



Dra. Patricia E. González-Moreno Hubbard
AAHIVM
PREVENMED
Mother Child & Adolescent Program
Comité Binacional San Diego-Tijuana
VIH/SIDA ITS
phubbard@ucsd.edu
www.ucsdmcap.org

PRUEBAS DE VIH/SIDA



PRUEBAS DE VIH

Objetivo:

- El participante del curso será capaz de Identificar los diferentes tipos de las pruebas de detección o tamizaje, diagnóstico y seguimiento de Infección por VIH
- El participante será capaz de distinguir cuales pruebas se recomiendan en población pediátrica
- El participante será capaz de identificar las pruebas rápidas de VIH y su uso en poblaciones tanto de alto riesgo como vulnerables.
- EL participante será capaz de recordar la ventaja del uso de pruebas rápidas en poblaciones de recursos limitados y el beneficio en la identificación de nuevas infecciones.

Principios Básicos de Las Pruebas de VIH

- Todas las personas que reciben una prueba de VIH se les debe de ofrecer consejería para reducción del riesgo antes y después de la prueba,
- Todos los resultados positivos deberán de ser referidos inmediatamente para hacer una evaluación inicial.

	<h2 style="text-align: center;">Principios Básicos de Las Pruebas de VIH</h2>
	<ul style="list-style-type: none"> ■ En algunos estados se requiere por Ley reportar los nombres de personas VIH+ a las autoridades de Salud Publica ■ Las Pruebas de VIH deben de ser ofrecidas de manera voluntaria y con un consentimiento informado. ■ Los pacientes tienen el derecho a Declinar o Aceptar una Prueba. ■ Cont.....

	<h2 style="text-align: center;">Principios Básicos de Las Pruebas de VIH</h2>
	<ul style="list-style-type: none"> ■ Se debe recomendar las pruebas de VIH a todas las mujeres embarazadas tan pronto como se conozca la gravidez. ■ Mujeres con Riesgo Alto de Infección por VIH se les debe repetir la prueba en el tercer trimestre de embarazo. ■ En etapa de Labor de parto, las mujeres que desconozcan su estado serologico de VIH se debe utilizar métodos rápidas para el diagnostico (Pruebas Rápidas) ■ A todos los RN (recién nacidos) expuestos se les debe de hacer pruebas de VIH entre el nacimiento y a las 48 horas, 1-2 meses y 3-6 meses. Preferentemente ADN-PCR.

	<h2 style="text-align: center;">Definiciones</h2>
	<p>Sensibilidad: Habilidad de identificar infección en aquellos que están realmente infectados.</p> <p>Especificidad: Se refiere a que una prueba que es positiva sea verdadera positiva (necesario en pruebas confirmatorias)</p>

	<h2 style="text-align: center;">Terminología</h2>
	<ul style="list-style-type: none"> ■ Tamizaje o Detección: Seleccionar, buscar ■ Antígeno Cualquier sustancia que puede estimular el organismo para que produzca anticuerpos contra ella. Los antígenos incluyen bacterias, virus, polen y otras materias extrañas. ■ Anticuerpo También conocido como inmunoglobulina. Proteína producida por el sistema inmunitario que reconoce los organismos infecciosos y otras sustancias extrañas que entran al organismo y luchan contra ellos. Cada anticuerpo es específico de una parte del organismo infeccioso o de otra sustancia extraña particular. ■ Genoma:

Terminología

- **Agammaglobulinemia**

Ausencia o concentraciones bajas de anticuerpos en la sangre. Esta enfermedad deja a la persona vulnerable a las infecciones.

Ácido desoxirribonucleico

Estructura química que contiene las instrucciones genéticas para la proliferación y la síntesis de proteína de todas las células y muchos virus.

- **Ácido ribonucleico (ARN)**

Estructura química que transporta las instrucciones genéticas para la síntesis de la proteína. Aunque el ADN es el principal material genético de las células, el ARN es el material genético de algunos virus.

PRUEBAS DE VIH

- *Pruebas de Detección

ELISA (Tradicional):

Detección de Anticuerpos
(resultado en horas)

- *PRUEBAS RAPIDAS:

Determine 1/2,
ABBOTT(Anticuerpos),
Oraquick, Oraquick
Advance, Orasure, UNI-
GOLD, Reveal, SUDS
(Resultado en minutos)

*ESTAS nos dan RESULTADOS
PRELIMINARES, requieren
prueba confirmatorias

- Pruebas Diagnosticas

Western Blot

IFA

DNA PCR (detecta virus en
Células)

RNA PCR (detecta virus en
Plasma)

Detuned ELISA(Infeccion
Reciente)

**RESULTADOS
CONFIRMATORIAS**

**PRUEBAS PARA VIGILAR EL
VIH**

CD4 (Linfocitos T)

RNA PCR (Carga Viral)

Cultivo Viral

Genotipo/Fenotipo

Resultados Falsos Positivos en alta prevalencia vs baja prevalencia

Prevalencia VIH en el grupo probado	Por cada 100,000 Personas que se les hizo la prueba		
	Numero de falso positivos, asumiendo un índice de 0.1%	Numero de Verdaderas Positivas	Índice de Falsas Positivas/Verdaderas Positivas
1 en 100,000	100	1	100:1
1 en 10,000	100	10	10:1
1 en 1000	100	100	1:1
1 en 100	100	1,000	1:10
1 en 10	100	10,000	1:100

* Pruebas de Detección

ELISA (Tradicional):

Detección de Anticuerpos (resultado en horas)

***PRUEBAS RAPIDAS:**

Determine 1/2, ABBOTT(,Anticuerpos), Oraquick, Oraquick Advance, Orasure, UNI-GOLD, Reveal, SUDS (Resultado en minutos)

***ESTAS nos dan RESULTADOS PRELIMINARES, requieren prueba confirmatorias**

ELISA

- HIV-1 Inmunoensayo Enzimático
- 99% Sensibilidad y Especificidad (Milonakis et al. 2000b).
- Prueba Positiva Verdadera
Este depende de la prevalencia local (Burke et al. 1988)

Tipos de Pruebas Rápidas

- Determine® VIH ½ Abbott
- Oraquick , Oraquick Advance
- Orasure
- Reveal TM G2, MedMira
- UNI-GOLD Recombigen® (TrinityBiotech)
- Multispot
- SUDS

	<p>Comportamiento de Nuevas pruebas Rápidas para Anticuerpos de VIH con Sangre Total y Plasma</p>
	<p>B Branson¹, Apurva Uniyal², Peter Kerndt², Carol Fridlund¹, Tim Granade¹ 1CDC, Atlanta Georgia; 2STD Program, Los Angeles, California</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Antecedente : Bastantes de las nuevas pruebas rápidas son muy fáciles de procesar, usando sangre total, dan los resultados en 20 minutos o menos. Se evaluó la sensibilidad y la especificidad de tres pruebas rápidas de un paso (Determine, Oraquick, Unigold) y 3 de multiple-pasos (MedMira, Multispot, SUDS) en plasma almacenado y muestras frescas.

	<ul style="list-style-type: none"> ■ Métodos: Se evalúa de forma retrospectiva 200 VIH+ y 200 VIH-suero (Fase I); Evaluación prospectiva de muestras frescas de 340 VIH+ and 467 VIH- en personas con estado serológico conocido (Fase II); Estudio prospectivo de personas que acudían a clínicas de ITS y clínica de detección de VIH(de las cuales 72 fueron VIH+ y 1651 VIH- , Fase III). Determine, MedMira, OraQuick, y Unigold se realizaron en sangre total y plasma, OraQuick se hizo también en saliva, MultiSpot y SUDS se utilizo solo plasma. Todas los resultados de pruebas rápidas se compararon con EIA/Western blot.

Rapid test	Stored Serum		Phase II, Whole blood		Phase II, plasma		Phase III, whole blood	
	Sens.	Spec.	Sens.	Spec.	Sens.	Spec.	Sens.	Spec.
Determine	100%	98.0%	100%	100%	100%	100%	100%	99.9%
MedMira	99.0	100	97.0	98.5	97.9	99.8	93.1	99.0
Multispot	100	100	-	-	100	99.1	100*	100*
OraQuick	100	100	-	-	100	99.8	98.6	99.9
OraQuick oral	-	-	-	-	-	-	98.6**	98.9**
SUDS	97.5	94.5	-	-	99.1	99.6	98.6*	99.5*
Unigold	99.0	96.0	95.5	99.8	99.1	99.8	89.2	99.8

*Plasma specimens **Oral fluid specimens

Determine™



HIV 1/2



Reveal G2



- Moderada
Complejidad CLIA c
suero, plasma
- Se requiere
reconstituir y
refrigerar y los
reactivos
- Detecta HIV-1
5 minutos

Multispot HIV-1/HIV-2



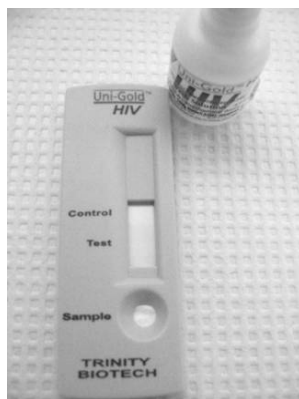
- Inmunoensayo Rápido de Enzimas
usado como ayuda diagnostica para la
detección e identificación de
anticuerpos VIH-1 y VIH-2 en suero y
plasma

OraQuick Advance HIV-1/2



- CLIA-Excenta para punción capilar, sangre total, saliva; complejidad moderada con plasma
- Almacenamiento a temperatura ambiente
- Detecta VIH-1/2
- Resultados en 20 minutos

Uni-Gold Recombigen



- CLIA-Exenta para punción capilar, sangre total; complejidad moderada con suero y plasma
- Almacenamiento a temperatura ambiente
- Detecta VIH-1
- Resultados en 10 minutos

	<p>Recuerda que hay una buena y una mala noticia.....</p>
	<ul style="list-style-type: none">■ La Buena: Mas personas VIH positivas reciben sus resultados.■ La Mala: Algunas personas recibirán un resultado falso positivo antes de su pruebas confirmatoria.

	<h2>Pruebas Diagnosticas</h2>
	<p>Western Blot IFA Detuned Elisa (infección Reciente)</p> <p>DNA PCR (detecta virus en Celulas RNA PCR (detecta virus en Plasma) RESULTADOS CONFIRMATORIAS</p>

PRUEBAS CONFIRMATORIAS

- ESENCIAL (no solo EIA!)
- For Western blot:
 - Venopuncion para sangre total
 - Saliva
- Seguimiento en resultados negativos o indeterminados , Western blot resultados despues de cuatro semanas

Western Blot

- La Prueba Estándar de Oro para el Diagnostico de VIH
- La sensibilidad de esta prueba indica la habilidad de detectar infección de VIH en aquellos que están infectados
- La especificidad de WB se refiere a la posibilidad de que una prueba positiva confirme el Diagnostico de VIH

Western Blot

Se requiere un patron con Bandas de las siguientes Proteínas:
p24, gp41 y gp120/160.

Es una prueba de electroforesis de proteína.
La desventaja es que es cara, compleja
requiere de un proceso de 7 pasos.
(incubación entre 4 a 24 horas)

IFA

- El Fluorognost HIV-1 IFA usa material humano de Células T infectadas que expresan antígenos de VIH-1 (tipo IIIB). Las células se fijan a la superficie de una laminilla de vidrio, se utilizan células no infectadas como control. Cuando los anticuerpos del VIH están presentes en suero o plasma se unen a las células infectadas pero no a las células no infectadas.

Elisa Detuned

- Esta prueba se utiliza para determinar si la infección es reciente.
- Después de la infección la mayoría de individuos desarrolla anticuerpos entre 4-6 semanas, con casos raros la seroconversion puede tardarse de 6 a 12 meses (Horsburgh et al. (1989; Busch et Satten 1997)

Elisa Detuned

- 50 a 90% con infección reciente presentara enfermedad aguda llamada Síndrome Retroviral Aguda al momento de la seroconversion (Shacker et al, 1996).
- Suero de pacientes confirmados con VIH
- Usualmente las infecciones recientes tienen > 100 000 carga viral

	<p>DNA PCR</p>
	<p>DNA PCR (detecta virus en Células) Cualitativo Es reportada como Reactiva No Reactiva</p>

	<p>Ensayos Cuantitativos de VIH RNA</p>
	<p>RT-PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa) Amplicor Roche (Roche Diagnostics, Basel Switzerland) bDNA Versant (Bayer Diagnostics, Tarrytown, NY) (NASBA) Organon Teknica, Amplificación de Secuencia Nucleica etc.; RNA PCR o Carga Viral (detecta virus en Plasma) Reporta Cantidad de Copias de Virus <50 copias <400 copias o BDL (Por debajo de los Limites De Detección) dependiendo la sensibilidad del kit</p>

	<h2 style="text-align: center;">Diagnóstico VIH</h2>
	<ul style="list-style-type: none"> ■ Adultos Anticuerpos (Elisa o PR +WB o RNA PCR) <li style="padding-left: 100px;">2 Pruebas Falsos Positivos: Enfermedad Autoinmune <li style="padding-left: 100px;">Embarazos Múltiples Falsos Negativos: Periodo Ventana

	<h2 style="text-align: center;">Interpretación de Resultados</h2>
	<ul style="list-style-type: none"> ■ Serología (ELISA) tradicional o Prueba Rápidas Detección ■ + Confirmatoria Western Blot <p>CDC: Se requiere un patrón con Bandas de las siguientes Proteínas: p24, gp41 y gp120/160.</p> <p>Prueba positiva ELISA+ y WB con los criterios anteriores.</p>

	Prueba Indeterminada:
	<p>Elisa (+) WB gp41 (una banda solamente)</p> <p>RNA PCR, para aclarar la infección</p> <p>Las pruebas pueden ser positivas de 3 a 12 semanas posterior a la infección</p> <p>Razones:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Proceso de Seroconversion •Infección avanzada de VIH con disminución de títulos de anticuerpos p24 (raro) (seroreversion) • Auto anticuerpos causados por Enfermedades Auto inmunes o Colágeno Vasculares) o malignidad. •Reacción cruzada de Alloanticuerpos por embarazo (múltiples), transfusiones sanguíneas o transplante de órganos •Haber recibido vacuna experimental de VIH.

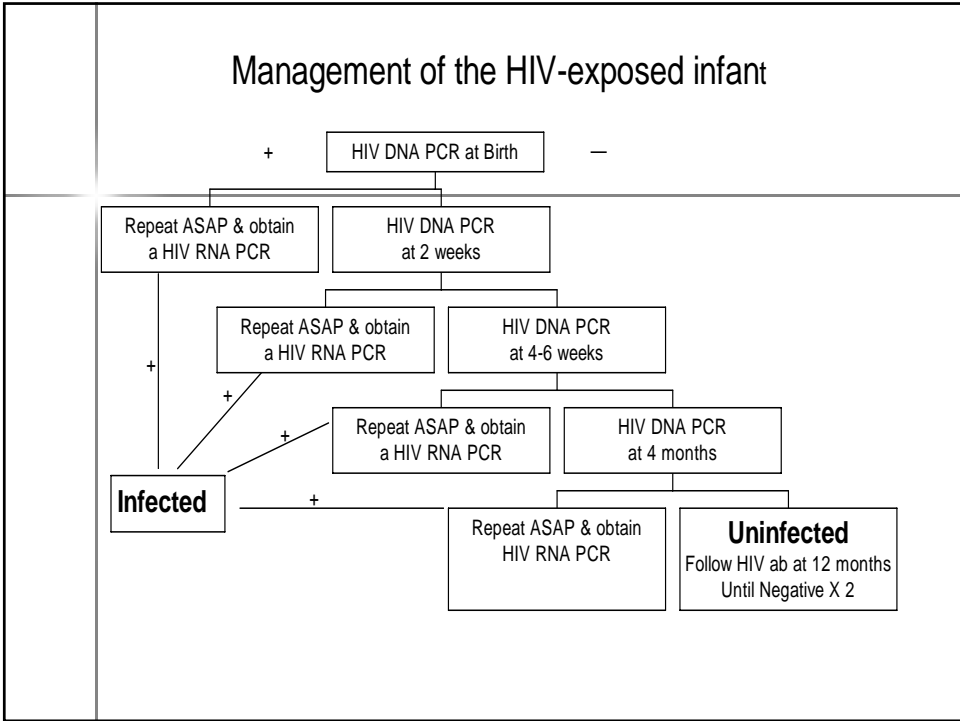
	Prueba Indeterminada:
	<p>Evaluación de Factores de Riesgo</p> <p>Se recomienda repetir la prueba en 1, 2, 6 meses, recomendar precauciones para prevenir transmisión hasta que la seroconversion pueda ser excluida.</p> <p>Si hay seroconversion el WB será positivo en 1 mes.</p> <p>Cuando hay alta sospecha puede realizarse un RNA PCR (> CV en infección aguda, antes de AB).</p> <p>Antes se relacionaba la infección por VIH-2 (mas común en África de Oeste) y el VIH-1 Subtipo O con falso (-) o pruebas indeterminadas.</p> <p>Actualmente las pruebas serológicas pueden detectar estas infecciones.</p>

FALSA NEGATIVA

- Periodo Ventana
- Agammaglobulinemia

Diagnostico en Menores de 18 meses





Pruebas para Monitorizar el VIH

	<h2 style="text-align: center;">Diagnóstico en Pediatría</h2>
	<ul style="list-style-type: none"> ■ <18 meses DNA PCR, RNA PCR, Cultivo Viral ■ Elisa solo refleja los anticuerpos de la madre ■ DNA PCR (3 pruebas entre Nacimiento-2semanas , 1-2 meses y 4-6 m, Elisa a los 18 meses) ■ RNA PCR

	<h2 style="text-align: center;">PRUEBAS PARA VIGILAR EL VIH</h2>
	<p>CD4 (Linfocitos T) (Panel Linfocitario RNA PCR (Carga Viral) Cultivo Viral Genotipo: (TRUGENE) , detecta mutaciones en el genoma del paciente que están asociados con resistencia a los antiretrovirales Fenotipo: Determina como se comporta el virus in vitro con diferentes concentraciones de antiretrovirales Fenotipo Virtual: Se utiliza una base de datos de genotipos y fenotipos</p>

	<h2>Recursos adicionales</h2>
	<p>Información General y técnica (actualizada frecuentemente):</p> <p>www.cdc.gov/hiv/rapid_testing</p>

	<h2>Pruebas Rápidas</h2>

Pruebas Rápidas significa Consejería Rápida?

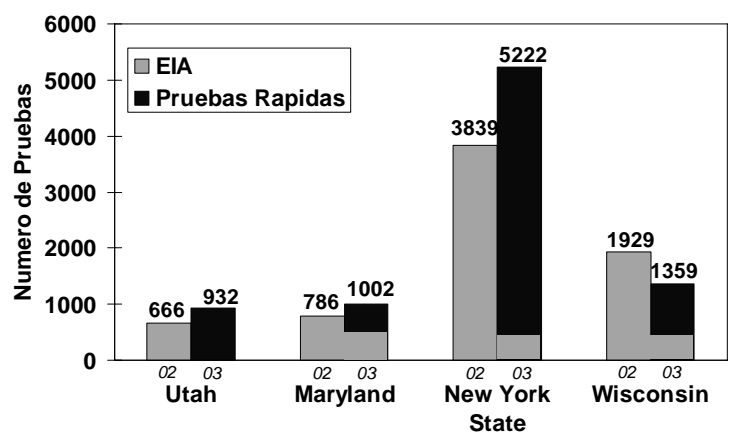
NO. No hay evidencia de diferencia entre el índice de ITS después de la consejería utilizando pruebas rápidas en comparación con pruebas convencionales

20 minutos para dirigir la consejería a factores de riesgo y exposición del cliente

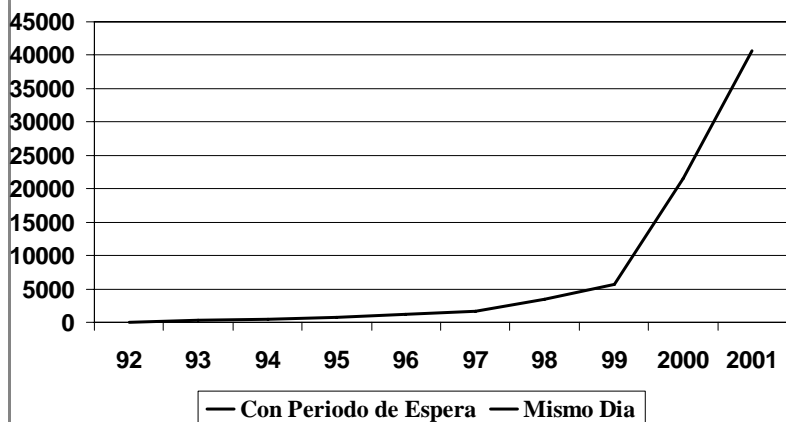
Los clientes tienden a regresar por sus resultados preliminares

Mejor aceptación de los resultados positivos después de tener resultados preliminares

Cambios en Pruebas de VIH en los Mismos Sitios, Después de Introducir el Uso de las Pruebas Rápidas



Pruebas Rápidas y Consejería Resultados: Con Periodo de Espera VS. Resultados el Mismo Día



Detección Perinatal: Protocolo MIRIAD

- Pruebas a mujeres embarazadas EN labor en quienes no se tenía prueba de VIH disponible; 12 hospitales en 5 ciudades: Atlanta, Chicago, Miami, New Orleans, New York
- A la fecha
 - 1771 mujeres se les hizo la prueba
 - Se identificaron 12 nuevas infecciones
 - No hubo falsos positivos, no falsos negativos

	<p>Razones por las que se tardo en obtener los resultados.</p>
	<ul style="list-style-type: none"> ■ Se perdieron de vista cuanto se mandaron al laboratorio ■ Cambio de turno ■ La paciente estaba dormida ■ Obtener la muestra para llevar al laboratorio y obtener el resultado

	<p>Estudio de Investigación OraQuick (22/7/2002) N = 115</p>
	<ul style="list-style-type: none"> ■ Consejería en grupo antes de la prueba en el sitio (on-site). ■ Pruebas individuales y consejería pos-prueba. ■ Técnica de la prueba: <ul style="list-style-type: none"> - Saliva OraQuick (solo investigación) - Punción capilar OraQuick (Se otorgan resultados) - Punción capilar neg -> apoyo con OraSure - Punción capilar pos -> muestra punción venosa EIA/WB

	Resultado de la Encuesta a Clientes II
	<ul style="list-style-type: none">■ “Sería mejor esperar una semana para obtener cualquier resultados” <p>De acuerdo o completamente de acuerdo = 3%</p> <p>En Desacuerdo o completo desacuerdo = 97%</p>

	Resultado de la Encuesta a Clientes III
	<ul style="list-style-type: none">■ “Me pareció muy estresante la prueba rápida” <p>De acuerdo o completamente de acuerdo = 33%</p> <p>En desacuerdo o completamente en desacuerdo = 67%</p>

	Resultado de la Encuesta a Clientes IV
--	---

- | | |
|--|--|
| | <ul style="list-style-type: none">■ “Prefiero que me puncionen el dedo a que me saquen sangre de la vena”■ De acuerdo o completamente de acuerdo = 88%■ En Desacuerdo o completo desacuerdo = 7%■ No hay diferencia= 5% |
|--|--|

	Resultado de la Encuesta a Clientes V
--	--

- | | |
|--|---|
| | <ul style="list-style-type: none">■ “Recomendaría una prueba rápida a un amigo”
De acuerdo o completamente de acuerdo = 94%■ En desacuerdo o completamente en desacuerdo = 6% |
|--|---|

Resultado de la Encuesta a Clientes VI

- **“Entiendo los resultados de mi prueba.”**
- **De acuerdo o completamente de acuerdo = 99%**
- **En Desacuerdo o completo desacuerdo = 1%**

Lecciones aprendidas

- **Nivel de aceptación del Cliente**
- **Logística de la Unidad de Consejería y Pruebas**
- **Necesidades de Personal**

Referencias Recomendadas en Internet

Informacion actualizada:

- AIDSInfo website (www.aidsinfo.nih.gov)
- AETC National Resource Center
- <http://www.aidset.org>
- <http://www.cdc.gov/spanish/enfermedades.htm>
- <http://www.womenchildrenhiv.org/>
- www.aahivm.org