

EVALUACIÓN DEL SISTEMA DIAGNÓSTICO AUBIODOT ANTI-HIV 1/2

✉ Gricel López, Esther Argote y Otto Cruz

Banco Provincial de Sangre de Ciudad de La Habana, calle 23 No. 954, e/ 2 y 4, Vedado,
Ciudad de La Habana, Cuba. Telf: (53-7) 30 1030, 30 3800, 30 3111-13.

ABSTRACT

The AuBioDOT anti HIV 1/2 system was evaluated against 444 sera of HIV-1 and HIV-2 no reactive blood donors, 135 positive to HIV-1 and 9 positive to HIV-2. Using Western blot (DAVIH blot and DAVIH blot II) as the reference test, the specificity obtained was 98.88 % (97.41 % - 99.50 %; CL 95 %) and the sensitivity was 100 % (97.43 % - 100.00 %). The positive predictive values were 0.53 % and 85.07 % for HIV infectious prevalence of 0.006 % and 6 % respectively, and the negative predictive values were 100 % for both prevalences. Based on both, the obtained results and handling characteristics, the system is recommended for the screening in laboratories that process limited numbers of samples as well as for the diagnosis of HIV infection in different health care levels, especially in areas with lower laboratory conditions.

Key words: HIV, diagnostic, immunoassay

Biotecnología Aplicada 1998;15:180-182

RESUMEN

El sistema AuBioDOT anti HIV 1/2 fue evaluado frente a 444 sueros de donantes de sangre no reactivos al VIH-1 y VIH-2, 135 positivos al VIH-1 y 9 positivos al VIH-2. Usando Western blot (DAVIH blot y DAVIH blot II) como prueba de referencia, la especificidad obtenida fue del 98,88 % (97,41 % - 99,50 %; LC 95 %) y la sensibilidad del 100 % (97,43 % - 100,00 %). Los valores predictivos positivos fueron del 0,53 % y 85,07 % para prevalencias de la infección del VIH de 0,006 % y 6 % respectivamente, y los valores predictivos negativos fueron del 100 % para ambas prevalencias. Por los resultados obtenidos en la evaluación y las características operacionales del sistema se recomienda su uso para el pesquisaje en laboratorios que procesan cantidades limitadas de muestras y para el diagnóstico de la infección por VIH en diferentes niveles de salud, principalmente en áreas con condiciones mínimas de laboratorio.

Palabras claves: VIH, diagnóstico, inmunoensayo

Introducción

Con el desarrollo de los medios diagnósticos para la detección de anticuerpos a diferentes enfermedades se emplean cada vez más los sistemas simples, rápidos, de fácil ejecución, de interpretación visual y con requerimientos mínimos de laboratorios. Diversos autores reportan evaluaciones de estos sistemas donde se obtiene valores de sensibilidad y especificidad comparables con los ensayos inmunoenzimáticos tipo ELISA. (1-6).

En Cuba se producen sistemas diagnósticos simples para la detección de anticuerpos al VIH, tales como el AuBioDOT anti HIV 1/2 producido por el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) y el DAVIH DOT VIH-1 producido por DAVIH Laboratorios, los cuales han obtenido valores de sensibilidad y especificidad similares a otros de su tipo. En este trabajo se muestran los resultados de la evaluación realizada al sistema AuBioDOT anti-HIV 1/2, en el Laboratorio de Control de Calidad del Laboratorio de Referencia Nacional de Retrovirus (LRN), de Cuba.

Materiales y Métodos

Se emplearon 144 sueros de cubanos VIH positivos pertenecientes a un panel de referencia del LRN; de ellos 135 positivos a VIH-1 y 9 al VIH-2. También se estudiaron 444 muestras frescas de donantes de sangre no reactivas al VIH-1 y VIH-2 por el sistema diagnóstico UMELISA HIV Recombinant 1+2, producido por Centro de Inmunoensayo (CIE) de Cuba.

Para la confirmación y estudio de las discrepancias se utilizó la prueba suplementaria de Western blot con los estuches DAVIH blot y DAVIH blot II, elaborados por DAVIH Laboratorios de Cuba, para la detección del VIH-1 y VIH-2, respectivamente.

La evaluación del sistema diagnóstico AuBioDOT anti-HIV 1/2 de tipo indirecto (que utiliza proteínas recombinantes gp120, gp41 y p24 del VIH-1, gp36 del VIH-2 e inmunosondas de oro amplificadas con reveladores de plata) se efectuó siguiendo estrictamente las indicaciones del fabricante contenidas en el estuche.

1. Lalemen G, Magazani K, Perriens JH, Badibanga N, Kapila N, Konde M, et al. Prevention of blood-borne HIV transmission using a decentralized approach in Shaba, Zaire. *AIDS* 1992;6(11):1353-1353.

2. Perriens JH, Magazani K, Kapila N, Konde M, Selemai U, Piot P, et al. Use of a rapid test an ELISA for HIV antibody screening of pooled serum samples in Lubumbashi, Zaire. *J Virol Methods* 1994;41:213-222.

3. Asihene PJ, Klinne RL, Moss MW, Carella AV, Quinn TC. Evaluation of rapid test for detection of antibody to human immunodeficiency virus type 1 and type 2. *J Clin Microbiol* 1994;32(5):134-342.

4. Constantine NT, Van Der Groen G, Belsey EM, Tamashiro H. Sensitivity of VIH antibody assays determined by seroconversion panels. *AIDS* 1994;8(12):1715-1720.

✉ Autor de correspondencia

Principios del método del ensayo

El inmunoensayo consiste en el uso de soportes de poliestireno blanco - opaco con ligeras hendiduras de forma circular, donde se encuentran adsorbidos los antígenos recombinantes de regiones representativas de los genes que codifican para las proteínas de envoltura gp-120 y gp-41 y la proteína central p-24 del VIH-1; y para la proteína gp36 de envoltura del VIH-2. Las muestras prediluidas con una solución reguladora, son incubadas en dichas excavaciones y en presencia de anticuerpos específicos, los mismos reaccionan con las proteínas virales inmovilizadas sobre la matriz sólida. Después del lavado para eliminar los anticuerpos no específicos, los inmuno-complejos fijados son reconocidos a través de la región Fc de las inmunoglobulinas implicadas, por la adición del conjugado de proteína A (recombinante)-oro coloidal. Después de una breve etapa de lavado, la reacción es finalmente amplificada por la adición de reveladores físicos basados en iones de plata, y se produce *in situ* reacciones coloreadas insolubles, de color pardo claro a oscuro, cuya intensidad es proporcional a la concentración de anticuerpos presentes en las muestras. La lectura se realiza directamente mediante simple inspección visual, y las placas pueden ser conservadas para el registro permanente de los resultados.

La especificidad y sensibilidad se calcularon según los métodos convencionales (7, 8) y se evaluó con un límite de confianza de un 95 %, para lo cual se empleó la fórmula binomial de probabilidad (9). Para determinar la sensibilidad analítica se realizaron diluciones seriadas de un suero positivo al VIH-1 (de 1/10 a 1/10 240), las que fueron caracterizadas por DAVIH blot. Los valores de repetibilidad se obtuvieron con 24 muestras en las que se compararon los resultados obtenidos en dos ensayos diferentes.

Los valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN) se calcularon según las siguientes fórmulas establecidas por el Teorema de Bayes (9, 10):

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

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

donde:

P, prevalencia; S, sensibilidad y E, especificidad

Para estos cálculos se utilizó tanto la prevalencia real de nuestro país (0,006 %) como la del 6 % que ha sido utilizado en otros estudios (11, 12).

Los sueros con resultados discrepantes fueron evaluados por Western blot (DAVIH blot y DAVIH blot II); los resultados indeterminados no se tuvieron en cuenta para el cálculo de la sensibilidad y especificidad. El criterio mínimo de positividad utilizado en este sistema coincide con el de la OMS, el cual considera como muestra positiva aquella que presenta anticuerpos al menos a dos glicoproteínas codificadas por el gen ENV (13).

Resultados y Discusión

Los 144 sueros de personas VIH positivas (135 VIH-1 y 9 VIH-2) fueron clasificados correctamente por el sistema estudiado, por lo que la sensibilidad del AuBioDOT anti-HIV 1/2 fue de un 100 % (97,43 - 100).

De las 444 muestras de donantes de sangre estudiadas, diez fueron clasificadas inicialmente como positivas débiles o dudosas, y seis fueron repetidamente positivas débiles, de estas últimas cinco fueron negativas por WB y una indeterminada al VIH-1 (por la presencia de la proteína p53), con ello se obtuvo una especificidad de 98,88 % (97,41 - 99,50).

Los valores de sensibilidad y especificidad obtenidos en esta evaluación superan los declarados en las indicaciones del fabricante (99 % de sensibilidad y 98 % de especificidad) y son comparables con los resultados alcanzados por otros sistemas diagnósticos simples en evaluaciones de la Organización Mundial de la Salud (14), Tabla 1.

El sistema alcanzó el 100 % de repetibilidad al obtenerse resultados similares para las 24 muestras evaluadas en dos ensayos diferentes.

Los resultados de la sensibilidad analítica se muestran en la Tabla 2. AuBioDOT anti HIV 1/2 y DAVIH blot mostraron la misma sensibilidad para diluciones de un suero positivo hasta 1/160. A diluciones mayores el suero se clasificó como indeterminado por DAVIH blot, y como positivo débil por AuBioDOT anti HIV 1/2, por lo que este último fue capaz de identificar como positivas muestras con escasa reactividad.

Al calcular los valores predictivos se encontró que para una prevalencia de la infección de VIH de 0,006 % sólo el 0,53 % de los resultados positivos fueron verdaderamente positivos, mientras que para una

5. Engelbrecht S, De Jager J, Van Rensburg EJ. Evaluation of commercially available assays for antibodies to HIV-1 in serum obtained from South African patients infected with HIV-1 subtypes B, C, and D. *J Med Virol* 1994;44(3):223-228.
6. Lue XS, Delfraissy JF, Grangeot-Keros L, Rannou MT, Pillot J. Rapid and constant detection of HIV antibody response in saliva of HIV infected patients; selective distribution of anti-HIV activity in the IgG isotype. *Viral Res* 1994;145(6):369-377.
7. Jacobsson K. Guidelines for the evaluation of diagnostic kits. General principles and out-line produces for the evaluation of kits for qualitative test. European Committee for Clinical Laboratory Standards 1987;1-40.
8. Constantine NT, Callahan JD, Watts DM. Pruebas para la detección de VIH y control de la calidad: Guía para personal de laboratorio. Eds. S. Mitchell y R. Gringle. Family Health International 1991;1-179.
9. Argote E, López G. Pautas para evaluar la calidad de los juegos diagnósticos basados en la técnica de ELISA. *Rev Cub Cient Vet* 1995;24(2):16-19.
10. Silvak LS, Wormser PG. Predictive value of a screening for antibodies to HTLV-III. *AM J Clin Pathol.* 1986;5:700-703.
11. Kerckhove IV, Vercautere G, Piot P, Van Der Groen G. Comparative evaluation of 36 commercial assay for detecting antibodies to HIV. *WHO* 1991;69:753-760.
12. Rodríguez O, Argote E, López G, Nibot C. Valores predictivos de los ensayos de segunda generación en el diagnóstico de la infección por VIH-1. *Biocología Aplicada* 1995;12:112-114.
13. WHO. *Weekly Epidem Rec.* 1990;65:281-288.
14. WHO. Global programme on AIDS. Operational characteristics of commercially available assay to detect antibodies to HIV-1 and HIV-2 in human sera. 1991; Report 4 Geneva.

Tabla 1. Comparación de la sensibilidad y especificidad del AuBioDOT anti-HIV 1/2 y otros sistemas de su tipo evaluados por la OMS.

Sistema diagnóstico	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
AuBioDOT anti-HIV 1/2	100 (97,24-100)	98,88 (97,41-99,50)
RECODO	98,9 (97,00-99,8)	88,60 (82,20-93,3)
GENIE HIV-1 and HIV-2	99,3 (97,50-99,9)	99,50 (97,10-100)
PATH HIV Dipstick	99,5 (97,30-100)	98,20 (97,10-99,1)

Tabla 2. Resultados de la sensibilidad analítica del sistema AuBioDOT anti-HIV 1/2.

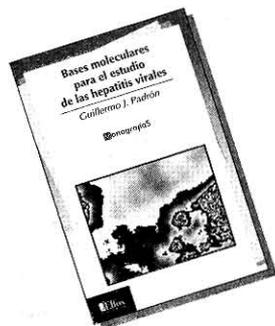
Muestras	Resultados		
	AuBioDOT anti HIV 1/2	DAVIH blot (patrón de bandas)	
S/D	Positivo	17, 24, 34, 41, 53, 55, 68, 120, 160	P
1/10	Positivo	24, 34, 41, 53, 55, 68, 120, 160	P
1/20	Positivo	24, 34, 41, 53, 55, 68, 120, 160	P
1/40	Positivo	24, 34, 41, 53, 55, 68, 120, 160	P
1/80	Positivo	24, 34, 41, 53, 55, 68, 120	P
1/160	Positivo	24, 34, 41, 53, 55, 68, 120	P
1/320	Positivo	24, 34, 41, 55, 68	I
1/640	Positivo	24, 41, 55, 68	I
1/1 280	Positivo	24, 41, 55, 68	I
1/2 560	Positivo	24, 41, 68	I
1/5 128	Positivo	24, 41, 68	I
1/10 240	Positivo	24, 68	I

S/D: sin diluir, P: positivo, I: indeterminado, ___: débil, __: muy débil.

prevalencia de 6 % el valor predictivo positivo alcanzó el 85,07 %. Para ambas prevalencias el valor predictivo negativo fue del 100 %. Estos resultados coincidieron con los obtenidos por el sistema de ELISA RECVIH (que al igual que el AuBioDOT anti-HIV 1/2 es un ensayo de segunda generación, producido por el CIGB), el cual obtuvo valores predictivos de 0,9 y 88,12 % para prevalencias de 0,006 y 6 %, respectivamente (12).

Por los resultados obtenidos en la evaluación y las características operacionales, el sistema AuBioDOT anti-HIV 1/2 es recomendable para su uso en laboratorios que procesan cantidades limitadas de muestras y para el diagnóstico de la infección por VIH en diferentes niveles de salud, principalmente en áreas con condiciones mínimas de laboratorio (servicios de urgencia, clínicas estomatológicas, puestos médicos rurales, etc.).

Recibido en septiembre de 1997. Aprobado en noviembre de 1997.



Bases moleculares para el estudio de las hepatitis virales

Guillermo J. Padrón

Elfos
SCIENTIAE

Los recientes avances en el estudio de la biología molecular han tenido un importante impacto en el conocimiento de los virus de hepatitis y las infecciones causadas por ellos. Este impacto se hace especialmente manifiesto en los nuevos métodos disponibles para el diagnóstico y estudio de estos virus, así como de las enfermedades por ellos causadas y el desarrollo de vacunas. El propósito de este libro es brindar a los lectores los conocimientos básicos de biología molecular, además de una información actualizada de los más recientes avances relacionados con el conocimiento de los virus de hepatitis. Está dirigido a profesionales (médicos, biólogos, investigadores y otros) vinculados al diagnóstico y al manejo de las hepatitis virales.

Entre otros temas...

- Generalidades de los virus humanos y animales
- Clínica de las hepatitis virales
- El virus de la hepatitis A
- El virus de la hepatitis B
- El virus de la hepatitis C
- El virus de la hepatitis D
- El virus de la hepatitis E
- Los virus de las hepatitis no-A-E
- Vacunas combinadas

Precio: \$20.00 USD

ISBN 959-235-006-X

Envíe su solicitud a:

Elfos Scientiae

Apartado 6072,

La Habana 6, Cuba.

Tel: (53-7) 33 1917

(53-7) 21 8164

Fax: (53-7) 33 1917

(53-7) 33 6008

E-mail: elfos@cigb.edu.cu