

Evaluación de una prueba confirmatoria en suero para su incorporación en el algoritmo peruano del diagnóstico de VIH

Evaluation of a confirmatory serum test for incorporation into the Peruvian HIV diagnosis algorithm

Eduardo Miranda-Ulloa¹, Soledad Romero-Ruiz¹, Ronal Briceño-Espinoza¹, Dilan Suárez-Agüero¹, Edgardo Mamani-Huamán¹ y Maribel Acuña¹

¹Laboratorio de Referencia Nacional de Virus de Transmisión Sexual, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú.

Financiado por el Instituto Nacional de Salud de Perú como Proyecto ganador en el Fondo Concursable 2022 del Centro Nacional de Salud Pública. Los autores declaran no tener conflictos de interés en la publicación de este artículo.

Recibido: 29 de abril de 2024 / Aceptado: 1 de agosto de 2024

Resumen

Las pruebas confirmatorias del algoritmo peruano del diagnóstico de VIH pueden generar resultados no concluyentes que retrasan la oportunidad de sus resultados. Se evaluó el rendimiento diagnóstico de la prueba rápida inmunocromatográfica confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2. Se analizaron 242 sueros, 116 positivos a VIH-1 y 126 negativos a VIH-1/2 (referencia: INNO-LIA HIV I/II), estimándose la exactitud y precisión diagnóstica. No se encontraron falsos positivos y negativos; se obtuvo un 100% de sensibilidad, repetibilidad y reproducibilidad; especificidad de 98,4 % (lectura visual) y 97,6% (lector Geenius). Hubo 100% de concordancia en resolver los sueros “indeterminados” por inmunofluorescencia. Concluimos que, por su alta eficiencia diagnóstica y aplicación en el punto de atención, la prueba confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 en muestras de suero debiera incluirse en el algoritmo peruano del diagnóstico de VIH.

Palabras clave: VIH-1; Geenius™; INNO-LIA™; algoritmo diagnóstico.

Abstract

When confirmatory tests of the Peruvian HIV diagnosis algorithm generate inconclusive results, they delay the opportunity for their results. The diagnostic performance of the Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 rapid confirmatory immunochromatographic test was evaluated. A total of 242 sera were analyzed, 116 positives for HIV-1 and 126 negative for HIV-1/2 (reference: INNO-LIA HIV I/II), diagnostic accuracy and precision were estimated. No false positives and negatives were found; 100% sensitivity, repeatability and reproducibility were obtained; specificity of 98.4% (visual reading) and 97.6% (Geenius reader). There was 100% agreement in resolving “indeterminate” sera by immunofluorescence. We conclude that, due to its high diagnostic efficiency and its application at the point of care, the Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 confirmatory test in serum samples should be included in the Peruvian HIV diagnosis algorithm.

Keywords: HIV-1; Geenius™; INNO-LIA™; diagnostic algorithm.

Introducción

Desde el año 2015 a febrero de 2024, Perú ha notificado 68.517 casos de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Los nuevos casos de infección por VIH anualmente van en aumento; sólo en 2023, se han notificado 9.490 casos de VIH y 1.389 casos de SIDA debido principalmente al diagnóstico tardío

y a la baja adherencia del tratamiento en algunas poblaciones clave, correspondiendo una tasa de incidencia de 28,05 casos de infección por VIH por 100.000 habitantes^{1,2}.

El algoritmo convencional peruano del diagnóstico de infección por VIH destaca que los resultados reactivos a alguna prueba de cribado: prueba rápida (PR), ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), quimioluminiscencia (CLIA) o electroquimioluminiscen-

Correspondencia a:
Eduardo Miranda Ulloa
emiranda@ins.gob.pe

cia (ECLIA) deben ser confirmados por las pruebas serológicas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) e inmunoblot (IB) o western blot (WB)³⁻⁵.

La prueba IFI VIH-1 tiene entre 5 y 10% de resultados inespecíficos e indeterminados^{5,6}. Estas muestras no concluyentes son derivadas sólo a una (Lima-capital) de las veinticuatro regiones del Perú para su confirmación por IB, debido a que sólo en la capital se tiene implementada dicha prueba^{3,7}.

El algoritmo nuevo indica que los pacientes cuya muestra tengan resultados reactivos a dos pruebas de cribado de diferente marca o diferente tipo de prueba, son notificados como casos de VIH y se les realiza la PCR-carga viral (CV), pero si el resultado de esta prueba es ARN viral no detectable, son derivadas también a Lima para su descarte por IB^{3,4}.

De acuerdo a los escenarios descritos, una limitante actual obedece a que muchas de las muestras con resultados no concluyentes proceden de población gestante y puérpera, lo que retrasa la oportunidad de sus resultados y el inicio de un tratamiento anti-retroviral (TAR) temprano, significando un mayor riesgo de transmisión madre-hijo del VIH³.

Por estos motivos, existe la necesidad de incorporar en el algoritmo una prueba rápida confirmatoria que pueda ser aplicada en el punto de atención del paciente.

Actualmente, a nivel mundial se encuentra disponible comercialmente una prueba rápida inmunocromatográfica confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2, la cual está aprobada por la Comunidad Europea (CE)⁸ y precalificada por la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁹. Entre sus ventajas destaca que, se puede aplicar en el punto de atención con un tiempo del ensayo no mayor a 35 minutos⁸ y con un costo dos veces menor que el IB¹⁰ y tres veces menor que el WB¹¹. No obstante, lo ideal es que la prueba sea evaluada previamente en el país a ser utilizado. El objetivo de este estudio fue evaluar el rendimiento diagnóstico de la prueba rápida confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 en suero para su incorporación en el algoritmo peruano del diagnóstico de VIH.

Material y Métodos

Se realizó un estudio observacional prospectivo de evaluación de una prueba diagnóstica desde agosto 2022 hasta abril 2023. El marco muestral correspondió a todos los sueros, de los años 2021 y 2022, de la seroteca del Laboratorio de Referencia Nacional de Virus de Transmisión Sexual del Instituto Nacional de Salud (INS) de Perú. Para la evaluación se seleccionaron por conveniencia 242 sueros: 50 positivos a VIH-1; 50 negativos a VIH-1/2; 50 interferentes, negativos a VIH-1/2: cinco con COVID 19, cinco con HTLV-1, cinco con hepatitis B, cinco con sífilis, cinco con dengue, cinco con citomegalovirus, cinco con enfermedad reumatoide y quince con la condición de gestante; 92 indeterminados a la prueba de IFI VIH-1⁶.

Las 242 muestras fueron analizadas por INNO-LIA HIV I/II¹⁰ (prueba de referencia) y por Bio-Rad Geenius™ HIV 1/2 Confirmatory Assay⁸. La repetibilidad se evaluó analizando una muestra positiva a VIH-1 y una negativa a VIH-1/2 por quintuplicado en una sola corrida;

todos estos resultados fueron leídos visualmente por tres analistas y con el lector Geenius⁸.

La reproducibilidad se evaluó en seis laboratorios regionales (LR), dos en costa (La Libertad y Arequipa) dos en sierra (Cajamarca y Cusco) y dos en selva (Madre de Dios y San Martín); se analizaron cuatro muestras positivas a VIH-1 y una negativa a VIH-1/2 en tres días consecutivos con dos lotes de kit diferentes y con dos analistas. Además se midió la temperatura ambiental, humedad y altitud de cada LR. En cada laboratorio se realizó el control de calidad del kit mediante el uso de los controles positivos y negativos propios del kit Geenius™ HIV 1/2⁸. Para el criterio de positividad, Geenius usa cuatro antígenos de VIH-1 (Env gp160 y gp41, Pol p31 y Gag p24) y dos antígenos de VIH-2 (Env gp140 y gp36); es VIH-1 positivo si están presentes dos bandas de VIH-1 con al menos una banda de Env y es VIH-2 positivo si ambas bandas de VIH-2 están presentes, si sólo se visualiza una banda cualquiera que sea de VIH-1 o VIH-2 el resultado es “indeterminado” y si no se visualiza ninguna banda el resultado es negativo⁸. El análisis estadístico se estimó en Epidat v3.1 y Excel. Se informó los parámetros de exactitud y precisión diagnóstica considerando un nivel de confianza de 95% (IC 95%). El estudio fue aprobado con el código OI-012-22 por el Comité Institucional de Ética e Investigación del INS de Perú.

Resultados

La prueba confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 no presentó falsos positivos ni falsos negativos; con la lectura visual de los analistas se encontraron dos resultados indeterminados (2/242) y con el lector Geenius se hallaron tres indeterminados (3/242). Los resultados indeterminados correspondieron a un suero negativo a VIH-1/2 y a dos interferentes (enfermedad reumatoide), siendo la gp140 de VIH-2 la banda identificada (Figura 1).

La sensibilidad para la lectura visual y para el lector Geenius fue de 100% (116/116), mientras que la especificidad con la lectura visual fue de 98,4% (124/126) y con el lector Geenius fue de 97,6% (123/126). El índice de Youden fue de 0,98; lo cual nos confirma que la posibilidad de tener falsos positivos o negativos es muy baja; otros parámetros de exactitud diagnóstica se muestran en la Tabla 1.

Entre otros hallazgos obtenidos, la repetibilidad intra-laboratorio fue de 100%, además la concordancia porcentual de la prueba en estudio versus la prueba de referencia, respecto a la capacidad de resolver los sueros indeterminados a IFI VIH-1, fue de 100% (92/92: positivos a VIH-1 = 66; negativos a VIH 1/2 = 26) (Figura 1).

La reproducibilidad evaluada en seis LR de la costa, sierra y selva fue de 100%. La altitud de los seis LR correspondieron a 34, 205, 356, 2.335, 2.750 y 3.399 metros sobre el nivel del mar. Además, los ensayos se realizaron en un rango de temperatura entre 18,1 y 32,6°C y a una humedad relativa medioambiental entre 30 y 92%.

Los 116 sueros positivos a VIH-1 por la prueba confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 mostraron el siguiente perfil de bandas: gp160 = 116, gp41 = 116, p31 = 64, p24 = 41, mientras que para la prueba de referencia fueron: gp120 = 110, gp41 = 116, p31 = 100, p24 = 88, p17 = 80.

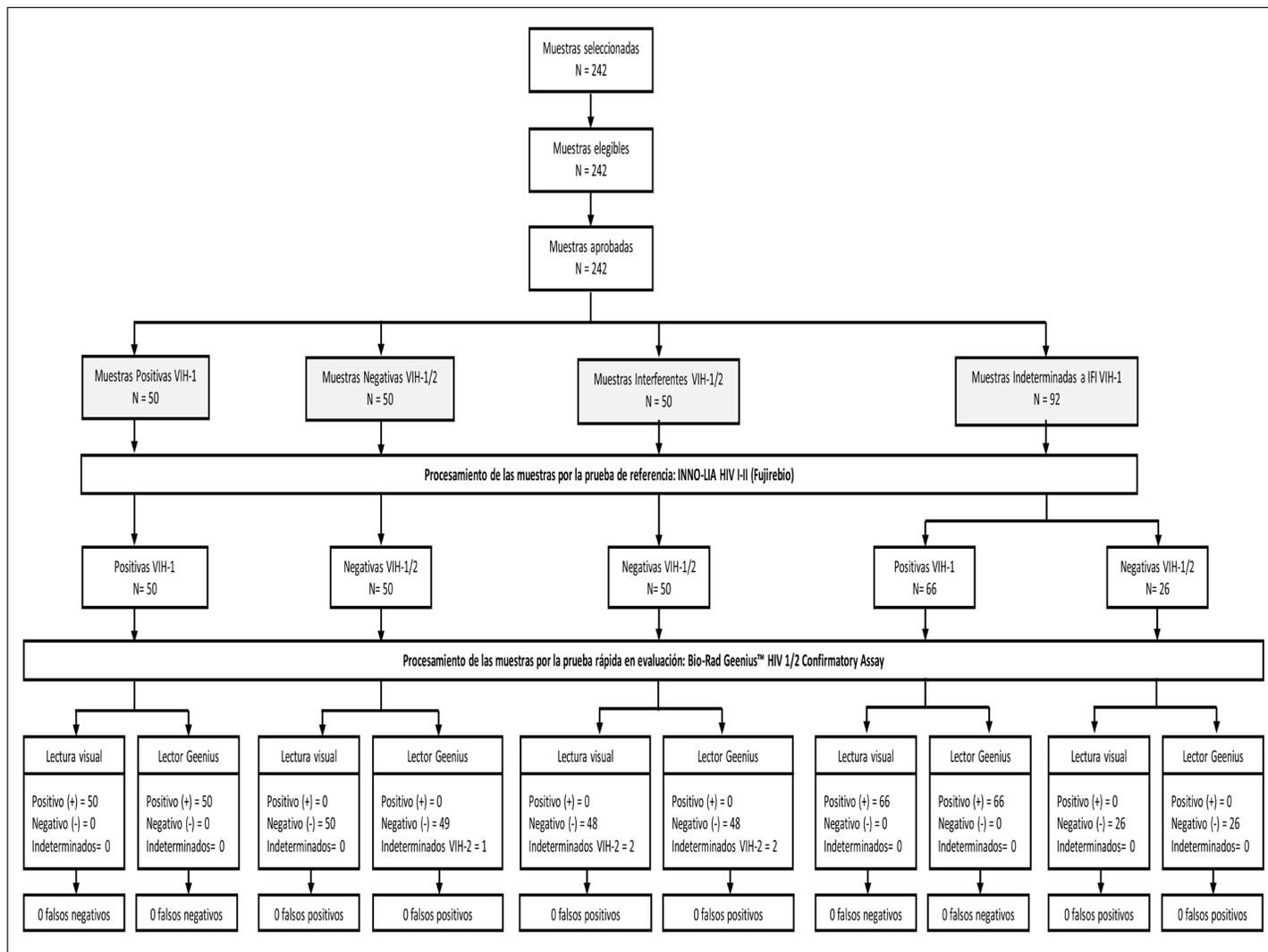


Figura 1. Flujo de muestras incorporadas al estudio de la prueba rápida confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV 1/2.

Tabla 1 Parámetros evaluados de exactitud diagnóstica de la prueba rápida confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2. (N=242: 116 positivos a VIH-1 y 126 negativos a VIH-1/2)*

Parámetros	Lectura visual		Lector Geenius	
	Valor	(IC 95%)	Valor	(IC 95%)
Sensibilidad (%)	100,0	(99,6 - 100,0)	100,0	(99,6 - 100,0)
Especificidad (%)	98,4	(95,8 - 100,0)	97,6	(94,6 - 100,0)
Índice de validez (%)	99,2	(97,8 - 100,0)	98,8	(97,2 - 100,0)
Valor predictivo + (%)	98,3	(95,6 - 100,0)	97,5	(94,2 - 100,0)
Valor predictivo - (%)	100,0	(99,6 - 100,0)	100,0	(99,6 - 100,0)
Índice de Youden	0,98	(0,96 - 1,00)	0,98	(0,95 - 1,00)
Razón de verosimilitud +	63,0	(15,9 - 249,1)	42,0	(13,7 - 128,5)
Razón de verosimilitud -	0		0	

IC 95% = Intervalo de Confianza al 95%. *Prueba de referencia: INNO-LIA HIV I/II.

Discusión

Nuestros resultados demostraron que la prueba rápida confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 presentó igual sensibilidad entre la lectura visual realizada por los analistas (100%: 116/116) y la lectura realizada con el lector Geenius (100%: 116/116). Resultados semejantes se mostraron también en la especificidad con lectura visual de 98,4% (124/126: dos indeterminados) y lector Geenius de 97,6% (123/126: tres indeterminados). Estas similitudes nos garantizan que se puede realizar la lectura del resultado sin necesidad de disponer del lector Geenius. Del mismo modo, el fabricante de Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 reportó en su inserto una sensibilidad de 100% (263/263) y una especificidad de 97,6% (245/251: seis indeterminados)⁸, muy comparable a los resultados que obtuvimos. Asimismo, INNO-LIA HIV I/II presenta una sensibilidad de 100% y una especificidad de 96,1%¹⁰, lo que nos hace inferir que nuestros resultados para los mismos parámetros son comparables a la prueba de referencia (sin falsos positivos ni falsos negativos).

En cuanto a las muestras interferentes evaluadas, no identificamos reacción cruzada (falsos positivos) de la prueba Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 frente a muestras procedentes de personas con COVID 19, HTLV-1, hepatitis B, sífilis, dengue, citomegalovirus, enfermedad reumatoide y gestantes. Estos resultados responden a lo aprobado por la CE y a lo precalificado por la OMS, en relación a la aceptación de esta prueba como confirmatoria^{8,9}.

El 100% de concordancia porcentual encontrado (92/92: positivos a VIH-1=66; negativos a VIH 1/2=26) nos permite destacar la utilidad de la prueba rápida confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 para resolver los resultados no concluyentes a IFI VIH-1⁶, obtenidos por los LR de las distintas regiones del Perú. Además, su alta reproducibilidad en un amplio rango de temperaturas, humedad y altitud, nos permite deducir que la prueba rápida confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2⁸ puede implementarse en cualquier laboratorio del Perú.

Varios países¹²⁻¹⁹ han evaluado e incorporado en sus algoritmos la prueba rápida confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2. La mayoría de estas evaluaciones usaron como prueba de referencia INNO-LIA™ HIV-1/2 y en todos los estudios se obtuvieron resultados de alta concordancia y eficiencia diagnóstica. Además, Geenius ofreció ciertas ventajas sobre INNO-LIA por ser un ensayo rápido con una metodología simple y de mucho beneficio para los laboratorios porque reduce el tiempo de capacitación de los analistas y el reporte de resultados¹²⁻¹⁹.

La inclusión de la prueba confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 en el algoritmo peruano del diagnóstico del VIH contribuirá en la lucha contra el VIH a través de estrategias combinadas que son aplicadas en el punto de atención del paciente. Permitirá la descentralización del diagnóstico confirmatorio y contribuirá al diagnóstico temprano de la población gestante, reduciendo así el riesgo de transmisión materno-infantil del VIH, y al inicio precoz de tratamiento anti-retroviral durante el embarazo y el parto, y profilaxis al recién nacido^{20,21}.

Una de las limitaciones del estudio fue que no se evaluó la prueba frente a muestras de sangre capilar y de sangre total por razones presupuestarias. Tampoco se evaluaron sueros con VIH tipo 2, ya que hasta la actualidad no se ha detectado en Perú el VIH-2. Otra limitante fue

que, solo se evaluó una marca comercial debido a que este diseño de prueba rápida confirmatoria es única en el mundo⁸.

Concluimos que, la prueba rápida confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 evaluada en suero, tuvo una alta sensibilidad y especificidad, y una muy buena concordancia en los parámetros de la repetibilidad y reproducibilidad, a la vez que demostró ser capaz de resolver los resultados no concluyentes obtenidos por la prueba confirmatoria IFI-VIH-1. En consecuencia, debido a su alta exactitud y precisión diagnóstica, y su aplicabilidad en el punto de atención del paciente, recomendamos la incorporación de la prueba rápida confirmatoria Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 para muestras de suero en el algoritmo peruano del diagnóstico de VIH.

Referencias bibliográficas

1. Perú. Ministerio de Salud (MINSA). Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades. Situación epidemiológica del VIH-sida en el Perú. 2024. Fecha de acceso: 12 de julio de 2024. Disponible en: https://www.dge.gob.pe/vih/uploads/nacional_vih.html
2. Quiroz-Ruiz HR, Miranda-Ulloa E, Suárez-Agüero D. Tendencias en la mortalidad y en el número de personas infectadas con VIH/SIDA en Perú, 2000-2021: Estudio ecológico mediante análisis de regresión joinpoint. *Rev Cuerpo Med HNAAA* 2023; 16 (1). doi: 10.35434/rcmhnaaa.2023.161.1916
3. Perú. Ministerio de Salud (MINSA). Norma técnica de salud para la prevención de la transmisión materno infantil del VIH, Sífilis y Hepatitis B. NTS N° 159-MINSA/2019/DGIESP (Resolución Ministerial N°: 1138-2019/MINSA), 2019. Fecha de acceso 12 de julio de 2024. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/368520-1138-2019-minsa>
4. Perú. Ministerio de Salud (MINSA). Norma Técnica de salud de atención integral del adulto con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) NTS N° 169- MINSA/2020/DGIESP (Resolución Ministerial N°: 1024-2020/MINSA). 2020 Fecha de acceso 12 de julio de 2024. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/1422592-1024-2020-minsa>
5. Álvarez-Carrasco R. Interpretación de las pruebas usadas para diagnosticar la infección por virus de la inmunodeficiencia humana. *Acta Med Peru* 2017; 34: 309-16. doi: 10.35663/amp.2017.344.464
6. Perú. Ministerio de Salud. Manual de procedimientos para el diagnóstico del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH 1) por inmunofluorescencia indirecta. Serie de Normas Técnicas N° 29. Lima, Perú: Instituto Nacional de Salud. 2001. Fecha de acceso: 12 de julio de 2024. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/informes-publicaciones/353005manual-de-procedimientos-para-diagnostico-delvirus-de-la-inmunodeficiencia-humana-tipo-1-vih1-por-inmunofluorescencia-indirecta>
7. Miranda-Ulloa E, Romero-Ruiz S, Acuña M, Briceño-Espinoza R, Obregon G, Suárez-Agüero D. Experiencia peruana sobre el flujograma de diagnóstico del virus de inmunodeficiencia humana. *Rev Fac Med Hum* 2022; 22: 431-3. doi: 10.25176/rfmh.v22i2.4401
8. Biorad. Ensayo confirmatorio Geenius™ HIV 1/2. Un ensayo cualitativo para la confirmación y diferenciación de experimentos individuales contra VIH-1 y VIH-2 en muestras de sangre entera, suero o plasma. Francia, Biorad 2013. Fecha de acceso: 12 de julio de 2024. Disponible en: http://www.biorad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/es/883601_ES.pdf
9. Organización Mundial de la Salud (OMS). Lista de productos de diagnóstico in vitro precalificados por la OMS, abril, 2022. Fecha de acceso: 12 de julio de 2024. Disponible en: <https://extranet.who.int/prequal/vitro-diagnostics/prequalified-vitro-diagnostics>
10. Fujirebio. Puntuación de VIH I/II de INNO-LIA™. Gante, Bélgica:

- INNOGENETICS.NV 2017. Fecha de acceso: 12 de julio de 2024. Disponible en: <https://www.fujirebio.com/en/products-solutions/innolia-hiv-iii-score>
11. Miranda-Ulloa E, Romero-Ruiz S, Amorín-Uscata B, Serrano-Segura K, Briceño-Espinoza R, Cárdenas-Bustamante F. Estandarización y validación de un Western Blot para el diagnóstico del virus de inmunodeficiencia humana. *Rev Fac Med Hum* 2021; 21: 674-81. doi: 10.25176/rfmh.v21i4.4023
 12. Wesolowski LG, Chávez PR, Cárdenas AM, Katayev A, Slev P, Valsamakis A, et al. Resultados de pruebas de VIH de rutina en 6 laboratorios clínicos de EE. UU. utilizando el algoritmo de pruebas de laboratorio recomendado para el VIH con el ensayo suplementario Geenius VIH 1/2. *Sex Transm Dis* 2020; 47(5S Suppl 1): S13-S17. doi:10.1097/OLQ.0000000000001102
 13. Aguinaga A, Navascués A, Polo I, Ezpeleta C. Comparative study of HIV-1/2 antibody confirmatory assay: Geenius™ versus INNO-LIA™. *Rev Esp Quimioter* 2017; 30: 40-4. PMID: 28010056.
 14. Montesinos I, Eykmans J, Delforge ML. Evaluation of the Bio-Rad Geenius HIV-1/2 test as a confirmatory assay. *J Clin Virol* 2014; 60: 399-401. doi:10.1016/j.jcv.2014.04.025
 15. Serhir B, Desjardins C, Doualla-Bell F, Simard M, Tremblay C, Longtin J. Evaluation of the bio-rad geenius HIV 1/2 assay as part of a confirmatory HIV testing strategy for Quebec, Canada: Comparison with western blot and inno-lia assays. *J Clin Microbiol* 2019; 57: e01398-18. doi: 10.1128/JCM.01398-18.
 16. Kondo M, Sudo K, Sano T, Kawahata T, Itoda I, Iwamuro S, et al. Comparative evaluation of the Geenius HIV 1/2 Confirmatory Assay and the HIV-1 and HIV-2 Western blots in the Japanese population. *PLoS One* 2018; 13: e0198924. doi: 10.1371/journal.pone.0198924
 17. Demir T, Yildiran D, Kiliç S. Experience of the National HIV-AIDS Reference Center of Turkey, in the Transition to the New HIV Diagnostic Algorithm; Comparative Analysis of Line-Immunoassay Test and Bio-Rad Geenius™ HIV-1/2 Antibody Confirmatory Assay. *Mikrobiyol Bul* 2021; 55: 17-29. doi: 10.5578/mb.20028
 18. Wong CC, Lim SH, Tan CT, Lui SY, Lee YL, Chan KP. Performance of the HIV Blot 2.2, INNO-LIA HIV I/II score, and geenius HIV 1/2 confirmatory assay for use in HIV confirmation. *PLoS One* 2018; 13: e0199502. doi: 10.1371/journal.pone.0199502
 19. Bujandric N, Grujic J, Budakov Obradovic Z. Assessing donor suitability for blood donation: Utility of Geenius HIV 1/2 confirmatory assay. *Transfus Apher Sci* 2021; 60: 103008. doi: 10.1016/j.transci.2020.103008
 20. Flores EC, Lluque ME, Chiappe M, Lino R, Bayer AM. Operations research study to implement HIV and syphilis point-of-care tests and assess client perceptions in a marginalised area of Lima, Peru. *Int J STD AIDS* 2015; 26: 723-8. doi: 10.1177/0956462414552696
 21. Moreno Reyes KF, Ayala Peralta FD, Velásquez-Vásquez C. Estrategias de prevención para disminuir la transmisión vertical del virus de inmunodeficiencia humana durante la gestación. *Rev Peru Investig Matern Perinat.* 2021; 10: 47-53. doi: 10.33421/inmp.20212243