bancos de sangre; para el año 1987 habían licenciadas por este organismo en Estados Unidos siete pruebas presuntivas y una prueba de western blot . En ese mismo año la OMS, publica el primer documento (1987) en el que se establece la necesidad de tener información objetiva de las características de los ensayos disponibles para la detección de la infección con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH-1 y VIH-2) y la evaluación de la sensibilidad, especificidad y reproducibilidad de estos ensayos y sus características operativas (1)

La prueba de western blot empieza a ser usada como la prueba de referencia para diagnóstico complementario o confirmatorio, de acuerdo a las recomendaciones de las guías de consejería para VIH del centro para el control y prevención de enfermedades (CDC) en Estados Unidos (3,4) y a partir del año 1988, se inicia un programa para la evaluar objetivamente las pruebas disponibles en el mercado para la detección de anticuerpos frente a los dos tipos de VIH: VIH-1 y VIH-2 (5). Estas evaluaciones se publican en forma de reportes, en los cuales se listan las diferentes pruebas evaluadas y disponibles comercialmente para el diagnóstico de la infección por VIH.

En el año 2001 la oficina regional para África de la OMS y el CDC publican las directrices para la evaluación de las tecnologías para la pruebas de VIH en África, dicho documento menciona la necesidad de evaluar el desempeño de las pruebas para determinar sus características y la idoneidad para el uso dentro de un determinado país o región (6).

En el ámbito regional, la OPS, en la Guía práctica para la implementación de pruebas fiables y eficientes para el diagnóstico de VIH –OPS/2008 establece la responsabilidad de los países de realizar la evaluación y autorizar las pruebas que se emplearan para el diagnóstico de la infección por VIH, en algunos países como Cuba, dentro de los requisitos indispensables para la inscripción de un producto en el registro de diagnosticadores del país está la demostración de que sus características funcionales responden al propósito para el cual fue diseñado (7).

Paralelamente con la evaluación de las pruebas, se han desarrollado nuevas herramientas diagnósticas, la prueba de Western blot era la más utilizada para la confirmación de la infección por VIH, sin embargo, ensayos similares basados en proteínas recombinantes o péptidos sintéticos, denominados Inmunoensayos en línea (INNO LIA, RIBA) han sido desarrollados como alternativas para el diagnóstico. Los reportes de la evaluación de estos inmunoensayos en línea publicados en la década de los 90, sugerían que estas pruebas podrían ser una alternativa viable y a menor costo para el diagnóstico de la infección por VIH (8,9).

En la actualidad, de acuerdo a los informes del programa de evaluación de pruebas diagnósticas de la OMS, los inmunoensayos en línea junto con el Western blot, hacen parte de las pruebas evaluadas y aprobadas como pruebas confirmatorias para el diagnóstico de la infección por VIH (5), adicionalmente estas pruebas están empezando a ser incluidas en las guías de manejo y algoritmos diagnósticos en diferentes países o regiones, como es el caso de la Guía europea para el control y la prevención de enfermedades del año 2010, la Guía clínica Chilena Síndrome de inmunodeficiencia adquirida VIH/SIDA 2010.

En Colombia la única publicación disponible relacionada con la evaluación de ensayos confirmatorios para VIH es del año 2002 y compara la prueba de IFI con el Western blot. En este estudio se demuestra que la prueba de IFI puede utilizarse como prueba confirmatoria suplementaria. El estudio destaca que la IFI no se recomienda como prueba presuntiva ni como prueba confirmatoria única, sino como una prueba suplementaria en la que un resultado positivo permite confirmar el diagnóstico, pero un resultado negativo obliga a realizar WB (10).

Con respecto a las Guías de manejo clínico, en el país, la Guía para el manejo de VIH/SIDA/ Colombiana de 2006 sólo recomienda las pruebas de WB o IFI para diagnóstico confirmatorio de la infección por VIH.

2. Justificación

Se debe garantizar que los ensayos utilizados para diagnóstico, proporcionan resultados confiables, la validación de las pruebas es un requisito para demostrar la fiabilidad de los resultados. En Colombia, lo anterior tiene el respaldo de un marco legal en el Decreto 2323 de 2006 emitido por el Ministerio de Protección Social, el cual establece que se debe realizar la validación de reactivos, pruebas diagnósticas y de técnicas y procedimientos analíticos y un marco normativo internacional que promueve la implementación de programas de aseguramiento de la calidad para garantizar la confiabilidad de los ensayos (ISO/IEC 17025 Versión 2005, Norma técnica para los laboratorios de ensayo y calibración).

Específicamente para el diagnóstico de la infección por VIH, se encuentra establecido dentro de guías regionales la responsabilidad de cada país de verificar la validez y autorizar el uso de varios modelos de pruebas diagnósticas, así como establecer una política nacional sobre las pruebas a utilizar y aprobar el algoritmo que corresponda para éstas. (Guía práctica para la implementación de pruebas fiables y eficientes para el diagnóstico de VIH –OPS-2008).

De acuerdo a los reportes de la OMS, los ensayos basados en péptidos sintéticos y proteínas recombinantes, están considerados como ensayos alternativos al WB para el diagnóstico confirmatorio de la infección por VIH, sin embargo la normatividad colombiana solo tiene aprobado para el diagnóstico de la infección por VIH las pruebas confirmatorias de western blot; a pesar de no estar aprobadas por la normatividad vigente en Colombia, estos ensayos basados en péptidos sintéticos y proteínas recombinantes se distribuyen y se encuentran disponibles comercialmente.

Los resultados obtenidos de esta validación (verificación secundaria), permitirán aportar una evidencia objetiva para establecer si las diferentes pruebas confirmatorias se

comportan según las especificaciones establecidas por los fabricantes y dará a los tomadores de decisión la información sobre el desempeño de estas pruebas utilizadas en el país.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Evaluar el desempeño analítico de las pruebas confirmatorias para VIH-1 disponibles en Colombia: Western blot e inmunoblots de péptidos sintéticos y proteínas recombinantes.

3.2 Objetivos específicos

Realizar la validación secundaria o verificación de los ensayos de western blot (HIV blot 2.2, Davih Blot) y los inmunoblots de péptidos sintéticos y proteínas recombinante (Inno-LIA).

Establecer la concordancia de los resultados entre los ensayos de western blot y los inmunoblots de péptidos sintéticos y proteínas recombinantes.

4. Marco teórico

La infección por el Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), aunque a partir del 2005 ha presentado una tendencia a la estabilización, continúa siendo una de las principales infecciones a nivel mundial (11). La infección por VIH progresa al síndrome de la inmunodeficiencia humana más conocido como SIDA, caracterizado por un deterioro del sistema inmune que favorece la aparición de enfermedades oportunistas y neoplasias.

4.1 Características del virus de VIH

El virus de la inmunodeficiencia humana es un retrovirus del género lentivirus, estos virus se caracterizan por producir infecciones de progresión lenta, con largos periodos de tiempo entre la infección y el desarrollo de la enfermedad. La denominación de retrovirus obedece a que tienen la enzima transcriptasa reversa, la cual les permite convertir ADN a partir del ARN Viral. Se conocen dos tipos de virus el VIH-1 y VIH-2, la homología entre los aminoácidos de los dos tipos es aproximadamente de un 40-60%. El VIH-1 tiene distribución mundial y es el causante de la mayoría de los casos de infección por VIH, mientras el VIH-2, es predominante en África Occidental. El VIH-2 también produce SIDA, pero tiene un periodo de latencia mayor que el de VIH-1 (12-14). Los virus de VIH presentan una gran variabilidad, se conocen 4 grupos de VIH-1: el grupo M (principal), O (extremo), N (no M, no O) y el P, identificado recientemente. El grupo M tiene nueve subtipos identificados de la letra A a la D, de la F a la H, J y K; de VIH-2, se han identificado ocho grupos que se nombran de la A - H. Esta alta heterogeneidad de los virus de VIH se ha asociado al alto índice de mutaciones de la transcriptasa reversa, su rápida capacidad de replicación y su extensa producción de progenie (1000 viriones/célula) (13,14).

El VIH tiene un diámetro aproximado de 100 a 120 nm,(14) cada partícula viral tiene 2 cadenas de ARN y las enzimas víricas transcriptasa reversa, proteasa e integrasa están rodeadas por una nucleocapside rectangular cuya proteína principal es p24, este centro vírico se halla rodeado por la proteína de matriz p17 y finalmente tiene la cubierta externa de glicoproteína gp120 y gp 41 (14,16). El genoma tiene tres genes estructurales: *gag* que codifica la síntesis de proteínas internas, *pol* que codifica para las enzimas transcriptasa reversa, proteasa e integrasa, genes *env* que codifica para la síntesis de la cubierta externa. El genoma del virus también tiene genes reguladores como *tat* y *rev* que están involucrados en la regulación positiva de la replicación del virus y la expresión de proteínas virales (14,15). Otros productos genéticos virales son *nef*, *vif*, *vpr*, *vpu* y *vpx* afectan eventos como el ensamblaje, ciclo celular, gemación e infectividad durante la producción de los virus infecciosos (14).

4.2 Patogenia y evolución natural de la infección por VIH

Las dos dianas principales del VIH son el sistema inmunitario y el sistema nervioso central, dentro de las células del sistema inmune las más afectadas son los linfocitos T CD4, macrófagos, células dendríticas (13,16). La entrada del virus a la célula requiere de la unión de la glicoproteína gp120 del virus con la molécula CD4, que es el receptor de alta especificidad para el virus y la interacción de los correceptores de quimiocinas como CCR5 en macrófagos y CXCR4 en linfocitos T, este contacto del VIH con el receptor y correceptor origina una serie de cambios en la estructura viral, a nivel de las glicoproteínas de superficie que permite la fusión de las membranas viral y celular y la internalización del virión y la liberación de la nucleocapside en el citoplasma de la célula (13,16,17).

Después de la internalización se realiza la transcripción reversa con la formación de ADN a partir del ARN viral, el ADN formado se incorpora al material genético de la célula huésped (integración) en donde se denomina provirus. A partir de la transcripción del ADN proviral se realiza la síntesis de nuevas partículas virales las cuales son liberadas para infectar nuevas células. Cuando el proceso anterior ocurre

se inicia el curso natural de la infección por VIH, que la podemos dividir en las siguientes fases:

Síndrome retroviral agudo o infección primaria por VIH:

Período transcurrido desde el ingreso del virus en el organismo hasta la seroconversión completa (18).

Aparece dentro de las primeras cuatro semanas luego de la infección y generalmente es asintomática en el 50% de los casos (17), se caracteriza por síntomas inespecíficos como fiebre, faringitis, adenopatías, meningitis aséptica, elevados niveles de producción vírica, viremia y disminución transitoria de los linfocitos T CD4. (16,19). Luego de la replicación viral, se da la respuesta inmunitaria específica frente al virus, manifestada por la seroconversión (detección de anticuerpos totales específicos), disminuye la viremia y aumentan nuevamente el número de linfocitos (16,19). La seroconversión puede ocurrir entre 3 y 17 semanas después de la exposición al virus (16). A este periodo transcurrido desde la infección hasta la aparición de los anticuerpos específicos es lo que se conoce como el periodo de ventana inmunológica.

Fase crónica asintomática

Luego de la aparición de los anticuerpos, en esta fase hay una relativa contención del virus, la mayoría de las personas son asintomáticas o presentan linfadenopatías persistentes, a pesar que el sistema inmune aparentemente se encuentre intacto, el virus se sigue replicando en los tejidos linfoides. Con el paso de los años esta replicación viral continuada causa la pérdida progresiva de los linfocitos T CD4 y un aumento de la carga viral, la adenopatía persistente con síntomas constitucionales significativos (fiebre, fatiga) son el reflejo del deterioro del sistema inmunitario y el comienzo de la fase de crisis (16). Esta fase asintomática puede persistir por 10 años o más (20).

Fase de crisis o fase SIDA

Se presenta un alto nivel de inmunosupresión, un aumento de la viremia y enfermedad clínica, el recuento de linfocitos T CD4 desciende y los pacientes empiezan a padecer enfermedades oportunistas graves, neoplasias secundarias o manifestaciones neurológicas (denominadas enfermedades indicadoras de SIDA) (16).

Los recuentos de linfocitos T CD4 por debajo de 200 cel/ul se asocian a una intensa inmunosupresión y con alto riesgo de padecer las enfermedades indicadoras de SIDA (21). Las infecciones oportunistas pueden ser causadas por bacterias (complejo *Mycobacterium avium* y *Mycobacterium tuberculosis*), virus (citomegalovirus, herpes virus), parásitos (*Cryptosporidium*, *Toxoplasma*) y hongos (*Candida*, *Histoplasma*, *Cryptococcus*, neumonía por *Pneumocystis jirovecii*). Los pacientes con SIDA también tienen una elevada incidencia de tumores como el sarcoma de kaposi, linfomas y cáncer de cuello uterino en mujeres (15,16). En ausencia de tratamiento, en los pacientes infectados con VIH se desarrolla SIDA luego de una fase crónica de 7-10 años de duración (16).

4.3 Epidemiología de la infección por VIH

Desde su aparición en la década de los 80, la infección por VIH ha sido la causa de millones de muertes alrededor del mundo, la mayoría de los casos ocurre en adultos jóvenes, principalmente en la población económicamente productiva de 15 a 49 años y África subsahariana es la región más afectada (12).

Las principales vías de transmisión son la sexual y sanguínea. La mayoría de las infecciones por el HIV-1 ocurren a través de la mucosa del tracto genital o rectal durante las relaciones sexuales desprotegidas, adicionalmente la transmisión parenteral puede ser muy efectiva por exposición a sangre infectada a través de transfusiones sanguíneas o por compartir jeringas como ocurre en los usuarios de drogas intravenosas y finalmente la transmisión perinatal que es cuando la madre se la transmite al hijo durante el embarazo, el parto o lactancia materna (12,13,22).

Aunque gran parte de las noticias sobre el VIH/ SIDA son alentadoras todavía persisten grandes dificultades. Si bien el número de nuevas infecciones sigue descendiendo globalmente, algunas epidemias nacionales continúan extendiéndose en diversas partes del mundo. De acuerdo a los reportes de la OMS para el 2011 cerca de 34,3 millones de personas están infectadas con VIH (31,4 millones-35,9) y en todo el mundo el número de personas (adultos y niños) que se infectaron por el VIH para este año fue de 2,5 millones (2,2 millones–2,8 millones) y el número de muertes relacionadas con SIDA

se estimó de 1,7 millones (1,5-1,9). La prevalencia de VIH en adultos de 15-49 años a nivel mundial está alrededor de 0,8% (11).

Los mayores descensos de nuevas infecciones desde 2001 han tenido lugar en el Caribe (42%) y África subsahariana (25%). En algunas partes del mundo, las tendencias del VIH (entre niños y adultos) son preocupantes, como es el caso de del número de nuevas infecciones en Oriente Medio y África septentrional, las cuales han aumentado más de un 35% desde el 2001, pasando de 27.000 (22.000-34.000) a 37.000 (29.000- 46.000) (11). De igual forma el número de personas que fallecieron por causas relacionadas con el SIDA descendió un 32% entre 2005 y 2011 en Africa subsahariana. El Caribe (48%) y Oceanía (41%) fueron testigos de descensos significativos durante este mismo periodo de tiempo. Más modestos son los datos de América Latina (10%), Asia (4%) y Europa occidental y central y América del Norte (1%). Sin embargo, la mortalidad relacionada con el SIDA aumentó significativamente en otras dos regiones: Europa oriental y Asia central (21%) y Oriente Medio y África septentrional (17%) (11).

En América latina y el Caribe la epidemia ha sido diversa desde sus inicios, en los países del Caribe se ha propagado por contacto heterosexual, mientras en la mayoría de los países de Latinoamérica la epidemia se considera de tipo concentrado, es decir la prevalencia en grupos poblacionales de alta vulnerabilidad (hombres que tienen sexo como hombres y trabajadoras sexuales) supera el 5% y en mujeres gestantes no es superior al 1% (23).

En Colombia, de acuerdo a los informes publicados por Observatorio Nacional de Gestión en VIH/SIDA en la página Web del Ministerio de Salud, la prevalencia de la infección por VIH se encuentra concentrada, la prevalencia en los grupos poblacionales de alta vulnerabilidad como mujeres trabajadoras sexuales está cercana al 3% y en hombres que tienen sexo con hombres la prevalencia está cercana al 10,9%.

Para las personas entre 15 y 49 años la prevalencia estimada es de 0.59%, de acuerdo con los datos referenciados en el informe UNGASS 2010 (24). Desde 1983, año en que se presentó el primer caso de VIH en el país con corte al 31 de diciembre de 2013 se han reportado un total 90.599 de casos de infección por VIH y SIDA 11.694 fallecidos. Esta

cifra corresponde a los casos acumulados. Datos tomados de las bases de datos del Sistema de vigilancia (Sivigila).

4.4 Diagnóstico de la infección por VIH

Las pruebas de laboratorio para identificar la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se han utilizado en todo el mundo, y siguen siendo una herramienta importante para salvar vidas. Las pruebas de VIH son importantes no sólo para la seguridad en las transfusiones y proteger a los receptores de tejidos, sino que proporcionan información valiosa para la vigilancia continua de la infección y para el diagnóstico de las personas que pueden beneficiarse de la terapia antirretroviral (25).

Las pruebas utilizadas para determinar la infección por VIH pueden tener diferentes objetivos o enfoques: la vigilancia epidemiológica, la seguridad transfusional y el diagnóstico individual (26), de acuerdo al objetivo perseguido se establece la técnica apropiada y la estrategia o algoritmo diagnóstico.

De forma conceptual se denominan pruebas diagnósticas las que se emplean de forma individualizada en el suero de una persona bajo los principios clínicos de consentimiento informado y sirven para la identificación clínica de un paciente como infectado o no por el VIH (26).

Teniendo claro el concepto de diagnóstico en la infección por VIH, para poder establecer si una persona tiene o no la infección es necesario detectar la presencia de unos determinados marcadores. Estos marcadores aparecen de manera consistente entre los diferentes individuos en diferentes momentos después de la infección (25) y su aparición determina el tipo de prueba a utilizar: Detección de anticuerpos, detección de antígeno o ácidos nucleicos.

Los principales marcadores que se desarrollan durante el curso clínico de la infección por VIH se describen a continuación:

Después de la infección por VIH, la secuencia de los marcadores para identificar la infección, en su orden de aparición, es la siguiente: el ARN viral, antígeno p24 y anticuerpos a los antígenos del VIH. (25). Dentro de dos semanas después de la infección (10-14 días) se produce la viremia la cual es medida por el ARN viral y la proteína viral (antígeno p24). La proteína p24 aumenta en paralelo con la carga viral, pero no se utiliza de manera rutinaria debido a que los resultados son menos sensibles que los ensayos para la detección de ARN viral. (25).

La detección de anticuerpos específicos aparece luego del periodo del periodo de viremia (periodo de ventana inmunológica), estos anticuerpos aparecen alrededor de 3-4 semanas luego de la infección y su detección depende del método de utilizado y las variaciones en la respuesta inmune de los diferentes individuos (18,25). Estos anticuerpos permanecen a lo largo de la infección y en los estadios finales de la infección pueden desaparecer los anticuerpos contra algunas de las proteínas estructurales internas del virus. (26).

La infección por VIH puede ser diagnosticada con pruebas serológicas que detectan anticuerpos contra VIH-1/VIH-2 y pruebas virológicas que detectan antígenos o ácidos ribonucleicos (21). Dentro de las pruebas serológicas o inmunoensayos están las pruebas presuntivas y las pruebas confirmatorias (WB e IB de péptidos sintéticos) y en los ensayos para la detección de antígenos están los ensayos de antígeno P24 y las pruebas moleculares para la detección del ARN Viral y ADN Proviral (13).

Ensayos para la detección de Antígenos:

Los ensayos para la detección de antígenos y pruebas para la detección de ácidos nucleicos pueden ser utilizadas para el diagnóstico de la infección aguda, debido a que en esta fase de la infección todavía no ha ocurrido la seroconversión y por lo tanto no hay anticuerpos detectables.

Pruebas de detección de ácidos nucleicos

Mediante estos ensayos se puede detectar ADN proviral que se encuentra en células infectadas o ARN viral libre en sangre. Existen métodos cualitativos y cuantitativos; las pruebas cuantitativas son conocidas como carga viral y permiten establecer el número

de copias (o UI) de ARN del virus que se encuentran circulando en el plasma del paciente, estas pruebas son las más utilizadas en el diagnóstico de VIH.

Existen varios métodos moleculares para la determinación de la carga viral, y todos tienen tres pasos en común:

Preparación de muestras y extracción de ácidos nucleicos.

Amplificación de la secuencias diana del ácido nucleico o amplificación de la señal generada a partir de la detección del ARN viral objetivo.

Detección y o cuantificación de los productos amplificados.

Además de su utilidad en la detección aguda de la infección por VIH, las pruebas de ácidos nucleicos son usadas para el diagnóstico de la infección en niños menores de 18 meses (21, 27), cuando los pacientes están agammaglobulinemicos, en personas sin anticuerpos o con títulos muy bajos como es el caso de los individuos inmunosilenciosos y con síntomas de infección avanzada por VIH los cuales no demuestran anticuerpos específicos en las pruebas serológicas (13,27). Las pruebas de carga viral son utilizadas junto con el recuento de células CD4 para ayudar a determinar el inicio de la terapia antirretroviral y supervisar la eficacia del tratamiento (27).

Los ácidos nucleicos son la prueba de elección para la detección de un episodio de infección aguda por el VIH ya que su sensibilidad es superior al 99% a partir de la primera semana de exposición. Es positiva desde los 7-10 días de la infección por el VIH, unos 3-5 días antes de que se detecte la antigenemia p24 y hasta 2-3 semanas antes que el EIA (ELISA).

Las desventajas de los ensayos de carga viral son las posibilidades de falsos resultados positivos con valores inferiores a 10.000 copias/ml, resultados indetectables en aquellos pacientes infectados con replicación controlada del virus durante períodos prolongados que nunca han recibido tratamiento antirretroviral (controladores elite), el costo económico y que requieren un EIA negativo o un Western blot negativo o indeterminado en forma simultánea para descartar los casos de infección crónica (13,18,26).

El diagnóstico de las personas durante la infección aguda es particularmente importante (21) sin embargo pocos pacientes son diagnosticados en este momento, es durante esta fase que las personas infectadas con VIH son más contagiosas (21,28). Dentro de las razones por las cuales la mayoría de los pacientes no son diagnosticados en la fase aguda son las siguientes: los pacientes desarrollan una infección aguda por el VIH de forma asintomática (10-20%), las personas tienen síntomas pero no consultan (20-40%), o los que consultan por síntomas, pero el médico no piensa en la infección aguda por el VIH como causa de la sintomatología, o si lo hace no realiza las pruebas adecuadas (aproximadamente el 40% de los casos) (18).

Prueba para la detección de Antígeno p24

Estas pruebas están fundamentadas de ELISA y usan anticuerpos para detectar el antígeno viral p24 en los sueros de las pacientes. (18, 26). Este marcador se observa algunos días antes del inicio de los síntomas y desaparece con el aumento del nivel de anticuerpos en suero, tiene una especificidad comparable a la Carga Viral (por encima del 95%) pero una sensibilidad menor (79%).

Esta prueba es útil para las muestras de pacientes que son de alto riesgo y sintomáticos con resultados negativos en los inmunoensayos para detección de anticuerpos o para los especímenes que son positivos en los inmunoensayos para anticuerpos y con resultados negativos o indeterminados en el western blot (27). Esta proteína viral p24 es un marcador transitorio que puede caer a un nivel indetectable después de la infección aguda inicial y volver a aparecer en las etapas avanzadas de la enfermedad (18,29).

Diagnóstico serológico infección por VIH.

Teniendo en cuenta que al menos 95% de los pacientes tienen anticuerpos contra el VIH dentro de los 3 meses luego de la infección (21), las pruebas serológicas son una buena herramienta para diagnóstico de la infección por VIH. Dentro de las pruebas de detección de anticuerpos hay dos tipos de pruebas, las pruebas de presuntivas y las pruebas confirmatorias o complementarias. Las pruebas presuntivas son pruebas que indican una probable infección por el virus de VIH y las pruebas confirmatorias permiten confirmar los resultados obtenidos en las pruebas presuntivas. Las pruebas confirmatorias son realizadas cuando se tienen resultados reactivos en las pruebas presuntivas.

Pruebas de presuntivas

Los ensayos más utilizados son los inmunoensayos enzimáticos (a menudo denominados como EIA o ELISA (5), estos fueron los primeros ensayos desarrollados para el diagnóstico de la infección por VIH y han ido evolucionando desde su aparición, básicamente, las mejoras han afectado, al antígeno o los antígenos utilizados en el ensayo y el principio técnico en el que se fundamentan dichas reacciones (26). Se han desarrollado por generaciones:

Primera Generación: Primeros ensayos usaban lisados de VIH-1 purificado, eran pruebas menos sensibles y específicas, el promedio para la detección de seroconversión era de 6 a 8 semanas.

Segunda Generación: Ensayos mejorados basados en proteínas recombinantes y/o los péptidos sintéticos, que permitieron la producción combinada de VIH 1 y 2. El promedio para la detección de seroconversión en estos ensayos era de 28 a 30 días.

Tercera Generación: Péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 Grupo "O" y VIH-2, ensayos tipo sándwich, usan un antígeno marcado como conjugado, permiten la detección simultánea de anticuerpos IgM, IgG, IgA o IgE. Al detectar anticuerpos IgM es más sensible que las generaciones anteriores y reducen el periodo de ventana inmunológica al detectar seroconversión entre 22 y 25 días.

Cuarta Generación: Tienen péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2 y VIH-1 que permite la detección de todas las inmunoglobulinas y anticuerpos para detectar el antígeno p24. Identifican tempranamente seroconversión, reduciendo el periodo de ventana inmunológica aproximadamente a 15 días, por esta característica estos ensayos utilizadas con mayor frecuencia en los bancos de sangre (5, 13, 26).

Con respecto a los principios técnicos de las pruebas de ELISA, estas pueden ser indirectas, tipos sándwich y de captura (26). Las dos configuraciones más populares incluyen las pruebas ELISA indirecta y las de tipo sándwich de tercera generación. La principal ventaja de la técnica de antígeno sándwich es que detecta todas las clases (isotipos) de los anticuerpos, incluyendo IgM que a veces se producen al inicio de la

infección (25), más recientemente se han desarrollado ensayos de ELISAS de cuarta generación, estos ensayos permiten la detección de antígenos y anticuerpos al mismo tiempo (25,26).

Las pruebas de inmunoensayo enzimáticos (ELISA) también han sufrido variaciones tecnológicas, como la utilización de sustratos fluorescentes, que han dado lugar a las pruebas denominadas ELFA (26) y el desarrollo de inmunoensayos basados en el principio de emisión luminosa como la quimioluminiscencia. Dentro de las pruebas de presuntivas, también se han desarrollado una variedad de pruebas sencillas, que no requieren equipos (5), los antígenos que emplean son similares a los usados en EIA y el tiempo en el que se puede obtener un resultado oscila entre 5 y 20 min, (26) por eso son denominadas pruebas rápidas. Las pruebas rápidas tienen unas ventajas operativas frente a las pruebas de ELISA, ya que no requieren instrumentos, son fáciles de realizar y tienen un amplio rango de temperaturas para su conservación (4-33°C), muchos pueden ser almacenadas a temperatura ambiente (25), estas pruebas están basadas en los principios de aglutinación, inmunofiltración (ensayos dinámicos), inmunocromatografía (pruebas de flujo lateral) y análisis de tiras reactivas (5).

Pruebas confirmatorias o complementarias.

La trascendencia de la infección por el VIH hace necesaria la confirmación de los resultados positivos obtenidos en las pruebas de detección primaria de anticuerpos (26). En la actualidad los ensayos confirmatorios más comunes son el WB y los inmunoensayos en Línea (LIA). Los ensayos de IFI cada vez son menos usados.

Western blot: es la prueba confirmatoria más usada y aceptada (5, 25,29) para el diagnóstico confirmatorio de la infección por VIH y muchos lo consideran el patrón de oro (25).

El WB contiene los antígenos propios del VIH-1, algunas de sus proteínas precursoras y antígenos de origen celular. Este método está basado en el principio de inmunoelectrotransferencia (26), es decir que los antígenos del virus son separados por electroforesis y transferidos e inmovilizados en membranas de nitrocelulosa. Los antígenos más utilizados son gp160, gp120, p66, p55, p51, gp41, p31, p24, p17, (25,29). Algunas pruebas incorporan en un extremo diferenciado de la tira un péptido sintético

específico del VIH-2 (gp36), que facilita la sospecha de infección por VIH-2 en coinfecciones.

La interpretación se basa en la presencia o ausencia de reactividad a los antígenos específicos. Aunque un número de las organizaciones tienen diferentes criterios para lo que constituye una reacción positiva, los criterios de interpretación siempre requieren de la reactividad por lo menos 2 de los siguientes antígenos: gp160/120, gp41, o p24. Cualquier reacción que no cumple con los requisitos para ser positivo, clasifica la muestra como indeterminado, la ausencia de cualquier reacción se interpreta como negativa (25).

Inmunoensayos en línea (LIA): son ensayos a base de proteínas recombinantes y/o péptidos sintéticos capaces de la detección de anticuerpos contra proteínas específicas del VIH-1 y/o VIH-2. El principio de LIA es similar al Western blot, la diferencia es que en el LIA los antígenos son artificiales y no son adheridos a la membrana por electrotransferencia, al no ser antígenos derivados de los linfocitos cultivados, en estos ensayos se producen menos resultados indeterminado comparados en el western blot (5,25). Por otra parte, los antígenos sintéticos y recombinantes pueden ser mejor estandarizados, lo que minimiza las variaciones lote a lote en los ensayos (25)

IFI: las células (linfocitos) están infectadas con el VIH y se fijan a una lámina portaobjetos, se agrega el suero del paciente y los anticuerpos anti VIH reaccionan con los antígenos del VIH presentes en las células, la reacción es detectada con un anti inmunoglobulina humana marcada con una sustancia fluorescente. La sensibilidad y especificidad de la IFI son equivalentes a el Western blot (25), sin embargo por razones como la subjetividad en la lectura, requerimientos de laboratorio, esta técnica se emplean cada vez menos (26).

Otro aspecto importante a considerar en el diagnóstico de la infección por VIH, es la implementación de algoritmos diagnósticos, los cuales describen la secuencia de las pruebas a utilizar en el proceso diagnóstico (30). Los primeros algoritmos son trazables a 1980 y eran derivados de la guía del CDC (18), estos algoritmos se establecen de acuerdo a los objetivos de las pruebas a utilizar. Los algoritmos por lo general establecen

una secuencia que se inicia con una prueba de ELISA repetidamente reactivas y una posterior realización de prueba confirmatoria. (25, 29,31), permiten optimizar el proceso diagnóstico y la toma de decisiones. Aunque existen lineamientos y recomendaciones generales para el establecimiento de los algoritmos, cada Ministerio de salud debe aprobar sus algoritmos diagnóstico (30), para esto se debe tener en cuenta las características de la infección, el costo y el tipo de pruebas disponibles.

En Colombia el algoritmo diagnóstico fue aprobado a través de la Resolución 3442 de 2006 , el cual aprueba la Guía para el manejo de VIH/SIDA, y establece que el diagnóstico de la infección por VIH, debe iniciar con la realización de pruebas de presuntivas, y se debe realizar prueba confirmatoria con luego de dos resultados reactivos en las pruebas presuntivas.

Dificultades en las pruebas de detección de anticuerpos.

El uso de los inmunoensayos enzimáticos (EIA), seguidos por confirmación con Western blot o ensayos en línea es actualmente el algoritmo estándar para el diagnóstico de la infección por VIH, esta combinación de pruebas presuntivas con pruebas confirmatorias permite un adecuado diagnóstico en el 99% de los casos (32,33). Los problemas que se presentan en el cribado y confirmación de anticuerpos del VIH son similares a los de otras pruebas de diagnóstico serológico, aunque en este caso adquieren una importancia mayor por las posibles consecuencias y la trascendencia clínica de la infección (26). Se pueden tener resultados falsos negativos en las pruebas de anticuerpos (presuntivos y confirmatorios), especialmente durante las primeras semanas de infección, durante el periodo de ventana inmunológica, cuando todavía no son detectables los anticuerpos (33) y en los estadios finales de la infección pueden desaparecer los anticuerpos contra algunas de las proteínas estructurales internas del virus (p24, p17, p55, etc.). En algunos individuos se ha comunicado la ausencia de criterios diagnósticos de positividad por western blot en los meses finales de la enfermedad, como consecuencia del intenso deterioro inmunitario y en los casos de individuos inmunosilenciosos en los cuales no se observan o se encuentran disminuidos los niveles de anticuerpos específicos para VIH.(13,26)

En las pruebas de anticuerpos también se pueden producir resultados falsos positivos, las causas de esto son variadas y puede depender de dos elementos: la técnica utilizada y las condiciones derivadas del paciente. Entre las causas debidas a condiciones del paciente se apunta repetidamente en la literatura médica a las reactividades por autoanticuerpos, a este respecto cabe señalar la presencia en la envoltura del VIH de antígenos del sistema HLA procedentes de la célula huésped, que explican, en parte, las falsas reactividades observadas en sueros de individuos trasplantados, multitransfundidos y otros con enfermedades autoinmunes (26).

En las pruebas de Western blot se presentan los resultados indeterminados, estos resultados son perfiles de reactividad que no son compatibles con los de un resultado positivo o una interpretación negativa. Dentro de las posibles explicaciones para la ocurrencia de estos resultados indeterminados está el hecho que en las tiras de nitrocelulosa donde se depositan los antígenos del VIH, contienen en mayor o menor cantidad proteínas de las células huésped en las que se ha cultivado el virus, observándose bandas de reactividad contra dichas proteínas (26), otros factores asociados son las infecciones con otros retrovirus, seroconversión reciente, condiciones o trastornos médicos no asociados a la infección por VIH. Estudios independientes han establecido una correlación de los resultados de western blot indeterminados con lupus eritematoso sistémico, artritis, factor reumatoide, la lepra, bilirrubina, gammapatías policlonales, y la hemodiálisis (18). Estos resultados indeterminados no facilitan una toma de decisiones clínicas y causan ansiedad de los pacientes (29).

4.5 Validación de métodos de ensayos de laboratorio

Después de la revisión realizada sobre la infección por el virus de VIH, las dificultades que tienen las pruebas de detección y la importancia de su diagnóstico a nivel individual y en salud pública, la evaluación de los métodos de ensayo utilizados en el diagnóstico se convierte en un aspecto necesario para obtener resultados confiables. Una de las maneras para garantizar un resultado confiable de una metodología diagnóstica es por medio de la validación del mismo.

Los conceptos de validación se comenzaron a utilizar en la industria farmacéutica a finales de los setenta. Para ese entonces su objetivo era proporcionar mayor seguridad en la esterilidad de productos de administración parenteral y posteriormente los requisitos se extendieron a otros procesos críticos de fabricación (34), luego se vio la necesidad de su implementación en otras regulaciones como las Buenas Prácticas de Manufactura, el consejo Europeo y la aplicación de las normas ISO para acreditación (ISO/IEC 17025 y ISO 15189)(34). Este término tiene aplicabilidad hoy en día a casi todos los aspectos relacionados con la producción de bienes y prestación de servicios.

La Validación la podemos definir como la confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista o el cumplimiento de las especificaciones de desempeño del método que declara el fabricante (34,35,36). Teniendo en cuenta lo anterior, se pueden realizar dos tipos de validaciones:

Validación primaria: Establecimiento de las especificaciones para el desempeño de un nuevo método y o verificación de que un método cumple con los criterios de calidad derivados teóricamente (35). Este tipo de validaciones se aplicará para los métodos no normalizados, los métodos que elaborados o diseñados por el laboratorio y los métodos normalizados a los cuales se les ha realizado algún tipo de modificación, esto con el fin confirmar que los métodos son aptos para el fin previsto.

Validación secundaria: Demostración mediante experimentos, de que un método establecido funciona de acuerdo con sus especificaciones cuando lo emplea el usuario (35). Esta validación secundaria también se conoce con el nombre de verificación, que de acuerdo al colegio americano de patólogos consiste en verificar que las especificaciones de rendimiento indicadas por el fabricante pueden ser alcanzadas o superadas en las condiciones del laboratorio, que es el usuario final. Este tipo de validación aplica para los métodos normalizados.

Toda validación tiene un alcance que dependerá de la naturaleza de los cambios hechos al aplicar un método a diferentes laboratorios, instrumentación, operadores y circunstancias en las cuales el método va a ser utilizado. La extensión y complejidad de la validación dependerá de los siguientes aspectos:

Se trata de un método de ensayo estandarizado y normalizado, que se aplica exactamente como está descrito en la norma

Se trata de una modificación a un método de ensayo normalizado, por ejemplo, se hicieron modificaciones a los métodos descritos en la norma que pueden tener una repercusión sobre la calidad de los resultados

Se trata de un método de ensayo interno, elaborado en el laboratorio y que no se encuentra en normas u otras colecciones de métodos La complejidad del procedimiento de validación es mayor en el último caso (37).

Los laboratorios deben determinar las características de funcionamiento del método de acuerdo a sus propias condiciones y establecer los parámetros de desempeño aplicables al mismo (38)

Los parámetros de desempeño a evaluar dependen de la metodología que se quiera aplicar y el tipo de validación que se decida hacer (38). Algunos de los parámetros más utilizados se mencionan a continuación: Exactitud, precisión, repetibilidad, reproducibilidad, selectividad, especificidad, sensibilidad, límite de detección, linealidad, límite de cuantificación, robustez, incertidumbre de los resultados.

Exactitud: expresa la cercanía de un resultado al valor verdadero (39).

Precisión: La precisión se define como el grado de concordancia entre los resultados de ensayos independientes obtenidos en condiciones bien definidas, por lo que la precisión evalúa la dispersión de los resultados de medidas replicadas sobre una misma muestra (38). Las medidas de precisión más comunes son la repetibilidad y la reproducibilidad (39).

En la repetibilidad, las medidas se llevan a cabo aplicando en mismo método, a un mismo material, en el mismo equipo con los mismos reactivos, por el mismo operador y en un intervalo corto de tiempo (una sesión de trabajo)(38). Cuando se trate de ensayos cualitativos el nombre usado para este parámetro es el acuerdo que corresponde a la

probabilidad de encontrar el mismo resultado en dos muestras idénticas, analizadas en el mismo laboratorio, bajo condiciones de repetibilidad. [ISO 16140:2003] (40).

En reproducibilidad las medidas se obtienen con el mismo método, sobre las mismas muestras, pero en laboratorios distintos, lo que supone reactivos, equipo, operador y condiciones ambientales distintos (38), este tipo de parámetros están asociados a los ensayos interlaboratorios. Puede ser que para algunos casos particulares, sea más útil una medida intermedia de la precisión, por ejemplo la precisión medida entre diferentes analistas, en períodos de tiempo prolongados, dentro de un mismo laboratorio. Esto se conoce como precisión intermedia (39). En ensayos cualitativos este parámetro se denomina concordancia y corresponde a la probabilidad de encontrar el mismo resultado en dos muestras idénticas, cuando son analizadas en condiciones de reproducibilidad o precisión intermedia (40).

Selectividad / Especificidad:

La selectividad es capacidad de un método para determinar exactamente y específicamente el analito de interés en presencia de otros componentes en una matriz de muestra bajo las condiciones de prueba establecidas (39). La selectividad extrema o perfecta, en el sentido de que únicamente el analito es el responsable de la señal medida, se denomina especificidad (38), este parámetro establece la capacidad de un método para medir solamente lo que se pretende que mida (39).

Sensibilidad: Se define como la capacidad o habilidad del método de detectar inequívocamente un analito/parámetro al analizar una muestra determinada (40).

Límite de detección se define como menor contenido que puede medirse con una certeza estadística razonable. La menor concentración del analito en una muestra que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse bajo las condiciones establecidas de la prueba. (39)

Linealidad: define la habilidad del método para obtener resultados de la prueba proporcionales a la concentración del analito. Este parámetro solo aplica para métodos cuantitativos. (39,41)

Límite de cuantificación: Los límites de cuantificación son características de desempeño que marcan la habilidad de un proceso de medición química para 'cuantificar' adecuadamente un analito (39).

Robustez: La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad de permanecer inalterado por variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante su uso normal (39). Ejemplos de estas variaciones son cambios de temperatura de almacenamiento, orden de adición de reactivos etc.

Incertidumbre de los resultados: Parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurando (39). Incluye los errores sistemáticos y aleatorios (37). La incertidumbre está asociada a la dispersión del resultado o intervalo dentro del cual tenemos cierta fiabilidad de que se encuentra el valor verdadero (42). En el caso de los ensayos cualitativos, la incertidumbre de medición para el resultado no puede expresarse directamente como ocurre en los métodos cuantitativos, por lo tanto para los métodos cualitativos la incertidumbre es la probabilidad de error asociada a la decisión tomada (42), en otras, la probabilidad de que un resultado sea erróneo.

La validación de un método analítico hace referencia no solamente al propio método sino a la aptitud de la totalidad del sistema analítico del laboratorio como tal de reproducir un proceso de medida con determinadas características y definido detalladamente en un protocolo de ensayo (38).

5. Metodología

Se realiza la validación secundaria o verificación de los estuches comerciales disponibles en Colombia para el diagnóstico confirmatorio de la infección por VIH-1: Western blot HIV blot 2.2, Davih blot y el inmunoblot de péptidos sintéticos y proteínas recombinante (INNO-LIA).

5.1 Ensayos utilizados en la validación

Los ensayos basados en el principio de western blot utilizados para esta validación:

Sistema para la detección de anticuerpos al virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) DAHIV BLOT. Edición Septiembre de 2005: Método cualitativo para la detección in vitro de anticuerpos al VIH-1 en muestras de suero y plasma, la técnica de inmunoelectrotransferencia identifica los anticuerpos dirigidos a cada una de las proteínas antigénicas del VIH-1. Esta técnica hace posible la confirmación de débiles seropositivos y el reconocimiento potencial de reacciones inespecíficas. (Laboratorios DAVIH 2005).

Ensayo HIV BLOT 2.2 de MP Diagnostics ensayo de transferencia western para VIH: es un inmunoensayo enzimático cualitativo para la detección in Vitro para la detección de anticuerpos al virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2) en suero o plasma. Este método es usado como un prueba complementaria en muestras de suero o plasma con resultados repetidamente reactivos en las pruebas de Ensayo inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA).

El ensayo de péptidos sintéticos y proteínas recombinante corresponde al ensayo INNO-LIA HIV I/II es un ensayo para confirmar la presencia de anticuerpos contra el VIH tipo 1

(VIH-1) y tipo 2 (VIH-2) en suero o plasma. Es un ensayo suplementario para muestras con resultados reactivos las pruebas de presuntivas.

El analito a determinar son anticuerpos frente al VIH en sueros y plasmas de origen humano.

5.2 Matrices

Las matrices utilizadas corresponden muestras de suero y plasma de origen humano. Características de las matrices:

Muestras de suero y plasma previamente caracterizadas sin anticuerpos detectables para VIH (Muestras No Reactivas/Negativas).

Muestras de suero y plasma previamente caracterizadas, con anticuerpos detectables para VIH. (Muestras Reactivas/Positivas)

5.3 Estimación del tamaño de muestra

Para el tamaño de muestra, se tuvo en cuenta las recomendaciones del protocolo de evaluación de CLSI (Instituto de estándares para los laboratorios clínicos) para desempeño en pruebas cualitativas (EP12-A3) destinadas para los usuarios de dichas pruebas (Validaciones secundarias, el cual recomienda un mínimo de 50 muestras positivas y negativas 50 (41). La OMS recomienda un numero de mayor o igual 30 muestras positivas y aproximadamente 200 muestras negativas para la validación.

Si bien es cierto para este tipo de validación la cantidad de 50 muestras positivas y negativas era suficiente, se realizó la estimación del tamaño de muestra utilizando información de la validación primaria presentada por los fabricantes de los métodos, determinando el tamaño de muestra a partir de una proporción, para los métodos seleccionados para esta validación corresponde a 80% de especificidad reportado por Laboratorios DAVIH (Davih Blot) .

$$n = \frac{Z^2 pq}{d^2}$$

Asumiendo una distribución normal de p , con un intervalo de confianza del 95% y un error máximo admisible de 0,05 (d).

$$n = (1,96)^2 \times (0,8) \times (0,2) / (0,05)^2$$

$$n = 246$$

De acuerdo a este método de estimación el número de muestras aproximadas es de 246 muestras.

El total de muestras utilizadas para la validación secundaria fueron 255, distribuidas de la siguiente manera:

Muestras de suero y plasma sin anticuerpos detectables para VIH: 197 muestras

Muestras de suero y plasma con anticuerpos detectables para VIH: 58 muestras

Ver distribución de muestras en la Tabla 1.

5.4 Obtención de las muestras

Muestras sin anticuerpos detectables para VIH

Muestras de suero sin anticuerpos detectables para VIH (No reactivas/Negativas)

Muestras de donantes con resultados No reactivos para los marcadores infecciosos de VIH, HTLV, Hepatitis C, Hepatitis B, Chagas y sífilis (67 muestras).

Estas muestras corresponden a donantes que se acercaron de manera voluntaria al Hemocentro Distrital de Bogotá y fueron sometidos a los criterios de selección y procedimientos establecidos por la normatividad aplicable a los bancos de sangre. Estas muestras fueron remitidas del Hemocentro Distrital al Laboratorio de Virología del INS anonimizadas.

Muestras obtenidas del programa de evaluación externa del desempeño en serología de la Región de América Latina organizado por International Consorcio for Blood Safety (ICBS), Organización Panamericana de la Salud (OPS) y Hemocentro de Sao Paulo (Brasil) correspondientes a los envíos realizados en los años 2008-2011 (OPS

0108, OPS 0208, OPS0109, OPS 0209, OPS 0110, OPS 0210, OPS 0111, OPS 0211 (Total 128 muestras). De estas 128 muestras se tenía información de la presencia de otros marcadores serológicos en 74 muestras, correspondientes a los paneles (OPS 0209, OPS 0110, OPS 0210, OPS 0111, OPS 0211). Dentro de Los marcadores serológicos presentes en estas muestras se encuentran Sífilis, HTLV, VHC (Hepatitis C virus), HBsAg (antígeno de superficie virus de la hepatitis B), anti-HBC (anticuerpos contra el core del virus de la hepatitis B, Anti HBsag (anticuerpos contra el antígeno de superficie Virus de Hepatitis B). Ver Tabla 2.

Muestras de plasma sin anticuerpos detectables para VIH: Panel comercial de título mixto anti VIH-1 Seracare PRB205M (2 muestras).

Muestras con anticuerpos detectables para VIH (Reactivas/Positivas):

Muestras de Suero: Muestras obtenidas del programa de evaluación externa del desempeño en serología de la Región de América Latina organizado por International Consortium for Blood Safety (ICBS), Organización Panamericana de la Salud (OPS) y Hemocentro de Sao Paulo (Brasil) correspondientes a los años 2008-2011 (23 muestras caracterizadas como Reactivas para VIH). Cada muestra de este panel fue caracterizada con tres pruebas presuntivas.

Muestras de plasma: Corresponden a muestras que hacen parte de la seroteca del Laboratorio de Virología del Instituto Nacional de Salud y son muestras caracterizados previamente como positivas para la infección por VIH. (15 muestras).

Panel comercial de título mixto anti VIH-1 Seracare PRB205M (20 muestras) 16 muestras positivas para la infección por VIH y 4 muestras con anticuerpos detectables en fase de seroconversión (reactivas)

Todas las muestras de suero y plasma se alicotaron en viales y se conservaron a -20° C. El listado de las muestras utilizadas en la verificación se encuentran en el Anexo 1.

Cada vial fue utilizado una sola vez para cada ensayo realizado para evitar varios ciclos de congelación y descongelación en las muestras.

Las muestras correspondientes al programa evaluación externa del desempeño en serología de OPS y las muestras de los donantes del Hemocentro Distrital fueron nuevamente tamizadas antes de la ejecución de los ensayos de inmunoblots.

Tabla 1. Caracterización de muestras

Caracterización		Matriz	Numero de muestras
Muestras sin anticuerpos detectables para VIH (No reactivas/ Negativas)	Panel OPS	Suero	128
	Panel Mixto PRB205	plasma	2
	Donantes de sangre	Suero	67
Muestras con anticuerpos detectables para VIH (positivas/reactivas)	Panel OPS	Suero	23
	Seroteca Grupo Virología	plasma	15
	Panel Mixto PRB205 Plasma.	plasma	20
Total muestras			255

Tabla 2. Distribución de muestras del panel de OPS con información de otros por marcadores serológicos positivos

Marcador serológico	Numero de muestras
Sífilis	9
HTLV	10
HCV	11
T. cruzi	20
Sífilis HCV	6
Sífilis / HTLV	1
HBsAg / Anti HBc	14
HTLV /Anti HBc/ Anti HBs	3
Sífilis	9
Total	74

5.5 Ejecución e interpretación de los ensayos

Los ensayos se ejecutaron siguiendo las recomendaciones del fabricante, todos los ensayos se realizaron con incubación nocturna (14-20 horas) dependiendo de las indicaciones del método.

Método INNO-LIA HIV I/II el cual se ejecuta según los lineamientos establecidos en el Método del Fabricante INNOGENETICS siguiendo el Método INX22206 25431v13 2011-01-14.

Este método detecta anticuerpos para VIH-1 frente a los antígenos sintéticos gp120 y gp 41, p31, p24 y p17. Este método también detecta anticuerpos contra el VIH-2 para los antígenos gp36 y gp 105.

La interpretación de los resultados se realizó de acuerdo a lo definido por el método INNOLIA:

Interpretación de un resultado como negativo:

Si todas las líneas son negativas menor de +/-

Si una línea es +/- y las demás líneas son negativos

Interpretación de un resultado como positivo:

Si una línea de envoltura y p24 es mayor o igual a 1+.

Si dos líneas de envoltura del mismo tipo de VIH son positivas mayor o igual a 1+.

Si dos líneas de envoltura y la línea del antígeno p24 son positivas mayor o igual a 1+.

Si tres líneas son positivas mayores o iguales a 1+ y una de estas líneas es de envoltura.

Interpretación de un resultado como Indeterminado:

Si una línea es positiva mayor o igual a 1+ y las otras líneas son negativas o +/-

Si dos o más líneas son positivas mayor o igual a 1+, pero no cumple con los criterios de positividad establecidos anteriormente.

Método HIV blot 2.2 MP el cual se ejecuta según los lineamientos establecidos en el Método del Fabricante MP Diagnostics siguiendo el Método Western blot assay MAE 0011-ENG-1 03/07. Este método detecta anticuerpos frente a los antígenos descritos en la Tabla 3.

Tabla 3. Anticuerpos detectados con HIV blot 2.2

Gen	Proteínas	
	Peso molecular	Naturaleza del antígeno
<i>env</i>	gp 160	Precursor gp 120 y gp 41
<i>env</i>	gp 120	Glicoproteína de membrana externa
<i>pol</i>	p66	Transcriptasa inversa
<i>gag</i>	p55	Precursor proteínas de núcleo
<i>pol</i>	P51	Transcriptasa inversa
<i>env</i>	gp41	Glicoproteína transmembrana
<i>pol</i>	p31	Endonucleasa
<i>gag</i>	p24	Proteína de núcleo
<i>gag</i>	p17	proteína de núcleo

Este método también tiene un péptido sintético para VIH-2

La interpretación de los resultados se realizó de acuerdo a las recomendaciones definidas por el método HIV blot 2.2.

Interpretación de un resultado como negativo: Ninguna banda vírica específica o detección de anticuerpos contra p17 únicamente sin ninguna otra banda.

Interpretación de un resultado como Positivo: Detección de 2 antígenos de envoltura más bandas gag o pol.

Interpretación de un resultado como dudoso (indeterminado) Cualquier banda específica presente, pero no cumple con el patrón de los criterios para positivo.

Sistema para la detección de anticuerpos al virus de inmunodeficiencia humana tipo 1(VIH-1) DAHIV BLOT

Se ejecutó de acuerdo a las instrucciones del manual para usuario. Laboratorios DAVIH, edición septiembre de 2005.

Este sistema permite detectar anticuerpos contra los productos genómicos descritos en la tabla 4.

Tabla 4. Anticuerpos detectados con DAVIH Blot

Gen	Proteínas	
	Peso molecular	Naturaleza del antígeno
<i>env</i>	gp 160	Precursor gp 120 y gp 41
<i>env</i>	gp 120	Glicoproteína de membrana externa
<i>pol</i>	p68	polimerasa
<i>gag</i>	p53-55	Precursor proteínas de núcleo
<i>env</i>	gp41	glicoproteína transmembrana
<i>pol</i>	p34	Endonucleasa
<i>gag</i>	p24	Proteína de núcleo
<i>gag</i>	p17	proteína de núcleo

La interpretación de los resultados se realizó de acuerdo a lo definido por el método DAHIV BLOT

Interpretación de un resultado como Negativo:

No se observan bandas de los genes estructurales (*env,gag,pol*) o solamente aparece la p17.

Interpretación de un resultado como Positivo: con dos bandas de *env* y pueden estar o no bandas de *gag* o *pol*.

Interpretación de un resultado como Indeterminado:

Una banda de *env* y pueden estar o no bandas *gag* y *pol*.

Solamente bandas *gag* y *pol*

Solamente con bandas *gag*

Solamente con bandas *pol*

Las muestras utilizadas fueron ordenadas de forma diferente para la para cada uno de los ensayos.

5.6 Parámetros a evaluar

Para evaluar el desempeño del método se tendrán en cuenta los siguientes parámetros aplicables a métodos cualitativos:

Repetibilidad que en este caso por ser un método cualitativo lo denomina acuerdo, este parámetro será evaluado mediante el montaje de 16 muestras que fueron seleccionadas de forma aleatoria del Panel comercial de título mixto anti VIH-1 Seracare PRB205M y el panel de OPS. El análisis determinará la probabilidad de obtener un mismo resultado en muestras idénticas, en condiciones de repetibilidad (Mismo analista, mismo día, mismo lote de reactivo, mismo método y mismas condiciones ambientales).

Reproducibilidad: que para los métodos cualitativos recibe el nombre de concordancia, corresponde a la probabilidad de encontrar el mismo resultado en muestras idénticas, cuando son analizadas en condiciones de reproducibilidad o precisión intermedia, para este parámetro se realizara la secuencia detallada para la repetibilidad o acuerdo en diferente día de montaje y diferente analista.

Especificidad/selectividad, para el enfoque de análisis cualitativo, corresponden a la correcta caracterización de muestras negativas, para este ejercicio corresponde a las muestras sin anticuerpos detectables de acuerdo a la caracterización y que son identificadas correctamente como negativas según el criterio de negatividad definido por cada ensayo.

Sensibilidad: Para el enfoque de análisis cualitativo, corresponden a la correcta caracterización de muestras positivas, para este ejercicio corresponde a las muestras con anticuerpos detectables de acuerdo a la caracterización y que son identificadas correctamente como positivas según el criterio de positividad definido por cada ensayo.

Exactitud: Es la proximidad entre los resultados de la prueba obtenidos mediante el ensayo y el valor verdadero. Para el enfoque de análisis cualitativo, corresponden a la correcta caracterización de muestras positivas/negativas, es decir verdaderas positivos/verdaderos negativos. Este parámetro evaluará la capacidad de los métodos para identificar de manera inequívoca aquellas muestras caracterizadas como sin anticuerpos detectables (Negativas/no reactivas) y con anticuerpos detectables para VIH (Positivas y Reactivas), frente a criterios de positividad/negatividad establecidos.

Tasa de falsos negativos y tasa de falsos positivos: El análisis de estos parámetros corresponde a establecer falsas caracterizaciones de las muestras analizadas frente a la caracterización definida.

Error asociado al resultado de ensayo: es el equivalente de la incertidumbre en los ensayos cualitativos, para este ejercicio el análisis de este parámetro corresponde a establecer los Cocientes de Probabilidad positivo y negativos asociados al resultado de ensayo como un indicador del desempeño del método.

En la medida en que los valores de las razones de verosimilitud son mayores de 1 hacia el infinito en el caso de la positiva o hacia cero en la negativa; mejor será el cociente y la información que aporte a la prueba.

5.7 Análisis estadístico

El análisis de datos se realizó utilizando los programas estadísticos epidat 3.1, stata 9.2 y hoja de cálculos de Excel utilizada para la formulación de la diferencia de proporciones en dos poblaciones.

6.Resultados

6.1 Resultados Validación secundaria Ensayo INNO- LIA

Acuerdo y concordancia

El acuerdo observado para cada uno de los analistas (analista 1 y 2) en las réplicas realizadas el mismo día de corrida es del 100% para el método evaluado. Análisis realizado con el programa estadístico stata 9.2 (Índice kappa 1.0; *p*-valor: 0,000). La concordancia observada en condiciones de precisión intermedia (analistas y días de ejecución de ensayo diferentes) es del 100% para el método. Programa estadístico utilizado epidat 3.1 (*p* valor: 0,000). Los resultados obtenidos para el acuerdo y la concordancia se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados ejercicio de Acuerdo y concordancia INNO-LIA.

IDENTIFICACION MUESTRA	RESULTADO INNO LIA							
	DIA 1		DIA 1		DIA 2		DIA 2	
	ANALISTA 1		ANALISTA 2		ANALISTA 1		ANALISTA 2	
	REPLICA 1	REPLICA 2	REPLICA 1	REPLICA 2	REPLICA 1	REPLICA 2	REPLICA 1	REPLICA 2
OPS 0209 -15	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
OPS 0209 -21	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
OPS 0209 -23	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
OPS 0110 -8	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
OPS 0110 -11	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
OPS 0210 -18	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
OPS 0111 -9	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
OPS 0211 -3	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
OPS 0211 -13	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
PRB205 -9	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
PRB205 -13	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
PRB205 -14	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
PRB205 -17	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
PRB205 -19	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
PRB205 -21	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
PRB205 -22	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO

Especificidad, sensibilidad, Exactitud, tasas de falsos positivos y negativos y cocientes de probabilidad.

Los parámetros de sensibilidad y especificidad para los 3 métodos se calculan de acuerdo a una tabla de contingencia de 2x2. Teniendo en cuenta que en los tres métodos (INNO-LIA, HIV blot 2.2 y DAVIH blot) se obtuvieron resultados indeterminados, se redefinen las variables de acuerdo a lo descrito en la tabla 6.

Tabla 6. Definición de variables tabla de contingencia para los Métodos de ensayo

		Caracterización de criterio: muestra con anticuerpos detectables	
		SI	NO
Ensayo evaluado	SI	a	b
	NO	c	d

- a. Corresponde a las muestras con anticuerpos detectables, identificadas correctamente como positivas de acuerdo al criterio de positividad definido por cada ensayo.
- b. Corresponde a las muestras sin anticuerpos detectables que no fueron identificadas correctamente como negativas de acuerdo al criterio de negatividad definido por el ensayo (Incluye los resultados indeterminados obtenidos). Los resultados indeterminados se asumen como una desviación a la caracterización de criterio establecida.
- c. Corresponde a las Muestras con anticuerpos detectables que no fueron identificadas correctamente como positivas por el ensayo, Incluye los resultados negativos e indeterminados obtenidos. Los resultados negativos y indeterminados se asumen como una desviación a la caracterización de criterio establecida
- d. Corresponde a las muestras sin anticuerpos detectables que identificadas correctamente como negativos por el ensayo.

De las 58 muestras con anticuerpos detectables para VIH utilizadas, fueron identificadas correctamente como positivas por el ensayo INNO-LIA 54 muestras, (93,1%). Las cuatro muestras que no fueron identificadas correctamente corresponden a muestras del panel mixto VIH-1 Seracare PRB205M en fase de seroconversión. Estas muestras fueron identificadas como negativas por este método.

De las 197 muestras sin anticuerpos detectables fueron identificadas correctamente como negativas 195 (99%) y 2 (1%) como indeterminadas. De las muestras con resultados indeterminados una pertenece al panel de OPS y es positiva para el marcador serológico HTLV y presenta una reactividad en la banda p31, la segunda corresponde a las muestras de los donantes de sangre con reactividad en la banda p17.

Tabla 7. Tabla contingencia ensayo INNOLIA (Epidat 3.1)

		Caracterización de criterio: muestra con anticuerpos detectables	
		SI	NO
Ensayo INNO-LIA	SI	54	2
	NO	4	195
	TOTAL	58	197

Sensibilidad: 93,1 % IC (85,7-100,0)

Especificidad: 99,0 % IC (97,3-100,0)

Exactitud: 97,6 % IC (95,6 -99,7)

Tasa de falsos Positivos: 1,02 % IC (0,38-2,42)

Tasa de falsos negativos: 6,90% IC (0,38-13,42)

Cociente de probabilidad positivo (índice de verosimilitud Positiva): 91,7 IC

(23,0-364,8)

Cociente de probabilidad negativo (índice de verosimilitud Negativo): 0,07 IC (0,03-0,18).

La sensibilidad observada para el método cuando no se tiene en cuenta las muestras en fase de seroconversión es del 100% IC (99,0-100,0)

6.2 Resultados Validación secundaria Ensayo HIV blot 2,2

Acuerdo y concordancia

El acuerdo observado para cada uno de los analistas (analista 1 y 2) en las réplicas realizadas el mismo día de corrida es del 100% para el método HIV blot 2.2 evaluado. Análisis realizado con el programa estadístico stata 9.2 (Índice kappa 1.0; *p valor: 0,000*).

La concordancia observada en condiciones de precisión intermedia (analistas y días de ejecución de ensayo diferentes) es del 100% para el método. Programa estadístico utilizado epidat 3.1 (*p valor: 0,000*).

Estos resultados se presentan en la tabla 8

Tabla 8. Resultados ejercicio de Acuerdo y concordancia HIV blot 2.2

IDENTIFICACION MUESTRA	RESULTADO HIV BLOT 2,2							
	DIA 1		DIA 1		DIA 2		DIA 2	
	ANALISTA 1		ANALISTA 2		ANALISTA 1		ANALISTA 2	
	REPLICA 1	REPLICA 2	REPLICA 1	REPLICA 2	REPLICA 1	REPLICA 2	REPLICA 1	REPLICA 2
OPS 0209 -15	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
OPS 0209 -21	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
OPS 0209 -23	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
OPS 0110 -8	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
OPS 0110 -11	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
OPS 0210 -18	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
OPS 0111 -9	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
OPS 0211 -3	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
OPS 0211 -13	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
PRB205 -9	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
PRB205 -13	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
PRB205 -14	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
PRB205 -17	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
PRB205 -19	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
PRB205 -21	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
PRB205 -22	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO

Resultados Especificidad, sensibilidad, exactitud, tasas de falsos positivos y negativos y cocientes de probabilidad ensayo HIV blot 2.2

De las 58 muestras con anticuerpos detectables para VIH seleccionadas, fueron identificadas correctamente como positivas por el ensayo HIV blot 2.2 54 muestras (93,1%).

Las cuatro muestras que no fueron identificadas correctamente corresponden a muestras del panel mixto VIH-1 Seracare PRB205M en fase de seroconversión:

Una muestra fue identificada como negativa y 3 muestras fueron identificadas como indeterminadas por el método.

De las 197 muestras sin anticuerpos detectables fueron identificadas correctamente como negativas 129 (65,5%) y 68 (34,5%) como indeterminadas.

De las muestras con resultados indeterminados, 50 corresponden al panel de OPS y 18 corresponden a las muestras de los donantes de sangre.

Tabla 9. Tabla de contingencia Ensayo HIV blot 2,2 (Epidat 3.1)

		Caracterización de criterio: muestra con anticuerpos detectables	
		SI	NO
Ensayo HIV blot 2,2	SI	54	68
	NO	4	129
	TOTAL	58	197

Sensibilidad: 93,1 % IC (85,7-100,0)

Especificidad: 65,5% IC (58,6-72,4)

Exactitud: 71,8 % IC (66,0-77,5)

Tasa de falsos Positivos: (1- Especificidad): 34,5 % IC (27,9-41,2)

Tasa de falsos negativos:(1- Sensibilidad): 6,90 % IC (0,38-13,42)

Cociente de probabilidad positivo (índice de verosimilitud Positiva): 2,7 IC (2,20- 3,31)

Cociente de probabilidad positivo (índice de verosimilitud Positiva): 0,11 IC (0,04-0,27).

La sensibilidad observada para el método cuando no se tiene en cuenta las muestras en fase de seroconversión es del 100% IC (99,0-100,0)

Muestras con resultados indeterminados para HIV blot 2.2

Como se mencionó anteriormente 68 (34,5%) de las muestras sin anticuerpos detectables (Negativas/ No reactivas) para VIH, fueron indeterminadas por el método HIV blot 2.2. Los resultados de acuerdo a la caracterización de las muestras se presentan en la tabla 10.

Tabla 10. Muestras sin anticuerpos detectables para VIH con resultados indeterminados para HIV Blot 2.2

Caracterización de las muestras		No. De muestras	No. de Muestras con resultados indeterminados
Panel OPS	Sin información sobre otros marcadores serológicos	52	13
	Positivas para otros marcadores serológicos	74	35
	Negativas para otros marcadores serológicos	4	2
Donantes de sangre	Negativas para otros marcadores serológicos	67	18

La distribución por marcador serológico de las 74 muestras sin anticuerpos detectables (Negativos/ No reactivos) con información sobre otros marcadores serológicos positivos y con resultado indeterminado por el método HIV blot 2.2 se presentan en la tabla 11.

Tabla 11. Resultados indeterminados en muestras con otros marcadores serológicos positivos para HIV Blot 2.2

No. de muestras con otros marcadores serológicos positivos			No. de muestras con resultado indeterminados
Un marcador serológico positivo	Sífilis	9	5
	HTLV	10	3
	HCV	11	5
	T. cruzi	20	11
Dos o más marcadores serológicos positivos	Sífilis HCV	6	4
	Sífilis / HTLV	1	1
	HBsAg / Anti HBc	14	4
	HTLV /Anti HBc/ Anti HBs	3	2
	TOTAL	74	35

El patrón de reactividad para los antígenos de VIH-1 predominante en las muestras sin anticuerpos detectables con resultados indeterminados, es la banda p24 en 67 muestras (98,5%), esta banda se observa como única banda en 66 muestras (97,1%) y en una muestra está acompañada con reactividad en p17. Una muestra se observa reactividad en p55 y p66 correspondiendo al 1,5% del total de muestras.

En las tres muestras con anticuerpos detectables identificadas como indeterminadas por el método HIV blot 2,2 las bandas observadas corresponden a las proteínas p24 y gp160. Los patrones de reactividad en las muestras indeterminadas para el ensayo HIV blot 2.2, se presentan en la tabla 12.

Tabla 12. Patrones de positividad en muestras indeterminadas por HIV blot 2.2

Muestras con resultados indeterminados		Bandas identificadas HIV blot 2.2				
		p17	p24	p51	p66	gp160
Muestras Positivas/Reactivas	3	---	3	---	---	3
Muestras negativas/No reactivas	68	1	67	1	1	0

6.3 Resultados Validación secundaria Ensayo DAVIH Blot

Acuerdo y concordancia

El acuerdo observado para cada uno de los analistas (analista 1 y 2) en las réplicas realizadas el mismo día de corrida es del 100% para el método DAVIH blot. Análisis realizado con el programa estadístico stata 9.2 (Índice kappa 1.0; *p* valor: 0,000).

La concordancia observada en condiciones de precisión intermedia (analistas y días de ejecución de ensayo diferentes) es del 100% para el método. Programa estadístico utilizado epidat 3.1 (*p* valor: 0,000). Ver resultados tabla 13

Tabla 13. Resultados acuerdo y concordancia DAVIH blot.

IDENTIFICACION MUESTRA	RESULTADO DAVIH							
	DIA 1		DIA 1		DIA 2		DIA 2	
	ANALISTA 1		ANALISTA 2		ANALISTA 1		ANALISTA 2	
	REPLICA 1	REPLICA 2	REPLICA 1	REPLICA 2	REPLICA 1	REPLICA 2	REPLICA 1	REPLICA 2
OPS 0209 -15	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
OPS 0209 -21	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
OPS 0209 -23	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
OPS 0110 -8	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
OPS 0110 -11	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
OPS 0210 -18	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
OPS 0111 -9	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
OPS 0211 -3	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
OPS 0211 -13	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND	IND
PRB205 -9	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
PRB205 -13	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
PRB205 -14	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
PRB205 -17	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
PRB205 -19	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
PRB205 -21	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
PRB205 -22	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO

Resultados Especificidad, sensibilidad, exactitud, tasas de falsos positivos y negativos y cocientes de probabilidad ensayo DAVIH Blot.

De las 58 muestras con anticuerpos detectables para VIH utilizadas, fueron identificadas correctamente como positivas por el ensayo DAVIH blot 52 muestras (89,7%).

Las 6 muestras que no fueron identificadas correctamente hacen parte del panel mixto VIH-1 Seracare PRB205M. Cuatro de estas muestras corresponden a muestras en fase de seroconversión: dos muestras fueron identificadas como negativas y 2 muestras fueron identificadas como indeterminadas por el método.

Las otras dos muestras corresponden a muestras positivas que fueron identificadas como indeterminadas por el método.

De las 197 muestras sin anticuerpos detectables fueron identificadas correctamente como negativas 54 (27,4%) y 143 (72,6%) como indeterminadas.

De las muestras con resultados indeterminados, 88 corresponden al panel de OPS y 55 otra corresponden a las muestras de los donantes de sangre.

Tabla 14. Tabla de contingencia ensayo DAVIH Blot (Epidat 3.1)

		Caracterización de criterio: muestra con anticuerpos detectables	
		SI	NO
Ensayo DAVIH Blot	SI	52	143
	NO	6	54
	Total	58	197

Sensibilidad: 89,7 % IC (81,0-98,3)

Especificidad: 27,4 % IC (20,9 -33,9)

Exactitud: 71,8 % IC (66,0-77,5)

Tasa de falsos Positivos: (1- Especificidad): 72,6 % IC (66,4- 78,9)

Tasa de falsos negativos:(1- Sensibilidad): 10,3 % IC (2,5 -18,2)

Cociente de probabilidad positivo (índice de verosimilitud Positiva): 1,24 IC (1,1- 1,4)

Cociente de probabilidad positivo (índice de verosimilitud Positiva): 0,38 IC (0,2-0,83)

La sensibilidad observada para el método cuando no se tiene en cuenta las muestras en fase de seroconversión es del 96,4 % IC (90,7-100,0) Muestras con resultados indeterminados para DAVIH Blot.

143 (72,6%) de las muestras sin anticuerpos detectables (No reactivas /Negativas) para VIH, fueron indeterminadas por el método DAVIH Blot.

Los resultados de acuerdo a la caracterización de las muestras se presentan en la tabla 15.

Tabla 15. Muestras con resultados indeterminados para DAVIH Blot

Caracterización de las muestras		No. De muestras	No. de Muestras con resultados indeterminados
Panel OPS	Sin información sobre otros marcadores serológicos	52	21
	Positivas para otros marcadores serológicos	74	64
	Negativas para otros marcadores serológicos	4	3
Donantes de sangre	Negativas para otros marcadores serológicos	67	55

La distribución por marcador serológico de las 74 muestras sin anticuerpos detectables (Negativos/ No reactivos) con información sobre otros marcadores serológicos positivos y con resultado indeterminado por el método DAVIH Blot se presentan en la tabla 16.

Tabla 16. Resultados indeterminados en muestras con otros marcadores serológicos positivos método DAVIH Blot

No. de muestras con otros marcadores serológicos positivos			No. de muestras con resultado indeterminados
Un marcador serológico positivo	Sífilis	9	9
	HTLV	10	8
	HCV	11	10
	T. cruzi	20	17
Dos o más marcadores serológicos positivos	Sífilis HCV	6	5
	Sífilis / HTLV	1	1
	HBsAg / Anti HBc	14	13
	HTLV /Anti HBc/ Anti HBs	3	1
TOTAL		74	64

El patrón de reactividad para los antígenos de VIH-1 predominante en las muestras sin anticuerpos detectables con resultados indeterminado es la banda p53-55 observado en el 90,9 % de las muestras (130), seguida por p24 en un 77,6% (111 muestras).

El 90,9% de estas muestras el patrón de reactividad se caracteriza por la presencia de dos o más bandas, se observaron como únicas bandas p53-55, p24 y gp 120 en solo 8, 5 y 2 muestras respectivamente.

En las cuatro muestras positivas o reactivas con resultados indeterminados p53-55 se observa en las cuatro muestras, p24 en tres muestras, p17 en dos muestras y gp41, p68 y gp120 en una muestra.

Los patrones de reactividad para los antígenos de VIH-1 observados en las muestras con resultados indeterminados para el ensayo DAVIH Blot se muestran en la tabla 17.

Tabla 17. Patrones de positividad en muestras indeterminadas DAVIH Blot.

Muestras con resultados indeterminados		Bandas identificadas						
		17	24	34	41	53-55	68	120
Muestras Positivas/Reactivas	4	2	3		1	4	1	1
Muestras negativas/No reactivas	143	88	111	14	-	130	19	11

Los resultados obtenidos para cada método y los patrones de reactividad en las muestras sin anticuerpos para VIH se observan en el Anexo 1 y 2.

El resumen de los resultados obtenidos por cada método se encuentra descrito en el Anexo 3.

6.4 Comparación entre los resultados experimentales observados con los métodos y las declaraciones del fabricante

Para establecer si los métodos evaluados de comportan de acuerdo a las declaraciones establecidas por el fabricante en su validación primaria en los parámetros de sensibilidad y especificidad (únicos datos suministrados), se realiza una diferencia de proporciones en dos poblaciones, de acuerdo a la fórmula:

$$z_{prueba} = \frac{\frac{x_1}{n_1} - \frac{x_2}{n_2}}{\sqrt{p(1-p) \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

Diferencia de proporciones para el ensayo INNOLIA:

De acuerdo a la información suministrada por el fabricante del método en el inserto INNO-LIA HIV I/II INX22206 25431v13, los parámetros de la sensibilidad y especificidad fueron establecidos para el método de la siguiente manera:

Sensibilidad: Se analizaron 273 muestras clínicas y 262 fueron identificadas como positivas observándose una sensibilidad del 96%.

Especificidad: Se analizaron 300 muestras de donantes de sangre y el método identifico como negativas 290, 206 muestras clínicas y el método identifico como negativas 198 y de 124 muestras de interferencia el método identifico como negativas 117. Total de muestras analizadas 630, total de muestras identificadas como negativas por el método 605 para una especificidad reportada por el método del 96%.

Al realizar la comparación entre estos parámetros reportados por el fabricante y los datos obtenidos experimentalmente con el método (Sensibilidad: 93,1 % y Especificidad: 99,0), se estima para la sensibilidad un estadístico de prueba (z) de -0,81, Intervalo de Confianza 95% (-9,79 y 4,06), p-valor de 0,21 y para el parámetro de especificidad el estadístico de prueba estimado es de 2,80 con Intervalo de Confianza del 95% de 0,88 y 5,023, p-valor: 0,997.

Los resultados obtenidos de la comparación de proporciones con la herramienta de chi cuadrado:

Para la sensibilidad Pearson Chi Cuadrado = 0.9090 p= 0.340

Para Especificidad Pearson Chi Cuadrado = 4.1437 p= 0.042

Diferencia proporciones Ensayo HIV BLOT 2,2.

De acuerdo a la información suministrada por el fabricante del método en el inserto MAE 0011-ENG-1 03/07, los parámetros de la sensibilidad y especificidad fueron establecidos de la siguiente manera:

Sensibilidad: El estudio de sensibilidad de la reactividad del antígeno vírico del VIH-1 en muestras seropositivas, para 197 muestras se muestra en la tabla 18.

Tabla 18. Estudio de sensibilidad de la reactividad del antígeno vírico.

Perfil serológico	HIV blot 2.2 Numero (%)
GAG, POL Y ENV	192 (97,5%)
p24,p31, gp41 y/o gp120/160	187 (94,9%)
ENV y GAG o POL	197 (100%)

Especificidad: Se realizó el estudio de la especificidad de la reactividad del antígeno vírico del VIH-1 en muestras de donantes sanos (208 muestras) y 50 muestras con otras infecciones virales, para un total de 258 muestras analizadas. El método detecto como negativas 237 muestras (197 muestras correspondientes a los donantes sanos y 40 de las muestras con otras infecciones virales). Al realizar el cálculo con estos datos se obtiene una especificidad del 91,9%.

Al realizar la comparación entre los datos declarados por el fabricante y los datos obtenidos experimentalmente (Sensibilidad: 93,1 % y Especificidad: 65,5%) se observa:

Para el parámetro de sensibilidad de 97,5% se estima un estadístico de prueba (z) de -1,24 con un Intervalo de Confianza del 95% (IC) entre -11,24 y 2,52 *p-valor*: 0,11.

Al comparar la proporción para sensibilidad de 94,9% el estadístico de prueba (z) es -0,50 con un Intervalo de Confianza del 95% (IC) entre -9,02-5,38 *p- valor*: 0,31.

La sensibilidad del 100% reportada por el fabricante no se tiene en cuenta para realizar la comparación teniendo en cuenta que el perfil serológico no incluye claramente el criterio de positividad definido.

Para la especificidad el estadístico de prueba (z) obtenido es de -6,96; IC del 95% entre -33,8 y -18,94, *p- valor*: 0,00.

Los resultados obtenidos de la comparación de proporciones con la herramienta de chi cuadrado:

Para la sensibilidad reportada por el fabricante del 97,5% el valor de chi cuadrado es = 2.499 $p= 0.114$ y Chi Cuadrado para la sensibilidad de 94,9% y Chi cuadrado de = 0.2862 $p = 0.593$.

Para la Especificidad el valor de Pearson chi cuadrado = 49.398 y $p= 0.000$.

Para los ensayos de INNOLIA y HIV blot 2.2 no se estima la diferencia de proporciones y chi cuadrado, cuando la sensibilidad se estima excluyendo las cuatro muestras en fases de seroconversión ya que el método alcanza una sensibilidad del 100%.

Diferencia proporciones Ensayo DAVIH Blot

De acuerdo a la información suministrada por el fabricante del método en el manual del usuario del Sistema para la detección de anticuerpos al virus de inmunodeficiencia humana tipo 1(VIH-1) DAHIV BLOT. Edición Septiembre de 2005:

Sensibilidad: Se analizaron 21 muestras positivas, el sistema detecto correctamente 20. Observándose una sensibilidad del 95%.

Especificidad: Se analizaron 35 muestras negativas, el sistema detecto correctamente 28, observándose una especificidad 80%.

Al realizar la comparación entre los datos declarados por el fabricante y los datos obtenidos experimentalmente en el cual se incluyen todas las muestras (Sensibilidad: 89,7 % y Especificidad: 27,4 %) se observa:

Para el parámetro de sensibilidad se estima un estadístico de prueba (z) de -0,91 con un Intervalo de Confianza del 95 (IC) entre -17,60 y 6,43 *p-valor*: 0,18. Cuando se compara la sensibilidad experimental sin incluir las muestras en fase de seroconversión se obtiene un estadístico de prueba (z) de -0,20 con un Intervalo de Confianza del 95 (IC) entre -9,35 y 11,47 *p-valor*: 0,58.

Para la especificidad el estadístico de prueba (z) obtenido es de -7,04; IC del 95% entre -67,23 y -37,94, *p-valor*: 0,00.

Los resultados obtenidos de la comparación de proporciones con la herramienta de chi cuadrado:

Para la Sensibilidad incluyendo todas las muestras el valor del estadístico Pearson chi cuadrado = 0.5951 y $p= 0.440$; la Sensibilidad sin incluir las muestras de seroconversión se obtiene un estadístico de Pearson Chi Cuadrado = 0.04 y $p = 0.83$.

Para Especificidad, el valor de Pearson chi cuadrado = 35.9670 y $p= 0,000$.

6.5 Resultados de la concordancia entre los ensayos de western blot y los inmunoblots de péptidos sintéticos y proteínas recombinantes

Al comparar la concordancia global de los resultados entre el ensayo INNOLIA (péptidos sintético) y el ensayo HIV blot 2,2 (western blot) se obtiene un índice de concordancia o índice kappa de 0,484, *p.valor*= 0,000.

En el análisis por separado de la concordancia de los resultados correspondientes a las muestras caracterizadas con anticuerpos detectables para VIH y las que no tienen anticuerpos detectables para estos dos métodos se observa:

Concordancia en muestras con anticuerpos detectables para VIH (Reactivas/ positivas):
Indice Kappa= 0.608, p valor 0.00.

Concordancia en muestras sin anticuerpos detectables para VIH (No Reactivas/
Negativas): Indice Kappa= -0, 020, p valor 0.849.

Al comparar la concordancia global de los resultados entre el ensayo INNOLIA (péptidos sintético) y el ensayo DAVIH blot (western blot) se obtiene un índice de concordancia o índice kappa de 0,251 p-valor 0,000.

La concordancia por separado de los resultados correspondientes a las muestras caracterizadas con anticuerpos detectables para VIH y las que no tienen anticuerpos detectables para estos dos métodos es la siguiente:

Concordancia en muestras con anticuerpos detectables para VIH (Reactivas/ positivas):
Indice Kappa= 0,577, p valor 0,000.

Concordancia en muestras sin anticuerpos detectables para VIH (No Reactivas/
Negativas): Indice Kappa= -0,020, p valor =0,990

Al comparar la concordancia global entre los dos ensayos de western blot HIV blot 2.2 y DAVIH blot se observa una concordancia o índice Kappa de 0,449 p-valor: 0,000.

La concordancia disgregada entre los resultados de las muestras con anticuerpos detectables para VIH y las que no tienen anticuerpos detectables entre HIV blot 2.2- DAVIH blot fue:

Concordancia en muestras con anticuerpos detectables para VIH (Reactivas/ positivas):
Indice Kappa= 0.679, p valor 0,000.

Concordancia en muestras sin anticuerpos detectables para VIH (No Reactivas/
Negativas) : Indice Kappa= 0.172, p valor 0,001.

7. Discusión

De acuerdo al análisis de los resultados estadísticos de comparación de los métodos, el ensayo INNO-LIA HIV I/II, siguiendo el método INX22206 25431v13 2011-01-14, exhibe los atributos declarados por el fabricante en los parámetros de sensibilidad/especificidad y se comporta de acuerdo a las especificaciones para el uso previsto con las muestras y las condiciones de laboratorio (equipos, analistas, condiciones ambientales) bajo las cuales se desarrolló este ejercicio de validación secundaria.

El ensayo HIV BLOT 2.2 Western blot assay siguiendo el método MAE 0011-ENG-1 03/07 exhibe los atributos declarados por el fabricante, en este caso para la sensibilidades reportadas de 94,9% y el 97,5%. El ensayo DAHIV BLOT Edición septiembre de 2005 también tiene una sensibilidad acorde a lo declarado por el respectivo fabricante.

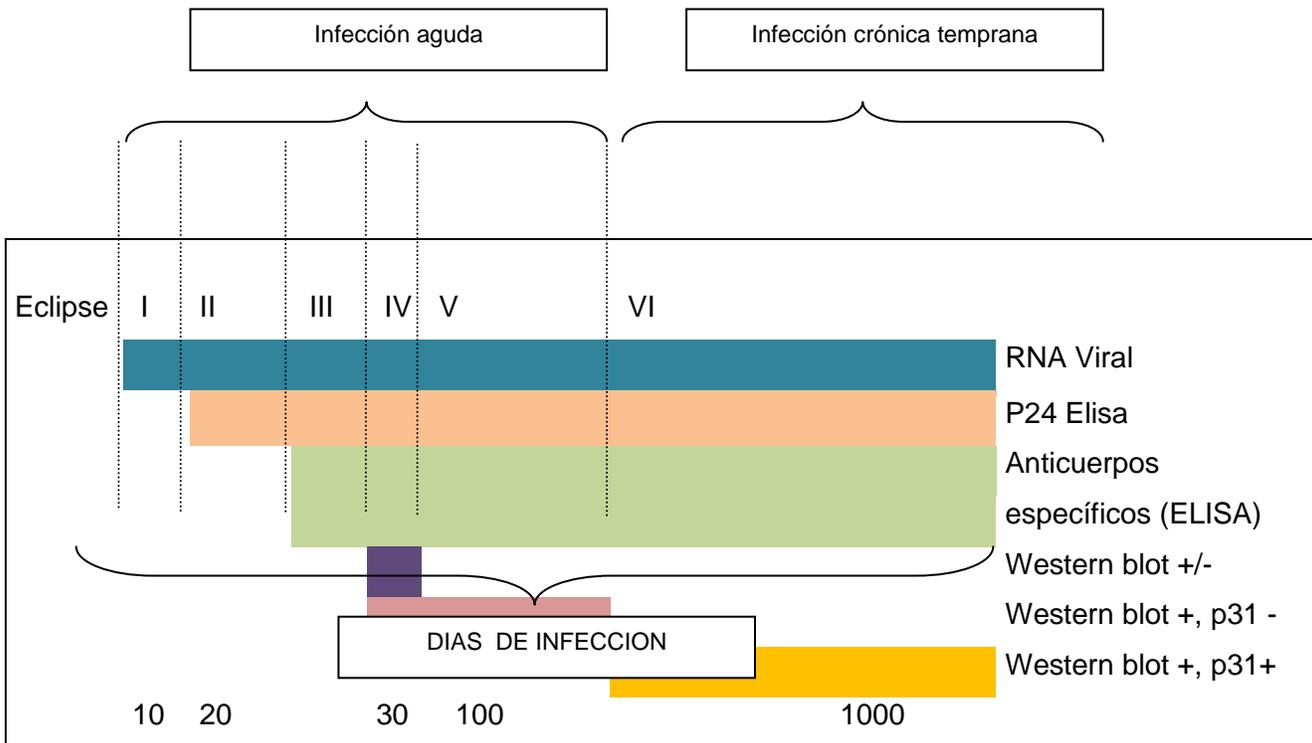
Para el parámetro de especificidad los métodos HIV BLOT 2.2 Western blot assay y Davih blot, no se comportan de acuerdo a lo declarado por el fabricante con las muestras y las condiciones de laboratorio bajo las cuales se realizó este ejercicio de validación secundaria. A pesar de no cumplir con el criterio de la especificidad sin embargo se comportan de acuerdo a las especificaciones para el uso previsto.

De igual manera que en la sensibilidad la herramienta seleccionada para definir el comportamiento de los métodos en el parámetro de la especificidad fue la diferencia de proporciones, teniendo en cuenta que el valor de p para el estadístico Chi cuadrado para el método INNO-LIA HIV I/II, está muy cercana a la zona de decisión $p=0.042$, para este método la especificidad alcanzada es mayor que la reportada por el fabricante.

El uso previsto de los tres métodos de ensayo (INNOLIA, HIV blot 2,2 y DAVIH blot), es ser ensayos suplementarios para confirmar la presencia de anticuerpos frente al VIH en muestras con resultados reactivos en las pruebas de presuntivas.

Las muestras de individuos en estadios tempranos de la infección por VIH-1 han mostrado que las primeras semanas después de la infección, se pueden dividir en etapas clínicas que se definen por la aparición gradual de los antígenos y anticuerpos específicos al VIH-1 (43,44), con una fase de eclipse que se define como el tiempo transcurrido entre la infección y la detección de los ácidos nucleicos del virus (44). Las fases están categorizadas de la I a la VI (Estadios de Fiebig) y se caracterizan por la positividad en los ensayos para el diagnóstico clínico (ARN viral detectado por PCR, Antígenos p24 y p36 detectados por Ensayos Inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA), Anticuerpos específicos al VIH-1 detectados por ELISA y anticuerpos específicos detectados por Western blot) (28,43). Los pacientes progresan de la fase aguda a la fase crónica temprana al final de la fase V, aproximadamente 100 días después de la infección (43). Como se muestra en la Figura 1.

Figura 1. Fases de la infección aguda por VIH



Adaptado de The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development. *Nat Rev Immunol.* 2010; 10(1): 11–23.

Lo anterior explica porque las muestras correspondientes al panel de seroconversión PRB205M clasificadas en la fase III de la infección aguda (PRB205M-06, PRB205M-07, PRB205M-12 y PRB205M-24) no fueron identificadas como positivas por ninguno de los tres métodos (Ver tabla 19).

En las fases iniciales de la infección aguda los ensayos de inmunoblots sean de péptidos sintéticos o de antígenos virales (Inmunoensayos en línea y western blot) no tienen la capacidad para detectar anticuerpos específicos contra el VIH-1 ya que los anticuerpos presentes no están en la cantidad y contra todas las proteínas virales específicas para que estos métodos pueda identificarlas correctamente. Figura 1. En esta fase de la infección son más sensibles las pruebas presuntivas debido a que pueden detectar todas las inmunoglobulinas e incluso antígenos p24 si es una prueba de cuarta generación (13).

La realización de las pruebas confirmatorias para VIH-1 en las fases iniciales de la infección, es una de las posibles causas para la obtención de resultados indeterminados en estos ensayos (13,29) o negativas tal como observamos en este ejercicio. Estas cuatro muestras que se encuentran en fase III de la infección aguda, presentan las razones más bajas de reactividad o positividad en las pruebas presuntivas (inmunoensayos) usados por el fabricante para caracterizar el panel, no todas los inmunoensayos detectaron la presencia de anticuerpos al VIH-1 tal como se muestra en el Anexo 4. La detección de los anticuerpos al VIH en los inmunoblots es mejor durante la fase V de la infección aguda, aproximadamente 30 días post infección cuando aparecen los anticuerpos específicos al VIH. Figura1.

El ensayo DAVIH Blot, tiene dificultades para identificar como positivas muestras clasificadas en la fase V de la infección aguda. Las muestras PRB205M-01 y PRB205M-15 fueron identificadas como indeterminadas por este ensayo. (Ver Tabla 19).

Tabla 19. Fases infección aguda y resultados obtenidos con los métodos

IDENTIFICACION MUESTRA	FASE DE INFECCION AGUDA	RESULTADO INNO LIA	BANDAS	RESULTADO HIV BLOT 2,2	BANDAS	RESULTADO DAVIH BLOT	BANDAS
PRB205 -1	V	POSITIVO	24, gp41	POSITIVO	p24, gp120, 160	INDETERMINADO	p17,24,53 - 55,68, gp120
PRB205 -6	III	NEGATIVO	-	INDETERMINADO	p24, gp160	INDETERMINADO	p53-55
PRB205 -7	III	NEGATIVO	-	INDETERMINADO	p24, gp160	INDETERMINADO	p24,53-55
PRB205 -12	III	NEGATIVO	-	INDETERMINADO	p24, gp160	NEGATIVO	-
PRB205 -15	V	POSITIVO	17,24, gp41, 120	POSITIVO	p17,24,55, gp120,160	INDETERMINADO	p17,24,41 ,53-55
PRB205 -24	III	NEGATIVO	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	-

Ninguno de los tres métodos identificaron adecuadamente las cuatro muestras en la fase de seroconversión III, el método INNO-LIA de péptidos sintéticos descarta la infección por VIH al identificar las cuatro muestras como negativas, mientras los métodos HIV blot 2.2 y Davih blot identifican como indeterminados tres y dos muestras respectivamente, sin embargo, en la práctica clínica el diagnóstico de la infección por VIH generalmente se realiza después de los 30 días de adquirir la infección (fase V de la infección aguda), momento en que se espera que los ensayos de inmunoblots (western blot y péptidos sintéticos) identifiquen los anticuerpos específicos, de acuerdo a lo descrito en la figura 1.

Con respecto a los resultados indeterminados en las muestras sin anticuerpos detectables para VIH (No reactivas/ negativas), el menor porcentaje de resultados indeterminados se observa en el método INNO-LIA 1 % (dos muestras), seguido por el Método HIV blot 2.2 con el 34,5 % (68 muestras) y Davih Blot con el 72,6 % (143 muestras). Estos resultados coinciden con lo reportado en la bibliografía sobre el hecho de que en los inmunoblots de péptidos sintéticos disminuye el número de resultados indeterminados (2, 8,9).

La frecuencia y las causas de los resultados indeterminados en los ensayos de western blot en muestras sin anticuerpos para VIH, se han descrito ampliamente. La frecuencia de los resultados indeterminados puede variar de estuche a estuche (kit de reactivo utilizado: purificación antígeno, criterios de interpretación etc), de territorio a territorio, de población a

población (29). Estudios relacionan que estos resultados se pueden presentar hasta en un 32% de adultos sanos y en algunos casos los pacientes pueden permanecer indeterminados en las pruebas de seguimiento (45), se han encontrado resultados indeterminados en comunidades con baja prevalencia sin aparentes factores de riesgo para el VIH (46,47); estudios independientes en donantes de sangre con resultados negativos en las pruebas presuntivas iniciales revelaron que los patrones de Western blot indeterminados eran comunes en donantes (29). Se han documentado reportes de resultados indeterminados en diferentes cohortes y territorios: población de donantes en Estados Unidos (14,5 y 45,4%), India (11,4%) y Nigeria (29,6%), en población general Perú documenta un 37,1% de resultados indeterminados y en gestantes Brasil y Camerún reportan porcentajes del 10.5 y 8% respectivamente (29).

Dentro de las causas asociadas a los resultados indeterminados en los western blot que no están relacionados con exposiciones al virus se han descrito las siguientes: enfermedades inmunes tales como lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjogren's, factor reumatoide, condiciones médicas como enfermedades malignas, lepra, infecciones parasitarias, transfusiones frecuentes, usuarios de drogas intravenosas, enfermedades hepáticas, embarazos múltiples (25, 26,48), infecciones con HTLV y otros retrovirus, participación en estudios de ensayos de vacunas (26,48,49,50) y la presencia en la membrana de envoltura del VIH antígenos leucocitarios humanos (HLA) que pueden dar lugar a falsas reactividades (26) y finalmente las asociadas a los diseños de los estuches de western blot, que han relacionado la unión de anticuerpos a los componentes celulares no virales resultantes de la preparación de antígeno (26,48) y los criterios de interpretación (29,51).

Las anteriores causas pueden estar asociadas a los resultados indeterminados observados en los métodos que utilizan antígenos virales evaluados en esta validación secundaria:

Para el método Davih Blot en las muestras caracterizadas como sin anticuerpos detectables para VIH (No reactivas/Negativas) correspondientes a los paneles de OPS con la presencia de anticuerpos para otros marcadores serológicos y las muestras procedentes de donantes de sangre se observó un porcentaje de resultados indeterminados del 86,5% y 81,2% respectivamente (tabla 15). Para el método HIV blot 2.2 el porcentaje para las mismas matrices corresponde al 47,3% y 26,9% (tabla 10).

Para los dos métodos HIV blot 2.2 y Davih blot en las muestras con otros marcadores serológicos positivos, el mayor número de resultados indeterminados se observa en las muestras positivas para T. cruzi (31,4% y 26,6%), HCV (14,3% y 15,6%), Sífilis (14,3% y 14,1%) y HTLV (8,6% y 12,5%) respectivamente y en las muestras con más de un marcador serológico reactivo el mayor número de resultados indeterminados se observa en las muestras con HBsAg / Anti HBc (11,3% y 20,6%) y Sífilis/HCV (11,4% y 7,8%) (Tablas 11, 16).

La banda más frecuentemente observada en los resultados indeterminados es la reactividad a la proteína viral p24 (29, 52, 53,54) estos reportes coinciden con lo observado en los resultados de la validación; p24 fue la banda más observada en los resultados indeterminados para el método HIV blot 2.2 (98,5%) y la segunda más observada en el método Davih blot 76,6%.

Los resultados globales muestran una concordancia moderada (índice kappa de 0,41-0,60) entre el ensayo de péptido sintético INNOLIA y el ensayo de western HIV blot 2,2 (Índice kappa= 0,484) y entre los métodos de western blot HIV blot 2.2 y DAVIH blot se observa una concordancia similar (índice kappa =0,449).

La concordancia global observada entre ensayo de péptido sintético INNOLIA y el ensayo de western blot, Davih blot es de 0,251, lo que corresponde a una concordancia leve (índice kappa de 0,21- 0,40).

Al realizar por separado la concordancia de las muestras, con anticuerpos detectables para VIH y las que no tienen anticuerpos, el índice Kappa de las muestras con anticuerpos detectables entre INNO-LIA -HIV blot 2.2 y Davih blot- HIV blot 2.2 es de 0,608 y 0,679 respectivamente lo que corresponde a una concordancia buena o sustancial, entre INNO-LIA - DAVIH blot la concordancia es moderada con un índice kappa de 0,577.

Para las muestras sin anticuerpos para VIH, el índice Kappa entre INNO-LIA - DAVIH blot y INNO-LIA -HIV blot 2.2 la concordancia es pobre, con índice kappa de -0,020 y la concordancia entre Davih blot y HIV 2.2 se observa una concordancia leve con índice Kappa de 0,172.

8. Conclusiones y recomendaciones

8.1 Conclusiones

Aunque los resultados de la validación secundaria de los métodos ensayos INNO-LIA, HIV blot 2,2 y Davih blot muestran un desempeño acorde con el uso previsto definido por el fabricante del método: realizar la confirmación de la presencia de anticuerpos frente al VIH en muestras con resultados reactivos las pruebas de presuntivas, de acuerdo a lo observado con las muestras utilizadas en esta verificación de debe considerar:

Los métodos no tienen la sensibilidad para detectar los anticuerpos específicos durante las fases iniciales de la infección (fase de la infección aguda por VIH), el método que mostro una mejor detección de reactividad en estas muestras en fase de seroconversión fue HIV blot 2.2 (3 resultados indeterminados de las 4 muestra en fase aguda)

Estas dificultades en la sensibilidad de los métodos se deben fundamentalmente al hecho que los anticuerpos solo empiezan a producirse a partir de la fase III de la infección aguda y los anticuerpos presentes durante esta fase no están dirigidos a todas las proteínas virales relacionadas con los criterios de positividad para los ensayos de inmunoblots (WB y LIA), observándose resultados negativos o indeterminados en los ensayos confirmatorios. En la práctica clínica las pruebas confirmatorias se realizan luego de dos resultados reactivos en las pruebas presuntivas, por esta razón un resultado indeterminado siempre amerita un seguimiento clínico, que consiste en la realización de una nueva determinación de anticuerpos de 1 a 3 meses o la realización de una prueba de detección de ácidos nucleicos, en el caso de los resultados negativos se realiza seguimiento siempre que exista una alta sospecha de primoinfección.

Se observa una menor proporción de resultados indeterminados en los inmunonensayos que utilizan con antígenos péptidos sintéticos y proteínas recombinantes.

En los métodos de ensayo que usan como antígenos lisados virales, se observan resultados indeterminados por encima del 40% en las muestras no reactivas para VIH pero positivas para otros marcadores serológicos y resultados indeterminados superiores a 20% en las matrices correspondientes a los donantes de sangre.

Con respecto a la concordancia, se esperaría que independiente del principio WB o IB de péptidos sintéticos los tres métodos deberían realizar una caracterización similar de las muestras analizadas, es decir se deberían obtener los mismos resultados con los tres ensayos o al menos entre los dos métodos que tienen el mismo principio de inmunoelectrotransferencia (HIV blot 2.2 y Davih blot), sin embargo los resultados muestran que el grado de concordancia global entre los métodos que utilizan como antígenos péptidos sintéticos y los que utilizan proteínas propias del virus en las muestras seleccionadas se encuentra por debajo del criterio de acuerdo esperado entre dos métodos (índice Kappa superior a 0,6), cuando se analizan de forma separada, la concordancia para las muestras con anticuerpos detectables para VIH es buena (índice kappa entre 0,61-0,80) entre los ensayos LIA – HIV blot 2.2 y HIV blot 2.2 - DAVIH blot y moderada entre los ensayos LIA y David Blot.

Para las muestras sin anticuerpos detectables la concordancia LIA – HIV blot 2.2 y LIA-David Blot se interpreta como pobre (Índice Kappa menor de 0) y la concordancia HIV blot 2.2 - DAVIH blot es leve (Índice Kappa 0-0,2). Estos resultados muestran una mejor concordancia entre el método de HIV blot 2.2 (WB) y el IB de péptido sintético INNO-LIA. Adicionalmente la concordancia entre los métodos mejora cuando se comparan por separado los resultados de las muestras Reactivas/positivas.

La variabilidad en los resultados de la especificidad y las diferencias observadas en la concordancia entre los métodos, pueden ser explicadas por las razones mencionadas en la discusión: Diseño del kit comercial, purificación del antígeno, criterios de interpretación del fabricante, características de la población de la que se obtuvo la muestras.

Los dos métodos de western blot utilizados en este estudio (HIV blot 2.2 e INNOLIA no exhiben la característica de especificidad que se espera de las pruebas confirmatorias, sin embargo de manera general mostraron positividad en las muestras con resultados reactivos en las pruebas presuntivas (con excepción de las cuatro muestras de los

paneles de seroconversión), es decir los métodos presentan un buen desempeño para la confirmación de anticuerpos específicos frente al VIH.

Estos resultados muestran que las ensayos confirmatorias de WB o IB de péptidos sintéticos no deben ser aplicadas a muestras no reactivas para VIH, debido a que se incrementa el porcentaje de resultados indeterminados en estos ensayos.

8.2 Recomendaciones

Los resultados obtenidos de la validación secundaria de los métodos evaluados sugieren:

Al utilizar las pruebas confirmatorias de WB de péptidos sintéticos en el algoritmo diagnóstico de la infección por VIH, se deben considerar las limitantes de estos métodos: Fase de la infección en la que se está realizando el diagnóstico, características de los individuos (inmunosilenciosos, presencia de otras infecciones, enfermedades autoinmunes, embarazo etc) y las limitantes relacionadas con el diseño del estuche.

Resultados negativos en las pruebas de western blot con resultados reactivos en las pruebas presuntivas, no descartan la infección por VIH. Esto puede ocurrir en las fases iniciales de la infección cuando las pruebas de western Blot no detectan anticuerpos específicos para VIH haciéndose necesario realizar un seguimiento de uno a tres meses pruebas para la detección de anticuerpos o realizar ensayos de carga viral

Estos resultados también sugieren un replanteamiento del algoritmo nacional para el diagnóstico de la infección por VIH, tal como la inclusión de la carga viral como estrategia en la identificación de la infección y no solo para el diagnóstico de menores de 18 años y en el seguimiento clínico de los individuos con la infección como lo plantea el algoritmo actual, realizar un análisis de la costo- efectividad de la utilización del western blot como el único ensayo para la confirmación de la infección por VIH y evaluar la inclusión de los Inmunoensayos en Línea, como una alternativa en el algoritmo diagnóstico.

Anexos

Anexo1. Caracterización de la muestras y resultados por método.

ORIGEN MUESTRAS	IDENTIFICACION MUESTRA	CARACTERIZACION REAL	RESULTADO INNO LIA	RESULTADO HIV BLOT 2,2	RESULTADO DAVIH BLOT
Panel OPS	OPS 0108 -1	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -2	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -3	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -4	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -6	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -7	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0108 -8	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -9	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0108 -10	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0108 -11	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -12	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0108 -13	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -14	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -15	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -16	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -17	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0108 -18	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -19	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -20	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0108 -21	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0108 -22	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0108 -23	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0108 -24	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0208 -1	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0208 -2	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0208-3	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0208 -5	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Panel OPS	OPS 0208 -7	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0208 -8	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0208 -9	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0208 -10	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0208 -11	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0208 -12	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0208 -13	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0208 -14	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0208 -15	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0208 -16	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0208 -17	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0208 -19	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0208 -20	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0208 -21	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0208 -22	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0208 -23	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0208 -24	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0109 -1	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0109 -2	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0109 -3	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0109 -4	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0109 -5	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0109 -6	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0109 -8	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0109 -9	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0109 -10	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0109 -11	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0109 -12	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0109 -13	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0109 -14	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0109 -15	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO

Panel OPS	OPS 0109 -17	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0109 -18	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0109 -19	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0109 -22	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0109 -24	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0209 -1	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0209 -2	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0209 -3	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0209 -4	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0209 -5	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0209 -6	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0209 -8	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0209 -10	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0209 -11	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0209 -12	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0209 -13	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0209 -14	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0209 -15	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0209 -16	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0209 -20	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0209 -21	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0209 -23	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0209 -24	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -1	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0110 -2	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -3	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0110 -4	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -5	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -6	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -7	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -8	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO

Panel OPS	OPS 0110 -9	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -10	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -11	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -12	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -13	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0110 -14	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -15	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -16	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -17	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -18	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -19	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0110 -21	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0110 -24	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -2	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -3	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -5	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -7	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -8	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -9	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -10	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -11	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -12	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -13	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -15	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -16	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -18	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -19	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -20	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -22	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -23	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0210 -24	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO

Panel OPS	OPS 0111 -2	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0111 -3	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0111 -5	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0111 -6	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0111 -7	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0111 -8	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0111 -9	REACTIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel OPS	OPS 0111 -11	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0111 -12	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0111 -13	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0111 -15	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0111 -16	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0111 -17	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0111 -18	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0111 -19	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0111 -20	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0111 -23	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0111 -24	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0211 -1	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0211 -3	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0211 -5	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0211 -6	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0211 -8	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0211 -10	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0211 -12	NO REACTIVO	INDETERMINADO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0211 -13	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0211 -15	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0211 -17	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Panel OPS	OPS 0211 -21	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0211 -22	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	NEGATIVO
Panel OPS	OPS 0211 -23	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Panel comercial	PRB205 -1	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	INDETERMINADO
Panel comercial	PRB205 -2	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel comercial	PRB205 -4	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel comercial	PRB205 -5	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel comercial	PRB205 -6	REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel comercial	PRB205 -7	REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Panel comercial	PRB205 -9	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel comercial	PRB205 -10	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel comercial	PRB205 -11	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel comercial	PRB205 -12	REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	NEGATIVO
Panel comercial	PRB205 -13	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel comercial	PRB205 -14	NO REACTIVO/NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel comercial	PRB205 -15	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	INDETERMINADO
Panel comercial	PRB205 -16	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel comercial	PRB205 -17	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel comercial	PRB205 -19	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel comercial	PRB205 -20	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel comercial	PRB205 -21	NO REACTIVO/NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel comercial	PRB205 -22	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel comercial	PRB205 -23	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Panel comercial	PRB205 -24	REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Panel comercial	PRB205 -25	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V001	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V002	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V003	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V004	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V005	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V006	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V007	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V008	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO

Seroteca Virologia	V009	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V010	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V011	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V012	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V013	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V014	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Seroteca Virologia	V018	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
Donantes de Sangre	V019	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V020	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Donantes de Sangre	V021	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V022	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Donantes de Sangre	V023	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V024	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V025	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Donantes de Sangre	V026	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	NEGATIVO
Donantes de Sangre	V027	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V028	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	NEGATIVO
Donantes de Sangre	V029	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Donantes de Sangre	V030	NO REACTIVO	INDETERMINADO	NEGATIVO	NEGATIVO
Donantes de Sangre	V031	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Donantes de Sangre	V032	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V033	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V034	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V035	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V036	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V037	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V038	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V039	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V040	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V041	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V042	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO

Donantes de Sangre	V043	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V044	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V045	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V046	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V047	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V048	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V049	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V050	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V051	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V052	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V053	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V054	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V055	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V056	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V057	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V058	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V059	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V060	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V061	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V062	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V063	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V064	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V065	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V066	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V067	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V068	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V069	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V070	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V071	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V072	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V073	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Donantes de Sangre	V074	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Donantes de Sangre	V075	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V076	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V077	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V078	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V079	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V080	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V081	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V082	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO
Donantes de Sangre	V083	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
Donantes de Sangre	V084	NO REACTIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO	NEGATIVO
Donantes de Sangre	V085	NO REACTIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	INDETERMINADO

Anexo 2. Patrones de bandas observadas en las muestras sin anticuerpos detectables para VIH (No reactivas/ Negativas) para cada método.

IDENTIFICACION MUESTRA	INNO LIA	VIH1 17	VIH1 31	HIV BLOT 2,2	17	24	41	51	66	DAVIH BLOT	17	24	34	41	53-55	68	120
OPS 0108 -1	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -2	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -3	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -4	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -6	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -7	NEGATIVO	-	-	IND	-	-	-	x	x	IND	x	-	-	-	x	x	-
OPS 0108 -8	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -10	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	-	x	-	-	-	-	-
OPS 0108 -11	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -13	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -14	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -15	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -16	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -17	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
OPS 0108 -18	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -19	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -20	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
OPS 0108 -21	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
OPS 0108 -22	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0108 -24	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -1	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -2	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -5	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -8	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -9	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -10	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -11	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -12	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -13	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -14	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -15	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0208 -16	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0208 -19	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -21	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -22	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0208 -24	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0109 -1	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	xd	-	x	-	-
OPS 0109 -2	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0109 -4	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	-	xd	-	-	x	xd	-
OPS 0109 -5	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	xd	-	-	-	-	-

OPS 0109 -6	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	xd	-
OPS 0109 -8	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0109 -10	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0109 -12	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0109 -13	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	xd	-	-	-	-	-
OPS 0109 -14	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	-	-	-	x	-	-
OPS 0109 -15	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	xd	-	-
OPS 0109 -17	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	xd	-	-
OPS 0109 -19	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	x	-	-	xd	-	-
OPS 0109 -22	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0209 -2	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	-	-	-	x	-	-
OPS 0209 -3	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	-	-	-	x	-	-
OPS 0209 -4	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0209 -5	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0209 -6	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	x	-	x	-	x	-	-
OPS 0209 -8	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	x	-
OPS 0209 -10	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	-	-	-	x	-	-
OPS 0209 -11	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	-	-	-	xd	-	-
OPS 0209 -12	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	x	-	-	-	x	-	-
OPS 0209 -14	NEGATIVO	-	-	IND	x	x	-	-	-	IND	x	-	-	-	x	-	-
OPS 0209 -15	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	xd	-	-	x	-	-
OPS 0209 -20	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0209 -21	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	xd	-	-	x	-	-
OPS 0209 -24	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	-	-	-	xd	-	-
OPS 0110 -2	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	-	-	-	x	-	-
OPS 0110 -4	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	-	-	-	xd	-	-
OPS 0110 -5	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0110 -6	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	x	xd	xd	-	x	-	-
OPS 0110 -7	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	x	xd	-	x	x	-
OPS 0110 -9	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
OPS 0110 -10	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	x	-
OPS 0110 -11	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0110 -12	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	xd	-	-	x	xd	-
OPS 0110 -14	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	-	-	-	-	xd	xd	-
OPS 0110 -15	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0110 -16	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0110 -17	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	xd	-	-	-	x	-	-
OPS 0110 -18	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0110 -21	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
OPS 0110 -24	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0210 -2	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0210 -3	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	-	-	-	xd	x	-
OPS 0210 -5	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	x	-
OPS 0210 -7	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
OPS 0210 -8	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	xd	xd	-	x	-	-
OPS 0210 -9	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	xd	x	-	x	-	-
OPS 0210 -10	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	xd	x	-	x	xd	-
OPS 0210 -11	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	xd	-	x	-	-
OPS 0210 -12	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	xd	-	-
OPS 0210 -13	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	-	-	-	-	-	-

OPS 0210 -15	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	x	xd	-	-	x	-	-
OPS 0210 -16	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	IND	x	x	-	-	x	x	xd
OPS 0210 -18	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0210 -19	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0210 -20	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	-	-	x
OPS 0210 -22	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	x	x	x	-	x	x	-
OPS 0210 -23	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0210 -24	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0111 -2	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	IND	x	x	-	-	x	x	-
OPS 0111 -3	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0111 -5	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	x	xd	-	-	x	-	-
OPS 0111 -6	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0111 -7	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	x	-	-	-	x	-	-
OPS 0111 -8	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0111 -11	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	IND	-	xd	-	-	xd	-	-
OPS 0111 -12	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0111 -13	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0111 -15	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0111 -16	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0111 -17	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0111 -18	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	x	xd	-	-	x	-	-
OPS 0111 -19	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	IND	x	x	-	-	x	xd	-
OPS 0111 -20	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0111 -23	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	xd	xd	-	-	x	-	-
OPS 0111 -24	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	-	-	x
OPS 0211 -1	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0211 -3	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0211 -5	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	IND	-	xd	-	-	xd	-	-
OPS 0211 -6	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	-	-	-	-	xd	-	-
OPS 0211 -8	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	-	xd	-	-	-	-	-
OPS 0211 -10	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	IND	-	x	-	-	xd	-	-
OPS 0211 -12	IND	-	x	NEGATIVO	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0211 -13	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
OPS 0211 -15	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	-	xd	-	-	xd	-	-
OPS 0211 -17	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	-	x	-	-	-	-	-
OPS 0211 -21	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0211 -22	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
OPS 0211 -23	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
PRB205 -14	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
PRB205 -21	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
V019	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	IND	-	x	-	-	xd	-	-
V020	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
V021	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	-	-	-	-	-	-	x
V022	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	xd	-	-
V023	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	-	xd	-	-	x	-	-
V024	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	IND	-	-	-	-	x	-	-
V025	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
V026	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	NEGATIVO	0	0	0	0	0	0	0

V027	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	-	xd	-	-	x	-	-
V028	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	NEGATIVO	xd	-	-	-	xd	-	-
V029	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
V030	IND	x	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
V031	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
V032	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
V033	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
V034	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
V035	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	-	-	-	-	x	-	x
V036	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
V037	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
V038	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
V039	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	-	-	-	xd	-	x
V040	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	-	x	-	xd	-	-
V041	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	-	-	-	x	-	-
V042	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	-	x	-	xd	-	-
V043	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	x	-	x	-	-
V044	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	xd	x	-	-	x	-	-
V045	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
V046	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
V047	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	-	-	-	x	-	-
V048	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
V049	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	xd	-
V050	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	x	-
V051	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
V052	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	xd	-	-
V053	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	x	-
V054	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
V055	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	x
V056	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
V057	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	x	x	x	-	x	-	-
V058	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
V059	NEGATIVO	-	-	IND	-	xd	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
V060	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	x	-	-	xd	-	-
V061	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
V062	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
V063	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
V064	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
V065	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-
V066	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	xd	-	-	xd	-	-
V067	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	-	-	-	x	x	-
V068	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	x	x	-	xd	-	-
V069	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	-	-	-	xd	-	-
V070	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	x	-	-	xd	-	-
V071	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	x
V072	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	-	-	-	x	-	-
V073	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
V074	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
V075	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-
V076	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	IND	x	x	-	-	x	-	-

V077	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	xd	-	-	xd	-	-
V078	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	xd
V079	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	xd	-	-	-	-	-
V080	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	xd	-	-	-	-	x
V081	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	-	-	-	x	-	-
V082	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	-	-	-	-	-	x
V083	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
V084	NEGATIVO	-	-	IND	-	x	-	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	-	-
V085	NEGATIVO	-	-	NEGATIVO	-	-	-	-	-	IND	-	x	-	-	x	-	-

IND= Indeterminado

d= Reactividad débil.

Anexo 3. Resumen de los resultados por Método.

RESULTADOS POR MÉTODOS	INNOLIA	HIV BLOT 2.2	DAVIH BLOT
Muestras con anticuerpos detectables identificadas como positivas	54	54	52
Muestras con anticuerpos detectables identificadas como Negativas	4	1	2
Muestras con anticuerpos detectables identificadas como indeterminadas	0	3	4
Muestras sin anticuerpos detectables identificadas como negativas	195	129	54
Muestras sin anticuerpos detectables identificadas como indeterminadas	2	68	143
Total	255	255	255

Anexo 4. Resultados inmunoensayos utilizados en la caracterización de las muestras del panel mixto PRB205 (M)

HIV Antigen/Antibody (s/co) ¹					
Panel Member	Abbott HIV Ag/Ab Combo ARCHITECT	Abbott HIV Ag/Ab Combo AxSYM	Abbott HIV Ag/Ab Combo PRISM	Bio-Rad Genscreen Ultra HIV Ag/Ab Combo	DiaSorin Murex HIV Ag/Ab Combo
PRB205(M)-01	16	8.5	3.1	>10.5	16.3
PRB205(M)-02	710.6	65.5	45.7	>10.5	18.8
PRB205(M)-03	48.9	24	28.6	>10.5	16.0
PRB205(M)-04	645.9	49.9	43.2	>10.5	18.0
PRB205(M)-05	527.1	52.7	40.1	>10.5	17.1
PRB205(M)-06	2.2	3.2	1.8	8.2	4.2
PRB205(M)-07	7.3	12.1	5.2	>10.5	12.4
PRB205(M)-08	489.3	73.9	158.1	>10.5	19
PRB205(M)-09	253.6	41.5	39.7	>10.5	16.9
PRB205(M)-10	440	40.1	36.1	>10.5	16.6
PRB205(M)-11	325.9	38.3	32.5	>10.5	18.6
PRB205(M)-12	12.9	7.8	6.7	4.6	8.1
PRB205(M)-13	210.1	17.2	15.5	>10.5	16.9
PRB205(M)-14	0.3	0.5	0.1	0.5	0.3
PRB205(M)-15	116.9	9.1	16.1	>10.5	15.6
PRB205(M)-16	285.9	53.7	33.3	>10.5	19.3
PRB205(M)-17	121.6	5.5	7.3	>10.5	16.6
PRB205(M)-18	11.8	9.3	4.9	>10.5	14.4
PRB205(M)-19	22.3	10.6	5.3	>10.5	16.2
PRB205(M)-20	606.7	76.6	38.5	>10.5	16.8
PRB205(M)-21	0.3	0.5	0.1	0.7	0.2
PRB205(M)-22	446.7	40.8	28	>10.5	15.5
PRB205(M)-23	181.2	14	13.8	>10.5	16.2
PRB205(M)-24	8.8	3.9	4.9	2.7	3.2
PRB205(M)-25	217.6	31.5	27.5	>10.5	17.4
Test Date	25-Aug-10	08-Sep-10	23-Aug-10	28-Sep-10	26-Aug-10, 27-Aug-10
Test Site	RL	RL	RL	SC	RL
Kit Part Code	4J27-30	2G8320	7G46-48	72386	7G79-09
Kit Lot No.	89341HN00	89051LF01	91727HN00	OF1056	L377210
Kit Exp. Date	19-Jan-11	22-Oct-10	27-Jan-11	30-Nov-11	31-Jan-11

¹ Immunoassay results are means of duplicates expressed as signal to cutoff ratios (s/co). Ratios \geq 1.0 are considered reactive and noted in red.

Panel member 3 is no longer available; data are provided for informational purposes only.

POS = positive; NEG = negative; BLD = below the limit of detection; IND = indeterminate; NA = not available, NT = not tested
MFG = Manufacturer; RL = Reference Lab; SC = SeraCare




Tomado de la página web de seracare: <http://www.seracare.com/>.

Bibliografía

1. Centers for Disease Control. Current Trends Update: Serologic Testing for Antibody to Human Immunodeficiency Virus. MMWR 1988; 36(52);833-845.
2. World Health Organization .Report of the WHO meeting on criteria for the evaluation and standardization of diagnostic tests for the detection of HIV antibody 1987.
3. Centers for Disease Control. Revised Guidelines for HIV Counseling, Testing, and Referral. MMWR 2001; 50(RR19);1-58
4. Centers for Disease Control Interpretation and Use of the Western Blot Assay for Serodiagnosis of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infections. MMWR 1989;38(S-7);1-7
5. World Health Organization. HIV assays: Operational characteristics. Report 16 rapid assays. WHO:2009.
6. Department Of Health And Human Services,Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for Appropriate Evaluations of HIV Testing Technologies in Africa.2001
7. Pérez M. T1-512 Experiencia cubana en la evaluación de diagnosticadores para el pesquiasaje virológico de la sangre. 2003.
8. [Vranckx R.](#) Evaluation of a line immunoassay for the differential detection of antibodies to human immunodeficiency virus. [Eur J Clin Microbiol Infect Dis.](#) 1990 9(9):674-6.

9. [Fransen K](#), [Pollet D](#), [Peeters M](#), [Van Kerckhoven J](#), [Beelaert G](#), [Vercauteren G](#), [Piot P](#), [Van der Groen G](#). Evaluation of a line immunoassay for simultaneous confirmation of antibodies to HIV-1 and HIV-2. [Eur J Clin Microbiol Infect Dis](#). 1991;10(11):939-46.
10. Boshell J, Alvarez C, Marrugo S, Rojas M, Rodríguez B, González M, Gómez B. Indirect immunofluorescence as a supplementary test for confirming HIV-1 infection: the experience of the National Institute of Health, 1993-2000. [Biomedica](#). 2002;22(1):30-8
11. UNAIDS. Global report UNAIDS, report on the global aids epidemic .2012.
12. Oguntibeju O, Van den Heever W, Van Schalkwyk F. A review of epidemiology, Biology and pathogenesis of HIV. [J Biol Sci](#). 2007;7(8):1296-1304.
13. Ministério da Saúde. Manual técnico para o diagnóstico da infecção pelo HIV. Brasília. 2013
14. Levy Jay. Vih y la patogenesis del SIDA. Mexico: FCE INER. 2008
15. Spicer W. Microbiología clínica y enfermedades infecciosas. 2da edición. Madrid: Elsevier. 2009. 149-150.
16. Kumar V, Abbas A, Fausto N, Mitchell R. Robbins Patología humana. 8 edición. Madrid: Elsevier; 2008.
17. Sudharshan S, Biswas J. Introduction and immunopathogenesis of acquired immune deficiency syndrome. [Indian J Ophthalmol](#). 2008;56:357-62.
18. Miró J, Sueda O, Planab M, Pumarolac T, Gallartb T. Avances en el diagnóstico y tratamiento de la infección aguda por el VIH-1. [Enferm Infecc Microbiol Clin](#). 2004;22(10):643-59

19. Betancur J,Correa A, Estrada S, Orozco B.Manual de VIH/SIDA y otras infecciones de transmisión sexual. Medellín: CIB;2005.
20. Mindel A, Tenant-Flowers M. ABC of AIDS Natural history and management of early HIV infection. *BMJ*.2001; 322 :1290-1293.
21. Centers for Disease Control. sexually transmitted diseases guidelines.MMWR. 2010;59:RR-12.
22. Aberg J,Kaplan J,Libman H,Emmanuel P,Anderson J, et al. Primary Care Guidelines for the Management of Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus: 2009 Update by the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *CID*.2009;49: 651-81
23. ONUSIDA. Infección por VIH/SIDA en Colombia Estado del arte 2000-2005.Bogota:2006.
24. Idarraga I, Caicedo S. Plan estratégico para la eliminación de la transmisión materno infantil del VIH y la sífilis congénita Colombia 2011 – 2015. Bogota: MPS; 2011.
25. Constantine N, Zink H. HIV testing technologies after two decades of evolution. *Indian J Med Res*. 2005; 121: 519-38.
26. López J, de Quirós B, Delgado R, García F , Eiros J ,Ortiz R . Diagnóstico microbiológico de la infección por el VIH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007;25(10):632-8.
27. Fearon M. The laboratory diagnosis of HIV infections. *Can J Infect Dis Med Microbiol*.2005;16 (1) :26-30.
28. Cohen S, Shaw G, McMichael A, Haynes B. Acute HIV-1 Infection. *N Engl J Med*. 2011;364(20):1943-54.

29. Guan M. Frequency, Causes, and New Challenges of Indeterminate Results in Western Blot Confirmatory Testing for Antibodies to Human Immunodeficiency Virus. *Clin Vaccine Immunol.* 2007;14(6) : 649–59.
30. Organización Panamericana de la Salud. Guía práctica para la implementación de pruebas fiables y eficientes para el diagnóstico del VIH Región de América. Washington, D.C.: OPS; 2008.
31. Fiscus S, Cheng B, Crowe S, Demeter L, Jennings C, Miller V, Respass R, Stevens W; Forum for Collaborative HIV Research Alternative Viral Load Assay Working Group. HIV-1 viral load assays for resource-limited settings. *PLoS Med.* 2006;3(10)
32. European Centre for Disease Prevention and Control. HIV testing: increasing uptake and effectiveness in the European Union. Stockholm: ECDC; 2010.
33. Mylonakis E, Paliou M, Rich J. Plasma viral load testing in the management of HIV infection. *Am Fam Physician.* 2001;63(3):483-90.
34. Baptista H, Santamaria M, Martinez C, Muñoz M. Validación y verificación de métodos de laboratorio aplicados al banco de sangre. *Rev Mex Med Tran.* 2009; 2(1): 20-29
35. Instituto colombiano de normas técnicas y certificación, calidad de agua. Guía para la orientación acerca de la validación de métodos de análisis microbiológicos. Bogotá: INCONTEC; 2003 .(GTC 84).
36. Organismo Internacional de Estandarización. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración ISO/ IEC 17025. Ginebra: ISO; 2005.
37. Organismo Argentino de Acreditación. Guía para validación de métodos de ensayo. DC-LE-05 Versión 2; 2008. Actualización Descarga enero 2014. Disponible: http://www.metroquimica.com.ar/cursos/moodle/pluginfile.php/33015/mod_f

[older/content/2/VALIDACION/LITERATURA/GUIA%20PARA%20VALIDACION%20DE%20METODOS%20DE%20ENSAYO%20\(OAA\).pdf?forcedownload=1](http://older/content/2/VALIDACION/LITERATURA/GUIA%20PARA%20VALIDACION%20DE%20METODOS%20DE%20ENSAYO%20(OAA).pdf?forcedownload=1).

38. Organismo Uruguayo de Acreditación. Directrices para la Acreditación Laboratorios Ambientales.2009. Actualización Descarga enero 2014 Disponible en <http://es.scribd.com/doc/95821243/Directrices-para-la-acreditacion-laboratorios-ambientales>.
39. Centro Nacional de Metrología. Métodos analíticos adecuados a su propósito Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas relacionados. Segunda Edición.Mexico: CENAM:2008.(Guía EURACHEM Traducción de la obra original en ingles: The Fitness for Purpose of Analytical Methods a Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics).
40. International Standardization Organization.. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Protocol for the validation of alternative methods NFEN ISO 16140. 2003.
41. Jennings L , Van Deerlin V, Gulley M. Recommended Principles and Practices for Validating Clinical Molecular Pathology Tests. Arch Pathol Lab Med.2009;133:743-755.
42. Ruisánchez I, Trullols E, Rius X. Validación de métodos analíticos cualitativos. Consulta julio 2014. Disponible <http://argo.urv.es/quimio/general/qualit.pdf>.
43. McMichael A, Borrow P, Tomaras G, Goonetilleke N, Haynes B. The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development. Nat Rev Immunol. 2010; 10(1): 11–23.
44. Salazar-Gonzalez J, Bailes E, Pham K, Salazar M, Guffey M, Keele B, Derdeyn C, et al. Deciphering human immunodeficiency virus type 1 transmission and early envelope diversification by single-genome and sequencing. J. Virol. 2008; 82: 3952–3970.

45. Chan E ,SIDAway F, Horsman G. A comparison of the Genie and Western blot assays in confirmatory testing for HIV-I antibody. *J. Med Microbiol.*1996; 44: 223-225.
46. Westblom T, Belshe R , Gorse G, Anderson E, Berry C, et al. Characteristics of a population volunteering for human immunodeficiency virus immunization. *Int. J. Std aids.*1990; 1:126–128.
- 47 .Genesca J, Shih J, B. W. Jett B , Hewlett I, Epstein J, Alter H. What do Western blot indeterminate patterns for human immunodeficiency virus mean in EIA-negative blood donors? *Lancet.* 1989; 28:1023–1025.
49. Dock N , Lamberson H, O'Brien T, Tribe D, Alexander S, Poiesz B. 1988. Evaluation of atypical human immunodeficiency virus immunoblot reactivity in blood donors. *Transfusion.* 1988; 28:412–418.
50. Hart, D, Heath R, Sautter F, Schwartz B, Garry R, Choi B, Beilke M, Hart L. Antiretroviral antibodies: implications for schizophrenia, schizophrenia spectrum disorders, and bipolar disorder. *Biol Psychiatry.*1999; 45:704–714.
51. Iqbal S, Balakrishnan H, Solomon S, Murugavel K, Kumarasamy N, Vidya S, Martin S,Thyagarajan S, Mayer K. HIV-1 Western blot assay: What determines an indeterminate status? *Indian J. Med.* 2005; 59:443–450.
52. Urnovitz H, Sturge J, Gottfried T, Murphy W. Urine antibody tests: new insights into the dynamics of HIV-1 infection *Clin Chem.*1999; 45:1602–1613.
9. 53.Jain S , Basraon S, Loeffelholz M , Patel J . The pattern of indeterminate human immunodeficiency virus test and follow-up evaluation in pregnant women. *Am J Perinatol.* 2011 Jun;28(6):467-72.
54. Meles H, Wolday D, Fontanet A, Tsegaye A, Tilahun T, Aklilu M,Sanders E, Rinke De Wit T. Indeterminate Human Immunodeficiency Virus Western Blot Profiles in

Ethiopians with Discordant Screening-Assay Results. *Clin Diagn Lab. Immunol.* 2002; 9: 160–163.