Biotecnología Aplicada, 12(2):112-114 (1995)

VALORES PREDICTIVOS DE LOS ENSAYOS DE SEGUNDA GENERACION EN EL DIAGNOSTICO DE LA INFECCION POR VIH-1

Orfelina Rodríguez, Esther Argote, Gricel López y Carmen Nibot.

Centro de Investigaciones Científicas de la Defensa Civil. Laboratorio de Investigaciones del SIDA. Apartado 23031 Habana 14. Ciudad de La Habana. Cuba.

Recibido en diciembre de 1993. Aprobado en diciembre de 1994.

Key Words: HIV, predictive values, HIV serologic test.

SUMMARY

The predictive values of the immunoassays not only depend on the sensitivity and specificity, but also on the HIV infection prevalence. It is also an important parameter in the evaluation of the assays for the detection of antibodies to HIV. That is why the objective of this work was to determine the predictive values of two immunoassays of national production: RECVIH and Recombinant UMELISA HIV. The positive predictive values were 88.12 % for the RECVIH and 93% for the Recombinant UMELISA HIV and the negative predictive values remained 100% in a population with an HIV infection prevalence of 6%. The positive predictive values were 0.69% and 1.23% for RECVIH and Recombinant UMELISA HIV immunoassays in a population with a serologic rate of 0.006%. These factors together with the high sensitivity and specificity of these immunoassays allow their use in the lab network for serologic diagnosis of HIV-1.

RESUMEN

El valor predictivo de las pruebas diagnósticas depende no sólo de su sensibilidad y especificidad, sino también de la prevalencia de la enfermedad, resultando un parámetro importante en la evaluación de las pruebas inmunoenzimáticas para la detección de anticuerpos al VIH, por lo que el objetivo de este trabajo fue la determinación de los valores predictivos de dos ensayos de producción nacional: RECVIH y UMELISA HIV Recombinante. Los resultados obtenidos señalaron que, para una prevalencia de 6%, los valores predictivos positivos fueron 88,12% para el RECVIH y 93% para el UMELISA HIV Recombinante, y los valores predictivos negativos se mantuvieron en el 100% para ambos ensayos. Con el índice de seropositividad reportado en nuestro país (0,006%) los valores predictivos positivos fueron 0,69% y 1,23% para los ensayos RECVIH y UMELISA HIV Recombinante respectivamente, lo que unido a la alta sensibilidad y especificidad de estos sistemas, demuestra que pueden ser utilizados en la red de laboratorios para el diagnóstico serológico del VIH-1.

INTRODUCCION

La identificación de anticuerpos específicos contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) puede ser realizada por diversas técnicas, pero los ensayos inmunoadsorbentes vinculados a enzimas (ELISA) siguen siendo los más utilizados desde que fueron introducidos en 1985. Se caracterizan por ser técnicas sensibles, específicas y rápidas, lo que posibilita el estudio de gran número de muestras, por lo tanto son muy útiles para los estudios epidemiológicos (Petricciani, 1985). El valor predictivo de positividad de una prueba puede definirse como la probabilidad de identificar las personas infectadas en un grupo de sujetos seropositivos, y el valor predictivo de negatividad de una prueba es la probabilidad de que la infección no exista en un grupo de sujetos seronegativos.

Los valores predictivos, positivo y negativo, son parámetros que describen el valor de las pruebas tomando en cuenta la prevalencia real de la infección en la población que se analiza (Martin, 1977; Toman, 1981; Sivak y Wormser, 1986; Gerstman y Cappucci, 1986 y Constantine *et al.*, 1991).

En Cuba se han desarrollado dos ensayos inmunoenzimáticos de segunda generación para el diagnóstico serológico del VIH-1: UMELISA HIV Recombinante y RECVIH. Nuestro objetivo es determinar los valores predictivos positivo y negativo de ambas técnicas en las condiciones epidemiológicas actuales.

MATERIALES Y METODOS

Sueros

El estudio de sensibilidad y especificidad se realizó con 2 000 muestras frescas de tres Bancos de Sangre de Ciudad de La Habana y con 200 sueros del panel de validación del Laboratorio Nacional de Referencia, compuesto por 50% de muestras seropositivas, 40% de muestras negativas y 10% de sueros potencialmente positivos e indeterminados por el ensayo de Western blot, el cual se conservó a -20°C hasta su uso.

Ensayos serológicos

Todas las muestras fueron analizadas utilizando tres pruebas inmunoenzimáticas, siguiéndo las instrucciones del fabricante: RECVIH (Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología) y UMELISA HIV Recombinante (Centro de Inmunoensayo), que son ensayos de segunda generación de tipo indirecto, que utilizan antígenos recombinantes obtenidos por ingeniería genética que contienen las regiones determinantes de la p24/gp41 del VIH-1; y el VIRONOSTICA (ORGANON TEKNIKA), de tipo indirecto, utilizado como control de nuestro estudio. Como técnica suplementaria para el cálculo de la sensibilidad y especificidad se empleó el Western blot (DIAGNOSTIC BIOTECHNOLOGY), utilizándose el criterio de la OMS (1990) para el análisis de los resultados.

Copyright © 1995, Sociedad Iberolatinoamericana de Biotecnología Aplicada a la Salud
La Habana, Cuba

Cálculos estadísticos

Para el cálculo de la sensibilidad y especificidad se consideraron los resultados de los ensayos con el panel de validación y las muestras de donantes de sangre. Los resultados indeterminados por Western blot no se incluyeron en el cálculo de la sensibilidad y especificidad.

La sensibilidad y especificidad se calculó según los métodos convencionales (Jacobsson, 1987 y Constantine *et al.*, 1991) y se evaluó con un límite de confianza de un 95%, empleándose la fórmula binomial de probabilidad. Los valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN) se calcularon según las siguientes fórmulas establecidas por el Teorema de Bayes (Sivak y Wormser, 1986):

$$VPP = \frac{P\,S}{P\,S+(1-P)(1-E)} \times 100$$

$$VPN = \frac{(1-P)\,E}{(1-P)E+P(1-S)} \times 100$$

donde P es prevalencia, S sensibilidad y E especificidad.

Se asumieron los niveles de prevalencia de 6% y 0.01%, utilizados en los estudios de evaluación de los ensayos comerciales para detectar anticuerpos al VIH (Kerckhoven *et al.*, 1991); así como el índice de seropositividad general (0,006%) de nuestro país. Se calculó la relación (R) en las muestras que resultaron falsos positivos; definida como el cociente del valor de la densidad óptica o fluorescencia obtenido para cada muestra y el valor límite (Cut off) (Constantine *et al.*, 1991 y Benitez *et al.*, 1992).

RESULTADOS Y DISCUSION

La sensibilidad y especificidad, conjuntamente con los límites de confianza del 95% de las tres pruebas inmunoenzimáticas se reflejan en la tabla 1, observándose que los ensayos de producción nacional tienen resultados comparables de sensibilidad y especificidad con el VIRONOSTIKA, al cual se le atribuye alta sensibilidad y especificidad (Gürtler *et al.*, 1986 y Van de Perre *et al.*, 1988).

El RECVIH mostró una especificidad de 99,14%, coincidiendo con los resultados anteriormente reportados para el RECVIH KCO1 (VIH-1), donde se le adjudicó 100% de especificidad (Kerckhoven *et al.*, 1991) y al RECVIH KS-04 (VIH 1 Y 2) de 99,1%.

El RECVIH y el UMELISA HIV-Recombinante detectaron 18 y 10 falsos positivos respectivamente, correspondiendo estos a donantes de sangre negativos en el ensayo VIRONOSTIKA y confirmados negativos por el Western blot. Al determinar los valores de R en estos falsos positivos observamos que oscilaron en un rango de 1 a 2,13 para el RECVIH (absorbancia de 0,165 a 0,352) y de 1,1 a 5,1 para el UMELISA HIV-Recombinante (fluorescencia de 0,345 a 1,530).

Tabla 1

Sensibilidad y especificidad de tres ensayos inmunoenzimáticos

ELISA	Sensibilidad %	LC (95%)	Especificidad %	LC (95%)
VIRONOSTIKA	100	(96,3-100)	99,95	(99,7-100)
UMELISA HIV Recombinante	100	(96,3-100)	99,52	(99,51-99,92)
RECVIH	100	(96,3-100)	99,14	(98,4-99,3)

LC: Límite de confianza

En evaluaciones efectuadas al RECVIC KS-04 frente a un panel de 1 313 donantes de sangre, se detectaron cinco falsos positivos que mostraron una absorbancia entre 0,310 a 0,660 y una R entre 1,37 a 2,44 (Benitez *et al.*, 1992).

Estos resultados demuestran que el RECVIH (VIH-1) en este trabajo, así como el RECVIH KS O4 (VIH-1 Y VIH-2) mostraron similitud en la especificidad, en los valores de absorbancia y en la R; a pesar de diferir en las proteínas empleadas como antígeno.

Al determinar los valores predictivos se observó que para un índice de seropositividad de 0,006% un resultado positivo tiene una probabilidad de 1,23% de ser verdadero positivo con el UMELISA HIV Recombinante. Con el RECVIH la probabilidad es de 0,69% y para una prevalencia de 6% un resultado positivo tiene una probabilidad de 93% de ser verdadero positivo para el UMELISA HIV Recombinante, mientras que con el RECVIH la probabilidad es de 88% (tabla 2), lo que está relacionado con la especificidad (Vechio, 1966).

Los valores predictivos positivos para una prevalencia asumida de 0,01% y una prevalencia real de 0,006%, fueron iguales e inferiores al 10%, lo que coincide con lo reportado por otros autores al señalar que el VPP puede ser igual o menor a 10% a pesar de la alta espe-

Tabla 2

Valores predictivos positivos y negativos de tres ensayos inmunoenzimáticos

Tipo de ELISA	Prevalencia real* 0,006%		Prevalencia asumida 0,01%		6%	
	VPP%	VPN%	VPP%	VPN%	VPP%	VPN%
VIRONOSTIKA	10,71	100	16,6	100	99,2	100
UMELISA HIV Recombinante	1,23	100	2	100	93	100
RECVIH	0,69	100	1,1	100	88,12	100

*FUENTE: Dirección Nacional de Epidemiología, MINSAP.
VPP: Valor Predictivo Positivo.
VPN: Valor Predictivo Negativo.

cificidad de los ensayos, cuando son usados en poblaciones con una baja prevalencia (Dood y Fang, 1990 y Kerckhoven *et al.*, 1991).

Se le ha conferido al RECVIH (VIH-1) un VPP de 100% en prevalencias de 0.01% y 6% (Kerckhoven *et al.*, 1991), no coincidiendo estos resultados con los obtenidos en este trabajo a causa de que la especificidad fue 100%, pero se determinó frente a un panel de 537 sueros entre positivos y negativos; mientras que en este estudio la especificidad se determinó empleándo un panel de 2 000 donantes de sangre y 80 sueros negativos del panel de validación.

Hay que tener encuenta que el valor predictivo de una prueba depende no sólo de la sensibilidad y especificidad de la misma, sino también de la prevalencia de la enfermedad (Toman, 1981; Sivak y Wormser,1986; López *et al.*, 1990 y Constantine *et al.*, 1991); pero se ha observado que en poblaciones de baja prevalencia, el 70-90% de los resultados positivos de los ensayos inmunoenzimáticos pueden representar falsos positivos (Petricciani, 1985; Leitman et al., 1989 y Lepine *et al.*, 1990).

Los VPN se mantuvieron en 100% para la prevalencia real y la prevalencia asumida.

Los VPP que exceden de 80% y los VPN de 100% para una prevalencia asumida de 6% son adecuados (Kerckhoven *et al.*, 1991), estando los ensayos analizados dentro de estos parámetros.

Los valores predictivos de los ensayos de segunda generación desarrollados en nuestro país para el diagnóstico del VIH-1 coinciden con lo señalado por otros autores; al plantear que el valor predictivo de un resultado positivo aumenta con el incremento de la prevalencia y el valor predictivo de un resultado negativo es usualmente muy alto cuando la prevalencia de la enfermedad es muy baja (Vechio, 1966; Van de Perre *et al.*, 1988 y Kerckhoven *et al.*, 1991); lo que unido a su alta sensibilidad y especificidad, demuestra que pueden ser utilizados en el pesquisaje de anticuerpos al VIH-1.

REFERENCIAS

1. BENITEZ, J.; V. LEAL y L .I. NOVOA. (1992) Estudio de la especificidad del sistema RECVIH para la detección de anticuerpos contra el VIH-1 y el VIH-2. *Biotecnología. Aplicada.* **9** (1): 62-69.
2. CONSTANTINE, N. T.; J. D. CALLAHAN and D. M. WATTS. (1991).*Pruebas para la detección del VIH y control de la calidad. Guía para personal de laboratorio.* Eds. S. Mitchell y R. Gringle. Family Health International. Carolina del Norte. 1-179.
3. DOOD R.Y. and T. FANG (1990). The Western Immunoblot Procedure for HIV antibodies and its Interpretation. *Arch.Pathol. Lab. Med.* **114**: 240-245.
4. GERSTMAN, B.B. and D.T. CAPPUCCI (1986). Evaluating the raliability of diagnostic test results. *J. Am. Vet. Med. Ass.* **188**: 248-251.
5. GÜRTLER, L.; J. EBERLE; B. LORBEER and F.DEINHART. (1986). Sensitivity of different commercially available anti-LAV/HTLV III ELISA Screening Tests. *III Conferencia Internacional de Sida.*
6. JACOBSSON, K. (1987). Guidelines for the Evaluation of Diagnostic Kits. General Principles and out line procedures for the evaluation of Kits for Qualitative Test. *European Committe for Clinical Laboratory Standards.* 1-40.
7. KERCKHOVEN, I. V.; G. VERCAUTEREN; P. PIOT and G. VAN DER GROEN (1991) Comparative evaluation of 36 commercial assays for detecting antibodies to HIV. *WHO* **69**: 753-760.
8. LEITMAN, S. F.; H. G. KLEIN; J. J. MELPODER; E. J. READ; J. I. ESTEBAN; E. M. LEONARD; L. HARVATH; J. SHIH; R. NEALON; J. FOY; F. DARR and H. J. ALTER (1989). Clinical implication of positive test for antibodies to Human Immunodeficiency virus type 1 in asyntomatic blood donors. *N. Engl. J. Med.* **321**: 917-924.
9. LEPINE, D. G.; P. W. NEUMANN; S. L. FRENETTE and V. M. O'SHAUG HNESSY (1990). Evaluation of a Human Immunodeficiency Virus test algorithm utilizing a Recombinant Protein Enzyme Immunoassay *J. Clin. Microbiol.* **28**: 1169-1171.
10. LOPEZ, A. N.; M. J. SCARLEH; R. V. POLLOCK and H. JACOBSON (1990) Sensitivity, Specificity and Predictive values of clinease vinastart salive test for feline leukemia virus infection *Cornell Vet.* **80**: 75-84.
11. MARTIN, S. (1977). The evaluation of test. *Can. J. Camp. Med.* **41**: 19-25.
12. OMS (1990). Proposed WHO criteria for interpreting results from Western Blot assays for HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II. *Wkly. Epidem. Rec.* **37**: 281-283.
13. PETRICCIANI, C. J. (1985). Licence tests for antibody to Human T Lymfhotropic virus type III. Sensitivity and Specificity. *Ann. Intern. Med.* **103**: 726-729.
14. SIVAK, L. S. and P. G WORMSER, (1986). Predictive value of a Screening for antibodies to HTLV-III. *Am. J. Clin. Pathol.* **85**: 700-703.
15. TOMAN, K. (1981). Sensibilidad, Especificidad y Valor Predictivo de los test diagnósticos. *Boletin de Union Internacional contra la tuberculosis.* **56**: 19-30.
16. VAN DE PERRE, P.; D. NZARAMBA; S. ALLEN; H. C. REGGIN; S. S. GOLDBERGE and P. J. BUTZLER (1988). Comparison of six serological assays for Human Immunodeficiency Virus antibody detection in developing countries. *J. Clin. Microbiol.* **26**: 552-556.
17. VECHIO, T. J. (1966). Predictive value of a single diagnostic test in unselected populations. *N. Engl. J. Med.* **274**: 1171-1173.