



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

Análisis comparativo de 2 pruebas rápidas comerciales con el ELISA basado en un péptido de la transmembrana TM/gp41 viral (6357), para el diagnóstico del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIADA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

PRESENTA:

**ALINE MONTSERRAT ARIAS MALDONADO**

ASESORA: M. en C. María Martha García Flores  
COASESORA: M. en C. Ana Laura Vázquez Martínez

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2022



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# Votos Aprobatorios



## FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN SECRETARÍA GENERAL DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DR. DAVID QUINTANAR GUERERO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO  
Jefa del Departamento de Titulación  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de tesis y examen profesional.

Análisis comparativo de 2 pruebas rápidas comerciales con el ELISA basado en un péptido de la transmembrana TM/gp41 viral (6357), para el diagnóstico del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).

Que presenta la pasante: Aline Montserrat Arias Maldonado  
Con número de cuenta: 309091536 para obtener el título de: Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 03 de Marzo de 2022.

### PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. María Martha García Flores	
VOCAL	M. en C. María Guadalupe Avilés Robles	
SECRETARIO	Dr. Salvador Fonseca Coronado	
1er. SUPLENTE	M. en C. Paola Edith Briseño Lugo	
2do. SUPLENTE	M. en C. Arianna Romero Flores	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

LMCF/cgs\*

## **Dedicatorias**

La vida es hermosa y una de las principales características de ello, es que la podemos compartir y disfrutar con quienes amamos; pero también podemos ayudar y guiar a muchas personas, como lo hicieron en su momento mi familia, mis maestros y todos aquellos que estuvieron presentes durante toda o la mayor parte del desarrollo y realización de esta tesis. Cada investigación, proceso y proyectos que se realizaron para dar forma a la misma, los disfruté mucho y me dieron bases sólidas para iniciar mi aventura por el mundo laboral y una enorme motivación para escalar a otras etapas del conocimiento.

Quiero agradecer en primer lugar a mis padres, Ricardo y Margarita, por ser los principales promotores de mis sueños. Por todo su amor, sus consejos, su apoyo incondicional y su paciencia. Sin su esfuerzo, perseverancia y ejemplo no hubiera llegado hasta aquí, todo lo que soy es gracias a ustedes. Los amo con todo mi corazón.

A Dios, por haberme permitido llegar hasta aquí.

A toda mi familia, que es lo mejor y más valioso que Dios me ha dado. Y en especial, a mis abuelitos Francisco y Felipe, porque sé que donde quiera que se encuentren están muy contentos y orgullosos de este logro. Los amo muchísimo.

A mi amada Universidad Nacional Autónoma de México y a la FES Cuautitlán, por haberme dado la oportunidad y el gran honor de pertenecer y haberme formado en ellas.

A mi asesora la maestra Martha García, por haberme dado la oportunidad de ser su alumna, por apoyarme y compartir todos sus conocimientos conmigo, brindarme su amistad, creer en mí y haberme tenido toda la paciencia del mundo para guiarme durante todo el desarrollo de esta tesis.

A mi co-asesora la maestra Ana Laura Vázquez, por ser la culpable de mi amor por la Virología y una parte muy importante en mi formación académica, por haberme enseñado tanto, por creer en mí y brindarme su tiempo para la revisión de este trabajo.

A la Dra. Ericka Pompa y el Dr. Antonio Giménez, por brindarme sus conocimientos, su amistad y apoyo desde el primer día que llegué al hospital.

A la Química Marlene Sosa, por haberme facilitado y proporcionado las muestras de sueros sin las cuales no se hubiera podido realizar este trabajo.

A Charlie, por estar conmigo incondicionalmente. Por acompañarme en esas largas noches sin dormir, impulsarme a seguir adelante y a dar lo mejor de mí siempre. Te quiero muchísimo.

A Misha, mi compañerita fiel, por todo su cariño y compañía.

Y por último a mis queridos amigos Fernanda y Jesús; gracias por su amistad y sus consejos, por escucharme, por estar conmigo en momentos importantes y por volver especiales cada uno de mis días en la FES. **¡Mil gracias a todos!**

**Con cariño, Aline.**

# ÍNDICE

Índice de tablas.....	I
Índice de cuadros.....	II
Índice de figuras.....	II
Abreviaturas.....	III
<b>Resumen.....</b>	<b>1</b>
<b>1. Introducción.....</b>	<b>3</b>
1.1 Infección por el HIV.....	3
1.2 Clasificaciones para la infección por HIV.....	3
1.3 Agente etiológico.....	4
1.3.1 Grupos y Subtipos genéticos del HIV-1.....	7
1.4 Ciclo de replicación del HIV.....	9
1.5 Complejo de la envoltura (SU/gp120 y TM/gp41).....	13
1.6 Papel crítico de la glicoproteína transmembranal (gp41) en la infección por HIV.....	15
1.7 Transmisión del HIV.....	16
1.8 Historia Natural de la infección por HIV.....	21
1.8.1 Manifestaciones clínicas y etapas de la infección por HIV.....	21
1.9 Epidemiología del HIV/SIDA.....	24
1.10 Diagnóstico del HIV.....	27
1.10.1 Pruebas indirectas para el diagnóstico del HIV.....	29
1.10.2 Pruebas directas para el diagnóstico del HIV.....	33
1.10.3 Pruebas rápidas para el diagnóstico de la infección por HIV.....	38
1.10.3.1 Fundamento de las pruebas rápidas para el diagnóstico del HIV.....	38

1.10.3.2 Precalificación de una prueba rápida y vigilancia posterior a la comercialización.....	42
<b>2. Justificación.....</b>	<b>44</b>
<b>3. Objetivos.....</b>	<b>45</b>
3.1 Objetivo general.....	45
3.2 Objetivos particulares.....	45
<b>4. Hipótesis.....</b>	<b>46</b>
<b>5. Material y Métodos.....</b>	<b>47</b>
<b>6. Resultados.....</b>	<b>53</b>
<b>7. Discusión.....</b>	<b>63</b>
<b>8. Conclusiones.....</b>	<b>68</b>
<b>9. Anexo.....</b>	<b>69</b>
<b>10. Bibliografía.....</b>	<b>80</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de la infección por el HIV según la CDC.....	<b>4</b>
<b>Tabla 2.</b> Función y lugar de acción de las proteínas estructurales, accesorias y reguladoras del HIV-1.....	<b>6</b>
<b>Tabla 3.</b> Distribución geográfica y predominio por regiones de los subtipos del HIV-1/2.....	<b>9</b>
<b>Tabla 4.</b> Coinfecciones más comunes asociadas a la infección por HIV.....	<b>24</b>
<b>Tabla 5.</b> Información de Vigilancia Epidemiológica del HIV/SIDA al cierre de 2020.....	<b>26</b>
<b>Tabla 6.</b> Características y fundamentos de las diferentes generaciones de ELISA para el diagnóstico de infecciones por HIV-1/2.....	<b>31</b>
<b>Tabla 7.</b> Cuadro comparativo de la sensibilidad, especificidad y características de uso de diferentes kits comerciales de pruebas rápidas para el diagnóstico de la infección por HIV.....	<b>41</b>
<b>Tabla 8.</b> Resultados del <b>ELISA-péptido6357</b> , <b>HEXAGON HIV</b> y <b>ADVANCED QUALITY™</b> , de los 16 sueros de referencia confirmados por WB como POSITIVOS a la infección por HIV (Panel A1).....	<b>53</b>
<b>Tabla 9.</b> Resultados del <b>ELISA-péptido6357</b> , <b>HEXAGON HIV</b> y <b>ADVANCED QUALITY™</b> , de los 35 sueros de referencia confirmados por WB como NEGATIVOS a la infección por HIV (Panel A2).....	<b>54</b>
<b>Tabla 10.</b> Porcentajes de algunos parámetros estadísticos en el uso de las 3 pruebas diagnósticas para la infección por HIV.....	<b>58</b>
<b>Tabla 11.</b> Resultados de 18 de los 40 sueros Western Blot INDETERMINADO en las 3 pruebas diagnósticas.....	<b>59</b>
<b>Tabla 12.</b> Resultados de 17 de los 40 sueros Western Blot INDETERMINADO en las 3 pruebas diagnósticas .....	<b>59</b>
<b>Tabla 13.</b> Resultados de 5 de los 40 sueros Western Blot INDETERMINADO en las 3 pruebas diagnósticas.....	<b>60</b>
<b>Tabla 14.</b> Reactividad de los 140 sueros del Panel B, de casos con, sin y “sospechosos” a la infección por HIV en las 3 pruebas diagnósticas.....	<b>61</b>
<b>Tabla 15.</b> Resultados de los 28 sueros de pacientes “sospechosos” a la infección por HIV de CLINSIDA, en las pruebas <b>ELISA-péptido6357</b> , <b>HEXAGON HIV</b> y <b>ADVANCED QUALITY™</b> .....	<b>61</b>

## Índice de cuadros

<b>Cuadro 1.</b> Relación de los resultados del diagnóstico a HIV entre Western Blot y el <b>ELISA-péptido6357</b> .....	<b>56</b>
<b>Cuadro 2.</b> Relación de los resultados del diagnóstico a HIV entre Western Blot y la prueba rápida <b>HEXAGON HIV</b> .....	<b>57</b>
<b>Cuadro 3.</b> Relación de los resultados del diagnóstico a HIV entre Western Blot y la prueba rápida <b>ADVANCED QUALITY™</b> .....	<b>57</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Modelo de una partícula viral y representación esquemática de las proteínas de superficie y estructurales del HIV-1.....	<b>5</b>
<b>Figura 2.</b> Distribución geográfica mundial de los subtipos y recombinantes del HIV-1.....	<b>8</b>
<b>Figura 3.</b> Mapa del genoma del HIV-1 y HIV-2.....	<b>11</b>
<b>Figura 4.</b> Ciclo de replicación del HIV-1.....	<b>14</b>
<b>Figura 5.</b> Complejo Env del HIV-1 (SU/gp120-TM/gp41).....	<b>15</b>
<b>Figura 6.</b> Fusión del HIV a las membranas de las células CD4 <sup>+</sup> .....	<b>16</b>
<b>Figura 7.</b> Tiempo de aparición de los marcadores específicos de la infección por HIV.....	<b>28</b>
<b>Figura 8.</b> Algoritmo de detección de HIV en entornos de alta prevalencia (Grupos clave).....	<b>36</b>
<b>Figura 9.</b> Algoritmo de detección de HIV en entornos de baja prevalencia (Población general).....	<b>37</b>
<b>Figura 10.</b> Presentación comercial de una prueba rápida para la detección de la infección por HIV-1/2.....	<b>39</b>

## Abreviaturas

<b>Ag</b>	<b>Antígeno</b>
<b>AgHBs</b>	Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B
<b>Anti-HBc</b>	Anticuerpos contra el antígeno core del virus de la hepatitis B
<b>BCS</b>	Banco Central de Sangre
<b>BIV</b>	Virus de la Inmunodeficiencia Bovina
<b>CDC</b>	Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (del inglés Centers for Disease Control and Prevention)
<b>CENSIDA</b>	Centro Nacional para la prevención y el control del VIH/SIDA
<b>CMIA</b>	Inmunoensayo de Micropartículas de Quimioluminiscencia (del inglés Chemiluminiscent Microparticles Immune Assay)
<b>CMN</b>	Centro Médico Nacional
<b>CRFs</b>	Formas Recombinantes Circulantes (del inglés Circulating Recombinants Forms)
<b>CTLs</b>	Linfocitos T Citotóxicos
<b>CV</b>	Carga viral
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>dsDNA</b>	DNA bicatenario
<b>ELISA</b>	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
<b>ENV</b>	Envoltura
<b>FIV</b>	Virus de la Inmunodeficiencia Felina
<b>gp</b>	Glicoproteína
<b>HR1</b>	Región N-terminal (del inglés N-terminal heptad región)
<b>HR2</b>	Región C-terminal (del inglés C-terminal heptad región)
<b>IgG</b>	Inmunoglobulina G
<b>IgM</b>	Inmunoglobulina M
<b>IMSS</b>	Instituto Mexicano del Seguro Social
<b>IN</b>	Integrasa
<b>ITS</b>	Infecciones de Transmisión Sexual
<b>LTR</b>	Regiones repetitivas terminales largas (del inglés Long Terminal Repeat)
<b>NAT</b>	Prueba de detección de ácidos nucleicos
<b>NF-kB</b>	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
<b>NK</b>	Asesina natural (del inglés Natural Killer)
<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>NPC</b>	Complejo de Poros Nucleares
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>ONUSIDA</b>	Organización de las Naciones Unidas contra el SIDA
<b>ORFs</b>	Marco abierto de lectura (del inglés open reading frame)
<b>PCR</b>	Reacción en Cadena de la Polimerasa (del inglés Polymerase Chain Reaction)
<b>PIC</b>	Complejo de Preintegración
<b>PLIA</b>	Ensayo inmunoabsorbente ligado a péptidos (del inglés Peptide Linked Immunoabsorbent Assay)
<b>PPE</b>	Profilaxis Post-Exposición
<b>RDTs</b>	Pruebas de diagnóstico rápido (del inglés Rapid Diagnostic Tests)
<b>RNA</b>	Ácido Ribonucleico
<b>RNA<sub>m</sub></b>	RNA mensajero
<b>RT</b>	Transcriptasa Reversa
<b>RT-PCR</b>	Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (del inglés Real Time Polymerase Chain Reaction)
<b>SIDA</b>	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
<b>SIV</b>	Virus de la Inmunodeficiencia del Simio
<b>SU</b>	Superficie
<b>TAR</b>	Tratamiento Antirretroviral
<b>TM</b>	Transmembrana
<b>UMAE</b>	Unidad Médica de Alta Especialidad
<b>VIH</b>	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
<b>WB</b>	Western Blot

## Resumen

La epidemia causada por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo uno (HIV-1) es uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial. El diagnóstico de la infección por HIV es fundamental para lograr el control de dicha epidemia. Uno de los métodos de diagnóstico de la infección por HIV se basa en la detección de anticuerpos específicos anti-HIV. Las técnicas inmunoenzimáticas (EIA) son las más empleadas por ser relativamente simples, tener alta sensibilidad, y ejecutar en forma simultánea un gran número de determinaciones. A la fecha se cuenta con la 5ª generación de EIA. De las técnicas rápidas, las más utilizadas son las tiras inmunocromatográficas (dispositivo de flujo lateral) ya que dan el resultado en 20 minutos o menos, pero pueden dar considerables resultados falsos. La OMS y ONUSIDA han sugerido evaluar a nivel local el desempeño diagnóstico de cualquier prueba diagnóstica para la infección por HIV, antes de que pueda usarse de forma rutinaria para evitar resultados falsos.

En el presente trabajo, se evaluó el desempeño diagnóstico para la infección por HIV de dos pruebas rápidas comerciales en comparación con el ELISA basado en el uso de un péptido de la glicoproteína transmembranal del HIV (ELISA-péptido6357).

Se utilizaron un total de 51 sueros de referencia confirmados por Western Blot: 16 POSITIVOS y 35 NEGATIVOS a la infección por HIV. Fueron evaluados en el ELISA-péptido6357 y en dos pruebas rápidas: HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test y ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P. Con los resultados obtenidos, se elaboraron las tablas de contingencia de 2x2, luego se determinaron la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y certeza diagnóstica (CD). Finalmente, se realizó el análisis comparativo del desempeño diagnóstico de cada una de las tres pruebas evaluadas para la detección de la infección por HIV.

El ELISA-péptido6357 confirmó los resultados del 100% de los sueros de referencia positivos y negativos a HIV. Obtuvo 100% de sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y de CD. En las dos pruebas rápidas se obtuvieron los mismos resultados, concordando entre sí al confirmar solo el 93.75% de los sueros de referencia positivos y el 97.14% de los negativos a HIV, alcanzando ambas un 93.75% de sensibilidad y VPP; 97.14% de especificidad y VPN, y CD del 96.07%.

El análisis comparativo mostró que los valores de los parámetros determinados para el ELISA-péptido6357 son los ideales, por lo que mostró el mejor desempeño diagnóstico.

Nuestro estudio representa el primer diseño hecho en México de un kit de ELISA para el diagnóstico de la infección por HIV, con eficiencia diagnóstica del 100% y que se desempeña a nivel de las mejores pruebas comerciales disponibles.

Nuestros hallazgos evidenciaron los mismos valores de sensibilidad y especificidad en las dos pruebas rápidas, pero ambas fueron menores al 100% reportado por los propios fabricantes. Con esto subrayamos la necesidad de monitorear el desempeño de cualquier prueba diagnóstica para la detección de la infección por HIV, para verificar si cumplen con los requisitos necesarios marcados para ser usadas en los algoritmos de diagnóstico de HIV en México.

# 1. Introducción

Las infecciones por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV por sus siglas en inglés) constituyen una gran preocupación para las autoridades de salud. Se estima que más de 38 millones de personas en todo el mundo están actualmente infectadas con el HIV y anualmente se registran entre 2.5 y 3 millones de nuevos casos. De estos últimos, aproximadamente 1 millón no saben que son portadores del virus, pues nunca se han hecho un examen para el diagnóstico del HIV.

Debido al ajuste de la estrategia nacional e internacional para afrontar a la pandemia por SARS-CoV-2, se tuvo que adaptar el diseño e implementación de las políticas públicas enfocadas al HIV y a otras infecciones de transmisión sexual (ITS). La emergencia de este fenómeno ha demandado, además de una acción inmediata por parte de las autoridades, adecuar los programas y esfuerzos institucionales hacia el diseño, la creación y el fortalecimiento de los servicios de salud, con el fin de garantizar el diagnóstico oportuno y un inicio rápido de la terapia antirretroviral. (Glesby & Gulick, 2021)

## 1.1 Infección por el HIV

La infección por el HIV ocurre una vez que el virus entra en el torrente sanguíneo y reside en las células de una persona expuesta a éste. Se han caracterizado varias etapas de la infección por HIV de acuerdo a los síntomas clínicos y marcadores biológicos presentes. El SIDA es el estadio final de una enfermedad crónica, transmisible, de tipo progresivo, en la cual se establece una relación muy diversa entre el hospedero y el virus. Mientras más progrese la inmunodeficiencia y más elevada sea la replicación viral, aparecerán más enfermedades oportunistas o tumores que pueden provocar la muerte. (ONUSIDA, 2018b)

## 1.2 Clasificaciones para la infección por HIV

Existen dos clasificaciones para la infección por HIV: una basada en las co-infecciones asociadas, propuesta por la OMS desde 1987 y otra establecida por la CDC (Atlanta, U.S.A) en 1993, basada principalmente en el conteo específico de las células T CD4<sup>+</sup> y los aspectos clínicos del enfermo. La CDC categoriza según el número de células CD4<sup>+</sup> en etapas 1, 2 y 3, y desde el punto de vista clínico en A, B y C (Tabla 1). Dicha categorización es la más actualizada, pero no se ha podido generalizar, pues no todos

los países disponen de la técnica para determinar el número de CD4<sup>+</sup> para realizarla habitualmente. Cabe mencionar que en países poco desarrollados se sigue usando la clasificación de la OMS.

**TABLA 1.** Clasificación de la infección por HIV según la CDC.

Etapa/Cifra de linfocitos CD4 <sup>+</sup>	Categoría clínica
	A B C
1/ >500/mm <sup>3</sup> (>29 por ciento)	A1 B1 C1
2/ 200-499/mm <sup>3</sup> (14-28 por ciento)	A2 B2 C2
3/ <199/mm <sup>3</sup> (<14 por ciento)	A3 B3 C3 (SIDA)

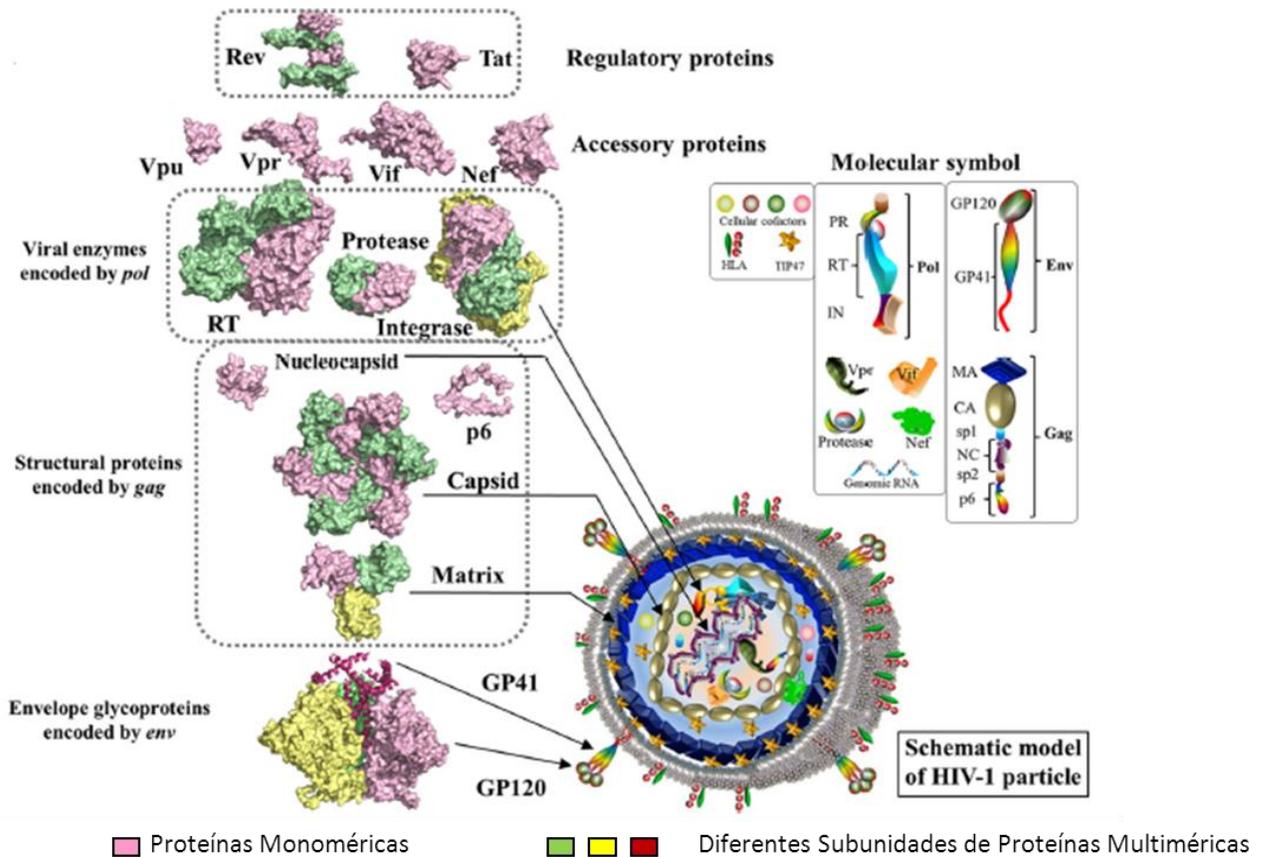
*Nota: En este trabajo se utilizó la clasificación de la CDC.*

### **1.3 Agente etiológico**

El agente causal de dicha infección es el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV). Se conocen los serotipos 1 y 2, descubiertos en 1983 y 1986 respectivamente. El primero de ellos, el HIV-1, corresponde al virus descubierto originalmente, es más virulento e infeccioso y su distribución es mundial, mientras que el HIV-2 es menos contagioso y su distribución está circunscrita casi exclusivamente a algunos países de África Occidental. (Saleta S. K., 2005)

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV), Virus de la Inmunodeficiencia Felina (FIV), Virus de la Inmunodeficiencia Bovina (BIV), Virus de la Inmunodeficiencia del Simio (SIV) y otros de importancia veterinaria pertenecen al género *Lentivirus* de la familia *Retroviridae*. Son esféricos y miden entre 100-120 nm de diámetro. Su forma es determinada por 3 capas concéntricas: una bicapa lipídica externa derivada de la célula del hospedero; en ésta se encuentra insertado el complejo de glicoproteínas de envoltura, constituido por trímeros de la glicoproteína de superficie (SU/gp120) y la transmembranal (TM/gp41). Le sigue una matriz esférica formada por la polimerización de monómeros de la proteína de matriz. Finalmente se encuentra la cápside, constituida por la proteína de cápside (p24) que rodea a la nucleocápside, la cual contiene dos subunidades idénticas de RNA monocatenario, la transcriptasa reversa (RT), proteasa viral (PR) e integrasa (IN). (Clements, J.E., 1996; Saleta S. K., 2005)

El genoma proviral (Figura 3) mide de 8.4 a 9.2 Kb y consiste en dos subunidades idénticas de RNA monocatenario de sentido positivo. Ambas subunidades contienen genes estructurales (*gag*, *pol* y *env*) y regulatorios (*vpr-like*, *vif* y *rev*) como se muestra en la Figura 1, flanqueados por regiones repetitivas terminales largas (LTR) no codificadoras.



**Figura 1.** Modelo de una partícula viral y representación esquemática de las proteínas de superficie y estructurales del HIV-1. El modelo esquemático de una partícula viral madura se encuentra en la parte inferior derecha, con la flecha se relaciona la estructura de la proteína con el sitio en el que se localiza en la partícula viral. Se muestran las representaciones estructurales de 15 proteínas del HIV-1 agrupadas de acuerdo a sus funciones. *Tomada y modificada de Guangdi Li y Clercq (2016).*

El gen *gag* codifica las proteínas de cápside, matriz y nucleocápside, que son derivadas de la degradación proteolítica de la proteína precursora *Gag*. El gen *pol* codifica la transcriptasa reversa, proteasa viral e integrasa. El gen *env* codifica las dos proteínas de la envoltura viral, las glicoproteínas de superficie (SU/gp120) y transmembrana (TM/gp41). (Clements, J.E., 1996) También contiene 6 genes accesorios *vpu*, *vpr*, *vif*, *nef*, *tat* y *rev* que codifican para sus respectivas proteínas. Las primeras cuatro son accesorias y las dos últimas regulatorias. Las proteínas reguladoras, *Tat* y *Rev*, se acumulan dentro del núcleo y se unen a regiones definidas de RNA viral. La proteína *Tat* es un potente activador transcripcional de la región promotora de LTR y es esencial para la replicación viral. (Gatignol, 2000)

La proteína *Rev* activa la expresión de genes estructurales y enzimáticos e inhibe la producción de proteínas reguladoras, por lo que promueve la formación de partículas virales maduras. (Cullen, 1998)

El producto del gen *nef* contribuye a disminuir la función inmune de las células infectadas mediante la regulación negativa de la expresión de moléculas CD4 y promueve el escape de las células infectadas de los linfocitos T citotóxicos (CTLs) por regulación negativa de la expresión de moléculas del MHC clase I y de las NK por regulación positiva de MHC-I-like. El producto del gen *vpr* detiene el ciclo celular de las células infectadas en la fase G2, actuando como un promotor principal en la infección de macrófagos. (Gallo, 2002) La Vpu es importante en el proceso de liberación de los viriones; además está involucrada en el momento en el que se degradan los complejos CD4-gp160 dentro del retículo endoplásmico y, por lo tanto, permite reciclar gp160 para la formación de nuevos viriones. (Bour, 1995) Vif participa en los mecanismos de transporte intracelular de los componentes virales. (Cullen, 1998) La Tabla 2 resume el gen que codifica cada proteína, su función y lugar de acción.

**TABLA 2.** Función y lugar de acción de las proteínas estructurales, accesorias y reguladoras del HIV-1.

Gen	Proteínas que codifica	ID de proteínas por PM	Función	Lugar de acción
<b>Gag</b>	Matriz (MA)	p17	Favorece el anclaje en la membrana celular y dirige el complejo de preintegración hacia el núcleo.	Virión
	Cápside (CA)	P24		Virión
	Nucleocápside (NC)	p7	Proteína de la cápside.	Virión
		p6	Proteína de la cápside que se une al RNAv. Proteína que se une a Vpr, favorece la maduración del virus.	Virión
<b>Pol</b>	Proteasa (PR)	p15	Procesa la poliproteína Gag/Pol y actúa en la maduración del virión.	Virión
	Retrotranscriptasa (RT)	p66, p51		Virión
	RNAasa H	p15	Retrotranscripción, actividad de RNAasa H.	
	Integrasa (IN)	p31	Favorece la integración del DNA proviral.	Virión
<b>Env</b>	Superficie (SU) Transmembrana (TM)	gp120 gp41	Glicoproteínas que se une al receptor CD4 y a los correceptores.	Membrana plasmática, envoltura del virión.
<b>Tat</b>	Tat	p16/p14	Transactiva la transcripción de todos los RNAm del VIH.	Inicialmente en el núcleo y nucléolo.
<b>Rev</b>	Rev	p19	Transporta selectivamente el RNAm completo o procesado parcialmente hacia el citoplasma.	Inicialmente en el núcleo y nucléolo, y después entre el núcleo y el citoplasma.

ID= Identificación; PM= Peso Molecular; p= Proteína; gp= Glicoproteína; RNAv= RNA viral; SIVcpz= Virus de inmunodeficiencia del Simio (chimpancé); SIV= Virus de Inmunodeficiencia del Simio; MHC1= Complejo mayor de histocompatibilidad tipo 1.

**TABLA 2.** Continuación.

Gen	Proteínas que codifica	ID de proteínas por PM	Función	Lugar de acción
<b>Vif</b>	Vif	p23	Promotor de la maduración e infecciosidad del virión.	Citoplasma (citosol, membranas), virión.
<b>Vpr</b>	Vpr	p10/p15	Detiene el ciclo celular en G2. Facilita la entrada al núcleo del complejo de pre-integración.	Virión, núcleo (posiblemente en la membrana del núcleo).
<b>Vpu</b>	Vpu	p16	Presente sólo en VIH-1 y SIVcpz. Aumenta la liberación de viriones de la célula infectada. Interviene en la degradación de CD4 en el retículo endoplásmico.	Proteína de membrana integral
<b>Nef</b>	Nef	p27/p25	Ocasiona baja regulación en CD4 y MHC-1.	Membrana plasmática, citoplasma (no se sabe si se localiza también en el virión).
<b>Vpx</b>	Vpx	p12/p16	Homóloga a Vpr. No se encuentra en VIH-1, pero sí en VIH-2 y SIV.	Virión, posiblemente en el núcleo.
<b>Tev</b>	Tev	p28	Proteína tripartita tat-env-rev	Inicialmente en el núcleo y nucléolo.

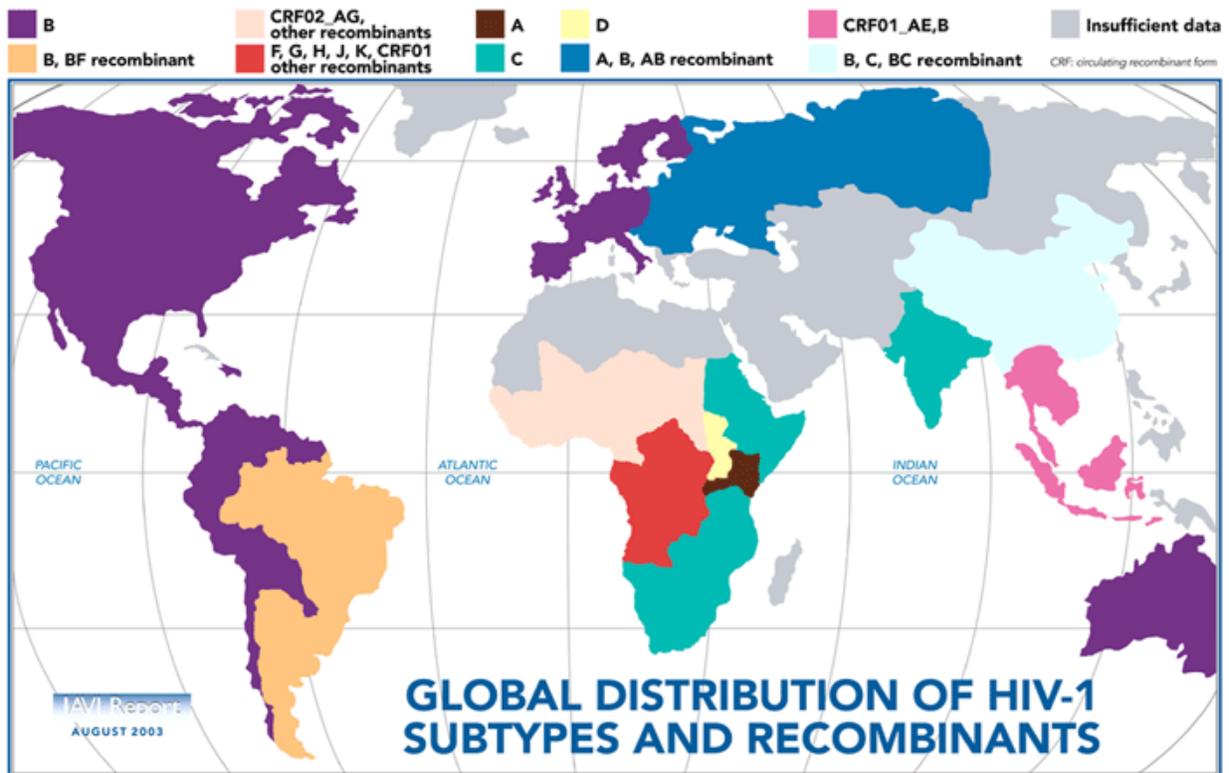
ID= Identificación; PM= Peso Molecular; p= Proteína; gp= Glicoproteína; RNAv= RNA viral; SIVcpz= Virus de Inmunodeficiencia del Simio (chimpancé); SIV= Virus de Inmunodeficiencia del Simio; MHC1= Complejo mayor de histocompatibilidad tipo 1

### **1.3.1 Grupos y Subtipos genéticos del HIV-1**

El análisis filogenético ha clasificado al HIV-1 en tres grandes grupos: el grupo M (*major* o principal), el grupo O (*outlier* o parte aislada), y el grupo N (ni M, ni O). Los virus del grupo M se han extendido por todas partes del mundo para causar la pandemia mundial de SIDA. En contraste los grupos N y O son relativamente raros en el resto del mundo, pero endémicos del África central occidental. Sin embargo, se han identificado infecciones con el grupo O en Europa y USA. El grupo M está compuesto por 9 subtipos genéticos (A, B, C, D, F, G, H, J, K) y formas recombinantes circulantes (CRFs). Los CRFs se forman por recombinación de fragmentos genómicos de distintos subtipos. Actualmente se han descrito más de 30 CRFs y su número se incrementa constantemente. (Delgado, R, 2011)

La distribución geográfica y el predominio regional de los subtipos de HIV-1 y CRFs varían como se puede observar en la Figura 2.

Todos los subtipos y muchas cepas recombinantes se encuentran en África junto con la cepa predominante CRF02\_AG en África occidental y central occidental. Los subtipos A, C y D predominan en África oriental/central y el subtipo C en África del sur. El subtipo B del HIV-1 es el predominante en USA, Europa, Japón y Australia. En Europa sin embargo un significativo porcentaje de nuevas infecciones por HIV son causadas por el subtipo no-B. En Asia el subtipo C se encuentra en India, en Tailandia y Asia del Sur se encuentran el subtipo B y CRF\_01AE. América del Sur tiene subtipos B y F y en México predomina el subtipo B. La Tabla 3 resume la distribución geográfica y predominio por regiones de los subtipos del HIV-1. (Robertson, 1999)



**Figura 2.** Distribución geográfica mundial de los subtipos y recombinantes del HIV-1 por colores. Tomada y modificada de Olimpo, J.T. 2010.

**TABLA 3.** Distribución geográfica y predominio por regiones de los subtipos del HIV-1/2.

TIPO	GRUPO	SUBTIPO	REGIÓN PREDOMINANTE
HIV-1	M ( <i>mayor</i> ) Grupo Pandémico	A	África Occidental Europa (recombinantes: A, B, AB)
		B	América del Norte (USA) América Central (México) América del Sur Australia Europa Japón Tailandia Sur de Asia
		C	Región Sur de África India
		D	África (Uganda)
		E	Sureste de Asia
		F	África Central América del Sur
		G	África Central
		H	África Central
		J	África Central
		K	África Central
		O ( <i>outlier</i> )	África (Camerún y Gabón)
		N ( <i>no M, no O</i> )	
		P	
HIV-2	A, B, C, F, G		África Occidental

## **1.4 Ciclo de replicación del HIV**

### ***Entrada viral (fusión viral).***

El primer fenómeno en el proceso de entrada consiste en la unión del virus a moléculas de membrana en determinados tipos celulares. Estas moléculas interactúan con la envoltura y “anclan” las partículas virales a la superficie de la célula. (Alcamí, J., 2008)

La entrada del HIV en la célula se produce mediante la interacción con dos tipos de receptores. Por una parte, hay un receptor común a todos los subtipos del HIV, la molécula de CD4+, y por otra, se ha caracterizado una serie de correceptores del HIV que corresponden a distintos receptores de

quimiocinas. (Alcamí, J., 2008) Existen dos tipos de correceptores presentes en distintos tipos de células (Instituto de Higiene, 2006):

- **CXCR-4:** se encuentra en los linfocitos T.
- **CCR-5:** se encuentra en monocitos y macrófagos.

Los viriones maduros del HIV se unen a las células del hospedero mediante la unión directa al receptor celular CD4 y los receptores de quimiocinas (CCR5 y/o CXCR4). Esta interacción provoca un cambio en la gp41 induciendo la fusión de la envoltura viral con la membrana celular. El proceso de unión del virus a la membrana celular y entrada al citoplasma se conoce como “internalización”. Tras la penetración del virus se produce la liberación del genoma viral (dos subunidades de RNA monocatenario) y se inicia la transcripción (Figura 4).

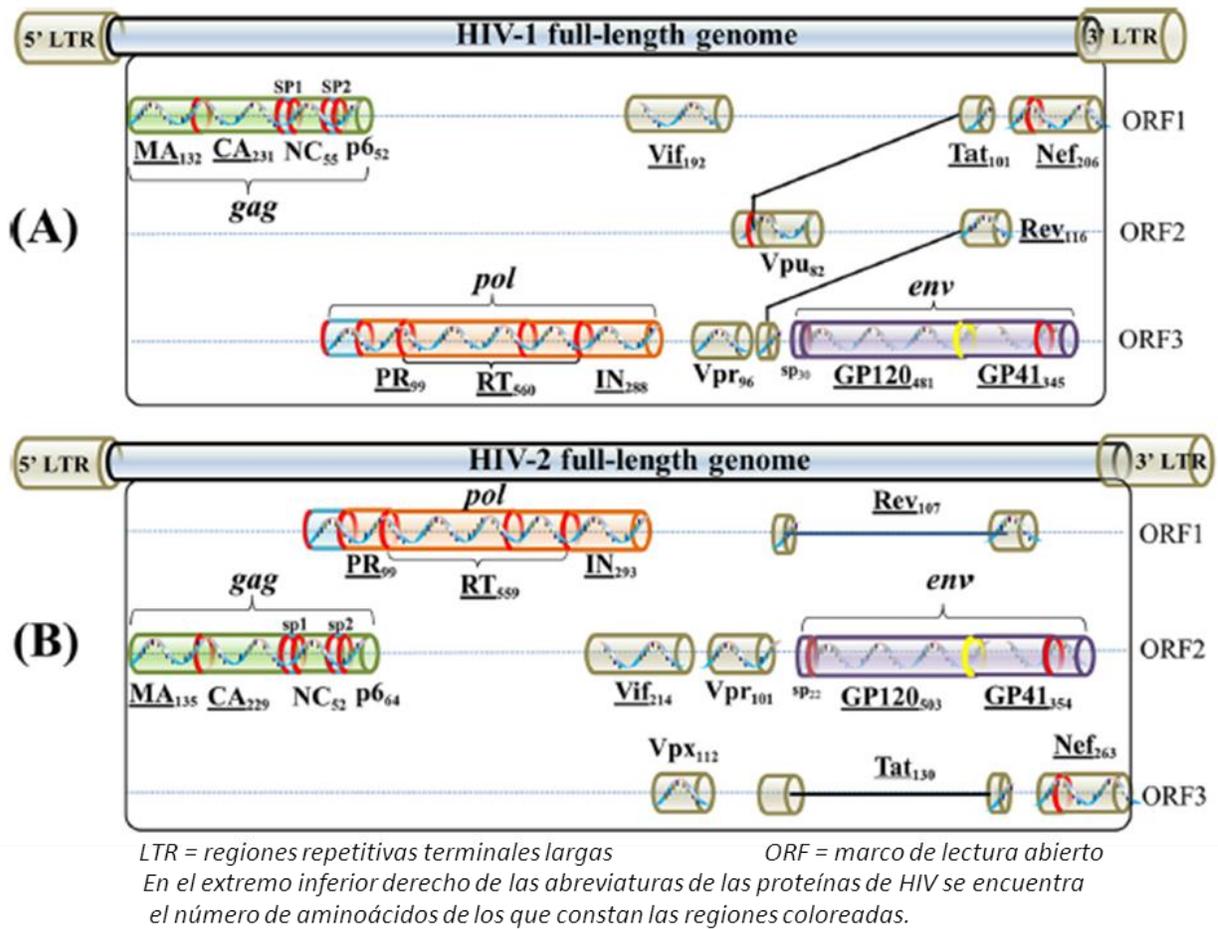
### ***Fusión.***

La segunda etapa está representada por la unión de la envoltura viral con la membrana de la célula del hospedero. Como resultado, el virión pierde toda su integridad y su morfología característica. El contenido genético del virus es vertido dentro de la célula. La matriz y la cápside son digeridas por la célula hospedera, quedando libre el material genético y las enzimas integrasa, proteasa y transcriptasa inversa. (Universidad de Carabobo, 2016)

### ***Transcripción inversa.***

Una vez realizada la liberación del genoma viral, se produce en el citosol de la célula hospedera, el proceso de retrotranscripción del RNA viral, mediante la acción de la enzima transcriptasa inversa que es transportada en el propio virión. (Alcamí, J., 2008)

En el complejo de la transcriptasa reversa (RTC) se produce DNA bicatenario (dsDNA) a partir del RNA monocatenario por acción de la transcriptasa reversa del HIV. La transcriptasa inversa cataliza la formación de la primera cadena de DNA a partir del RNA viral. En la síntesis de la segunda cadena interviene la ribonucleasa H, generando un DNA de doble cadena (dsDNA). El genoma del HIV está formado por aproximadamente 10,000 nucleótidos, por lo que la transcriptasa inversa debe completar 20,000 reacciones de incorporación de nucleótido para generar DNA a partir de una molécula de RNA. La inhibición de cualquiera de estos 20,000 pasos conduce a una infección abortiva. Por ello, la transcripción inversa es uno de los blancos terapéuticos más importantes (Figura 4).



**Figura 3.** Mapa del genoma del HIV-1 y HIV-2. (A) Modelo esquemático del genoma completo del HIV-1 (cepa de referencia HXB2). (B) Modelo esquemático del genoma completo del HIV-2 (cepa de referencia SIVmac239). Se muestran las once proteínas multiméricas subrayadas; los ORFs 1, 2 y 3 así como las TLRs 3' y 5' flanqueando al genoma completo. Se indican con anillos rojos los lugares donde la proteasa viral lleva a cabo el corte en la proteína durante la maduración viral. En el gen *env*, el anillo amarillo muestra donde realizan el corte las proteasas humanas (por ejemplo, furina). Tomada y modificada de Guangdi Li y Clercq (2016).

### Integración viral.

El DNA proviral de doble cadena forma un complejo de pre-integración con proteínas virales y es transportado al núcleo de la célula infectada. Las tres proteínas virales más importantes en el proceso de translocación nuclear son: p17, integrasa y Vpr. (Santana, A., Domínguez, C., Lemes, A., et al, 2003)

Una vez sintetizado el dsDNA proviral, éste se acopla a distintos factores celulares y virales formando el "complejo de preintegración" (PIC). Este complejo se desplaza al núcleo donde el dsDNA es ingresado al complejo de poros nucleares (NPC). El dsDNA que no fue integrado al PIC se utiliza para

sintetizar tres proteínas virales (Rev, Tat y Nef). En las regiones cromosómicas con alta actividad transcripcional y en presencia de cofactores celulares como LEDGF/p75, el dsDNA viral se integra en los cromosomas del hospedero con ayuda de la integrasa.

Tras la integración, el HIV puede permanecer latente, replicarse de forma controlada, o sufrir una replicación masiva que resulta en un efecto citopático para la célula infectada. En la mayoría de los linfocitos el virus está en forma latente. El paso de la fase de latencia a la de reactivación depende de factores celulares, como la proteína NF- $\kappa$ B (factor presente de forma natural en el organismo), que sólo es inducido en procesos de activación inmunológica. Tras dicha activación, el fenómeno de reactivación del estado de latencia es rápido y agresivo (Figura 4).

### ***Multiplicación.***

Las proteínas Tat y Nef manipulan los mecanismos de transcripción celular para activar la síntesis de RNAm viral a partir del dsDNA viral integrado. La proteína Rev del HIV recluta a CRM1, RanGTP y otras proteínas del hospedero para exportar RNAm virales al citoplasma.

Los RNAm virales se traducen en proteínas (precursores) en los compartimentos celulares. Los RNAm virales de *Gag*, *GagPol* y la mayoría de las proteínas accesorias, se traducen en polisomas citosólicos, excepto Env y Vpu. En el citoplasma, la Vpr madura interactúa con las proteínas del hospedero DCAF1 y SLX4 para inducir la detención del ciclo celular G2/M, Vif activa la degradación de las proteínas APOBEC3, y Nef desempeña múltiples funciones en diferentes compartimentos celulares basados en las interacciones proteína HIV-hospedero. Luego se llevan a cabo una serie de sucesos, el RNAm de Vpu del HIV-1 se traduce y el Vpu maduro retiene el CD4 recién sintetizado. A partir de entonces, el CD4 dislocado sufre degradación lisosomal y/o proteasomal. El proceso de unión o tetherin también es objetivo de Vpu en estos sucesos y posteriormente se entrega a las vías de degradación lisosomal y/o proteasomal. También se llevan a cabo modificaciones de Env, como la escisión del péptido señal, el plegamiento, la trimerización, llevándose a cabo la glicosilación. En el aparato de Golgi, las proteasas celulares, como la furina, escinden las glicoproteínas Env en gp120 y gp41, las cuales son posteriormente ensambladas a través de interacciones no covalentes y forman la proteína Env. La mayoría de las proteínas Env retenidas en el aparato de Golgi están degradadas y sólo una pequeña proporción llega a la membrana celular. Env, Vpr, Tat y Nef viajan a la membrana celular a través de vías secretoras.

### ***Ensamblaje.***

Una vez sintetizadas las proteínas virales deben ser procesadas de forma postraduccional antes de ensamblarse en partículas virales maduras. En este proceso participan las proteínas virales Vif y Vpu, una proteasa celular en el procesamiento de la gp160 en gp41 y gp120; y la proteasa viral, que procesa la poliproteína precursora gag-pol. (Codina, C., Martin, M., Ibarra, O., 2002)

Los viriones nacientes del HIV se ensamblan con dos RNAm genómicos, proteínas virales (Gag, GagPol, Env, Vif, Vpr y Nef) y cofactores celulares (por ejemplo, actina, tRNALys3 y TIP47). Las partículas nacientes del HIV se desprenden de la membrana celular para infectar otras células del hospedero. HIV-1 Nef induce la degradación de CD4 para prevenir la interacción Env-CD4 en la membrana extracelular.

La proteasa del HIV divide los precursores de Gag y GagPol en proteínas estructurales (matriz, cápside, nucleocápside y p6) y enzimas virales (proteasa, RT e integrasa), transformando viriones inmaduros en viriones maduros para nuevas infecciones (Figura 4).

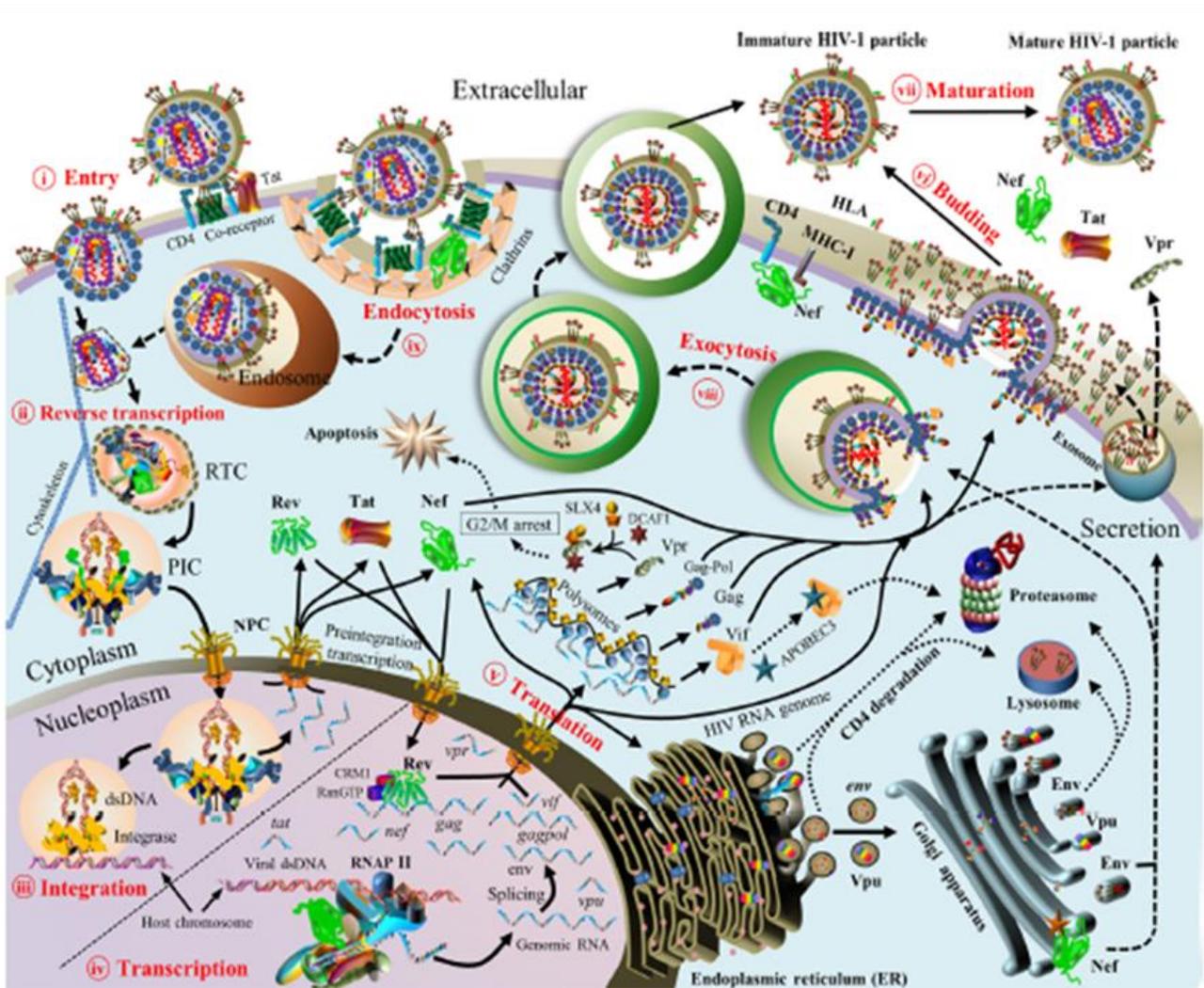
### ***Exocitosis.***

El corte ordenado de Pr180gag-pol y Pr55gag dirige la maduración de la partícula y su inmediata liberación por exocitosis. Este es un paso esencial para la producción de viriones infectivos, ya que las partículas virales que contienen las moléculas precursoras no son infectivas. (Santana, A., Domínguez, C., Lemes, A., et al, 2003)

Inmediatamente después de la salida de los viriones, las proteínas p17, p24 y p7 se reorganizan generando un virión maduro e infectivo, capaz de iniciar un nuevo ciclo de replicación (Figura 4). (Cordeiro, N., Taroco, N., Ruchansky, D., 2012)

## **1.5 Complejo de la envoltura (SU/gp120 y TM/gp41)**

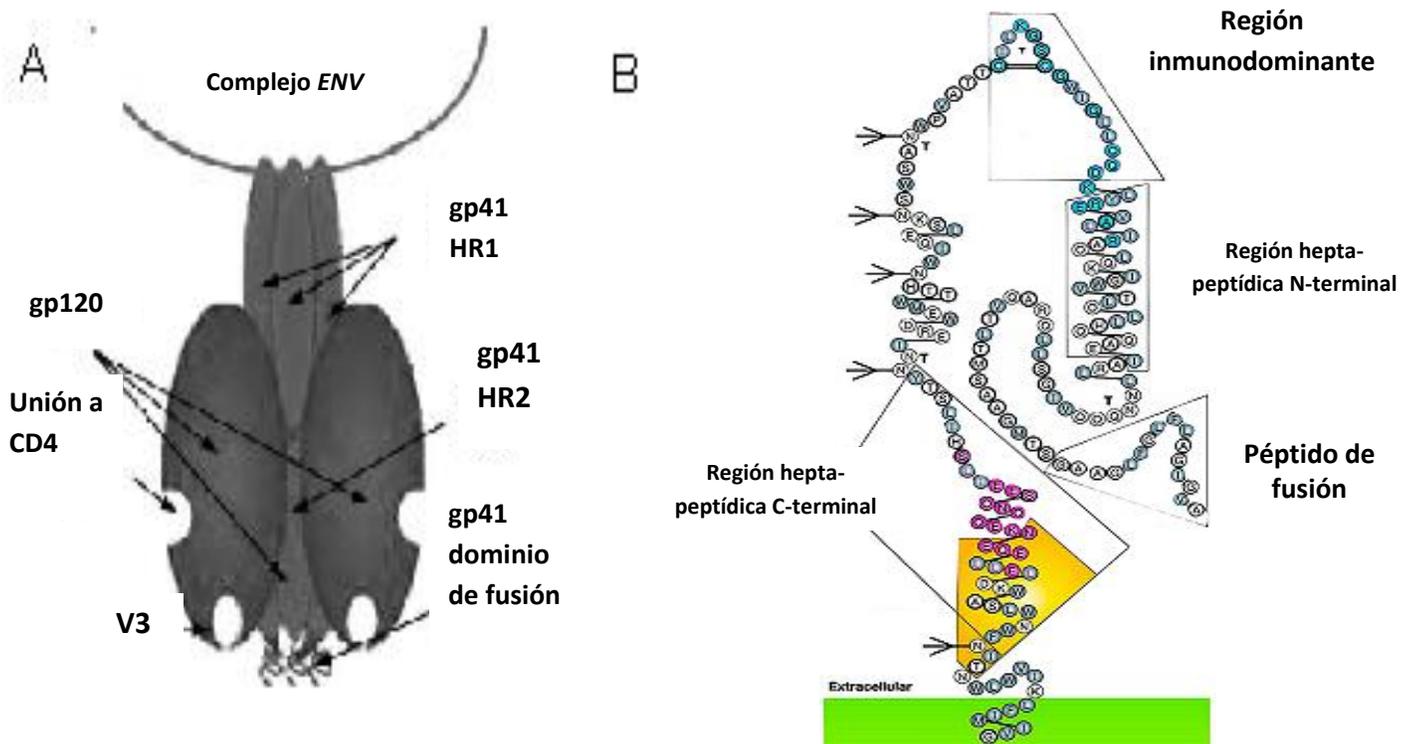
El complejo de envoltura o glicoproteína de envoltura está formado por trímeros de SU/gp120. La SU/gp120 media la unión del virus a la célula blanco a través de la interacción con la molécula CD4 y un receptor de quimiocina denominado CCR5 y/o CCRX4. La SU/gp120 está formada por cinco regiones conservadas (C1 a C5) que son los sitios de contacto con TM/gp41 y cinco regiones variables (V1 a V5) expuestas en la superficie de la molécula. (Modrow y cols., 1989)



CD4 = Receptor célula CD4; CCR5 y/o CXCR4 = Co-receptores de célula CD4; RTC = Complejo de la transcriptas reversa; dsADN = ADN de doble cadena; PIC = Complejo de preintegración al núcleo; NPC = Complejo de poro nucleares; Rev, Tat, Nef, Vif, Vpr y Vpu = Proteínas virales; EDGF/p75, actina, tRNAs3 y TIP47 = cofactores celulares; Env = proteína de envoltura viral; GP120 = Glicoproteína de superficie; GP41 = Glicoproteína de Transmembrana; CRM1, RanGTP, DCAF1 Teterinas. APOBEC3ySLX4 = Proteínas del hospedero. Tomada y modificada de Guangdi Li, and Erik De Clercq (2016)

**Figura 4.** Ciclo de replicación del HIV-1. (i) Entrada viral. (ii) Transcripción inversa. (iii) Integración viral. (iv) Transcripción viral. (v) Traducción viral. (vi) Ensamblaje viral. (vii) Maduración del virus. (viii) Exocitosis del virus. (ix) Endocitosis del virus. Tomada y modificada de De Clercq, 2016.

La TM/gp41, al ser transmembranal, participa en la fusión de las membranas viral y celular del hospedero. Entre sus dominios principales está la secuencia conocida como péptido o dominio de fusión, que es una región hidrofóbica rica en glicinas, dos regiones alfa hélice, cada una en los extremos amino y carboxilo terminal entre las que se encuentra la región inmunodominante (Figura 5).

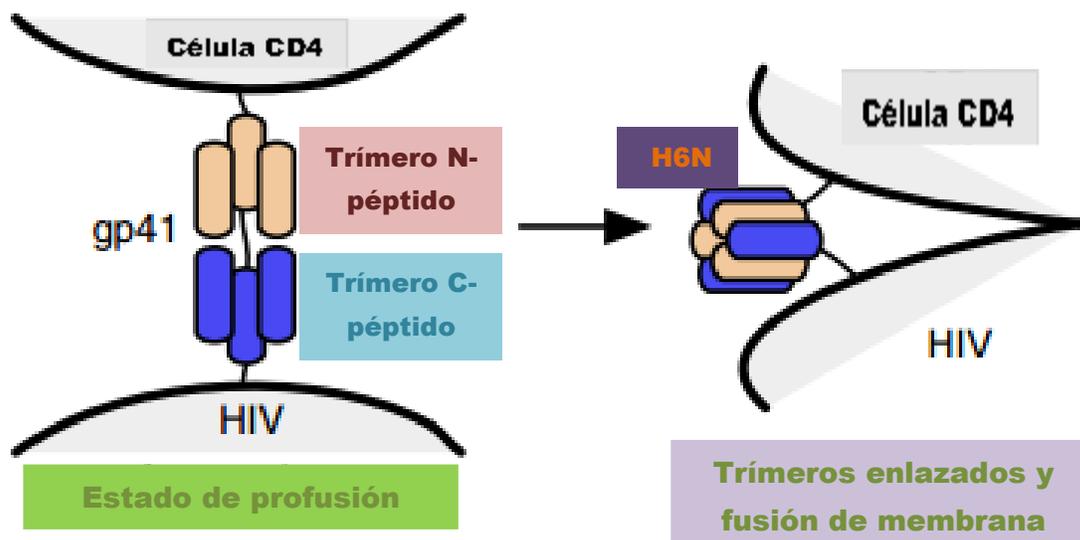


**Figura 5.** Complejo *Env* de HIV-1 (SU/gp120-TM/gp41). A) Heterómero de la SU/gp120 externa unida no covalentemente al dominio de transmembrana gp41 organizados en simetría triangular. Se señalan algunos dominios importantes en ambas proteínas, entre ellos un dominio de unión al receptor CD4 y un dominio de fusión. B) Diagrama de la estructura de la TMgp41. Se señalan regiones importantes como la inmunodominante y el péptido de fusión. Tomada y modificada de Sierra y cols., 2005.

## **1.6 Papel crítico de la glicoproteína transmembranal (gp41) en la infección por HIV**

Una vez que el dominio externo de la Su/gp120 se une con la molécula CD4 durante el proceso de infección, se inducen cambios conformacionales en ella exponiendo el sitio de unión al co-receptor (presumiblemente el asa V3). La unión al correceptor induce cambios conformacionales adicionales en la TM/gp41 que incluyen la exposición de su péptido de fusión en el extremo amino terminal, el cual se desplaza a la membrana de la célula del hospedador para insertarse en ella. Este proceso parece estar mediado en parte por la formación de una estructura trimérica helicoidal del dominio HR1 (*N-terminal heptad region*) de cada uno de los tres dominios de la gp41. La subunidad de la gp41 sufre cambios

conformacionales permitiendo que una segunda región HR2 (*C-terminal heptad region*) se empaquete en la superficie de la estructura trimérica helicoidal, formando así una horquilla (*6-helix bundle*), que comprende tres dominios de HR1 en el centro y tres dominios de HR2 en la superficie en forma antiparalela. (Moore y Doms, 2003; Sierra y cols., 2005) Tennyson y cols. (2017) muestran una versión más actual y detallada del papel de gp41 en la fusión de membranas que es crítico para la infección por HIV (Figura 6).



**Figura 6.** Fusión del HIV a las membranas de las células CD4<sup>+</sup>. Por la unión del HIV a la célula inmune se lleva a cabo el cambio conformacional de los trímeros del péptido-N y del péptido-C de la gp41 viral, lo que lleva a un «ensamblaje de trímeros» por consecuencia de la fusión del HIV-1 a las membranas de las células inmunes. Tomada y modificada de Tennyson y cols., 2005.

## 1.7 Transmisión del HIV

El HIV sólo se puede transmitir a través del contacto con fluidos corporales que poseen una alta concentración viral. El virus no se transmite de manera casual. El virus ha sido aislado en la saliva, las lágrimas, la orina, el semen, el líquido preseminal, los fluidos vaginales, el líquido amniótico, la leche materna, el líquido cefalorraquídeo y la sangre, entre otros fluidos corporales humanos.

Existen diferentes vías por las cuales una persona puede ser infectada por HIV:

## 1) Transmisión sexual

El contacto sexual es el método más común de transmisión en el mundo. Esta forma de transmisión se produce por el contacto de secreciones infectadas con la mucosa genital, rectal u oral de la otra persona. La mayor parte de regiones expuestas del tracto genital masculino y femenino se encuentran revestidos por epitelio escamoso estratificado y a pesar de que esta capa proporciona una barrera física importante para la infección viral y no transmite las partículas virales, al existir una descomposición en la integridad epitelial puede ocurrir una infección. Se puede llevar a cabo a partir de microabrasiones epiteliales que surgen durante el coito, o como resultado posterior a una enfermedad de transmisión sexual. (Hall, J., Hall, B., Conkerell, C., 2011)

El endocérvix femenino está revestido con una sola capa de células epiteliales columnares que también son resistentes a los virus. Sin embargo, esta delgada barrera es más sensible a la descomposición de la mucosa y ectopia cervical que puede ser el resultado de un trauma. El moco cervical actúa como una barrera física adicional ya que contiene proteínas tales como el inhibidor de leucocitoproteasa secretora (SLPI, por sus siglas en inglés), que tienen actividad antiviral innata. (Hall, J., Hall, B., Conkerell, C., 2011)

Se producen diferencias fisiológicas y anatómicas significativas en la mucosa rectal. Estas diferencias probablemente explican el riesgo profundamente aumentado de contraer la infección por HIV durante el sexo anal. A diferencia del epitelio vaginal, el epitelio rectal proporciona poca o ninguna barrera física para la infección viral. Además, el recto, a diferencia del tracto genital, contiene tejido linfoide organizado que es capaz de unir y presentar al HIV. Una vez que el HIV entra a través del epitelio, una densa población de células dendríticas, macrófagos y células T, las cuales son susceptibles al virus, están disponibles y permiten, e incluso pueden facilitar la infección en las mucosas. (Hall, J., Hall, B., Conkerell, C., 2011)

La falta de educación sexual integral y la violencia sexual, son otros factores importantes que incrementan el riesgo de contraer una infección por HIV.

- **Principios generales de las prácticas sexuales seguras**

El modo más general de definir el sexo seguro es el siguiente: **Sexo seguro es cualquier práctica sexual donde no se permita que el semen, la sangre o los fluidos vaginales de una persona entren en el cuerpo de otra.** (Muñoz, C., 2018)

Las partes del cuerpo por donde el HIV podría entrar a la corriente sanguínea son el ano y el recto, la vagina, el pene, y (menos riesgoso) los ojos y la boca. Estas partes deben ser protegidas del contacto con los fluidos infectados por el HIV. El HIV no puede transmitirse a través de la piel, a menos que haya llagas o cortadas sangrantes. Cada vez que una persona tiene una actividad sexual, está escogiendo, consciente o inconscientemente, el nivel de riesgo con el que se siente cómoda en ese momento.

La protección se consigue mediante el uso de condones de látex, barreras bucales ("dental dams"), polietileno transparente, guantes de látex, y "condones de dedo," que actúan como barreras entre los fluidos infectados y las membranas mucosas cortadas o abiertas. (Muñoz, C., 2018)

Cabe mencionar que la carga viral es un valor indicativo de la presencia de HIV en sangre, que da la información de la capacidad del virus para destruir el sistema inmunitario y, por tanto, advierte del riesgo de aparición de infecciones oportunistas y otras enfermedades. El análisis de carga viral consiste en medir la cantidad de copias de RNA del HIV en un volumen concreto de sangre; el resultado se informa como número de copias de HIV por mililitro de sangre (copias/mL). La determinación de la carga viral forma parte de las pruebas rutinarias en el seguimiento clínico de las personas con el HIV y sirve para valorar la respuesta al tratamiento antirretroviral. El objetivo del tratamiento antirretroviral es mantener la carga viral indetectable y mantener conservado el sistema inmunitario. En general, se considera que una carga viral es indetectable cuando se sitúa por debajo de las 50 copias/mL; no obstante, en la actualidad, el significado de "indetectable" depende del método de análisis empleado en cada hospital, y puede ser inferior a 20, 37 o 50 copias por mililitro.

"Indetectable = intransmisible" es el mensaje de una nueva publicación de ONUSIDA. Si las pruebas de los últimos 20 años ya demostraban que el tratamiento del HIV es sumamente efectivo para reducir la transmisión del HIV, ahora hay evidencias contundentes de que las personas que viven con el HIV con una carga viral indetectable no pueden transmitir el HIV mediante el intercambio sexual. (ONUSIDA, 2018) Entre 2007 y 2016 se llevaron a cabo tres amplios estudios sobre la transmisión sexual del HIV entre miles de parejas en las que uno de los individuos vivía con el HIV y el otro no. En dichos estudios no se produjo ni un solo caso de transmisión sexual del HIV de una persona que viviera con el HIV con supresión vírica a su pareja seronegativa. No obstante, la campaña informativa advierte de que la única forma de saber si se presenta supresión vírica es mediante la realización de una prueba de carga viral. (ONUSIDA, 2018)

## **2) Perinatal**

El principal modo de infección por HIV en niños en todo el mundo es la transmisión de madre a hijo. La tasa de transmisión perinatal sigue siendo alta en los países de escasos recursos.

La transmisión puede ocurrir de manera intrauterina durante las etapas temprana y tardía de la gestación, en donde la barrera placentaria puede verse afectada, lo que permite la entrada del HIV, siendo esta la forma de transmisión menos frecuente. Otra forma de transmisión ocurre cuando el neonato tiene contacto con el canal de parto en donde este se expone a la sangre infectada de la madre y secreciones vaginales. Diversos factores influyen en la infección del neonato, tales como, la carga viral, el uso de antirretrovirales, la etapa de la infección y los procesos obstétricos durante el parto. Por su parte, la transmisión postparto ocurre durante la lactancia materna, en donde el virus traspasa directamente la submucosa intestinal debido a algún defecto en el revestimiento de la mucosa.

La importancia de un diagnóstico temprano radica en prevenir el contagio postparto, por lo que, en México, la detección del HIV durante el embarazo forma parte de los estudios de rutina que se deben realizar durante el control prenatal (Hall, J., Hall, B., Conkerell, C., 2011)

## **3) Transmisión por drogas intravenosas**

La transmisión del HIV entre los usuarios de drogas inyectadas se produce principalmente a través de la contaminación del equipo de inyección, que es reutilizado por un usuario de drogas no infectado. (Hall, J., Hall, B., Conkerell, C., 2011) Este hábito es responsable de una muy importante proporción de casos de SIDA en el mundo occidental.

## **4) Transmisión por sangre, subproductos de la sangre y trasplantes de órganos o tejidos**

La transmisión del HIV a través de productos sanguíneos contaminados es muy eficiente. Más del 90% de los receptores transfundidos con un componente sanguíneo seropositivo al HIV se infectan. Se han documentado casos de infecciones por HIV causados por transfusiones de glóbulos rojos, sangre completa, plasma fresco congelado, plaquetas y factores de coagulación. Los pacientes que adquieren la infección por HIV a partir de un producto sanguíneo contaminado parecen tener una tasa similar de progresión de la enfermedad del HIV en comparación con aquellos que adquieren el HIV a través de otra vía de contagio. (Hall, J., Hall, B., Conkerell, C., 2011) A pesar de que los métodos de tamizaje

han mejorado, las infecciones por transfusiones siguen ocurriendo. Esto se debe a que si la recolección de sangre se da en una etapa aguda de la infección por HIV, aún no hay presencia de anticuerpos y algunos métodos que detectan antígenos fallan. (Hall, J., Hall, B., Conkerell, C., 2011)

De igual manera se ha visto que el HIV se transmite por trasplantes de riñones, hígado, corazón, páncreas, hueso y piel. No se han reportado casos de infección por trasplantes de órganos que no contienen sangre o que están poco vascularizados, tales como la córnea, hueso fresco congelado sin médula, tendón liofilizado o dura madre irradiada. (Hall, J., Hall, B., Conkerell, C., 2011)

## **5) Exposición ocupacional**

Los trabajadores de la salud, incluidos los de laboratorio, están en riesgo de contraer el HIV cuando están en contacto con fluidos corporales infecciosos.

Existe un riesgo laboral pequeño entre los profesionales sanitarios, el personal de laboratorio y posiblemente otras personas que manipulan muestras sanguíneas o fluidos de personas con HIV. Estudios realizados indican que el riesgo de transmisión después de una punción cutánea con una aguja o un instrumento cortante contaminados con la sangre de una persona con HIV es de aproximadamente 0.3%, pues otro factor determinante es la carga viral presente en la muestra; si es baja, como en las etapas muy tempranas de la infección, el riesgo de que se establezca la infección disminuye considerablemente. Algunas fuentes señalan que se requiere una carga superior a 200 copias/mL de sangre para que se establezca la infección en el receptor. (Cohen, M., Chen, Y., McCauley, M., et al, 2011)

La exposición laboral al HIV requiere una evaluación médica urgente debido a la importancia que tiene el inicio de la profilaxis post-exposición (PPE) lo antes posible, de preferencia en las primeras dos horas de la exposición. Se debe realizar serología completa para determinar su estado serológico, además del HIV, para virus de hepatitis B y C (AntiHBs, Anti-HBc, AgHBs), salvo que ya sea conocido como portador de cualquiera de estas infecciones. Para identificar el HIV es recomendable realizar un ELISA de cuarta generación ya que incluye la detección de anticuerpos y antígeno p24. (IMSS, 2017)

## **1.8 Historia natural de la infección por HIV**

El HIV infecta a las células con receptor CD4, en especial a los linfocitos CD4 y monocitos-macrófagos, lo que trae como consecuencia una disminución lenta y progresiva a causa de la replicación viral dentro de ellos y una consecuente lisis. Una vez que ésta se inicia se inmortaliza en el tiempo y aunque el organismo trata de reponer la mayoría de las células inmunológicas destruidas, nunca logra recuperar la cantidad destruida. Por otra parte, las manifestaciones clínicas aparecerán cuando el equilibrio se incline a favor de la destrucción y no de la reposición celular, de manera que lleva al agotamiento del sistema inmunológico. El hecho de inmortalizar la infección desempeña un rol importante en los reservorios del virus como lo son: el cerebro, los ganglios linfáticos y células del sistema reticuloendotelial.

Debido a los efectos de la inmunosupresión por la infección con el HIV se está de acuerdo en que ésta tiene una acción sistémica por los diferentes efectos que ocasiona sobre las distintas células, tejidos, órganos y sistemas, en forma directa e indirecta.

### **1.8.1 Manifestaciones clínicas y etapas de la infección por HIV**

#### ***Etapas 1: Fase de infección aguda retroviral.***

Se corresponde con la llegada del virus al paciente y se caracteriza desde el punto de vista clínico por dos situaciones: puede ser asintomática, como ocurre en la mayoría de los casos, o sintomática, donde el cuadro clínico presenta síntomas muy variados, entre los cuales figuran:

- Generales: fiebre, faringitis, linfadenopatías -- cuadro parecido al de la mononucleosis infecciosa--, artralgias, mialgias, anorexia y pérdida de peso.
- Dermatológicos: erupción eritematosa maculopapular, urticaria difusa y alopecia.
- Gastrointestinales: náuseas, vómitos, diarrea y ulceraciones mucocutáneas.
- Neurológicos: cefalea, dolor retroorbitario, meningoencefalitis, neuropatía periférica, radiculitis y síndrome de Guillain-Barré.

En su mayoría, al ser síntomas tan inespecíficos, es frecuente que médicos y pacientes no les den importancia y a su vez sea difícil determinar con exactitud la frecuencia de este cuadro agudo; no obstante, en diferentes estudios realizados se describen entre los más comunes: fiebre asociada a

fatiga, erupción eritematosa maculopapular y síndrome adénico, parecido al de la mononucleosis infecciosa. De forma general, estos síntomas tienen un período de 6 a 8 semanas aproximadamente y no requieren tratamiento específico, solo sintomático. Durante esta fase existe el inconveniente de que la serología del HIV es negativa, aunque los antígenos virales sean positivos.

### ***Etapa 2: Fase asintomática de la infección por HIV u oportunistas menores.***

Después de la etapa 1, el paciente pasa a la fase más larga de la enfermedad, la de portador asintomático, que puede tener una duración promedio tan corta como de un año o tan larga como de 8.5 años, aunque los nuevos tratamientos la prolongan cada vez más. En general, puede estar asintomático por completo o presentar un síndrome adénico con las siguientes características: más de tres meses de evolución, ganglios firmes pero no leñosos, móviles, no dolorosos, sin cambios en la piel que los recubre y ocupando dos o más regiones contiguas. Se llama linfadenopatía generalizada persistente, puede haber esplenomegalia o no y el diagnóstico en esta fase es por medio de la serología HIV, por lo cual es importante estimular por todas las vías posibles que las personas se interesen por saber su *seroestatus*.

### ***Etapa 3: Fase sintomática de la infección por HIV u oportunistas menores.***

Según pasan los años y progresa la enfermedad, le sigue la fase sintomática de la infección por HIV, la cual va a representar un período intermedio entre el portador asintomático y el de caso SIDA o final. Aparecen los primeros síntomas o se presentan enfermedades relacionadas con una inmunodeficiencia subyacente, de modo que estos pacientes ya no estarán tan bien como en la fase anterior, pero los problemas no serán tan graves como en la siguiente. Clínicamente, se caracteriza por distintos síntomas:

- Generales: malestar general, astenia persistente, síndrome febril prolongado acompañado de sudoración nocturna y pérdida de peso que puede llegar al 10%.
- Hematológicos: anemia y trombocitopenia, con síndrome purpúrico o sin él.
- Linfadenopáticos: pueden disminuir los ganglios linfáticos.
- Respiratorios: tos seca persistente.
- Digestivos: diarrea que puede durar más de un mes; dermatológicos: candidiasis bucal, dermatitis seborreica, herpes simple recidivante (anal o genital), herpes zóster y verrugas genitales.

- Neurológicos: polineuropatía, síndrome ansioso depresivo y meningitis aséptica.

La duración de esta fase depende de diferentes factores entre los cuales figuran: tipo de cepa viral infectante y respuesta inmunológica del huésped, entre otros.

### ***Fase SIDA u oportunistas mayores.***

Es el estadio final de la infección por HIV y se caracteriza por la aparición de infecciones oportunistas y tumores. Desde el punto de vista inmunológico representa una inmunodepresión severa, con una depleción notable del número de linfocitos CD4<sup>+</sup>, cuya función en la respuesta inmune es bien conocida. Hay una alta replicación viral, favorecida por la debilidad del sistema inmunológico. Desde el punto de vista clínico, se considera que un paciente es un posible caso de SIDA cuando tiene varias afecciones oportunistas mayores que así lo indiquen. Actualmente, además de los indicadores de la enfermedad de SIDA, también se ha incluido el término SIDA inmunológico, el cual incluye a pacientes con número de células CD4<sup>+</sup> menor de 200 mm<sup>3</sup> y clínicamente asintomático. De igual forma se ha incluido en la práctica clínica el término SIDA “debut” para todos aquellos casos que tienen alguna enfermedad oportunista definitoria de SIDA o CD4<sup>+</sup> por debajo de 200 células al momento de ser detectados. Estos casos, al ser diagnosticados en esta fase tan avanzada de la infección, se asocian con una alta mortalidad por poca respuesta a la terapia antirretroviral, reacciones adversas, irreversibilidad de la infección oportunista que tenga en ese momento, así como dificultad para lograr la recuperación del sistema inmunológico.

La consecuencia del progresivo descenso de los linfocitos CD4<sup>+</sup> en la fase asintomática de la enfermedad, conlleva a la progresiva inmunodepresión y a la aparición de síntomas relacionados o coinfecciones (Tabla 4). Aunque pueden aparecer relacionados con otras patologías, cuando aparecen con la infección por HIV son más frecuentes y más severos. También constituyen una fuente de nuevos diagnósticos de infección por HIV. (Aguirrebengoa, 2004)

A medida que se va produciendo el descenso de CD4<sup>+</sup> y una elevación de la carga viral, pueden ir apareciendo las diferentes infecciones oportunistas, en relación con el grado de inmunosupresión.

**TABLA 4.** Coinfecciones más comunes asociadas a la infección por HIV.

* Candidiasis orofaríngea	* Linfoma de Burkitt
* Herpes zóster	* Histoplasmosis
* Tuberculosis	* Cryptosporidiasis
* Neumonía recurrente	* Carcinoma cérvix
* Sarcoma de Kaposi	* Herpes simplex
* Enfermedad por Citomegalovirus	* Vaginitis
* Toxoplasmosis	* Pneumocystis

## 1.9 Epidemiología del HIV/SIDA

A lo largo de la historia, el HIV/SIDA se ha extendido por todos los continentes, con grados de afectación muy variables. Sus efectos han sido devastadores por su capacidad de propagación y elevada letalidad. Con base en las estadísticas mundiales expuestas por ONUSIDA, a finales de 2016 se contabilizó un total de 36,7 millones de personas viviendo con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (HIV) alrededor del mundo y tan solo en ese año se produjeron 1,8 millones de nuevas infecciones. En respuesta a estas cifras y a fin de respaldar los esfuerzos nacionales y regionales para establecer objetivos nuevos en materia de tratamiento del HIV, la Organización Mundial de la Salud propone el “Proyecto de Estrategia Mundial del Sector de la Salud contra el HIV para 2016-2021”, con el cual surge un impulso esperanzador para poner fin a una problemática de salud mundial: la estrategia “90 – 90 – 90”, cuyo objetivo final buscaba en ese momento, acercarse a las metas 90-90-90 para el año 2020 (OMS, 2005), las cuales contemplaban que:

- Para el 2020 el 90% de las personas que viven con el HIV conocieran su estado serológico respecto al HIV.
- Que el 90% de las personas diagnosticadas con el HIV recibieran terapia antirretroviral de manera continua.

- Que el 90% de las personas que reciben terapia antirretroviral tuvieran supresión viral.

También se buscaba reducir las muertes mundiales por SIDA a menos de 500,000 para el 2020, y a menos de 200,000 para el 2030. Reducir las nuevas infecciones por HIV en un 75%, en particular en las poblaciones clave; que no haya ninguna nueva infección en lactantes y finalmente lograr que el 90% de las personas con HIV o afectadas por él, estén protegidas en sus comunidades y tengan un acceso igualitario a los servicios de salud, empleo, educación y sociales. (OMS, 2005)

Si consideramos que en “condiciones normales” los servicios de salud en algunos países, sobre todo del tercer mundo, el acceso a pruebas diagnósticas y medicamentos ya era de por sí limitado y difícil antes de la pandemia por SARS-CoV-2, al aparecer esta, impidió aún más el lograr las metas antes propuestas; aunque hubo un avance significativo, ya que la detección oportuna ha sido la pieza clave para cumplir dichos objetivos; pero dada la emergencia sanitaria desatada por la COVID-19, los recursos económicos, médicos y hospitalarios volcaron su atención a la contención de la nueva pandemia, lo que retardó un poco más el objetivo propuesto del 90-90-90. (Mapahla et al., 2021)

Al cierre del año 2020, se estima que, 37.7 millones de personas vivían con el HIV en todo el mundo; aproximadamente 1.5 millones de personas contrajeron la infección por el HIV y 680 mil personas fallecieron a causa de enfermedades relacionadas con el SIDA. De acuerdo con las estimaciones, de los 37.7 millones de personas infectadas por el HIV, el 73% tuvieron acceso al tratamiento, el 84% conocen su estado serológico y únicamente el 66% tienen niveles indetectables del virus. Desde el pico alcanzado en 1997, las nuevas infecciones por el HIV se han reducido en un 52%. En 2020 se produjeron 1.5 millones de nuevas infecciones por el HIV, en comparación con los 3.0 millones en 1997.

Tomando en cuenta las cifras anteriores que van al alza y son alentadoras, considero que es posible lograr los objetivos para el año 2025, lo que permitiría tener controlada la epidemia en términos aceptables, generando grandes beneficios económicos y sanitarios; pero imposible hablar de su control total al 100% derivado esto de la naturaleza humana y de la inconciencia de vivir al límite prácticas de riesgo.

En lo que toca a México, los primeros casos de SIDA se empezaron a reportar en 1983. Desde este año hasta 2006 se había observado un comportamiento al alza de personas con SIDA, sin embargo, a partir de 2007 este comportamiento disminuyó sustancialmente. Según las estadísticas del Centro Nacional para la Prevención y el control del HIV y el SIDA (CENSIDA), desde 1983 hasta el tercer trimestre del 2021, se han reportado un total de 327,260 personas con infección por HIV, de las cuales

199,960 se encuentran vivas según el estado de evolución registrado. Al cierre del 2020, se reportaron un total de 9,881 casos nuevos de VIH y 5,281 defunciones al corte del 2019 (Tabla 5). (Secretaría de Salud, 2021)

**TABLA 5.** Información de Vigilancia Epidemiológica del HIV/SIDA al cierre de 2020.

	TOTAL
<b>Casos de VIH notificados (1983-2021**)</b>	<b>327,260</b>
<b>VIH</b>	
<b>Casos notificados de VIH que se encuentran vivos según estado de evolución registrado</b>	<b>199,960</b>
<b>Casos nuevos diagnosticados de VIH notificados en 2020*</b>	<b>9,881</b>
<b>Casos nuevos diagnosticados de VIH notificados en 2021**</b>	<b>10,500</b>
<b>Proporción de casos VIH en hombres, según casos diagnosticados en 2021**</b>	<b>86.02</b>
<b>Defunciones por VIH 2019***</b>	<b>5,281</b>
<b>Tasa de mortalidad 2019*** por 100 mil habitantes</b>	<b>4.19</b>

\*Información al cierre de 2020.  
 \*\* Información sem 41\_2021, de acuerdo a lo establecido en el Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de VIH, actualización marzo 2020.  
 \*\*\* Información oficial INEGI.

A pesar de lo anterior, es importante destacar que en los últimos años, si bien se ha logrado que México sea considerado un país en fase de “estabilización” de este síndrome, así como de la mortalidad que causa, para los últimos tres años se ha registrado, según los datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), un incremento anual relevante, lo que debe ser tomado como un signo de alerta, a fin de evitar que se entre en una nueva fase de incremento de la mortalidad por esta causa.

Así mismo, la tipología de la epidemia de HIV-SIDA en la que México está catalogado es la denominada “concentrada”, pues la mayoría de los casos se registra en poblaciones específicas y bien identificadas: hombres que tienen sexo con otros hombres (HSH), hombres trabajadores sexuales (HTS), mujeres trans (MT), personas que se inyectan drogas (PID) y personas privadas de su libertad.

Una de las innovaciones más destacadas en este tema es la Profilaxis Pre-exposición del HIV (PrEP), con lo que se busca disminuir la incidencia de nuevos contagios e incrementar la detección oportuna de ésta y otras enfermedades de transmisión sexual, y que desde 2020 en los hospitales de segundo

nivel del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) se prescribe como un método eficaz de prevención. Así mismo existe una nueva opción para atender a las personas con HIV que son los inhibidores de intergrasa (clase de medicamento antirretroviral contra el HIV), con evidencia de mayor seguridad, eficacia y menos efectos adversos.

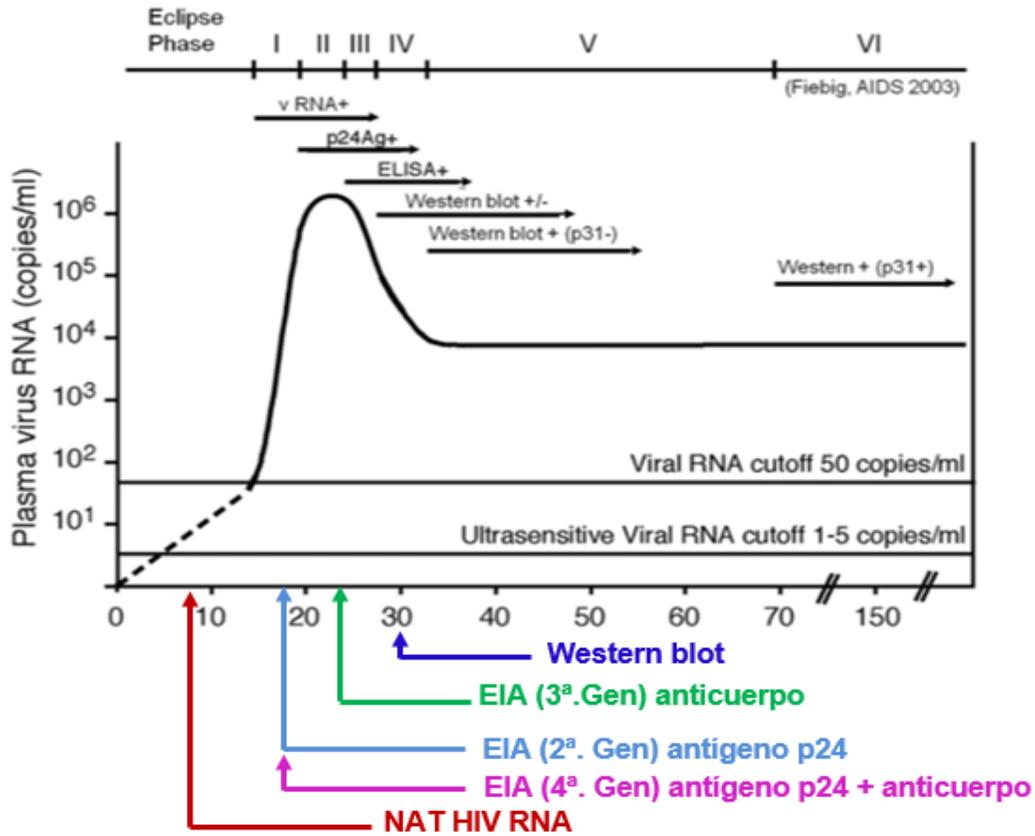
Aunque ha disminuido la incidencia todavía falta un largo camino por recorrer. De cara a esto el CENSA se dio a la tarea de implementar una serie de estrategias para evitar la transmisión del virus; como resultado, estimaciones del número de pruebas para la detección del HIV y sífilis aplicadas por la Secretaría de Salud, registran un aumento en el segundo trimestre del año en curso comparado con las pruebas aplicadas en el segundo trimestre del 2020. Así mismo, esto permitió mantener, en términos generales, la supresión virológica por arriba del 90% (92.3%-95.02%) en comparación con otros países (Global Fund, 2021). Estos resultados coinciden con el redoble de esfuerzos en todas las entidades federativas, para tratar de contrarrestar los efectos negativos de la pandemia por COVID-19.

## **1.10 Diagnóstico del HIV**

El diagnóstico definitivo de la infección por el HIV sólo puede establecerse por métodos de laboratorio, ya que en ningún caso las manifestaciones clínicas son lo suficientemente específicas. (Pachón, J., Pujol, E., Rivero, A., 2003)

Diversos factores como lo es el tiempo que transcurre desde la infección, pueden interferir en la detección del virus; ninguna prueba puede detectar al virus inmediatamente después de que la infección ocurre (Figura 7). El tiempo entre el momento en que una persona pudo estar expuesta al HIV y cuando una prueba puede determinar con certeza si tiene HIV, se conoce como período de ventana. Éste varía de persona a persona y depende del tipo de prueba utilizada para detectar al virus. (CDC, 2018)

Durante la fase aguda de la infección, las pruebas tradicionales siempre darán negativo porque no detectan directamente el HIV, sino a los anticuerpos producidos como respuesta por el sistema inmune, lo que ocurre alrededor de la 12va semana después de la exposición. En contraste, las pruebas de carga viral, que contabilizan el número de copias del RNA del virus en la sangre, arrojarán como resultado una elevada cantidad de copias del HIV durante la fase aguda de la infección.



**Figura 7.** Tiempo de aparición de los marcadores específicos de la infección por HIV y tiempos de detección de las diferentes pruebas diagnósticas. Tomada y modificada de Fiebig E. W., y cols., 2003.

Las pruebas de laboratorio que se utilizan para diagnosticar la infección por HIV se clasifican en directas e indirectas. Las pruebas directas facilitan el diagnóstico precoz de la infección, pues permiten detectar la presencia del virus o de sus constituyentes (proteínas y/o ácidos nucleicos) aún antes de desarrollarse la respuesta de anticuerpos, mientras que las indirectas demuestran la respuesta inmune por parte del huésped, mediante el reconocimiento de anticuerpos específicos producidos por el sistema inmunitario como respuesta a la infección vírica.

La detección por métodos directos o indirectos del HIV ha permitido no solo reconocer a las personas infectadas y establecer medidas preventivas adecuadas, sino que además constituye una ayuda esencial en el seguimiento de los pacientes para conocer el pronóstico de la enfermedad y la eficacia del tratamiento utilizado.

### **1.10.1 Pruebas indirectas para el diagnóstico del HIV**

La detección de anticuerpos específicos anti-HIV es la forma habitual de diagnosticar una infección por HIV. Los métodos se dividen en: *a) pruebas presuntivas o de tamizaje*, diseñadas con un máximo de sensibilidad para detectar todas las muestras positivas y *b) pruebas confirmatorias*, caracterizadas por su especificidad y que permiten asegurar la positividad de una muestra previamente reactiva en un test de tamizaje. Ambos ensayos realizados de forma secuencial obtienen resultados excelentes en cuanto a exactitud y reproducibilidad y tienen más del 99% y 95% de sensibilidad y especificidad respectivamente. (Beelaert G., et al, 2002)

#### ***a) Pruebas presuntivas o de tamizaje***

Desde que se diagnosticó formalmente la primera infección por HIV en 1983, y con la finalidad de hacer más eficiente la detección del HIV, las pruebas serológicas han ido evolucionando constantemente y pueden clasificarse según su generación.

En un principio, los ensayos de primera generación se basaron en la utilización de lisados virales como antígeno, pero se acompañaban de una alta frecuencia de falsos positivos. Posteriormente, fueron sustituidos por ensayos de segunda generación, los cuales utilizaban antígenos más específicos obtenidos por recombinación genética o mediante síntesis. Estas técnicas tenían una mejor especificidad pero planteaban problemas de sensibilidad en el diagnóstico de la infección aguda. Para resolver esta cuestión, se han diseñado técnicas que detectan en una misma prueba anticuerpos de distinta clase (IgG, IgM ó IgA) mediante un diseño de tipo sándwich o de inmunocaptura, utilizando como antígenos proteínas recombinantes o péptidos sintéticos específicos del HIV-1 (a veces asociados con otros específicos del HIV-2). De este modo se consigue reducir el periodo ventana a tres semanas (ensayos de tercera generación). Los ensayos de cuarta generación por su parte, permiten la detección simultánea de antígeno y anticuerpos y complejos inmunes antígeno p24/anticuerpo, por lo que tienen una alta sensibilidad y especificidad, y permiten reducir en una semana el periodo de ventana, estableciéndolo en dos semanas desde el inicio de la infección.

- **Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)**

La técnica de ELISA por sus siglas en inglés (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoadsorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico, que, al actuar, la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro (CENSIDA, 2018).

Se han desarrollado múltiples variantes de la técnica de ELISA:

- ELISA indirecto: Es la variante más utilizada. En esta, los antígenos inmovilizados capturan a los anticuerpos presentes en la muestra. La reacción se evidencia por el conjugado antiinmunoglobulina-enzima. La cantidad de enzima enlazada indica la cantidad de anticuerpos en el suero y puede ser medida por la degradación de su sustrato al revelar un color. (Ochoa, R., 2012)
- ELISA directo: Las placas se preparan recubriendo los pocillos con las soluciones en las que se sospecha se encuentra el antígeno y se incuban con anticuerpos marcados. Indican la presencia de antígeno en la solución analizada mediante el desarrollo de color tras agregar el sustrato. (Crespo, J., Fernández, L., Sánchez, L., 2010)
- ELISA competitivo: En este método, el anticuerpo de la muestra va a competir con el conjugado por un número limitado de sitios de unión del antígeno inmovilizado en la fase sólida. Habrá ausencia de color en una muestra positiva debido a que el sustrato no encontrará a la enzima porque el conjugado ha sido desplazado por el anticuerpo presente en la muestra. (Cruz, C., 2001)
- ELISA sándwich: Es un ensayo de captura de antígeno y detección mediante inmunocomplejos. A un pocillo recubierto con un primer anticuerpo anti-antígeno se le aplica la muestra problema en la que se encuentra el antígeno que será retenido en el pocillo al ser reconocido por el primer anticuerpo. Después del lavado que elimina el material no retenido, se aplica una solución con un segundo anticuerpo anti-antígeno marcado. Así, cada molécula de antígeno estará unida a un anticuerpo en la base que lo retiene y un segundo anticuerpo, al menos, que

lo marca. Este ensayo tiene una gran especificidad y sensibilidad debido a la amplificación de señal que permite el segundo anticuerpo.

Los fundamentos de las diferentes generaciones de ELISA, así como sus características, se resumen en la Tabla 6.

**TABLA 6.** Características y fundamentos de las diferentes generaciones de ELISA para el diagnóstico de infecciones por HIV-1/2.

Generaciones de ELISAs	Antígeno usado en la prueba	Capacidad de detección			Observaciones
		IgG	IgM	Ag p24	
Primera	Lisado de virus completo obtenido de CC	✓			
Segunda	PR o PS	✓			
Tercera	PR/PS de VIH-1/2 + PS del Grupo O de VIH-1	✓			
Cuarta	PR/PS de VIH-1/2 + PS del Grupo O de VIH-1 + Acs para detectar p24	✓	y/o✓	y/o✓	Antígeno p24 y los Acs de VIH-1/2 no se diferencian individualmente
Quinta	PR/PS de VIH-1/2 + PS del Grupo O de VIH-1 + Acs para detectar p24	✓	✓	✓	Antígeno p24 y los Acs de VIH-1/2 se diferencian individualmente/ detección de infecciones agudas

Ag= Antígeno; Acs= Anticuerpos; CC= Cultivo celular; Ig= Inmunoglobulina; PR= Proteína recombinante; PS= Péptido sintético

- **Aglutinación**

Son pruebas que se basan en la unión de los anticuerpos del HIV presentes en el suero del paciente, con pequeñas partículas que contienen antígeno del virus en la superficie, bajo el principio tipo sándwich de las pruebas de tercera generación. Estas pruebas tienen una alta sensibilidad y, relativamente, buena especificidad, por lo que son muy útiles como pruebas de tamizaje en áreas de limitados recursos, ya que son rápidas, simples y no requieren equipos. (Ospina, S., et al, 2006)

- **Dot blot**

Este es un tipo de inmunoensayo en fase sólida en el que los antígenos del HIV (formados por proteínas recombinantes o péptidos sintéticos de uno o ambos virus), están inmovilizados en una membrana porosa. La muestra y el reactivo pasan a través de la membrana y se absorben en la almohadilla absorbente subyacente. A medida que la muestra pasa a través de la membrana, los anticuerpos del HIV, si están presentes, se unen a los antígenos inmovilizados. El conjugado se une a la fracción constante de los anticuerpos del HIV, lo que produce un punto de color distinto sobre un fondo blanco. (CENSIDA, 2018)

- **Inmunocromatografía**

Inmunoensayo cualitativo que se basa en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa, sensibilizada con antígenos recombinantes para HIV-1/2. La muestra es añadida en la zona del conjugado, el cual está formado por antígenos recombinantes. Durante la realización de la prueba, la muestra (sangre total, suero o plasma) reacciona con las partículas cubiertas de antígeno. La mezcla se desplaza sobre la membrana cromatográficamente por acción capilar y reacciona con el antígeno recombinante de la membrana, para revelar la presencia / ausencia de anticuerpos contra HIV unidos. Una reacción positiva se visualiza por la aparición de bandas coloreadas en sitios específicos. (CENSIDA, 2018)

*b) Pruebas confirmatorias*

- **Western Blot (WB)**

Es la técnica más ampliamente utilizada y consiste en que las proteínas constitutivas del HIV se separan por electroforesis y, luego, se transfieren a un papel de nitrocelulosa. Estas proteínas fijadas son expuestas al suero del paciente, en el cual los anticuerpos específicos se unen a las proteínas presentes dando un patrón de bandas, cuya interpretación depende del criterio que se adopte en el laboratorio de acuerdo con lo definido por organismos internacionales. (CENSIDA, 2018)

- **Otras pruebas**

Como se mencionó anteriormente, la prueba confirmatoria más utilizada de todas es la inmunoelectrotransferencia (Western Blot), sin embargo, también la inmunofluorescencia directa (IFI), el inmunoensayo lineal (LIA) y la radioinmunoprecipitación (RIPA) se consideran como pruebas confirmatorias, aunque estas no son usadas de manera rutinaria como métodos confirmatorios. (Rodríguez, M., et al, 2002)

### **1.10.2 Pruebas directas para el diagnóstico del HIV**

Están basadas en la detección del virus o alguno de sus componentes. Incluye el cultivo vírico, la determinación de antígeno p24 en plasma o suero y la demostración de genoma vírico mediante técnicas moleculares.

- **Cultivo celular**

Aunque es la técnica más específica para el diagnóstico de la infección su utilización suele reservarse para estudios básicos de variabilidad genética, epidemiología molecular, patogénesis vírica o resistencia a fármacos, debido a la complejidad y riesgo que supone su realización. El método consiste en un co-cultivo de células mononucleares de sangre periférica del paciente junto a otras del mismo tipo procedentes de donantes. El cultivo se considera positivo por la demostración del efecto citopático o la detección de productos víricos como el antígeno p24 o la transcriptasa inversa. (Dewar, R., et al, 1992)

- **Antigenemia de p24**

El antígeno p24 de la cápside del HIV (core), detectado en suero o plasma mediante una reacción de EIA, es un marcador precoz de infección aguda por HIV. A lo largo de la infección su detección es variable debido al incremento de anticuerpos anti-p24 neutralizantes o a la escasa replicación del virus. La detección de antígeno p24 puede ser de utilidad en el tamizaje de donantes, combinado con la detección de anticuerpos (ensayos de cuarta generación), diagnóstico de la infección aguda y del recién nacido, monitorización de la terapia antirretroviral y como confirmación del crecimiento del virus en los cultivos celulares. (Pascual, A., et al, 2002)

- **Técnicas moleculares**

### ***Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)***

La PCR es la técnica más comúnmente empleada en biología molecular (con sus variantes qPCR y RT-PCR) para la amplificación del DNA, en la cual se lleva a cabo una reacción enzimática in vitro que amplifica millones de veces una secuencia específica de DNA durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada. Para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima DNA polimerasa, la cual de manera natural sintetiza el DNA en las células. Puede ser útil para el diagnóstico en personas que se encuentren en el período de ventana, en la identificación temprana de infectados entre expuestos y en caso de WB indeterminado, así como en el diagnóstico en menores de 18 meses. En el caso de la PCR, aunque la cantidad de virus disminuya, si hay infección por HIV en pacientes sin tratamiento, por la sensibilidad de la prueba es detectable. (CENSIDA, 2018)

### ***Análisis de amplificación de ácidos nucleicos (NAT)***

También llamados análisis de amplificación de ácidos nucleicos (nucleic acid amplification tests, NAAT) detectan el virus, ya que capturan porciones del RNA del HIV y las amplifican para facilitar su detección. Pueden dar resultados positivos o negativos (cualitativa), o indicar la cantidad exacta de virus presente en la sangre (cuantitativa). Por su elevado costo, no es una prueba rutinaria, sin embargo, debe considerarse su uso en escenarios para identificar infección reciente o aguda por HIV. (CENSIDA, 2018)

- **Prueba de monitoreo**

### ***Carga Viral (molecular) y cuantificación de linfocitos T CD4<sup>+</sup>/ CD8<sup>+</sup>***

La viremia plasmática o carga viral del HIV se define como el número de copias de RNA del virus que se encuentran presentes en la sangre (copias/mL). La determinación de la carga viral por RT-PCR, junto con la cifra de linfocitos CD4<sup>+</sup> por citometría de flujo y la situación clínica del paciente, se emplean para establecer las decisiones terapéuticas y para la monitorización del tratamiento antirretroviral. (García, F., Álvarez, M., Bernal, C., 2011)

Una carga viral de 10,000 copias/mL se consideraría baja, mientras que una de 100,000 copias/mL sería alta. Todas las pruebas de carga viral tienen un valor de corte por debajo del cual no son capaces de detectar el HIV, esto se llama límite de detección y los métodos que se utilizan actualmente tienen un límite inferior de detección de 40 ó 50 copias/mL. (Nolasco, 2019)

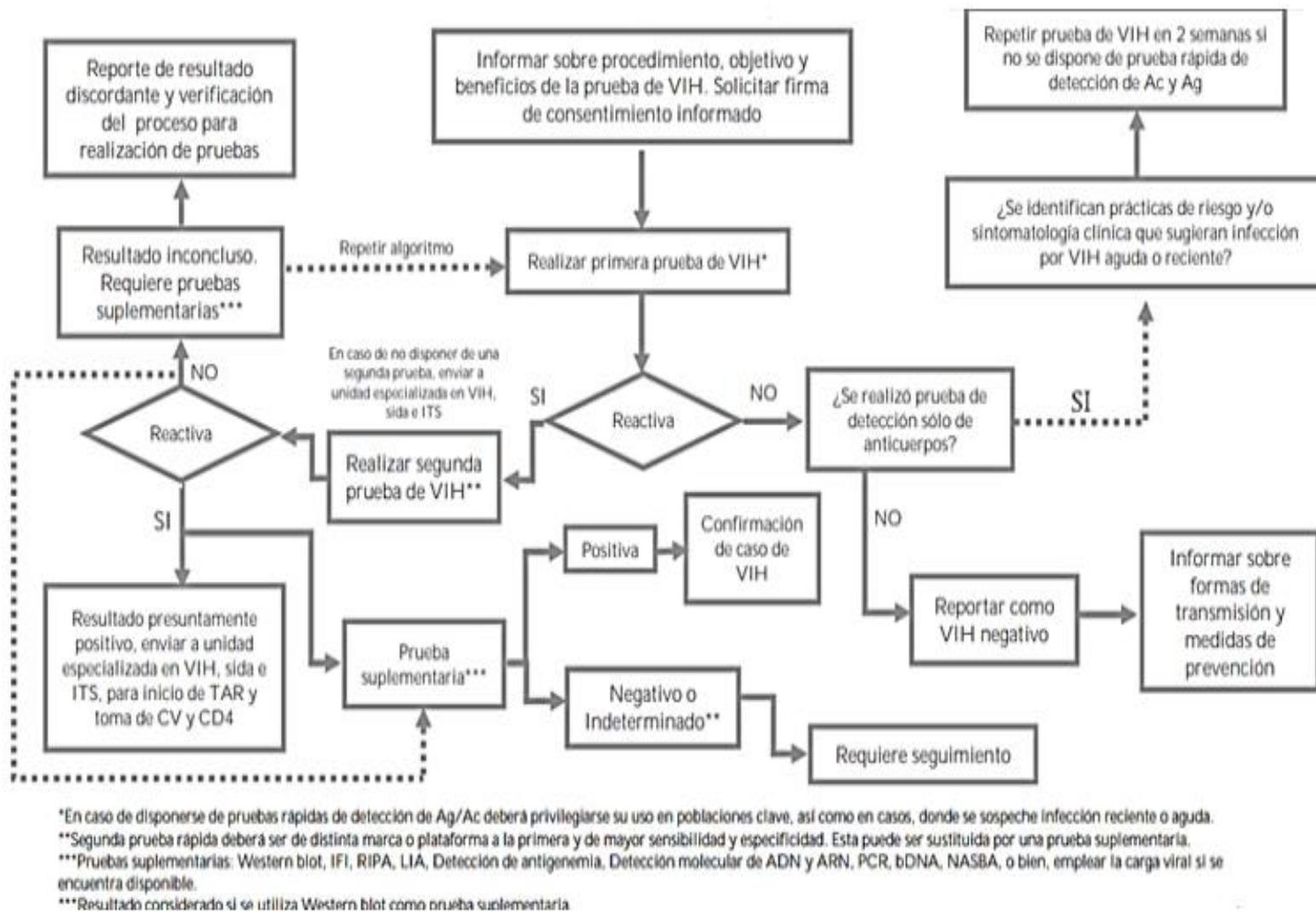
La Organización Mundial de la Salud y ONUSIDA recomiendan considerar 3 puntos para elegir el algoritmo de diagnóstico a utilizar, los cuales son:

1. *Objetivo de la prueba*
2. *Sensibilidad y especificidad de las pruebas*
3. *Prevalencia del HIV en la población*

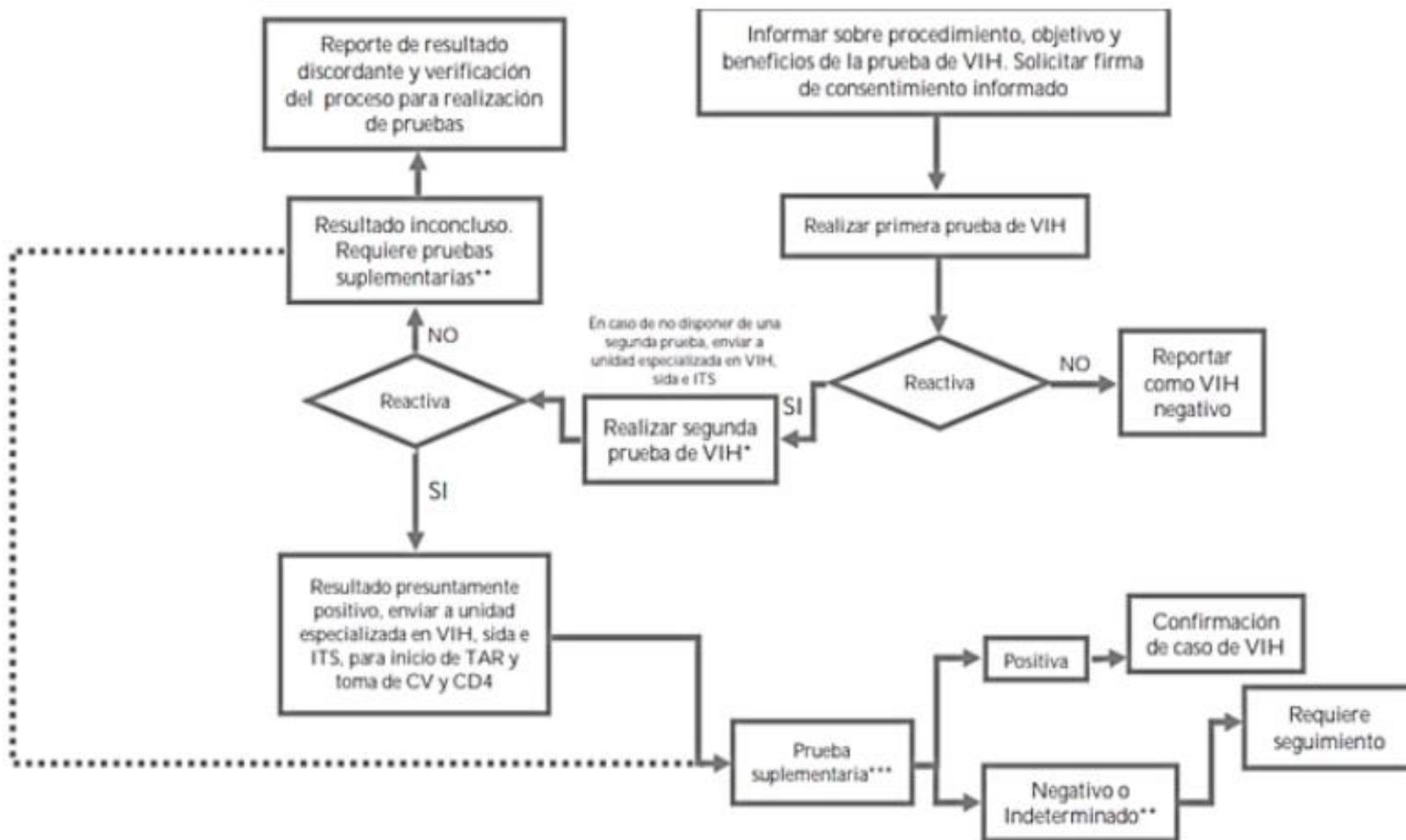
De acuerdo a la prevalencia de la infección por HIV de la población en cuestión, en México se emplean dos algoritmos:

- Alta prevalencia: En situaciones con una prevalencia de HIV superior al 5% en la población analizada, se debe emitir un diagnóstico presuntivo de HIV positivo a las personas con dos pruebas de tamizaje reactivas, dirigiendo a las personas a atención para el inicio de tratamiento, por encima de la confirmación diagnóstica. En los casos en los cuales se obtengan resultados discordantes entre las pruebas, se informará como un resultado inconcluso, sin embargo, si la primera prueba detecta anticuerpos y antígenos y es reactivo sólo a antígenos, debe ser confirmado mediante técnicas de biología molecular (Figura 8).
- Baja prevalencia: En contextos donde exista una prevalencia menor al 5% de HIV en la población analizada, se debe emitir un diagnóstico de HIV positivo a las personas con tres pruebas reactivas; dos de tamizaje y una confirmatoria (Figura 9). (CENSIDA, 2018)

Cuando se presenta una primera prueba reactiva y una segunda no reactiva, se recomienda repetir la prueba, de ser posible, con la misma muestra. En población con baja prevalencia, el valor diagnóstico de un resultado positivo, basado en los resultados de dos pruebas de tamizaje sigue siendo demasiado bajo, por consiguiente, se requiere de una prueba confirmatoria con el fin de asegurar un diagnóstico correcto de HIV. (CENSIDA, 2018)



**Figura 8.** Algoritmo de detección de VIH en entornos de alta prevalencia del VIH, es decir, cuando la prevalencia es superior al 5% en la población destinataria de la prueba (grupos clave). (Censida, 2018)



\*Segunda prueba rápida deberá ser de distinta marca o plataforma a la primera y de mayor sensibilidad y especificidad. Esta puede ser sustituida por la prueba suplementaria.

\*\*Pruebas suplementarias: Western blot, IFI, RIPA, LIA, Detección de antigenemia, Detección molecular de ADN y ARN, PCR, bDNA, NASBA, o bien, emplear la carga viral si se encuentra disponible.

\*\*\*Resultado considerado si se utiliza Western blot como prueba suplementaria.

**Figura 9.** Algoritmo de detección de VIH en entornos de baja prevalencia, es decir, cuando la prevalencia es menor al 5% en la población destinataria (población general). (Censida, 2018)

### **1.10.3 Pruebas rápidas para el diagnóstico de la infección por HIV**

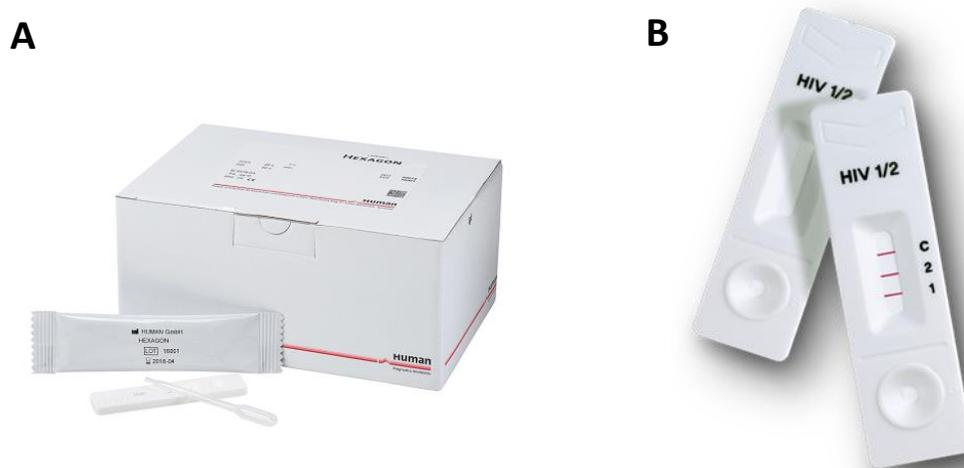
En los últimos años, los test rápidos han ganado importancia en el diagnóstico de la infección por HIV y otras infecciones de transmisión sexual. Estos intentan acortar el tiempo en la obtención de los resultados comparado con los test convencionales; sin embargo, la utilización de las pruebas de diagnóstico rápido no siempre se conjuga con las características clínicas de las personas en las que se practica, por lo que se hace necesario evaluar la efectividad de esas pruebas en el contexto real. Lo mejor sería lograr que tanto la reproducibilidad como la validez fueran las mejores. Para caracterizar a una prueba diagnóstica, es necesario disponer de un "patrón de referencia o criterio estándar" o "gold standard", que mide inequívocamente una enfermedad. Esta circunstancia es a veces difícil; en determinadas situaciones el patrón de referencia no está disponible o es imperfecto, pero nos permite establecer cuatro categorías fundamentales: verdadero positivo, verdadero negativo, falso positivo y falso negativo. Aunque la sensibilidad de los nuevos test es comparable a la de las técnicas de Ensayo Inmunoenzimático, la especificidad es algo menor. No obstante, existe la percepción entre los analistas de que en la práctica cotidiana la especificidad de las pruebas de detección rápida podría ser inferior a la observada en el contexto de ensayos clínicos, publicaciones científicas internacionales o de informes de la OMS. Sin embargo, está recomendado realizar evaluaciones comparativas análogas en el ámbito nacional o regional con antelación a la definición de los algoritmos nacionales. El laboratorio nacional rector es el responsable de validar una cantidad seleccionada de opciones de las pruebas que puedan ser utilizadas en los algoritmos nacionales.

#### **1.10.3.1 Fundamento de las pruebas rápidas para el diagnóstico del HIV**

Las pruebas rápidas son métodos para la detección de anticuerpos contra el HIV, mediante un ensayo inmunocromatográfico "in vitro", de lectura visual, para la detección cualitativa de anticuerpos contra los virus HIV-1 y HIV-2 en suero, plasma y sangre entera. La prueba consta de un cassette de plástico que contiene: una membrana de nitrocelulosa sensibilizada con antígenos recombinantes para HIV-1 (gp41) y HIV-2 (gp36) en la zona de prueba ("T"). Un parche impregnado con antígenos recombinantes específicos para HIV-1 (gp41) y HIV-2 (gp36) conjugados a oro coloidal. La muestra y el buffer se agregan en el pocillo de muestra ("S") solubilizando y mezclándose con el conjugado de antígenos recombinantes. Seguidamente, esta mezcla migra por capilaridad a través de la membrana de nitrocelulosa. Si la muestra es reactiva, los anticuerpos anti HIV-1 y HIV-2 presentes, formarán un complejo con los antígenos conjugados a oro coloidal. Este complejo se unirá posteriormente a los

antígenos inmovilizados en la zona de prueba "T" de la membrana de nitrocelulosa, formando así una línea de color rosa-rojo púrpura. La ausencia de dicha línea indica un resultado negativo. Como control de procedimiento, la prueba incluye una zona de control ("C") de color celeste que cambia a color rosa-rojo púrpura tras el paso de la muestra. La ausencia de esta línea invalida los resultados (Figura 10).

Existen diversos tipos de pruebas rápidas, las cuales varían dependiendo del método de detección de anticuerpos que utilicen como lo son: aglutinación, membranas de flujo, inmunocromatografía, entre otros. Se caracterizan por tener un tiempo de respuesta rápido, generalmente de 15 a 30 minutos. La puede realizar cualquier persona con capacitación estándar (con un conjunto mínimo de aptitudes según lo definido por el programa nacional) no necesariamente personal técnico o profesional del laboratorio clínico. Aunque en el mercado existe una gran variedad de kits de diagnóstico rápido, son preferibles aquellas pruebas que permiten detectar anticuerpos frente al HIV-1 y HIV-2 de forma separada. Su mayor inconveniente reside en la lectura, que siempre es subjetiva, lo que puede generar dudas de interpretación de la reactividad de ciertos sueros.



**Figura 10.** Presentación comercial de una prueba rápida para la detección de la infección por HIV-1/2. A) Contenido del kit HEXAGON HIV-1/2. B) Casetes de prueba.

Los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) son menos sensibles respecto a las pruebas rápidas, debido al corto tiempo de incubación del antígeno/anticuerpo, pero su especificidad es mayor.

Durante una misma cita médica se puede realizar la prueba rápida y con el resultado dar el asesoramiento clínico pertinente. Son ideales para el asesoramiento en sitios de atención primaria de salud (servicios comunitarios y centros de salud) y clínicas móviles. En comunidades con recursos limitados, los algoritmos de prueba de HIV incluyen una combinación de dos o tres pruebas rápidas, generalmente en un algoritmo en serie, dependiendo de la prevalencia del HIV; esto ha producido sensibilidades y especificidades adecuadas y ha mejorado la precisión de los resultados. Los países deciden sobre un algoritmo de prueba, ya sea en serie o paralelo, para aplicar a sus programas y usar la combinación correcta de pruebas rápidas de HIV para mejorar la precisión de las pruebas. Para reducir los costos, a menudo se adopta un algoritmo en serie y las muestras inicialmente reactivas mediante la primera prueba se someten a una segunda prueba (una prueba rápida diferente) con mayor especificidad.

Los primeros ensayos de pruebas rápidas de HIV que se desarrollaron fueron la prueba de aglutinación MicroGenesys y el sistema de diagnóstico de un solo uso de Abbott Murex. El mayor inconveniente de estos ensayos fue las tasas considerablemente altas de resultados falsos positivos y resultados falsos negativos. El uso posterior de diferentes técnicas, como el flujo lateral (Determine HIV-1/2, Unigold, StatPak y OraQuick HIV-1/2), cartuchos de flujo continuo (Insti HIV-1/2) y ensayos de aglutinación modificados (Serodia y Capillus VIH-1/2), simplificó y mejoró el procedimiento de las pruebas, con mayor sensibilidad y especificidad (Tabla 7).

**TABLA 7.** Cuadro comparativo de la sensibilidad, especificidad y características de uso de diferentes kits comerciales de pruebas rápidas para el diagnóstico de la infección por HIV.

Prueba	Ag/Ac usado		% Sensibilidad	% Especificidad	Muestra				Fundamento	Temp. de almacenaje (C°)	Presentación	Tiempo para resultado
	HIV-1	HIV-2			SC	S	P	Slv				
Determine HIV-1/2 (ALERE)	Recomb	Ag de env + Pepts	<sup>1</sup> 100	<sup>1</sup> 95.8	+	+	+	-	IC	2 - 30	Tarjetas recubiertas de Ags	15 min
Determine Combo HIV-1/2 (ALERE)	anti-p24 biotinilado	Ag de env + Pepts	<sup>1</sup> 100	<sup>1</sup> 97.1	+	+	+	-	IC	2 - 30	Tarjetas recubiertas de Ags	20 min
Inmuno Comb II Bispot HIV-1/2 (ORGENICS)	gp41 y gp120	gp36	<sup>1</sup> 100	<sup>1</sup> 97.9	-	+	+	-	EIA	2 - 8	Peine	60 min
Inmuno Comb II Trispot HIV-1/2 (ORGENICS)	Pepts env	Pepts env	<sup>1</sup> 96.7	<sup>1</sup> 99.6	-	+	+	-	EIA	2- 8	Peine	90 min
Rapid Test Strip HIV-1/2 (KHB SHANGHAI Kehua)	gp160	gp36	<sup>1</sup> 100	<sup>1</sup> 100	+	+	+	-	IC	4 - 30	Casete	16 min
Hexagon HIV-1/2 (HUMAN DIAGNOSTIC)	gp41 y p24	p36	<sup>1</sup> 100 <sup>2</sup> 100 <sup>3</sup> 100	<sup>1</sup> 100 <sup>2</sup> 94.8 <sup>3</sup> 90.1	+	+	+	-	IC	2 - 30	Bandas de celulosa	15 min
Oraquick HIV-1/2 (ORASURE TECHNOLOGIE)	Pepts env	Pepts env	<sup>1</sup> 96.7	<sup>1</sup> 100	+	+	+	+	IFIL	2 - 30	Casete	20 min
First response HIV-1/2 (CARD TEST)	gp41 y p24	gp36	<sup>1</sup> 93.7 <sup>2</sup> 99 <sup>3</sup> 99	<sup>1</sup> 99.6 <sup>2</sup> 98.1 <sup>3</sup> 98.1	+	+	+	-	IC	4 - 30	Tarjetas recubiertas de Ags	15 min

**TABLA 7.** Continuación.

Prueba	Ag/Ac usado		% Sensibilidad	% Especificidad	Muestra				Fundamento	Temp. de almacenaje (C°)	Presentación	Tiempo para resultado
	HIV-1	HIV-2			SC	S	P	Slv				
Vikia HIV-1/2 (BIOMERIEUX)	gp41	gp36	<sup>1</sup> 100 <sup>2</sup> 100	<sup>1</sup> 99.2 <sup>2</sup> 100	+	+	+	-	IC	4 - 30	Casete	30 min
SD Bioline HIV-1/2 (STANDARD DIAGNOSTICS Inc)	gp41 y p24	gp36	<sup>1</sup> 100 <sup>2</sup> 100	<sup>1</sup> 98.7 <sup>2</sup> 98	+	+	+	-	IC	1 - 30	Casete	10 - 20 min
SD Bioline Combo HIV-1/2 (STANDARD DIAGNOSTICS Inc)	Recomb	Ags de env	<sup>1</sup> 97.9	<sup>1</sup> 100	+	+	+	-	IC	1 - 30	Casete	10 - 20 min
SD Bioline HIV/SYPHILIS DUO (STANDARD DIAGNOSTICS Inc)	gp41	gp36	<sup>2</sup> 100	<sup>2</sup> 100	+	+	+	-	IC	2 - 30	Casete	15 - 20 min
Unigold HIV-1/2 (TRINITY BIOTECH)	gp120 y gp41	gp36	<sup>1</sup> 97.5	<sup>1</sup> 99.2	+	+	+	-	IC	2 - 27	Casete	10 min
Genie™ III HIV 1/2	NE	NE	<sup>2</sup> 99	<sup>2</sup> 100	+	+	+	-	EIA	2 - 30	Casete	10 min
Genie Fast HIV 1-2	gp120 y gp41	gp36	<sup>2</sup> 100	<sup>2</sup> 98	+	+	+	-	IC	2 - 30	Casete	10 min
Insti VIH 1/2 (BioLytical™)	gp41	gp36	<sup>2</sup> 97.8	<sup>2</sup> 100	+	+	+	-	IFIL	2 - 30	Membrana	60 seg
Advanced Quality™ Rapid HIV (1&2) WB/S/P	NE	NE	SD	SD	+	+	+	-	IC	2 - 30	Casete	15 min

Ag= Antígeno; Ac= Anticuerpo; Recomb= Recombinante; Env= Envoltura; Pepts= Péptidos; NE= No especificado; SD= Sin datos; SC= Sangre completa; S= Suero; P= Plasma; Slv= Saliva; IC= Inmunocromatografía; EIA= Ensayo Inmunoenzimático; IFIL= Inmunofiltración.

<sup>1</sup>Njouom Richard., et al. *Evaluation of the performances of twelve rapid diagnostic tests for diagnosis of HIV infection in Yaounde, Cameroon*; ELSEVIER/Journal of Virology Methods, 243 (2017); 158-163.

<sup>2</sup>Dagnra A. Y., et al. *Evaluation of 9 rapid diagnostic tests for screening HIV infection, in Lomé Togo*; ELSEVIER MASSON/ Médecine et maladies infectieuses 44 (2014); 525-529.

<sup>3</sup>Salou M., et al. *Evaluation de la performance de trois tests de diagnostic de l'infection a VIH a Lomé (Togo)*; Revue Bio-Africa- N°8 (2010); 7-12.

### **1.10.3.2 Precalificación de una prueba rápida y vigilancia posterior a la comercialización**

La precalificación de diagnóstico in vitro de los kits de pruebas rápidas para la detección del HIV es un paso de calidad importante para determinar el rendimiento de un kit de prueba en particular y si cumple o no con los estándares establecidos.

Por lo general, lo realiza una institución independiente y creíble. Por ejemplo, la precalificación de la OMS de un kit de prueba rápida implica la evaluación de la calidad de la prueba usando procedimientos estandarizados, para asegurar que cumple con los requisitos de precalificación. Este procedimiento de precalificación incluye:

- La presentación previa de un formulario por el fabricante del kit de prueba rápida para solicitar la precalificación de la OMS.
- La revisión del expediente por parte de la OMS para comprender el producto.
- Inspección del sitio de fabricación del kit de prueba para evaluar el cumplimiento de los estándares de calidad.
- Evaluación de laboratorio del kit de prueba para evaluar las características operativas y de rendimiento.

La OMS utiliza sus Centros de Excelencia Colaboradores o laboratorios independientes, incluidos los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, para realizar evaluaciones de laboratorio. Los programas de HIV que adquieren estos kits de prueba realizan evaluaciones en el país propio, para determinar la combinación adecuada de pruebas rápidas a utilizar en los algoritmos de prueba nacionales para el diagnóstico de infección por HIV.

Una vez que se han adquirido los kits de prueba, se debe implementar la vigilancia posterior a la comercialización (PMS) monitoreando su rendimiento después de que hayan sido enviados por el fabricante. El PMS debe hacerse una vez que los kits de prueba lleguen al país. Esto debe realizarse de manera rutinaria a medida que los kits de prueba se utilizan en el campo para garantizar que funcionen según lo previsto.

Hoy día se cuenta con la posibilidad de un diagnosticador que permite conocer presuntivamente si la persona tiene o no infección por HIV, perfeccionando así el diagnóstico y la atención a grupos vulnerables, lo cual fortalece la vigilancia epidemiológica en situaciones, lugares y grupos poblacionales específicos. Es de fácil aplicación, alta sensibilidad y especificidad y su desempeño ha sido probado con paneles bien caracterizados, pero esta tiene que ser confirmada con las técnicas anteriormente descritas y seguir el algoritmo diagnóstico establecido nacionalmente.

## 2. Justificación

La epidemia del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV) sumado al mayor acceso a terapias antirretrovirales (TAR) han llevado tanto a un aumento en el número de casos, como a una mayor esperanza de vida de los pacientes que viven con esta infección. Si bien existe una cierta facilidad para realizar el diagnóstico de un paciente con infección crónica por HIV, existe por otro lado una relativa dificultad para realizar el diagnóstico de la infección aguda en etapas tempranas de la infección. Esta situación es de mucha importancia desde el punto de vista de Salud Pública, ya que es en la infección aguda cuando se producen las viremias más elevadas, lo que hace mayor la facilidad de que el sujeto sea infectante y disemine la infección viral.

Bajo esta premisa, nuestra investigación presenta una primera aproximación para el diseño de un kit de diagnóstico para HIV con eficiencia diagnóstica del 100%, la cual podría competir en el rango de las mejores pruebas disponibles en el mercado, lo que permitiría el análisis rápido (1.5 hrs) de un gran número de muestras en áreas endémicas con diferente prevalencia, así como oportunidades para la prevención. Aunado a lo anterior, este kit ofrece: más economía, resultados más rápidos y confiables y finalmente, el orgullo de ser una prueba mexicana y 100% UNAM, otorgándole la confianza que la investigación nacional necesita.

### 3. Objetivos

**General.** Comparar 2 pruebas rápidas comerciales para el diagnóstico del HIV, con la prueba de ELISA basado en el péptido de la transmembrana TM/gp41 viral (6357).

**Particulares.**

1. Evaluar en ciego para el diagnóstico de infección por HIV, sueros de referencia confirmados por Western Blot (WB) como positivos, negativos e indeterminados a HIV, mediante el ELISA-péptido6357 y las 2 pruebas rápidas HEXAGON HIV y ADVANCED QUALITY™.
2. Elaborar la tabla de contingencia de 2x2 de cada prueba diagnóstica con los resultados de la evaluación de los sueros de referencia positivos y negativos a HIV y utilizando como estándar oro el WB.
3. Determinar sensibilidad, especificidad y otros parámetros de valoración de las pruebas diagnósticas ELISA-péptido6357, HEXAGON HIV y ADVANCED QUALITY™.
4. Realizar el análisis comparativo de las sensibilidades y especificidades obtenidas en el ELISA-péptido6357, HEXAGON HIV y ADVANCED QUALITY™.
5. Analizar para cada prueba diagnóstica la reactividad cruzada de los anticuerpos contra HIV contenidos en los sueros de referencia confirmados por WB como indeterminados.
6. Realizar el diagnóstico de la infección por HIV a los sueros de casos conocidos con, sin y “sospechosos” a la infección por HIV, mediante el ELISA-péptido6357, HEXAGON HIV y ADVANCED QUALITY™.
7. Determinar la concordancia del diagnóstico para la infección por HIV, entre el ELISA-péptido6357 y cada una de las pruebas rápidas utilizando los resultados de los sueros de casos conocidos con, sin y “sospechosos” a la infección por HIV.

## 4. Hipótesis

La sensibilidad y especificidad de las dos pruebas rápidas para el diagnóstico de HIV: **HEXAGON HIV** y **ADVANCED QUALITY™**, serán menores al 100% en comparación con el **ELISA-péptido6357**.

## 5. Material y Métodos

### 5.1 Muestras.

En este estudio se utilizaron un total de 231 sueros procedentes de 2 paneles diferentes (A y B), subdivididos en 3 grupos, los cuales fueron evaluados en ciego para evitar sesgos en la expectativa del observador.

Panel A. Corresponde a los sueros de referencia a HIV (n=91) que fueron recolectados de Mayo a Diciembre del 2015 en el Banco Central de Sangre del CMN Siglo XXI del IMSS. De estos se conocían los resultados de las pruebas: *ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo ELISA 4a. Generación, Procleix Ultrio® Assay Nucleic Acid Test* y *NEW LAV BLOT 1 Western Blot*, en las que se basaron para su diagnóstico. Luego de revelar el folio y los resultados de las pruebas anteriores, el panel fue subdividido de la siguiente manera:

- *Panel A1.* Constituido de 16 sueros de referencia confirmados por WB como POSITIVOS a la infección por HIV.
- *Panel A2.* Formado por 35 sueros de referencia confirmados por WB como NEGATIVOS a la infección por HIV.
- *Panel A3.* Compuesto por 40 sueros de referencia confirmados por WB como INDETERMINADOS a la infección por HIV, que contenían anticuerpos contra una sola proteína viral del gen *gag* o *pol* (*p18*, *p24*, *p34*, *p40* y *p68*), contra dos del gen *gag* (*p18/p24* y *p18/p55*), o contra dos de los genes *gag/pol* (*p18/p68*).

Panel B. Conformado por los sueros de casos conocidos con, sin y “sospechosos” a la infección por HIV (n=140). Luego de revelar la procedencia y los resultados de las pruebas en las que se basaron para su diagnóstico, este panel se subdividió de la siguiente manera:

- *Panel B1.* Constituido por 20 sueros de casos documentados de pacientes CON INFECCIÓN por HIV donados por la Dra. Ericka Nelly Pompa Mera y recolectados durante el periodo de Mayo a Noviembre del 2016. Fueron de pacientes en alguna de las 3 etapas de infección por HIV (*Clasificación según CDC*) que acudían a la Clínica de SIDA del CMN “La Raza” del IMSS y se encontraban recibiendo tratamiento antirretroviral (TAR).

- *Panel B2.* Formado por 92 sueros de casos documentados de pacientes SIN INFECCIÓN por HIV recolectados de Mayo a Septiembre del 2017 en el Banco Central de Sangre del CMN Siglo XXI del IMSS. Fueron de personas que acudieron a donar sangre, con resultado NEGATIVO a la infección por HIV, cuyo diagnóstico fue basado en el resultado de las pruebas: *ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo ELISA 4a. Generación y Procleix Ultrio® Assay Nucleic Acid Test.*
- *Panel B3.* De 28 sueros de pacientes de casos “SOSPECHOS” a la infección por HIV recolectados de Mayo a Septiembre del 2017. Fueron de pacientes que acudían a la Clínica de SIDA del CMN Siglo XXI del IMSS y que voluntariamente donaron muestra para la realización de este estudio.

*NOTA: Antes de iniciar este trabajo, a los 231 sueros se les determinó la Carga Viral (CV) mediante la prueba Cobas® TaqMan® HIV-1 Test, por lo que en este estudio también aparecerá ese resultado.*

## **5.2 Pruebas serológicas para el diagnóstico del HIV.**

El diagnóstico de la infección por HIV en los 231 sueros de este estudio, se llevó a cabo utilizando 3 pruebas diagnósticas: kit ELISA-péptido6357 para HIV y las 2 pruebas rápidas Hexagon HIV 3rd Generation Immunochromatographic Rapid Test y ADVANCED QUALITY™. Rapid HIV (1&2) WB/S/P.

### **a) Kit ELISA-péptido6357 para HIV**

Es un ELISA que usa como antígeno al péptido 6357 (sintético), que previamente se había estandarizado y validado (con sensibilidad y especificidad del 100%) en el laboratorio de Inmunovirología de la UIMI del Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI del IMSS, que se basa en la detección de anticuerpos contra la gp41 del HIV (Anexo 2).

El resultado de la prueba se considera POSITIVO cuando la muestra tiene una Densidad Óptica neta (D.O. neta) mayor a 0.142 y NEGATIVO si son valores menores a dicha D.O. neta. Resultados de la tesis de licenciatura de Jesús Guillermo Hernández Corral.

### **b) HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test**

Hexagon HIV 3rd Generation Immunochromatographic Rapid Test for the Detection of Antibodies to Human Immune Deficiency viruses 1 and 2. Human Gesellschaft fur Biochemica und Diagnostica mbH. Wiesbaden-Germany (HEXAGON HIV), que se basa en la detección de anticuerpos de clase IgG-A-M contra las proteínas virales gp41 y p24 del HIV-1 y p36 para HIV-2.

El resultado se da como POSITIVO cuando aparece una línea de color rojo-violeta en el área indicada por 1 y/o 2 además de la línea indicada por C y NEGATIVO si aparece sólo una línea de color rojo-violeta a nivel del área indicada por C, corresponde a un resultado negativo (Anexo 1a).

### **c) ADVANCED QUALITY™ Rapid HIV (1&2) WB/S/P**

ADVANCED QUALITY™. Rapid HIV (1&2) WB/S/P. InTec Products Inc. Xiamen China (ADVANCED QUALITY™), la cual detecta anticuerpos contra el Virus de la Inmunodeficiencia Humana utilizando como antígeno una recombinante de HIV.

El resultado se da como POSITIVO cuando aparece una línea de color rojo-violeta en el área indicada por T además de la línea indicada por C y NEGATIVO si aparece sólo una línea de color rojo-violeta a nivel del área indicada por C, corresponde a un resultado negativo (Anexo 1b).

*NOTA: Todas las pruebas serológicas se realizaron siguiendo las instrucciones especificadas por cada fabricante. El "kit de ELISA-péptido6357" se encuentra en proceso de patente por lo que se evitó dar detalles técnicos. Las dos pruebas rápidas fueron donadas por las casas comerciales.*

## **5.3 Cálculo de la Sensibilidad, Especificidad y otros parámetros de valoración de las pruebas diagnósticas para HIV.**

Se elaboraron tablas de contingencia 2x2 para correlacionar los resultados obtenidos en el estándar de oro (WB) contra los obtenidos en el **ELISA-péptido6357**, **HEXAGON HIV** y **ADVANCED QUALITY™**.

Con ayuda del programa bioinformático EPIDAT 4.0 (programa de análisis epidemiológico de datos) y utilizando las frecuencias respectivas de las tablas de contingencia de 2x2, se determinaron los porcentajes de sensibilidad y especificidad.

También se obtuvieron algunos parámetros estadísticos de valoración para cada prueba diagnóstica que incluyeron los porcentajes del valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN); falsos positivos y negativos; razón de verosimilitud positiva (RVP) y negativa (RVN) e inclusive el de la certeza diagnóstica.

#### **5.4 Análisis de las reacciones cruzadas causadas por los anticuerpos contenidos en los sueros de referencia confirmados por WB como indeterminados a HIV.**

Se probó que no se llevaran a cabo reacciones cruzadas en cada una de las 3 pruebas diagnósticas usando sueros que contenían anticuerpos contra las otras proteínas virales diferentes a ENVgp160 Prec, ENVgp120 y/o ENVgp41. Para lo que se usaron los resultados del diagnóstico serológico a HIV de los sueros de los 40 sueros de referencia confirmados por WB como INDETERMINADOS a la infección por HIV con indetectable número de copias de RNA para HIV/ml.

#### **5.5 Concordancia de los resultados de tres diferentes poblaciones de sueros en las 2 pruebas rápidas HEXAGON HIV y ADVANCED QUALITY™ para el diagnóstico de la infección por HIV.**

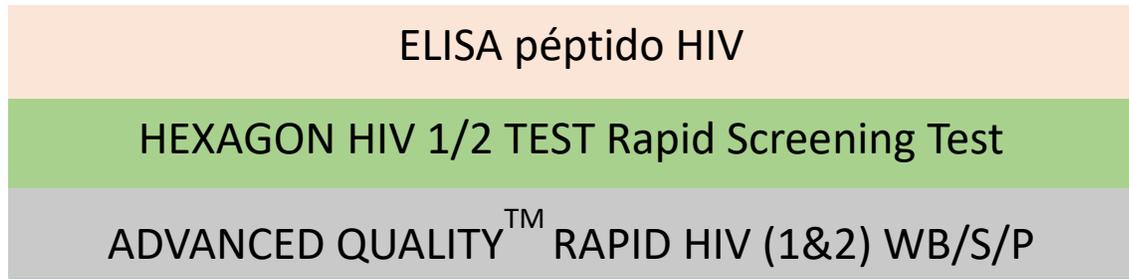
Para evaluar la variabilidad entre los resultados de los sueros de pacientes con, sin y “sospechosos” a la infección por HIV en las 2 pruebas diagnósticas, se determinó el porcentaje de concordancia (Índice Kappa “K”) tomando a la prueba diagnóstica ELISA-péptido6357 como “estándar de referencia o de oro” para este análisis.

- Metodología empleada para la validación del **ELISA-péptido6357** y las pruebas rápidas **ADVANCED QUALITY™** y **HEXAGON HIV 1/2**.



**91 sueros de referencia a HIV confirmados por WB**  
(Panel A)

↓ Evaluados en ciego para el Dx de HIV



**Análisis de Reactividad Cruzada**

Se revelaron las características de los sueros de referencia:

16 Positivos en WB (110-139,000 copias de RNA para HIV/ml)

35 Negativos en WB (INDETECTABLE RNA para HIV/ml)

40 Indeterminados en WB (INDETECTABLE RNA para HIV/ml)

**Sensibilidad y Especificidad**

**Análisis Comparativo entre las 3 pruebas para HIV**

NOTA: Antes de determinar el valor de sensibilidad y especificidad, se revelaron los resultados del WB y la CV.

- Metodología empleada para la evaluación de la Exactitud Diagnóstica del **ELISA-péptido6357** y las pruebas rápidas **ADVANCED QUALITY™** y **HEXAGON HIV 1/2**.



**150 sueros de casos conocidos**  
con, sin y “sospechosos” a la infección por HIV (Panel B)

↓ Evaluados en ciego para el Dx de HIV

ELISA péptido HIV

HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test

ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P

Se revelaron las características  
de los sueros:

20 sueros de pacientes en  
alguna de las 3 etapas de  
infección por HIV en TAR

92 sueros de donadores  
de sangre negativos a la  
infección por HIV

28 sueros de pacientes  
“sospechosos” a la  
infección por HIV

**Determinación del porcentaje de concordancia**

**Análisis de eficacia diagnóstica de las 3 pruebas serológicas**

## 6. Resultados

Los sueros del panel A, subgrupos A1 (n=16), A2 (n=35) y A3 (n=40), así como los del panel B, subgrupos B1 (n=20), B2 (n=92) y B3 (n= 28) fueron evaluados para la infección por HIV mediante el **ELISA-péptido6357** y 2 pruebas rápidas comerciales (**HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test** y **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P**).

De los sueros de los 3 subgrupos del panel A y del subgrupo B2 procedentes del Banco Central de Sangre del CMN Siglo XXI del IMSS, se conocían los datos de las pruebas en las que se basó su diagnóstico para la infección por HIV (Tablas 8, 9; I y III del anexo). De los sueros del subgrupo B1 se sabía la etapa de infección por HIV del paciente, que se encontraba en tratamiento antirretroviral y la carga viral. De los sueros del subgrupo B3 solo se tenía la certeza de que eran pacientes de la Clínica de SIDA del Hospital de Especialidades del CMN Siglo XXI del IMSS y no se contaba con ningún otro dato.

- Reactividad en el ELISA-péptido6357 de los sueros de referencia confirmados por WB como positivos y negativos a HIV.

En el **ELISA-péptido6357**, todos los sueros del subgrupo 1 panel A (n= 16) o sueros de referencia confirmados por WB como positivos a HIV (con un rango de 110-139,000 copias de RNA para HIV/ml = CV), MOSTRARON REACTIVIDAD, y NO MOSTRARON REACTIVIDAD todos los sueros del subgrupo 2 panel A (n=36) o sueros de referencia confirmados por WB como negativos a HIV (con indetectable número de copias de RNA para HIV/ml = CV). Datos que respectivamente se muestran en las tablas 8 y 9.

**TABLA 8.** Resultados del **ELISA-péptido6357**, **HEXAGON HIV** y **ADVANCED QUALITY™**, de los 16 sueros de referencia confirmados por WB como POSITIVOS a la infección por HIV (Panel A1).

FOLIO	ELISA HIV DET. Ag y/o Ac	DET. ÁCIDOS NUCLÉICOS HIV	RESULTADO WB	CV EN COPIAS/mL	ELISA- péptido6357 D.O. NETA/ RESULTADO	HEXAGON HIV	ADVANCED QUALITY™
499	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	8350	0.315/REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
698	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	34800	0.311/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
699	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	258	0.474/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
700	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	59000	0.253/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO

DET= Detección; WB= Western Blot; CV= Carga Viral; D.O.= Densidad Óptica; N.D= No Detectable.

**TABLA 8.** Continuación.

FOLIO	ELISA HIV DET. Ag y/o Ac	DET. ÁCIDOS NUCLÉICOS HIV	RESULTADO WB	CV EN COPIAS/mL	ELISA- péptido6357 D.O. NETA/ RESULTADO	HEXAGON HIV	ADVANCED QUALITY™
1053	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	139000	0.544/ REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1064	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	306	1.645/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
1083	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	13780	0.315/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
1101	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	310	0.301/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
1107	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	8300	0.225/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
1108	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	1320	0.379/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
1109	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	86900	0.251/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
1110	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	16980	0.627/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
1111	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	110	0.238/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
1112	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	80400	0.601/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
1113	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	7360	0.391/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
1114	REACTIVO	REACTIVO	POSITIVO	31400	0.276/ REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO

DET= Detección; WB= Western Blot; CV= Carga Viral; D.O.= Densidad Óptica; N.D= No Detectable.

**TABLA 9.** Resultados del **ELISA-péptido6357**, **HEXAGON HIV** y **ADVANCED QUALITY™**, de los 35 sueros de referencia confirmados por WB como **NEGATIVOS** a la infección por HIV (Panel A2).

FOLIO	ELISA HIV DET. Ag y/o Ac	DET. ÁCIDOS NUCLÉICOS HIV	RESULTADO WB	CV EN COPIAS/mL	ELISA-péptido6357 D.O. NETA/ RESULTADO	HEXAGON HIV	ADVANCED QUALITY™
864	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.002/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
865	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.001/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
867	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.011/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
868	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.05/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
869	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.011/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
870	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.023/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
871	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.009/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
872	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
876	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.007/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
877	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
879	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.009/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
880	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.007/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
882	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.019/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
883	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.011/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
885	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.01/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO

DET= Detección; WB= Western Blot; CV= Carga Viral; D.O.= Densidad Óptica; N.D= No Detectable.

**TABLA 9.** Continuación.

FOLIO	ELISA HIV DET. Ag y/o Ac	DET. ÁCIDOS NUCLÉICOS HIV	RESULTADO WB	CV EN COPIAS/mL	ELISA-péptido6357 D.O. NETA/ RESULTADO	HEXAGON HIV	ADVANCED QUALITY™
886	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
887	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.008/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
891	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.002/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
893	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.017/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
894	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.016/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
897	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.001/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
900	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1054	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.013/ NO REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
1058	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.005/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1060	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0.012/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1065	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1072	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1075	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1080	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1081	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1082	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1085	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1087	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1094	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1096	REACTIVO	NO REACTIVO	NEGATIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO

DET= Detección; WB= Western Blot; CV= Carga Viral; D.O.= Densidad Óptica; N.D= No Detectable.

- Reactividad en la prueba HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test de los sueros de referencia confirmados por WB como positivo y negativos a HIV.

En la prueba **HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test** de los 16 sueros del panel A subgrupo 1 o sueros de referencia confirmados por WB como positivos a HIV (con un rango de 110-139,000 copias de RNA para HIV/ml = CV) solo 15 o el 93.8% de ellos manifestaron REACTIVIDAD, y NO MOSTRARON REACTIVIDAD 34 de 35 o el 97.1% de los sueros del subgrupo 2 panel A (n=35) o sueros de referencia confirmados por WB como negativos a HIV (con indetectable número de copias de RNA para HIV/ml = CV). Datos que respectivamente se muestran en las tablas 8 y 9.

- Reactividad en la prueba ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P de los sueros de referencia confirmados por WB como positivos y negativos.

La prueba **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P** reveló la misma reactividad que la prueba **HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test**. Es decir, que 15/16 (93.8%) de los sueros de referencia confirmados por WB como positivos a HIV (con un rango de 110-139,000 copias de RNA para HIV/ml = CV) MOSTRARON REACTIVIDAD y 34/35 (97.1%) de los sueros de referencia confirmados por WB como negativos a HIV (con indetectable número de copias de RNA para HIV/ml = CV) NO MOSTRARON REACTIVIDAD. Datos que se muestran en las tablas 8 y 9.

- Tablas de contingencia de 2x2 del ELISA-péptido6357 y las 2 pruebas rápidas comerciales.

Se utilizó como estándar de oro a los resultados del WB de los sueros del subgrupo 1 panel A (n=16) o sueros de referencia confirmados por WB como positivos a HIV (con un rango de 110-139,000 copias de RNA para HIV/ml = CV) y del subgrupo 2 panel A (n=35) o sueros de referencia confirmados por WB como negativos a HIV (con indetectable número de copias de RNA para HIV/ml = CV), los cuales fueron correlacionados con los resultados de reactividad obtenida en cada prueba para elaborar las tablas de contingencia de 2x2. En los cuadros 1, 2 y 3 se muestran respectivamente la tabla de contingencia del **ELISA-péptido6357**, **HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test** y **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P**.

**Cuadro 1.-** Relación de los resultados del diagnóstico a HIV entre **Western Blot** y el **ELISA-péptido6357**.

<i>ELISA- péptido6357</i>	<i>Western Blot (estándar de oro)</i>		
	<b>Positivo (n=16)</b>	<b>Negativo (n=35)</b>	<b>TOTAL</b>
<b>Positivo</b>	16	0	16
<b>Negativo</b>	0	35	35
<b>TOTAL</b>	16	35	51

**Cuadro 2.-** Relación de los resultados del diagnóstico a HIV entre **Western Blot** y **HEXAGON HIV**.

<i>HEXAGON HIV</i>	<i>Western Blot (estándar de oro)</i>		
	<b>Positivo (n=16)</b>	<b>Negativo (n=35)</b>	<b>TOTAL</b>
<b>Positivo</b>	15	1	16
<b>Negativo</b>	1	34	35
<b>TOTAL</b>	16	35	51

**Cuadro 3.-** Relación de los resultados del diagnóstico a HIV entre **Western Blot** y **ADVANCED QUALITY™**.

<i>ADVANCED QUALITY™</i>	<i>Western Blot (estándar de oro)</i>		
	<b>Positivo (n=16)</b>	<b>Negativo (n=35)</b>	<b>TOTAL</b>
<b>Positivo</b>	15	1	16
<b>Negativo</b>	1	34	35
<b>TOTAL</b>	16	35	51

- Sensibilidad, especificidad y otros parámetros de valoración de las pruebas diagnósticas ELISA-péptido6357, HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test y ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P.

Se determinó 100% de sensibilidad y especificidad para el **ELISA-péptido6357**. Un mismo valor de 93.8% de sensibilidad y 97.1% de especificidad fue determinado para ambas pruebas rápidas **HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test** y **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P** (Tabla 10).

**TABLA 10.-** Porcentajes de algunos parámetros de valoración de las 3 pruebas diagnósticas para la infección por HIV.

Prueba	Sensibilidad	Especificidad	Valor Predictivo Positivo (VPP)	Valor Predictivo Negativo (VPN)	Falsos Positivos	Falsos Negativos	Razón de Verosimilitud Positiva (RVP)	Razón de Verosimilitud Negativa (RVN)	Certeza Diagnóstica
<b>ELISA-péptido 6357</b>	100.00	100.00	100.00	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00
<b>HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test</b>	93.75	97.14	93.75	97.14	2.85	6.25	6.66	2.94	96.08
<b>ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&amp;2) WB/S/P</b>	93.75	97.14	93.75	97.14	2.85	6.25	6.66	2.94	96.08

Las pruebas diagnósticas determinaron una Prevalencia del **31.37%** de infección por HIV en la población estudiada.

También se encontraron para el **ELISA-péptido6357** los valores predictivo positivo (VPP), negativo (VPN) y de certeza diagnóstica del 100% sin falsos positivos ni negativos. Los mismos valores de VPP= 93.8%, VPN= 97.1%, certeza diagnóstica del 96.0%, de falsos positivos 2.9% y falsos negativos del 6.2% fueron encontrados para las pruebas **HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test** y **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P** (Tabla 10).

➤ Análisis de reactividad cruzada en el **ELISA-péptido6357** y las dos pruebas rápidas comerciales.

En las 3 pruebas diagnósticas se encontró que no se llevaron a cabo reacciones cruzadas en los sueros que contenían anticuerpos contra una o dos proteínas virales diferentes a ENVgp160 y/o ENVgp41. Específicamente en los sueros que contenían anticuerpos contra *p18* (n=13), *p24* (n=14), *p34* (n=1), *p40prec* (n=1), *p55* (n=1) o *p68* (n=1) ni tampoco en los sueros que contenían anticuerpos contra la *p18* y *p24* (n=2), *p18* y *p55* (n=1), *p18* y *p68* (n=2) o *p24* y *p55* (n= 3). Datos que se muestran en las tablas 11, 12 y 13.

**TABLA 11.** Resultados de 18 de los 40 sueros **Western Blot INDETERMINADO**, en las 3 pruebas diagnósticas.

Prueba	Detecta	Interpretación	13 sueros	Sueros 1089 y 1097	Suero 1092	Sueros 1052 y 1074
<b>NEW LAV BLOT 1 (Western Blot)</b>	Acs anti HIV-1 humanos	<b>*POSITIVO</b> → Bandas en: 2ENV±GAG±POL <b>*NEGATIVO</b> → Solo Banda CI <b>*INDETERMINADO</b> → ≥ 1 banda que no cumplen criterios de Positivo o Negativo	<b>Banda GAGp18</b>	<b>Bandas GAGp18 y GAGp24</b>	<b>Bandas GAGp18 y GAGp55</b>	<b>Bandas GAGp18 y POLp68</b>
<b>Cobas® TaqMan® HIV-1 Test</b>	Cuantifica el RNA de HIV	Copias de HIV/ml <b>&gt; 20</b> <b>Infección en progreso</b>	<b>INDETECTABLE</b>			
<b>ELISA-péptido6357</b>	Acs anti ENVgp41	<b>REACTIVO</b> / D.O.> 0.142 <b>NO REACTIVO</b> / D.O.< 0.142	<b>NO REACTIVOS</b>			
			<b>&lt; 0.041</b>	<b>0.000</b>	<b>0.009</b>	<b>&lt; 0.046</b>
<b>HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test</b>	Acs anti HIV-1 humanos	<b>REACTIVO</b> → Bandas C y 1 , C y 2 o C, 1 y 2 <b>NO REACTIVO</b> → Solo banda C	<b>NO REACTIVOS</b>			
<b>ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&amp;2) WB/S/P</b>	Acs anti HIV-1 humanos	<b>REACTIVO</b> → Bandas C y T (T Intensa o Débil) <b>NO REACTIVO</b> → Solo banda C	<b>NO REACTIVOS</b>			

**TABLA 12.** Resultados de los 17 de 40 sueros **Western Blot INDETERMINADO**, en las 3 pruebas diagnósticas.

Prueba	Detecta	Interpretación	14 sueros	3 sueros
<b>NEW LAV BLOT 1 (Western Blot)</b>	Acs anti HIV-1 humanos	<b>*POSITIVO</b> → Bandas en: 2ENV±GAG±POL <b>*NEGATIVO</b> → Solo Banda CI <b>*INDETERMINADO</b> → ≥ 1 banda que no cumplen criterios de Positivo o Negativo	<b>Banda GAGp24</b>	<b>Bandas GAGp24 y GAGp55</b>
<b>Cobas® TaqMan® HIV-1 Test</b>	Cuantifica el ARN de HIV	Copias de HIV/ml <b>&gt; 20</b> <b>Infección en progreso</b>	<b>INDETECTABLE</b>	<b>INDETECTABLE</b>
<b>ELISA-péptido6357</b>	Acs anti ENVgp41	<b>REACTIVO</b> / D.O.> 0.142 <b>NO REACTIVO</b> / D.O.< 0.142	<b>NO REACTIVOS (0.000 – 0.027)</b>	<b>NO REACTIVOS (0.000 - 0.005)</b>
<b>HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test</b>	Acs anti HIV-1 humanos	<b>REACTIVO</b> → Bandas C y 1 , C y 2 o C, 1 y 2 <b>NO REACTIVO</b> → Solo banda C	<b>NO REACTIVOS</b>	<b>NO REACTIVOS</b>
<b>ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&amp;2) WB/S/P</b>	Acs anti HIV-1 humanos	<b>REACTIVO</b> → Bandas C y T (T Intensa o Débil) <b>NO REACTIVO</b> → Solo banda C	<b>NO REACTIVOS</b>	<b>NO REACTIVOS</b>

**TABLA 13.** Resultados de 5 de los 40 sueros **Western Blot INDETERMINADO**, en las 3 pruebas diagnósticas.

Prueba	Detecta	Interpretación	Suero 1071	Suero 1063	Suero 1095	Sueros 1052 y 1074
<b>NEW LAV BLOT 1 (Western Blot)</b>	Acs anti HIV-1 humanos	<b>*POSITIVO</b> → Bandas en: 2ENV±GAG±POL <b>*NEGATIVO</b> → Solo Banda CI <b>*INDETERMINADO</b> → ≥ 1 banda que no cumplen criterios de Positivo o Negativo	Banda POLp34	Banda GAGp40prec	Banda GAGp55	Banda POLp68
<b>Cobas® TaqMan® HIV-1 Test</b>	Cuantifica el ARN de HIV	Copias de HIV/ml > 20 Infección en progreso	<b>INDETECTABLE</b>			
<b>ELISA-péptido6357</b>	Acs anti ENVgp41	<b>REACTIVO</b> / D.O.> 0.142 <b>NO REACTIVO</b> / D.O.< 0.142	<b>NO REACTIVOS</b>			
			0.000	0.019	0.011	0.000
<b>HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test</b>	Acs anti HIV-1 humanos	<b>REACTIVO</b> → Bandas C y 1, C y 2 o C, 1 y 2 <b>NO REACTIVO</b> → Solo banda C	<b>NO REACTIVOS</b>			
<b>ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&amp;2) WB/S/P</b>	Acs anti HIV-1 humanos	<b>REACTIVO</b> → Bandas C y T (T Intensa o Débil) <b>NO REACTIVO</b> → Solo banda C	<b>NO REACTIVOS</b>			

- Reactividad en las 3 pruebas diagnósticas de los sueros de casos conocidos con, sin y “sospechosos” a la infección por HIV.

Todos los sueros de pacientes con infección por HIV en etapa 1 (n=5), etapa 2 (n= 12) y etapa de SIDA (n=3) que conforman el subgrupo B1 MOSTRARON REACTIVIDAD en el **ELISA-péptido6357**, **HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test** y **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P** cuando fueron evaluados para el diagnóstico de infección por HIV (Tabla 14 y Anexo Tabla II).

También todos los sueros de donadores de sangre aptos sin infección por HIV que integran el subgrupo B2 (n=92) NO MOSTRARON REACTIVIDAD en ninguna de las 3 pruebas diagnósticas de este estudio mediante las que fueron evaluados para el diagnóstico de infección por HIV (Tabla 14 y Anexo Tabla III).

De los sueros de pacientes que son “sospechosos” a la infección por HIV que salían de la Clínica de SIDA y forman el subgrupo B3 (n=28) en el **ELISA-péptido6357** y también en la prueba rápida **HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test**, se encontró que 12/28 (42.8%) MOSTRARON

REACTIVIDAD y 26/28 (57.2%) NO LA MOSTRARON. En contraste, en la prueba **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P** 24/28 (85.7%) manifestaron REACTIVIDAD y 4/28 NO MOSTRARON REACTIVIDAD (Tablas 14 y 15).

**TABLA 14.** Reactividad de los 140 sueros del panel B, de casos con, sin y “sospechosos” a la infección por HIV, en las 3 pruebas diagnósticas.

Paneles de sueros	ELISA-péptido6357		HEXAGON HIV		ADVANCED QUALITY™	
	Reactivo	No Reactivo	Reactivo	No Reactivo	Reactivo	No Reactivo
B1. De pacientes con infección crónica a HIV en TAR (n=20)	20	0	20	0	20	0
B2. De donadores de sangre sin infección a HIV (n= 92)	0	92	0	92	0	92
B3. De pacientes “sospechosos a la infección por HIV” de CLINSIDA (n=28)	12	16	12	16	24	4

**TABLA 15.** Resultados de los 28 sueros de pacientes “sospechosos” a la infección por HIV de CLINSIDA, en las pruebas **ELISA-péptido6357**, **HEXAGON HIV** y **ADVANCED QUALITY™**.

ID	CV EN COPIAS/mL	ELISA-péptido6357 D. O. NETA/ RESULTADO	HEXAGON HIV	ADVANCED QUALITY™
CLINSIDA 64	INDETECTABLE	0.026/NEGATIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
CLINSIDA 65	INDETECTABLE	0.047/NEGATIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
CLINSIDA 68	INDETECTABLE	0.063/NEGATIVO	REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 69	INDETECTABLE	0.130/NEGATIVO	NO REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 70	INDETECTABLE	0.027/NEGATIVO	NO REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 72	INDETECTABLE	0.067/NEGATIVO	NO REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 73	INDETECTABLE	0.073/NEGATIVO	NO REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 74	INDETECTABLE	0.040/NEGATIVO	NO REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 77	INDETECTABLE	0.038/NEGATIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
CLINSIDA 78	INDETECTABLE	0.038/NEGATIVO	NO REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 80	INDETECTABLE	0.046/NEGATIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO

ID= Identificación; C.V= Carga Viral; D.O.= Densidad Óptica.

**TABLA 15.** Continuación.

ID	CV EN COPIAS/mL	ELISA-péptido6357 D. O. NETA/ RESULTADO	HEXAGON HIV	ADVANCED QUALITY™
CLINSIDA 81	INDETECTABLE	0.059/NEGATIVO	NO REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 83	INDETECTABLE	0.038/NEGATIVO	NO REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 92	INDETECTABLE	0.073/NEGATIVO	NO REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 94	INDETECTABLE	0.108/NEGATIVO	NO REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 99	INDETECTABLE	0.119/NEGATIVO	NO REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 3	INDETECTABLE	0.178/POSITIVO	REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 46	INDETECTABLE	0.427/POSITIVO	REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 55	INDETECTABLE	0.387/POSITIVO	REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 67	INDETECTABLE	0.337/POSITIVO	REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 79	INDETECTABLE	0.261/POSITIVO	REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 93	INDETECTABLE	0.584/POSITIVO	REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 95	INDETECTABLE	0.422/POSITIVO	REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 96	INDETECTABLE	0.970/POSITIVO	REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 102	INDETECTABLE	0.392/POSITIVO	REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 103	INDETECTABLE	0.816/POSITIVO	REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 106	INDETECTABLE	1.007/POSITIVO	REACTIVO	REACTIVO
CLINSIDA 108	INDETECTABLE	1.314/POSITIVO	NO REACTIVO	REACTIVO

ID= Identificación; C.V= Carga Viral; D.O.= Densidad Óptica.

- Concordancia para el diagnóstico de la infección por HIV entre el ELISA-péptido6357 y las dos pruebas rápidas comerciales.

Se determinó un 100% de concordancia (perfecta) en los resultados obtenidos por las 2 pruebas diagnósticas rápidas cuando se evaluaron los sueros de pacientes con infección por HIV en etapa 1, 2 y de SIDA del subgrupo 1 panel B y los sueros de donadores de sangre aptos sin infección por HIV del panel B subgrupo 2 (Anexo Tabla IV y V).

Solo se encontraron discordancias en los resultados obtenidos de los sueros de casos conocidos como “sospechosos” a la infección por HIV por las dos pruebas rápidas. Por lo que se obtuvieron una concordancia del 93% (buena) y del 57% (moderada) respectivamente para las pruebas **HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test** y **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P** (Anexo Tabla VI y VII).

## 7. Discusión

Las pruebas para la detección de la infección por HIV han contribuido principalmente al diagnóstico clínico temprano de muchos individuos potenciales con riesgo de infectar a otros, así como al monitoreo de la infección en pacientes que están en Tratamiento Anti-Retroviral. De los métodos actuales disponibles para el diagnóstico de la infección por HIV; el ELISA o ensayo inmuno-adsorbente ligado a enzimas, es la técnica más comúnmente utilizada, en particular cuando se procesa un gran número de muestras.

Los ensayos de 1ª y 2ª generación detectan anticuerpos IgG contra el HIV, con la única diferencia de que la 2ª utiliza antígenos recombinantes y/o péptidos inmunodominantes. La 3ª generación detecta anticuerpos IgG/IgM contra el HIV; la 4ª detecta a la p24 del virus y a los anticuerpos IgG/IgM sin diferenciarlos, finalmente la 5ª generación detecta a la proteína de cápside/p24 del HIV y a los anticuerpos IgG/IgM y los diferencia.

Las técnicas de ELISA han evolucionado rápidamente hacia formatos de prueba más rápidos y precisos, siendo la quinta generación la última que se ha desarrollado para el diagnóstico del HIV.

En este tipo de ensayos ha habido la preocupación sobre cuál de las regiones de la proteína del HIV elegir para usarse en el diagnóstico. Nuestro grupo de investigación ha desarrollado un ELISA de 2ª generación que usa como antígeno un polipéptido (6357) de la glicoproteína de Transmembrana (gp41) del HIV, el cual elegimos de la literatura (Palacios, 2007).

El péptido 6357 de la glicoproteína de TM/gp41 del HIV, consta de una secuencia de 15 aminoácidos que contiene el epítipo más inmunodominante de 7 aminoácidos (CSGKLIC), los cuales forman un bucle estabilizado por puentes disulfuro entre las dos cisteínas, y que se sabe es un participante clave en la infección por HIV, ya que fue bio-seleccionado de grandes bibliotecas aleatorias con IgG de pacientes infectados por el HIV-1 mediante tecnología de visualización de fagos. Fue validado y mediante el análisis de la curva ROC se encontró una sensibilidad y especificidad del 100%, además se obtuvo una Densidad Óptica igual a 0.142 como valor de corte (VC).

El diagnóstico preciso de la infección por HIV es esencial para la atención rápida y adecuada del paciente. Como el ELISA no siempre da el resultado del estado de la infección por HIV lo suficientemente rápido, para resolver esta limitante, se han desarrollado estuches de pruebas rápidas que pueden proporcionar los resultados en 20 minutos o menos.

Las pruebas de diagnóstico rápido para HIV han permitido la implementación generalizada de programas de detección y control de las infecciones por HIV en entornos de recursos limitados. El buen desempeño y la facilidad de uso de la prueba, así como la rápida disponibilidad de resultados hacen que este tipo de pruebas sean adicionadas a los algoritmos utilizados para el diagnóstico de HIV.

El buen desempeño de las pruebas rápidas en una primera etapa es evaluado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) junto con ONUSIDA. Luego de ser evaluadas periódicamente, solo las que cumplen con una sensibilidad  $\geq 99\%$  y especificidad  $\geq 98\%$  son recomendadas como aceptables para uso diagnóstico. La OMS sugiere que, a nivel local, antes de que pueda usarse de forma rutinaria una prueba rápida es necesario comparar el desempeño de éstas con el de las pruebas disponibles; ya que virus genéticamente diferentes a las cepas utilizadas por los fabricantes de estas pruebas, impactarán en el desempeño diagnóstico de las mismas, pudiendo dar resultados falsos negativos.

En este trabajo hemos evaluado el desempeño diagnóstico para la detección de la infección por HIV de dos pruebas rápidas **HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test** y **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P** y lo hemos comparado con el del **ELISA-péptido6357** con el fin de saber cuál de ellas se puede usar de forma rutinaria.

Observamos que el **ELISA-péptido6357** fue el que mostró el mejor desempeño diagnóstico tanto por sensibilidad como por especificidad. Los valores de sensibilidad y especificidad del 100% que encontramos para el ELISA-péptido6357 fueron mayores en un 2% tanto en sensibilidad como en especificidad que los reportados para el ELISA basado en el péptido *CGGgp41* de 32 aminoácidos (*CGG584-612*) de la glicoproteína transmembranal (*gp41*) del HIV por Manocha y cols. (2003). Ambos ensayos son comparables ya que la secuencia de 15 aminoácidos del péptido6357 se encuentra de la mitad hacia el extremo carboxilo terminal en el péptido *CGGgp41* con la excepción del aminoácido que se encuentra en la posición 601. En la posición 601 el péptido *CGGgp41* tiene una Isoleucina (I) y el péptido6357 tiene una Fenilalanina (F). El cambio de aminoácido en dicha posición podría explicar la diferencia encontrada del porcentaje de sensibilidad y especificidad entre los resultados de los ELISAs de ambos péptidos. Ya que la fenilalanina (que tiene un grupo aromático) en el péptido6357, es la que le puede estar dando estabilidad a la unión antígeno-anticuerpo, lo que no puede hacer la Isoleucina (que tiene una estructura más simple) en el péptido *CGGgp41*.

En lo que respecta a las pruebas rápidas **HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test** y **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P** hallamos menor sensibilidad y especificidad que

en el **ELISA-péptido6357**. Encontramos que el ELISA-péptido6357 obtuvo un valor mayor del 6.2% de sensibilidad y del 2.9% de especificidad que las dos pruebas rápidas. Ambas no detectaron correctamente al 100% de los sueros de referencia confirmados por WB como negativos y positivos a la infección por HIV, ya que dieron un resultado falso positivo y uno negativo. Han mostrado una mayor capacidad para detectar a los sueros de referencia confirmados como negativos que a los confirmados como positivos a la infección por HIV. Un mejor desempeño diagnóstico para el ELISA que para las pruebas rápidas en la detección de la infección por HIV, también ha sido mostrado por otros autores Shumani y cols (2020) y Orkuma y cols (2014).

Varios estudios han demostrado que las pruebas rápidas para HIV dan valores diferentes de sensibilidad y especificidad, los cuales son inferiores a los recomendados por la OMS y a los informados por el fabricante. (Shumani et al., 2020; Adetunji et al., 2018; Patel et al., 2012; Piwowar-Manning et al., 2010; Wolpaw et al., 2010; Gray et al., 2007)

En particular para la prueba rápida **HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test**, encontramos que nuestro valor de especificidad del 97.1% fue mayor en un 9.9% y un 5.2% al reportado respectivamente por Salou (2010) y Dagnra (2014) de los estudios realizados en Togo, África; pero fue menor en un 2.9% al determinado por Njoum (2017), de su estudio realizado en Yaundé, Camerún; África. Sin embargo, nuestro valor de sensibilidad del 93.8% fue menor al 100% obtenido en los estudios de Salou (2010), Dagnra (2014) y Njouom (2017).

Estas diferencias encontradas en los valores de sensibilidad y especificidad pueden ser atribuidas principalmente a la diversidad genética del HIV que se presenta en cada comunidad, la cual, es esencialmente dinámica e influenciada por factores demográficos, coinfecciones y el acceso a antirretrovirales durante los diferentes años, así como a las prevalencias de la infección por HIV en las diferentes áreas geográficas estudiadas. (Peteers, 2013)

Sabemos que México tiene una prevalencia de la infección por HIV de 1:500 ( $\approx 0.2\%$ ), que es menor de 5 a 19 veces de la que tiene Lomé, Togo; África de 1:80 ( $\approx 1.25\%$ ) y de la de Yaundé, Camerún; África, que es de 1:25 ( $\approx 4\%$ ). También sabemos que la población viral en México es homogénea genéticamente pues predomina el HIV-1 del Grupo M subtipo B, en contraste, en Lomé, Togo; África y Yaundé, Camerún; África. La población de dichos virus es más diversa genéticamente y puede haber entrecruzamiento virológico, ya que en África prácticamente circulan todos los subtipos del Grupo M y el menos prevalente es el subtipo B (ONUSIDA, 2019). Una posible explicación al valor de especificidad aumentado en nuestro estudio, es que nosotros usamos muestras de un área geográfica

con una población de HIV homogénea genéticamente, por lo que según Peteers (2013), no tuvimos tantas interferencias que impactaran en el diagnóstico. Por otro lado, en los estudios realizados en Lomé, Togo; África y Yaundé, Camerún; África, con una población viral más diversa genéticamente, la producción de anticuerpos generada contra las diferentes cepas de virus en las muestras, pudo interferir mucho más en el diagnóstico, lo que impactó en la especificidad de las pruebas diagnósticas. La explicación razonable para los falsos positivos en nuestro estudio es la baja prevalencia, ya que existen estudios que han mostrado que cuanto más baja es la prevalencia, mayor es la proporción de falsos positivos. (Shodell, 2018).

Para la prueba rápida **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P** no se pudo hacer ninguna comparativa. Ya que no encontramos datos de validación de ella en alguna revista indexada.

Hemos demostrado que, en las 3 pruebas diagnósticas evaluadas en este estudio, no ocurrió reactividad serológica cruzada ocasionada por anticuerpos contra alguna(s) proteína(s) diferentes a las de envoltura del HIV, ya que dieron resultados negativos los sueros de referencia confirmados por WB como indeterminados a la infección por HIV que contenían anticuerpos contra la *p18*, *p24*, *p34*, *p40Prec*, *p55* y *p68*, así como contra *p18/p24*, *p18/p55*, *p18/p68* o *p24/p55*.

De las 3 pruebas diagnósticas evaluadas, la mejor opción para usarse de forma rutinaria es el **ELISA-péptido6357** por el desempeño diagnóstico mostrado para detectar las infecciones por HIV, y porque cumple con los parámetros de sensibilidad y especificidad estipulados por la OMS. Las pruebas rápidas **HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test** y **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P** aunque estuvieron cerca, no cumplen con lo estipulado por la OMS Y ONUSIDA (una sensibilidad  $\geq 99\%$  y especificidad  $\geq 98\%$ ) por lo que no serían aceptadas para uso de diagnóstico rutinario. Por el valor de especificidad obtenido, que es menor en casi una unidad del estipulado, podríamos sugerir su uso para evaluar poblaciones de baja incidencia y en poblaciones de alta incidencia complementar el diagnóstico de laboratorio con una prueba basada en antígeno.

Encontramos una clara y definida correlación entre la clínica y el resultado de la prueba, en el panel de sueros de casos documentados de pacientes con infección por HIV en etapas 1, 2 o 3 y en Tratamiento Anti-Retroviral (Panel B1) y en el de casos documentados de pacientes sin infección por HIV o donadores de sangre aptos (Panel B2), pero no así en los resultados de los pacientes cuyo diagnóstico, por diferentes motivos, no fue precisado por lo que fueron considerados como “sospechosos” a la infección por HIV.

Hubo concordancia en el 100% de los resultados de las 3 pruebas diagnósticas para HIV de este estudio, ya que fueron positivos para los sueros de los pacientes de casos conocidos con infección por HIV en diferentes estadios (panel B1) y fueron negativos para los sueros de los casos conocidos sin infección de personas aptas para donación de sangre (panel B2).

Las pruebas rápidas **HEXAGON HIV-1/2 TEST Rapid Screening Test** y **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P** al evaluar los sueros de pacientes de casos “sospechosos” a la infección por HIV (panel B3), mostraron discordancias en los resultados del 47% y 7% respectivamente, usando al ELISA-péptido6357 como prueba de referencia. Resultados a los que no podemos dar una explicación razonable ya que este grupo no es homogéneo, no se tiene el resultado del WB como estándar de oro y nos falta información de su expediente clínico.

Nuestros hallazgos muestran que: (a). El **ELISA-péptido6357** tiene un buen desempeño diagnóstico ya que detecta correctamente y sin reactividad falsa a los sueros de referencia confirmados por WB como positivos y negativos a HIV. (b). El **ELISA-péptido6357** por haber obtenido 100% de sensibilidad y especificidad, fue usado como prueba de referencia para comparar los resultados de los sueros de pacientes de casos “sospechosos” a la infección por HIV en las pruebas rápidas, ya que de estos sueros no se contaba con el resultado de WB (estándar de oro) ni con información del expediente clínico. (c). Las pruebas rápidas **HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test** y **ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P** tienen la misma capacidad que el **ELISA-péptido6357** para detectar la infección por HIV en los sueros de referencia confirmados por WB como positivos y negativos a HIV, pero tienen una capacidad menor que el **ELISA-péptido6357** para detectar a los sueros de pacientes de casos “sospechosos” a la infección por HIV.

Sugerimos que se lleven a cabo estudios que permitan evaluar el desempeño diagnóstico de las pruebas rápidas en individuos con infección temprana por HIV, ya que al ser estos un riesgo potencial de infección, se les debe de poner más atención y estudiar más a fondo hasta cuando se llega a la seroconversión.

## 8. Conclusiones

- El **ELISA-péptido6357** mostró el mejor desempeño diagnóstico, al identificar correctamente a los sueros de referencia confirmados por WB como positivos y negativos a HIV sin falsos negativos ni positivos. Obtuvo una sensibilidad y especificidad del 100% y según lo estipulado por la OMS y ONUSIDA cumpliría con los requisitos para su uso en el diagnóstico rutinario.
- Las pruebas para el diagnóstico rápido de la infección por HIV, **HEXAGON HIV-1/2** y **ADVANCED QUALITY™**, alcanzaron una sensibilidad del 93.8% y especificidad del 97.1%, valores inferiores a los recomendados por la OMS y a los informados por el fabricante.
- El **ELISA-péptido6357** y las dos pruebas rápidas **HEXAGON HIV-1/2** y **ADVANCED QUALITY™** mostraron un buen desempeño diagnóstico al evaluar los sueros de pacientes con infección por HIV en etapas 1, 2 o 3 en TAR y los sueros de donadores de sangre aptos o sin infección por HIV, ya que los resultados obtenidos correlacionaron al 100% con los datos clínicos.
- Las dos pruebas rápidas no tuvieron un buen desempeño diagnóstico al evaluar los sueros de casos de pacientes “sospechosos” a la infección por HIV. La prueba **HEXAGON HIV-1/2** y **ADVANCED QUALITY™** mostraron discordancias en los resultados del 7% y 47% respectivamente, usando al ELISA-péptido6357 como prueba de referencia. La prueba rápida **HEXAGON HIV-1/2** es la que lleva a cabo el diagnóstico más parecido al del **ELISA-péptido6357**.
- Nuestros resultados son de particular importancia en el contexto del uso creciente de pruebas rápidas en entornos de “laboratorio externo”.

## 9. Anexo

### HEXAGON HIV

Prueba rápida inmunocromatográfica de 3a generación para la detección de anticuerpos contra los virus 1 y 2 de la inmunodeficiencia humana

Presentación del equipo		
REF	57002P	40 determinaciones
	57004P	100 determinaciones

IVD

#### Uso previsto

HEXAGON HIV que sirve como diagnóstico temprano del SIDA ha sido diseñado para la detección rápida y cualitativa de los anticuerpos IgG, IgA y IgM contra los virus de la inmunodeficiencia humana VIH-1 y VIH-2 en la sangre total, el suero o el plasma.

La evaluación de paneles comerciales conteniendo anticuerpos VIH-1 del subtipo O ha dado resultados positivos lo que demuestra que este subtipo puede detectarse con esta prueba. Los resultados están indicados sobre el dispositivo en dos líneas separadas para el VIH-1 y el VIH-2.

#### Principio

HEXAGON HIV es un ensayo de 3a generación basado en un método inmunocromatográfico.

El ensayo emplea antígenos recombinantes representando las regiones inmunodominantes de las proteínas de la envoltura de los virus VIH-1 y VIH-2. Antígenos de captura gp41 y p24 del VIH-1 son fijados sobre la membrana en la línea de prueba 1, y el antígeno de captura gp36 del VIH-2 es inmovilizado en la línea de prueba 2. Los mismos antígenos, marcados con un colorante, se encuentran en el velón de conjugado del dispositivo. Una región angosta de la líta reactiva, sensibilizada con anticuerpos anti-VIH, sirve de línea de control C.

Cuando la muestra migra a través del velón de conjugado los anticuerpos anti-VIH-1 o anti-VIH-2 específicos a los antígenos recombinantes se ligan específicamente al conjugado coloreado, formando inmunocomplejos los que son inmovilizados por los antígenos de captura recombinantes fijados en las líneas de prueba 1 y 2, produciendo allí líneas rojas violetas. El excedente del conjugado se fija en la línea de control C que indica el funcionamiento correcto de la prueba.

#### Contenido

REF	57002P	57004P
TEST	40	100
DIL	1 x 7 ml	2 x 7 ml
PIP	40	100

TEST

#### Dispositivos de prueba

sellados individualmente en bolsas [antígenos recombinantes (E. coli) de los virus VIH-1 (gp41, p24) y VIH-2 (gp36), anti-VIH (citra)]

DIL

#### Diluyente

Tampón TRIS 50 mmol/l  
Añadido de sodio 0,02 % w/v

PIP

#### Pipetas desechables para sangre total

(aprox. 20 µl a la graduación negra)

#### Almacenaje y estabilidad

Almacenado a 15...25°C, la prueba es estable hasta la fecha de vencimiento indicada. Lleve los dispositivos TEST a la temperatura ambiente y abra sus bolsas sólo momentos antes de utilizarlos. Los TEST son sensibles a la humedad y al calor.

#### Muestras

La prueba puede emplearse con sangre total, plasma y suero. Si se utiliza sangre total de la yema del dedo es aconsejable recoger 20 µl (graduación negra) con una pipeta PIP provisto en el kit y pipetearla directamente en la zona reactiva (S) del dispositivo TEST. Toque el velón con la punta de la pipeta o hacer gotear la muestra apretando el tubo capilar. La muestra debe absorberse enteramente. La sangre total anticoagulada (heparina, EDTA, citrato) puede utilizarse inmediatamente o conservarse por hasta 3 días a 2...8°C. No usar sangre hemolítica. Importante: La sangre total almacenada por un periodo prolongado o la sangre congelada puede ser fuertemente hemolítica y no debe usarse.

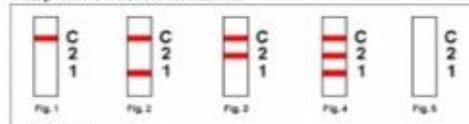
Las muestras de suero o de plasma (10 µl) deberían aplicarse con pipetas de laboratorio usuales. Pueden almacenarse hasta 3 días a 2...8°C. Si el almacenamiento se prolonga, las pruebas deberían ser congeladas y descongeladas una sola vez.

#### Procedimiento

1. Antes de comenzar el ensayo, las muestras, los dispositivos TEST y el diluyente DIL deben llevarse a la temperatura ambiente (15...25°C).
2. Remueva el dispositivo TEST de la bolsa.
3. Rotule el dispositivo para identificar al paciente.

4. Sosteniendo PIP u otra pipeta verticalmente deposite 20 µl de sangre o 10 µl de suero o plasma en la ventana de muestra (S) en la parte inferior del dispositivo.
5. Añada 3 gotas (aprox. 120 µl) de DIL a la ventana de muestra.
6. Lea los resultados dentro de los 5 a 20 minutos. Las muestras muy reactivas producirán una línea de prueba ya después de algunos minutos. Las muestras de baja reactividad pueden requerir un periodo más largo de incubación hasta un máximo de 20 minutos. ¡No los interprete después de más de 20 minutos!

#### Interpretación de los resultados



#### Negativo (Fig. 1)

Sólo la línea de control roja violeta (C) aparece en la parte superior de la ventana rectangular indicando la realización apropiada del ensayo y el funcionamiento correcto de los reactivos.

#### Positivo (Fig. 2, 3 y 4)

Una o dos líneas de prueba roja violetas apareciendo debajo de C indican un resultado positivo para anticuerpos del VIH-1 (línea en 1) o del VIH-2 (línea en 2) en la muestra.

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

#### No válido (Fig. 5)

Si aparece ninguna línea de control (C), aun si aparece una línea de prueba, repita la prueba con un nuevo TEST, siguiendo ser cuidadosamente el procedimiento.

#### Características de la ejecución

##### Sensibilidad y especificidad

HEXAGON HIV ha sido verificado con relación a una prueba ELISA comercial conocida mediante 3468 muestras negativas y 815 muestras positivas.

Sensibilidad: 100,0%. Especificidad: 99,9%.

La sensibilidad del HEXAGON HIV ha sido comprobada también usando paneles de seroconversión. Los resultados han sido verificados con relación a los resultados de pruebas con marca CE de otros fabricantes consideradas siendo al estado de los conocimientos técnicos.

Número Panel	Prueba	HEXAGON HIV		
		-1	0	+1
40	ELISA Prueba de 3a generación	4	34	2
33	Prueba rápida HIV-1/2	4	28	1

Comparado con la prueba de competencia, el HEXAGON HIV señaló la seroconversión como sigue: -1 = una toma de sangre más temprano; 0 = misma toma de sangre; +1 = una toma de sangre más tarde.

Los datos típicos de ejecución de la prueba pueden ser encontrados en el informe de verificación, accesible vía

[www.human.de/data/gb/hr/1i-hiv.pdf](http://www.human.de/data/gb/hr/1i-hiv.pdf)

[www.human.de/data/gb/hr/1i-hiv.pdf](http://www.human.de/data/gb/hr/1i-hiv.pdf)

#### Limitaciones

Para asegurar la fiabilidad de la detección de los anticuerpos anti-VIH, es aconsejable exactamente seguir las instrucciones para la realización del ensayo y la interpretación de los resultados.

Si se usa sangre total hemolítica vieja o sangre que no ha sido tratada según las instrucciones, los resultados se pueden malinterpretar como positivos (línea de prueba más ligera en un fondo rojo oscuro). Para evitar tales malinterpretaciones, se deben emplear solamente las muestras de sangre total fresca; no hemolítica para la prueba.

La prueba se concibió solamente para el uso de muestras no diluidas.

Posiblemente los pacientes inmunosuprimidos o inmunocomprometidos no producen anticuerpos anti-VIH. Por consiguiente, las pruebas diseñadas para la detección de anticuerpos no son más que un método diagnóstico dudoso para estos pacientes.

El SIDA y el CRS (síndrome relacionado al SIDA) son síndromes clínicos. Como tal diagnóstico puede ser establecido solamente mediante una observación clínica el diagnóstico definitivo de SIDA no debería basarse en el único resultado de una prueba HEXAGON HIV. Los resultados inicialmente reactivos tienen que ser verificados mediante otros métodos confirmativos independientes (normalmente pruebas Western Blot). De otra parte, un resultado negativo no excluye completamente la posibilidad de un contacto con o una infección por el VIH.

#### Bibliografía

Ver versión F.

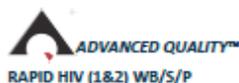
1144VP  
REF 57002P/01 E  
05-2005-15



human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH  
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany  
Telefon: +49 6122 9888 0 - Telefax: +49 6122 9888 100 - eMail: human@human.de

1a. Inserto del kit comercial de pruebas rápidas Hexagon HIV 3rd Generation Immunochromatographic Rapid Test for the Detection of Antibodies to Human Immune Deficiency viruses 1 and 2. Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH, Wiesbaden-Germany.



(Sangre Entera, Suero, Plasma)

SÓLO PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

#### USO CORRECTO

LA PRUEBA ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P ES UNA PRUEBA INMUNOCROMÁTICA RÁPIDA Y MEJORADA CON ORO COLOIDAL PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DE ANTICUERPOS CONTRA EL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) EN LA SANGRE ENTERA, EL SUERO O EL PLASMA HUMANO. ÉSTA ES SÓLO UNA PRUEBA DE ESCRUTINIO Y ES NECESARIO CONFIRMAR TODOS LOS RESULTADOS POSITIVOS CON UN MÉTODO ALTERNO COMO EL WESTERN BLOT. ESTA PRUEBA LA DEBERÁN APLICAR ÚNICAMENTE PROFESIONALES DE LA SALUD.

#### RESUMEN

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es el agente que causa el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). El método general para detectar la infección por VIH es observar la presencia de anticuerpos contra el virus utilizando un método EIA seguido por la confirmación con Western Blot. La Prueba Advanced Quality™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P es una prueba de detección cualitativa que detecta anticuerpos en la sangre entera, el suero o el plasma humano. La prueba se basa en la inmunocromatografía y puede dar un resultado en un término de 1 a 15 minutos.

#### PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La prueba se comienza colocando una muestra en el orificio de prueba. El conjugado de antígeno de VIH recombinante con oro coloidal incrustado en la almohadilla de muestra reacciona con la presencia del VIH en la sangre entera, el suero o el plasma formando un complejo de conjugado/anticuerpo VIH. A medida que la mezcla avanza a lo largo de la tira de prueba, se captura el complejo de conjugado/anticuerpo VIH con el antígeno VIH recombinado inmovilizado en una membrana, lo que forma una línea de color en la región de prueba. Una muestra negativa no produce la línea de prueba debido a la ausencia del complejo de conjugado de oro coloidal / anticuerpo VIH. Los antígenos utilizados en la prueba de conjugado son proteínas recombinantes que corresponden a regiones altamente inmunoreactivas de VIH1 y VIH2. Sin importar cuál sea el resultado de la prueba, aparecerá una línea de color en la región de control al final del procedimiento de prueba. Esta línea de control es el resultado del conjugado de oro coloidal vinculado con el anticuerpo anti-VIH inmovilizado en la membrana. La línea de control indica que el conjugado de oro coloidal es funcional.

#### REACTIVOS Y MATERIALES QUE SE INCLUYEN

- Casetes de prueba / tira de prueba en bolsa de aluminio individual con desecante.
- Diluyente de muestra.
- Instrucciones de uso.
- Goteros de plástico para la dispersión de la muestra con cada bolsa de prueba. (sólo para casete)

#### MATERIALES QUE SE NECESITAN PERO NO SE INCLUYEN.

1. Controles positivos y negativos.

#### ALMACENADO Y ESTABILIDAD

El paquete debe guardarse a temperatura ambiente 2 – 30° C.

#### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. TODOS los resultados positivos deben confirmarse con un método alterno.

NÚM. DE CAT. IP00006 REV. 012005

ISO9001, GMP Certified

2. Trate todas las muestras como potencialmente infecciosas. Utilice guantes y vestimenta de protección siempre que esté en contacto con las muestras.
3. Los dispositivos que se utilicen con las pruebas deberán someterse a autoclave antes de su desecho.
4. No utilice los materiales de paquetes después de su fecha de vencimiento.
5. No intercambie reactivos de lotes diferentes.

#### TOMA DE MUESTRA

##### Sangre entera

1. Tome una muestra de sangre entera siguiendo los procedimientos normales de laboratorio clínico.
2. Deben utilizarse tubos capilares heparinizados para la toma de muestra de sangre entera. No utilice muestras de sangre hemolizadas.
3. Las muestras de sangre entera deben utilizarse de inmediato después de la toma de la misma.

##### Suero o plasma

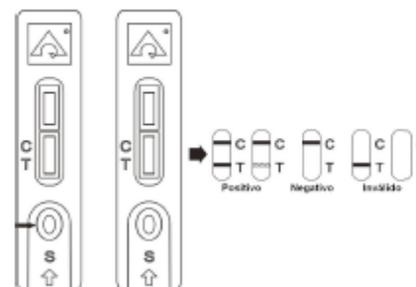
1. Tome las muestras de suero o plasma siguiendo los procedimientos de laboratorio clínico regulares.
2. Almacenaje: Mantenga las muestras refrigeradas en caso de que no las utilice el mismo día que se tomen. En caso de que tome una muestra y no la vaya a utilizar por un término de más de tres días, es necesario que la congele. Evite congelar y descongelar las muestras más de 2-3 veces antes de utilizarlas. Puede agregarse un 0.1% de azida de sodio a la muestra como preservativo sin afectar los resultados de la prueba.

#### PROCEDIMIENTOS PARA LA PRUEBA

No abra la bolsa hasta que esté listo para hacer la prueba.

##### Para casetes de prueba:

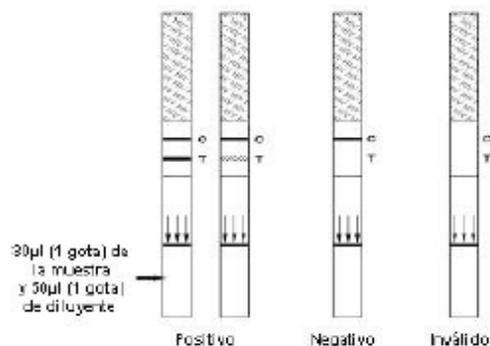
1. Coloque todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente.
2. Saque el casete de prueba de la bolsa de aluminio y colóquelo en una superficie seca y limpia.
3. Identifique el casete de prueba para cada muestra o control.
4. Utilizando el gotero de plástico que se incluye, coloque 30µl (1 gota) de la muestra o el control en el orificio de prueba del casete. Después, coloque 50µl (1 gota) del diluyente de muestra.
5. Deje pasar 15 minutos y lea los resultados.



30µl (1 gota) de la muestra y 50µl (1 gota) de diluyente

##### Para tiras de prueba:

1. Coloque todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente.
2. Saque la tira de prueba de la bolsa de aluminio y colóquela en una superficie seca y limpia.
3. Identifique la tira de prueba para cada muestra o control.
4. Coloque 30µl (1gota) de la muestra en la almohadilla que está después de la marca (iii) que se encuentra en la parte inferior de la tira de prueba. Posteriormente, coloque 50µl (1 gota) del diluyente de muestra.
5. Deje pasar 15 minutos y lea los resultados.



**Precaución:** Utilice una pipeta o una punta limpia para cada muestra con el fin de evitar que se contaminen las muestras.

6. Puede interpretarse un resultado positivo antes de tiempo, sin embargo, sólo se deberá considerar un resultado negativo después de que hayan pasado los 15 minutos, para asegurar que este resultado sea el correcto y no una baja concentración de anticuerpos anti-VIH. Descarte los resultados después de que hayan pasado 20 minutos.

Se recomienda hacer una prueba con control positivo y otra con control negativo con el fin de asegurar la precisión de la prueba.

**Notas:**

1. Un resultado positivo puede aparecer al minuto en el caso de una muestra con alto niveles de anticuerpos VIH.
2. Descarte los resultados después de que hayan pasado 20 minutos.

**LECTURA DE RESULTADOS DE LA PRUEBA**

1. **Positivo:** Aparece una línea roja/púrpura en el área de prueba y una línea roja/púrpura en el área de control de la membrana. Entre más bajo sea el nivel de concentración de anticuerpos, más débil será la línea de prueba.

2. **Negativo:** Sólo aparece una línea roja púrpura en el área de control de la membrana. La ausencia de línea en el área de prueba indica un resultado negativo.

3. **Inválido:** Siempre debe aparecer una línea roja púrpura en el área de control, sin importar cuál sea el resultado de la prueba. En caso de que no aparezca la línea de control, el resultado debe considerarse inválido. Intente de nuevo con una nueva prueba.

*Nota: Es normal que aparezca una línea de control ligeramente débil con muestras positivas fuertes siempre y cuando la misma sea visible.*

**CARACTERÍSTICAS DE OPERACIÓN**

1. **Especificidad**

En un estudio de laboratorio se evaluaron 63 muestras, que se había confirmado debían dar un resultado negativo, fueron evaluadas con la Prueba Advanced Quality™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P. Se utilizaron EIA y Western Blot como pruebas de referencia. El estudio reflejó un 100% de especificidad para la prueba.

2. **Sensibilidad**

En el estudio antes mencionado, se evaluó la Prueba Advanced Quality™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P con 32 muestras de sangre entera confirmadas como positivas. Se encontró que la sensibilidad de la Prueba Advanced Quality™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P fue de un 100% relativa al consenso con resultados de EIA y respaldada por la prueba Western Blot.

**LIMITACIONES**

1. Sólo pueden utilizarse muestras que no estén hemolizadas y que contengan una buena fluidez.
2. Es mejor utilizar una muestra fresca, sin embargo también es posible utilizar muestras refrigeradas. No se pueden utilizar muestras congeladas.
3. No agite la muestra. Inserte una pipeta justo bajo la superficie de la muestra para tomar un poco de la muestra.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Guyader, M., Emerman, M., Sonigo, P., et al. Genome organization and transactivation of the human immunodeficiency virus type 2. *Nature*, 326:662-669, 1987.
2. Blattner, W., Gallo, R.C. and Temin, H.M. HIV causes AIDS. *Science*. 241:515, 1988.
3. Curran, J.W., Morgan, W.M. Hardi, A.M., et al. The epidemiology of AIDS: Current status and future prospects. *Science* 229:1352-1357. 1985.
4. Sarngadharan, M.G., Popovic, M., Bruch, L., Schupback, J., and Gallo, R.C. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science* 224:506-508. 1984.
5. Weber, J.N., Weiss, R.A., Roberts, C., et al. Human immunodeficiency virus infection in two cohorts of homosexual men: Neutralising sera and association of anti-gag antibody with prognosis. *Lancet* 1:119-124. 1987.
6. Clavel, F., Guetard, D. Brun-Vezinet, F., et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patient with AIDS. *Science* 233:343-346. 1986.



Fabricado por:  
InTec Products, Inc.  
332 Xinguan Road  
Xinyang Industrial Area  
Halcang, Xiamen  
China 361022  
Tel. 86 592 6807104

Distribuidor Autorizado:

Kabla Comercial S.A. de C.V.  
www.kabla.comercial.com

## 2. Metodología de la prueba de ELISA-péptido6357.

El procedimiento se llevó a cabo siguiendo las instrucciones descritas por Andrés et. al., 2013. Con algunas modificaciones: la concentración del conjugado (Proteína G peroxidada) fue de 0.1 µg/ml y el tiempo de incubación con el ABTS de 20 min. Para diluir el suero y ajustar la concentración del conjugado se usó solución para diluir anticuerpos (caseína 1.25%-PBS/T) y las incubaciones de ambos fueron a 37°C por 1h y luego se hicieron 5 lavados. Se obtuvo la Densidad Óptica (D.O.) neta a 405nm, mediante la diferencia entre la D.O. del pozo sin antígeno y la D.O. del pozo con antígeno. Se reportaron como positivas aquellas que tenían una ***D.O.neta* ≥ 0.156**.

### 3. Resultados de los paneles A3, B2, B1 y B3 en las tres pruebas diagnósticas evaluadas.

**TABLA I.** Resultados de los 40 sueros indeterminados en el WB con inmunoreactividad diferente a gp120/env y gp41.

FOLIO	ELISA HIV DET. Ag y/o Ac	DET. ÁCIDOS NUCLÉICOS HIV	INMUNOREACTIVIDAD EN WB/GEN	CV EN COPIAS/ml	ELISA-péptido6357 D.O. NETA/ RESULTADO	HEXAGON HIV	ADVANCED QUALITY™
866	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
873	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag	ND	0.041/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
874	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
875	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag	ND	0.008/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
881	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag	ND	0.011/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
889	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
890	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag	ND	0.03/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
899	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1059	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag	ND	0.004/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1062	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag	ND	0.029/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1093	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag	ND	0.003/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1086	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1088	REACTIVO	NO REACTIVO	P18/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
878	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
888	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
895	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0.001/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
898	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0.003/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1051	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0.009/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1055	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1056	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0.016/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1066	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1067	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1068	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1069	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1073	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1076	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0.007/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1099	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag	ND	0.027/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1071	REACTIVO	NO REACTIVO	p34/pol	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1063	REACTIVO	NO REACTIVO	p40/ gag	ND	0.019/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1095	REACTIVO	NO REACTIVO	p55/gag	ND	0.011/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1079	REACTIVO	NO REACTIVO	p68/pol	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1089	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag y p24/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1097	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag y p24/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1092	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag y p55/gag	ND	0.009/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO

DET. Ag y/o Ac= Determinación de Antígeno y/o Anticuerpo; WB= Western Blot; D.O.= Densidad Óptica.

**TABLA I. Continuación.**

FOLIO	ELISA HIV DET. Ag y/o Ac	DET. ÁCIDOS NUCLÉICOS HIV	INMUNOREACTIVIDAD EN WB/GEN	CV EN COPIAS/ml	ELISA-péptido6357 D.O. NETA/ RESULTADO	HEXAGON HIV	ADVANCED QUALITY™
892	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag y p68/pol	ND	0.02/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1052	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag y p68/pol	ND	0.046/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1074	REACTIVO	NO REACTIVO	p18/gag y p68/pol	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1090	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag y p55/gag	ND	0/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
1091	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag y p55/gag	ND	0.005/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
896	REACTIVO	NO REACTIVO	p24/gag y p55/gag	ND	0.003/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO

DET. Ag y/o Ac= Determinación de Antígeno y/o Anticuerpo; WB= Western Blot; D.O.= Densidad Óptica.

**TABLA II. Resultados del diagnóstico de 20 sueros de pacientes en diferentes estadios de la infección por HIV en tratamiento antirretroviral, en el ELISApéptido6357, HEXAGON HIV y ADVANCED QUALITY™.**

FOLIO	CV EN COPIAS/mL	CUENTA T CD4+	ETAPA DE INFECCIÓN CDC	ELISA-péptido6357 D.O NETA/RESULTADO	HEXAGON HIV	ADVANCED QUALITY™
145	INDETECTABLE	834	1	1.650 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
172	INDETECTABLE	534	1	0.382 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
173	INDETECTABLE	691	1	1.174 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
175	INDETECTABLE	676	1	0.863 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
179	INDETECTABLE	997	1	0.314 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
144	INDETECTABLE	423	2	1.189 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
148	INDETECTABLE	459	2	0.353 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
150	s/d	262	2	2.033 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
160	INDETECTABLE	292	2	1.253 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
169	INDETECTABLE	303	2	0.612 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
170	INDETECTABLE	346	2	1.931 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
171	INDETECTABLE	270	2	0.863 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
176	INDETECTABLE	364	2	1.170 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
177	2000	473	2	0.170 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
183	s/d	450	2	0.261 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
184	INDETECTABLE	377	2	0.947 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
190	49	395	2	0.469 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
146	24,100	64	3	1.130 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
181	s/d	122	3	0.851 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO
188	INDETECTABLE	98	3	0.829 / REACTIVO	REACTIVO	REACTIVO

C.V= Carga Viral; D.O.= Densidad Óptica; s/d= sin datos.

**TABLA III. Resultados de los 92 sueros de donadores de sangre aptos sin infección, en las pruebas ELISA-péptido6357, HEXAGON HIV y ADVANCED QUALITY™.**

FOLIO	ELISA HIV DET. Ag y/o Ac	DET. ÁCIDOS NUCLÉICOS HIV	CV EN COPIAS/ml	ELISA-péptido6357 D.O. NETA/ RESULTADO	HEXAGON HIV	ADVANCED QUALITY™
420	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.013/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
421	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
422	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.02/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
423	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.001/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
424	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.024/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
425	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.022/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
426	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.006/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
427	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.007/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
428	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.044/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
429	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.011/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
430	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.003/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
431	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.001/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
432	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.008/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
433	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.031/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
434	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.016/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
435	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
436	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
437	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
438	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.008/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
439	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.01/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
440	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
441	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.015/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
442	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.013 / NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
443	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.008/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
444	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
445	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.039/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
446	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.033/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
447	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.027/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
448	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.006/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
449	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
450	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
451	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.023/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
452	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.027/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
453	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.013/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
454	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.006/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
455	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.009/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
456	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
457	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.019/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO

DET. Ag y/o Ac= Determinación de Antígeno y/o Anticuerpo; D.O.= Densidad Óptica.

**TABLA III. Continuación.**

FOLIO	ELISA HIV DET. Ag y/o Ac	DET. ÁCIDOS NUCLÉICOS HIV	CV EN COPIAS/ml	ELISA-péptido6357 D.O. NETA/ RESULTADO	HEXAGON HIV	ADVANCED QUALITY™
458	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.007/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
459	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.013/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
460	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/NEGATIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
461	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.005/NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
462	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
463	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.012/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
464	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.004/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
465	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.001/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
466	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.006/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
467	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.02/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
468	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.005/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
469	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.012/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
470	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.044/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
471	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.003/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
472	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.01/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
473	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.009/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
474	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.013/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
475	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.006/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
476	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.008/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
477	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.009/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
478	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.005/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
479	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.037/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
480	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.007/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
481	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
482	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
483	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
484	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.004/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
485	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.038/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
486	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
487	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
488	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
489	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.005/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
490	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
491	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
492	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
493	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.051/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
494	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.003/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
495	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO
496	NO REACTIVO	NO REACTIVO	ND	0.001/ NO REACTIVO	NO REACTIVO	NO REACTIVO

DET. Ag y/o Ac= Determinación de Antígeno y/o Anticuerpo; D.O.= Densidad Óptica.



**TABLA V.** Concordancia de los resultados entre la prueba **ADVANCED QUALITY™** y el ELISA-péptido6357 de sueros de casos conocidos como positivos y negativos a la infección por HIV.

ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P	ELISA-péptido6357 <i>(evaluación propia como estándar de oro)</i>		
	Positivo (n=20)	Negativo (n=92)	TOTAL
Positivo	20	0	20
Negativo	0	92	92
TOTAL	20	92	112

Índice Kappa (K)= 1.000

Concordancia perfecta del 100%

**TABLA VI.** Concordancia de los resultados entre la prueba **HEXAGON HIV** y el ELISA-péptido6357 de sueros de casos "sospechosos" a la infección por HIV.

HEXAGON HIV 1/2 TEST Rapid Screening Test	ELISA-péptido6357 <i>(evaluación propia como estándar de oro)</i>		
	Positivo (n=12)	Negativo (n=16)	TOTAL
Positivo	11	1	12
Negativo	1	15	16
TOTAL	12	16	28

Índice Kappa (K)= 0.928

Concordancia buena del 93%

**TABLA VII.** Concordancia de los resultados entre la prueba **ADVANCED QUALITY™** y el ELISA-péptido6357 de sueros “sospechosos” a la infección por HIV.

ADVANCED QUALITY™ RAPID HIV (1&2) WB/S/P	ELISA-péptido6357 <i>(evaluación propia como estándar de oro)</i>		
	Positivo (n=12)	Negativo (n=16)	TOTAL
Positivo	12	12	24
Negativo	0	4	4
TOTAL	12	16	28

Índice Kappa (K)= 0.571

Concordancia moderada del 57%

## 10. Bibliografía

- Aguirrebengoa, K. (2004). *Enfermedades asociadas a la infección VIH*. Unidad de Enfermedades Infecciosas, 99-101.
- Alcamí, J. (2008). *Ciclo replicativo del VIH. Dianas terapéuticas consolidadas y dianas potenciales*. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 3-10.
- Anzalao O, et al. (2008). *Sensitivity and Specificity of HIV Rapid Tests used for Research and Voluntary Counselling and Testing*. East Afr Med J 85(10): 500–504.
- Beelaert G, Vercauteren G, Franssen K, et al. *Comparative evaluation of eight commercial enzyme linked immunosorbent assays and 14 simple assays for detection of antibodies to HIV*. J Virol Methods 2002; 105: 197-206.
- Bour, S. S. (1995). *The human immunodeficiency virus type 1 Vpu protein specifically binds to the cytoplasmic domain of CD4: implications for the mechanism of degradation*. Journal of Virology, 1510-1520.
- Boeras D, Luisi N, et al. (2011). *Indeterminate and discrepant rapid HIV test results in couples' HIV testing and counselling centres in Africa*. J Int AIDS Soc 14: 18.
- Calderón, R. (2007). *Curso de inmunoquímica*. Obtenido de Instituto de Biotecnología, UNAM: Cuernavaca, Morelos : <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/inmunoquímica.pdf>
- Craske J, Turner A, et al. (1990). *Comparison of false-positive reactions in direct-binding anti-HIV ELISA using cell lysate or recombinant antigens*. Vox Sang 59(3): 160–166.
- CENSIDA. (2018). *Guía para la detección del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)*. CDMX, México: CENSIDA/Secretaría de Salud.
- CDC. (2018a). *Acerca del VIH/SIDA*. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/hiv/spanish/basics/whatishiv.html>
- CDC. (2018b). *Prueba del VIH*. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/hiv/spanish/basics/testing.html>
- Clements, J. Z. (1996). *Molecular biology and pathogenesis of animal lentivirus infections*. Clin Microbiol Rev., 110-117.
- Codina, C. M. (2002). *La infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana*. Farmacia Hospitalaria.
- Cohen, M. C. (2011). *Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy*. The New England Journal of Medicine , 493-505.

- Coleman, S. M., et al. (2018). *False positive HIV diagnoses: Lessons from Ugandan and Russian Research Cohorts*. HIV Clin Trials, 15-22.
- Constantine NT, Zink H (2005). *HIV testing technologies after two decades of evolution*. Indian J Med Res 121(4): 519–538.
- Cordeiro, N. T. (2012). Instituto de Higiene. *Obtenido de Retrovirus. Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)*: [http://www.higiene1.higiene.edu.uy/DByV/Capitulo\\_VIH\\_actualizado\\_2012.pdf](http://www.higiene1.higiene.edu.uy/DByV/Capitulo_VIH_actualizado_2012.pdf)
- Crespo, J., Fernández, L., Sánchez, L. (2010). *Las enfermedades autoinmunes y el laboratorio*. Málaga, España: E-leRNAing.
- Cruz, C. (2001). *Estandarización de la prueba de ensayo inmunoenzimático para la detección de anticuerpos IgG en suero de humanos para el virus Phlebotomus fever (Tesis de pregrado)*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Cullen, B. (1998). *HIV-1 auxiliary proteins: making connections in a dying cell*. Cell Press, 685-692.
- Dagnra, A., & Dossim, S. (2014). *Evaluation of 9 rapid diagnosis test for screening HIV infection, in Lomé Togo*. Medecines et maladies infectieuses, 525-529.
- De Clerq, E. L. (2016). *Approved Antiviral Drugs over the Past 50 Years*. Clin Microbiol Rev., 695-747.
- Delgado, R. (2011). *Características virológicas del VIH*. Enferm Infecc Microbiol Clin., 58-65.
- Dewar R, Sarmiento M, Lawson E, et al. *Isolation of HIV-1 from plasma of infected individuals: an analysis of experimental conditions affecting succesful virus propagation*. J Acquir Immune Defic Syndr 1992; 5:822-8.
- Everett DB, Baisely KJ, et al. (2010). *Association of schistosomiasis with false-positive HIV test results in an African adolescent population*. J Clin Microbiol 48(5): 1570–1577.
- Fiebig, E. W. (2003). *Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection*. AIDS, 1871-1879.
- Gallo, R. (2002). *Human retroviruses after 20 years: a perspective from the past and prospects for their future control*. Inmmunol Rev., 236-265.
- García, F. A. (2011). *Diagnóstico de laboratorio de la infección por VIH, del tropismo viral y de las resistencias a los antirretrovirales*. Formación Médica Continuada: Infección por el VIH en el adulto, 247-324.
- Gatignol, A. J. (2000). *Tat as a transcriptional activator and a potential therapeutic target for HIV-1*. Ady Pharmacol, 209-227.

- Glesby, M., & Gulick, R. (2021). *HIV: Closing the Mortality Gap*. *Annals Of Internal Medicine*, 174(9), 1311-1312. doi: 10.7326/m21-2586
- Gray, C., et al. (2019). *Why i can't, won't or don't test for HIV: Insights from Australian Migrants Born in Sub-Saharan Africa, Southeast Asia and Northeast Asia*. *J Environ Res Public Health*; Mar 21; 16(6):1034. doi: 10.3390/ijerph16061034.
- Gray RH, et al. (2007). *Limitations of rapid HIV-1 tests during screening for trials in Uganda: diagnostic test accuracy study*. *BMJ* 335: 188.
- Hall, J. H. (2011). *HIV/AIDS in the Post-HAART Era*. People's Medical Publishing House.
- Instituto de Higiene. (2006). *Temas de bacteriología y virología médica*. Obtenido de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/cefaed2006.htm>
- Instituto Mexicano del Seguro Social. (2017). Unidad de atención médica. Obtenido de: *Tratamiento Antirretroviral del Paciente Adulto con Infección por VIH*: <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/245GER.pdf>
- Kagulire SC, et al. (2011). *Field evaluation of five rapid diagnostic tests for screening of HIV-1 infections in rural Rakai, Uganda*. *Int J STD AIDS* 22(6): 308–309.
- Klarkowski DB, et al. (2009). *The Evaluation of a Rapid In Situ HIV Confirmation Test in a Programme with a High Failure Rate of the WHO HIV Two-Test Diagnostic Algorithm*. *PLOS ONE* doi:10.1371/journal.pone.0004351.
- Kleinman S, et al. (1998). *False-Positive HIV-1 Test Results in a Low-Risk Screening Setting of Voluntary Blood Donation*. *JAMA* 280 (12): 1080–1085.
- Lang, R. C. (2017). *HIV Misdiagnosis: A root cause analysis leading to improvements in HIV diagnosis and patient care*. *Journal of clinical virology*, 1-15.
- Li, G. C. (2016). *HIV Genome-Wide Protein Associations: a review of 30 Years of research*. *Microbiol Mol Biol Rev.*, 679-731.
- Manocha, M., et al. (2003). *Comparing modified and plain peptide linked enzyme immunosorbent assay (ELISA) for detection of Human Immunodeficiency Virus type-1 (HIV-1) and type-2 (HIV-2) antibodies*. *Immunology Letters*, ELSEVIER; 85(2003) 275-278.
- Mapahla, L., Abdelmaksut, A., Arif, R., Islam, N., Chinhenzva, A., Doi, S., & Chivese, T. (2021). *The risk of severe COVID-19 and mortality from COVID-19 in people living with HIV compared to individuals without HIV - a systematic review and meta-analysis of 1 268 676 individuals*. *Medrxiv*. doi: <https://doi.org/10.1101/2021.07.03.21259958>

- Modrow, S. H. (1989). *Use of synthetic oligopeptides in identification and characterization of immunological functions in the amino acid sequence of the envelope protein of HIV-1*. Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes, 21-27.
- Moore, J. D. (2003). *The entry of entry inhibitors: a fusion of science and medicine*. PNAS USA, 10598-10602
- Muñoz, C. (2018). *Principios generales de las prácticas sexuales seguras*: <https://www.geosalud.com/vih-sida/riesgosida.htm>
- Ng VL, (1991). *Serological diagnosis with recombinant peptides/proteins*. Clin Chem 37(10 Pt 1): 1667–1668.
- Njouom, R., & Ngonu, L. (2017). *Evaluation of the performances of twelve rapid diagnostic tests for diagnosis of HIV infection in Yaounde, Cameroon*. Journal of Virological Methods, 158-163.
- Nolasco, I. (2019). *El VIH/SIDA; y su importancia en México, prevención, diagnóstico y control*. Tesis de pregrado. Universidad Nacional Autónoma de México.
- O'Connell, R. J., et al. (2006). *Sensitivity of the Multispot HIV-1/HIV-2 Rapid Test using samples from Human Immunodeficiency Virus Type 1-Positive individuals with various levels of exposure to highly active antiretroviral therapy*. J Clin Microbiol. May; 44(5): 1831-1833. doi: 10.1128/JCM.44.5.1831-1833.2006.
- Ochoa, R. (2012). *Técnicas inmunoenzimáticas para ensayos clínicos de vacunas y estudios inmunoepidemiológicos*. La Habana, Cuba: Finlay.
- Olimpo, J. (2010). *A comparative analysis of the binding affinity of HIV-1 reverse transcriptase to DNA vs. RNA substrates*. University of Maryland, 11.
- ONUSIDA . (2018a). *Tratamiento del VIH*. Obtenido de <http://www.unaids.org/es/topic/tratment121>
- ONUSIDA. (2018b). *Últimas estadísticas sobre el estado de la epidemia de sida*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud. Guía integral en VIH/SIDA: [http://who.int/hiv/pub/guidelines/ecuador\\_art.pdf?ua=1](http://who.int/hiv/pub/guidelines/ecuador_art.pdf?ua=1)
- ONUSIDA. (1 de Abril de 2019). *Monitoreo Global del Sida* . Obtenido de Indicadores para el seguimiento de la Declaración Política de las Naciones Unidas para poner fin al sida de 2016 : [https://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/global-aids-monitoring\\_es.pdf](https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/global-aids-monitoring_es.pdf)
- Organización Mundial de la Salud. (2005). *Proyecto de estrategia mundial del sector de la Salud contra el VIH para 2016-2021*. Obtenido de [https://www.who.int/hiv/draft-hiv-strategy-2016-2021\\_es.pdf?ua=1](https://www.who.int/hiv/draft-hiv-strategy-2016-2021_es.pdf?ua=1)
- Orkuma, J. A., et al. (2014). *HIV screening in blood donors: rapid diagnostic test versus enhanced ELISA*. Niger J Med. Jul-Sep 20;23(3):192-200.

- Ospina, S. (2006). *Diagnóstico de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana*. *Infectio*, 10(4): 273-278. Recuperado de: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S012393922006000400010&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012393922006000400010&lng=en&tlng=es).
- Pachón, J. P. (2003). *La infección por VIH: guía práctica*. Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas.
- Pascual A, Cachafeiro A, Funk ML, Fiscus SA. *Comparison of an assay using signal amplification of the heat-dissociated p24 antigen with the Roche Monitor human immunodeficiency virus RNA assay*. *J Clin Microbiol* 2002; 40:2472-5.
- Patel, P., et al. (2012). *Rapid HIV screening: Missed opportunities for HIV diagnosis and prevention*. *J Clin Virol*. May; 54(1): 42-47. doi: 10.1016/j.jvc.2012.01.022.
- Peteers, M. J. (2013). *The origin and molecular epidemiology of HIV*. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, 11, 885-896.
- Prevention, C. f. (2018). *Prueba del VIH*. Obtenido de <https://www.cdc.gov/hiv/spanish/basics/whatishiv.html>
- Robertson, D. A. (1999). *HIV-1 classification*. *Human Retroviruses and AIDS*, 492-505.
- Rodríguez, M; Terrón, A (2002), *DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR EL VIH*, [https://www.minsalud.gov.co/salud/Documents/observatorio\\_vih/documentos/Acceso\\_al\\_diagnostico/1\\_Diagnostico\\_en\\_ITS\\_VIH\\_Sida/b.Proceso\\_diagnostico/pruebas%20dx%20vih.pdf](https://www.minsalud.gov.co/salud/Documents/observatorio_vih/documentos/Acceso_al_diagnostico/1_Diagnostico_en_ITS_VIH_Sida/b.Proceso_diagnostico/pruebas%20dx%20vih.pdf)
- Saleta, S. K. (2005). *Review basics of the virology of HIV-1 and its replication*. *Journal of Clinical Virology*, 233-244.
- Salou, M., & Dangra, A. (2010). *Evaluation de la performance de trois test de diagnostic de l'Infection a VIH a Lomé (TOGO)*. *VIROLOGIE*, 7-12.
- Salud, S. d. (2018). Dirección General de Epidemiología. Obtenido de: *Vigilancia Epidemiológica de casos de VIH/SIDA en México Registro Nacional de Casos de SIDA*. : [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/328400/RN\\_1er\\_trim\\_2018.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/328400/RN_1er_trim_2018.pdf)
- Salud, S. d. (s.f.). *Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica del VIH-SIDA*. Obtenido de [http://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/236888/Manual\\_VIHSIDA\\_vFinal\\_1nov12.pdf](http://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/236888/Manual_VIHSIDA_vFinal_1nov12.pdf)
- Santana, A. D. (2003). *Biología celular y molecular del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)*. *Revista de Diagnóstico Biológico*, 07-18.
- Shodell D., N. R. (2018). *Low and Decreasing Prevalence and Rate of False Positive HIV Diagnosis*. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 1363-1368.

- Shumani C. M., et al. (2020). *The diagnostic accuracy of the HIV 1/2/subtype O Tri-line rapid test compared with ELISA: A pilot study*. Oral Dis. Sep;26 Suppl 1:161-164.
- Sida, C. N. (15 de Enero de 2018). *Guía para la detección del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH)*. Obtenido de <https://www.gob.mx/censida/es/articulos/guia-para-la-deteccion-del-virus-de-la-inmunodeficiencia-humana-vih-143342?idiom=es>
- Sierra, S. K. (2005). *Basics of the virology of HIV-1 and its replication*. J. Clin. Virol., 233-244.
- Tennyson, R. W. (2018). *Evaluation of sequence viriability in HIV-1 gp41 C-peptide helix-grafted proteins*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 1220-1224.
- The Global Fund. (2021). *Results Report 2021* [Ebook]. Retrieved from [https://www.theglobalfund.org/media/11304/corporate\\_2021resultsreport\\_report\\_en.pdf](https://www.theglobalfund.org/media/11304/corporate_2021resultsreport_report_en.pdf)
- Universidad de Carabobo. (2016). *Infeción por VIH*. Obtenido de [http://www.youtube.com/watch?v=mL\\_XMa\\_BwA](http://www.youtube.com/watch?v=mL_XMa_BwA)
- Yadira P. R., (2007). *Collection of phage-peptide probes for HIV-1 immunodominant loop-epitope*. J Microbiol Methods 2007 Feb;68(2):225-35. doi: 10.1016/j.mimet.2006.08.001. Epub 2006 Oct 12.