



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

**FALSOS POSITIVOS DEL INMUNOENSAYO DE
QUIMIOLUMINISCENCIA PARA LA DETECCIÓN DE Ag/Ac HIV EN
DONANTES DE SANGRE**

**CHEMILUMINESCENCE IMMUNOASSAY FALSE POSITIVES FOR
THE DETECTION OF HIV Ag/Ac IN BLOOD DONORS**

**TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE SEGUNDA
ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN HEMOTERAPIA Y BANCO DE
SANGRE**

AUTOR:

Rosa Milagros Sanchez Perez

ASESOR:

Erik Alexander Sánchez Tregear

LIMA - PERÚ

2024

ASESOR DE TRABAJO ACADÉMICO:

Lic. T.M. Erik Alexander Sánchez Tregear

Departamento Académico de Tecnología Médica

ORCID: 0000-0001-6567-1639

Fecha de Sustentación: 26 de agosto del 2024

Calificación: Aprobado

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme fuerza para culminar esta etapa de mi vida.

A mi esposo e hijo por la paciencia, amor y consejos que me han ayudado a afrontar los retos y así lograr mi objetivos personales y profesionales.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO:

El presente estudio será financiado con recursos propios.

DECLARACIÓN DEL AUTOR

Yo, Rosa Milagros Sanchez Perez Identificado con D.N.I. 41109235, alumno de posgrado de la FMH-UPCH, autor(a/es) de la Monografía titulada:

“Falsos positivos del inmunoensayo de quimioluminiscencia para la detección de Ag/Ac HIV en donantes de sangre”

” DECLARO QUE:

1. La Monografía es presentada para la obtención del Título de Especialista en Hemoterapia y Banco de Sangre es original, siendo resultado de mi trabajo personal, el cual no he copiado de otro trabajo. Menciono de forma clara y exacta su origen o autor, tanto en el cuerpo del texto, figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor.

2. Declaro que la monografía que pongo en consideración para evaluación no ha sido presentada anteriormente para obtener algún grado académico o título, ni ha sido publicado en sitio alguno.

RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD

FALSOS POSITIVOS DEL INMUNOENSAYO DE QUIMIOLUMINISCENCIA PARA LA DETECCIÓN DE Ag/Ac HIV EN DONANTES DE SANGRE

INFORME DE ORIGINALIDAD

8%	7%	0%	2%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	www.slideshare.net Fuente de Internet	2%
2	Submitted to Universidad Tecnica De Ambato- Direccion de Investigacion y Desarrollo , DIDE Trabajo del estudiante	1%
3	Submitted to Universidad Continental Trabajo del estudiante	1%
4	1library.co Fuente de Internet	1%
5	vdocumento.com Fuente de Internet	1%
6	patents.google.com Fuente de Internet	1%
7	doku.pub Fuente de Internet	<1%
8	edumed.imss.gob.mx Fuente de Internet	<1%
9	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1%
10	Carmen Gómez-Vaquero, Dolors Martínez Aguilà, Antoni Rozadilla, Montserrat Romera, Javier Narváez, Joan M. Nolla. "Evaluation of Two Proposals Based on Clinical Factors for Selecting Male Patients With Rheumatoid	<1%

Contenido

INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES.....	2
OBJETIVOS	7
CUERPO.....	8
GENERALIDADES.....	8
PRUEBAS DE DETECCIÓN DEL VIH EN DONANTES	8
<i>Métodos de tamizaje serológico:</i>	<i>9</i>
<i>Métodos confirmatorios:</i>	<i>12</i>
METODOLOGÍA.....	13
RESULTADOS.....	13
DISCUSIÓN.....	14
CONCLUSIONES.....	17
RECOMENDACIONES.....	18
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
ANEXOS	

RESUMEN

El riesgo de transmisión del VIH relacionado a las transfusiones de sangre ha disminuido notablemente tanto por los criterios de selección de los donantes, los sistemas de controles de calidad de los procesos y la evolución de las pruebas serológicas con sensibilidad elevada. Los inconvenientes al utilizar estas pruebas con sensibilidad muy alta son los resultados falsos reactivos, estos resultados en los donantes de sangre generan un gran desafío debido a la eliminación de componentes como a problemas de administración de donantes. **Objetivo:** Describir la revisión entre pruebas inmunoserológicas y pruebas confirmatorias en serología infecciosa HIV en donantes de sangre **Metodología:** La monografía se realizó a través de investigaciones retrospectivas, es decir se revisó estudios sobre el tema orientado. **Resultados:** Describir los falsos positivos de Ag/Ac VIH en donantes de sangre permitirá justificar posteriores acciones que se tomen para contribuir a la reducción de este valor: por ejemplo, el cambio de los equipos empleados para el análisis, o la implementación de estrategias de notificación y aplazamiento de donantes.

Palabras claves: Donantes de Sangre, Quimioluminiscencia, Inmunofluorescencia Indirecta, Falso Reactivo.

ABSTRACT

The risk of HIV transmission related to blood transfusions has decreased markedly due to the criteria for selecting donors, the quality control systems of the processes and the evolution of serological tests with high sensitivity.

The drawbacks of using these tests with very high sensitivity are the reactive false results, these results in blood donors generate a great challenge due to the elimination of components such as donor administration problems. **Objective:** To describe the review between immunoserological tests and confirmatory tests in HIV infectious serology in blood donors. **Methodology:** The monograph was carried out through retrospective research, i.e., studies on the subject were reviewed. **Results:** Describing the false positives of HIV Ag/Ac in blood donors will justify subsequent actions taken to contribute to the reduction of this value: for example, the change of the equipment used for the analysis, or the implementation of donor notification and postponement strategies.

Keywords: Blood Donors, Chemiluminescence, Indirect Immunofluorescence, False Reagent.

INTRODUCCION

La contaminación de infecciones por transfusiones de sangre es uno de los mayores inconvenientes en salud pública, siendo la desazón de quienes laboramos en los bancos de sangre. Es por ello que debemos contar con herramientas indispensables para descubrir a tiempo a los potenciales donantes infectados (1, 2).

El diagnóstico del VIH posee una elevada importancia por la gravedad de la enfermedad. El tamizaje serológico es un paso indispensable en este diagnóstico; y se han desarrollado como consecuencia del progreso en los conocimientos inmunopatogénicos, relación huésped-virus, mecanismos de replicación vírica y respuesta inmune (3).

Con relación al porcentaje de infecciones por VIH suscitadas por transfusiones fluctúan entre el 5 y 10 % nivel mundial; generando cambios radicales en la seguridad de la transfusión de sangre (4). La causa del SIDA es la infección con lo retrovirus humanos el VIH-1 con distribución mundial y más frecuente y el VIH-2 asociado a la región africana. Se han identificado varios grupos y serotipos debido a la variabilidad, capacidad de mutación y recombinación (5).

En el Perú, no se conoce referencias en los que defina la prueba inmunoserológica con la prueba confirmatoria IFI para comprender la tasa de falsos reactivos para la detección de Ag/Ac VIH en donantes de sangre, aun cuando previamente se ha descrito que esta es elevada (68.2%) (6), lo cual podría conllevar al descarte innecesario de hemocomponentes y aplazamientos de donantes, y a su vez, a una reducción de hemocomponentes en el banco de sangre, sobre todo considerando el limitado porcentaje de donaciones voluntarias (13.5%).

Es por ello que, en la actualidad los resultados de tamizaje serológico para VIH juegan un papel primordial. Estos son obtenidos de los analizadores inmunoserológicos, los cuales operan bajo la técnica de quimioluminiscencia. Esta técnica permite identificar rápidamente los resultados reactivos y descartar los hemocomponentes del donante infectado, ofreciendo la posibilidad de garantizar la seguridad de la transfusión. Sin embargo, esta técnica genera un elevado número de falsos reactivos (1), por lo que los resultados reactivos no pueden utilizarse para confirmar una infección y es necesario realizar una corroboración del resultado obtenido, a fin de fortalecer el seguimiento del donante.

La importancia de este trabajo radica en describir los falsos reactivos que se obtiene mediante la técnica de quimioluminiscencia con la finalidad de verificar las acciones que se tomen para contribuir a la reducción de este valor, a través de, por ejemplo, el cambio de los equipos empleados para el análisis o la implementación de estrategias de aplazamiento y notificación de resultados.

Adicionalmente, la presente monografía permitirá conocer el punto de corte (Signal/Cut-Off – por sus siglas en inglés) con el cual se maximiza el valor de especificidad y sensibilidad de la prueba, lo cual evidenciara la reducción de la tasa de falsos positivos y falsos negativos, y, a su vez, minimizará la ansiedad y stress que genera el esperar los resultados de la prueba confirmatoria, ya que se conocerá el punto de corte cercano al verdadero positivo, permitiendo tener mayor seguridad en el reporte de los resultados.

ANTECEDENTES

Entre los estudios que nos dan información sobre las pruebas inmunoserológicas y pruebas confirmatorias tenemos a Kiely P. et al, donde se analizaron los donantes con

resultado falso reactivos en ensayo de quimioluminiscencia para HBsAg, HIV, HCV y HTLV entre mayo de 1997 a marzo de 1999. Se hizo seguimiento de hasta tres donaciones después de un resultado falso reactivo; dando como resultado 14.3 % para HBsAg, 66% para HIV, 77.4% para HCV y 71.6% para HTLV y las donaciones siguientes 75.0, 80.6, 84.6 y 74.5% para los cuatro análisis respectivamente. Concluyendo que se debe permitir que los donantes que dan un resultado falso positivo en los CLIA (PRISM, Abbott) continúen donando porque la mayoría de los donantes con un resultado HBsAg falso reactivo fueron negativos en donaciones posteriores y entre 22,6 y 34,0 por ciento de aquellos con resultados falso positivo en los ensayos HIV-1 / HIV-2, HCV o HTLV-I / HTLV-II dieron donaciones negativas posteriores. En cambio, los donantes con un segundo resultado falso positivo deben ser aconsejados y aplazados porque es muy poco probable que den resultados negativos posteriores (7).

Así mismo, se utilizaron estrategias recomendadas por la ONUSIDA/OMS para los bancos de sangre; donde se evaluaron a un grupo de donantes voluntarios de enero a diciembre de 1999, examinando 5000 donantes para determinar si existe anticuerpos contra el HIV, todos varones entre 18 a 50 años. De los 5000 donantes, 48 (0.96%) dieron positivos, 37 (77% de 48) fueron falsos reactivos y solo 11 (0.22% de 5000) fueron verdaderos reactivos (8).

Por otro parte se examinaron 39,784 unidades de sangre para detectar VIH usando inmunoensayos diferentes según estrategias de la OMS y prueba Western Blot. Dando como resultados: de las 44 muestras reactivas a IA-1, el 95.2% (20/21) de las muestras reactivas tanto para IA2 – IA3 también fueron WB positivas (9).

Anteriormente en México, se analizaron 29,318 donadores entre 2003 a 2007; 66 fueron reactivos para ELISA (225/100000 donadores, IC 95%: 171 a 279/100000), la prueba confirmatoria por western Blot resultó positiva 5 (7.6%), indeterminado en 11 (16.7%)

y negativa en 50 (75.8%). Resultado de seroprevalencia confirmada 17.1/100000 donadores (IC95%: 2 a 32/100000). Entonces para una prevalencia de 17/100000 el riesgo residual será de 3.3 por millón y existe alrededor de 1 00000 donadores por año, inferimos una incidencia máxima de 6.8 infecciones de HIV asociadas a transfusión (10).

De la misma forma, en un periodo de 3 meses se analizaron 62090 donantes de sangre de los cuales 469 fueron reactivos para HIV, VHB y VHC. Las muestras reactivas se procesaron inicialmente con una prueba rápida y luego con ELISA, dando como resultado HIV 0.016%, HBV 0.101% y HCV 0.037% de falsos reactivos (11).

Por otro lado cabe resaltar, que el VPP del ensayo de quimioluminiscencia podría mejorar al definir un valor de S/CO (en un rango de 10% del valor de cut-off), que permita obtener un valor de sensibilidad adecuado sin afectar la especificidad, reduciendo así, la tasa de falsos positivos. Dado que se analizaron 17 912 donantes de sangre voluntarios entre el periodo de 2009 y 2012 empleando el ensayo de quimioluminiscencia y técnicas de detección de ácidos nucleicos (NAT); siendo todos los resultados reactivos y los resultados en zona gris reprocesados (ratios S/CO entre 0.70-0.99) y confirmados mediante hemoaglutinación para Sífilis, ensayo de neutralización para HBsAg e Inmunotransferencia específica (INNO-LIA) para HCV y HIV. Se realizaron análisis de curva de ROC y se obtuvieron los valores de VPP y especificidad para diferentes puntos de corte (S/CO).

En el caso de HIV, el valor del VPP y la especificidad fueron de 18.5% y la tasa de falsos reactivos de 22/27, para las muestras que fueron reactivas tanto en la prueba de tamizaje como en la prueba confirmatoria (muestras reactivas repetidas-RR). El valor de S/CO que permitió alcanzar una sensibilidad y especificidad del 100% fue de > 70 . En el caso de los niveles de $S/CO \geq 69$, el ensayo de inmunoblot confirmó los resultados

obtenidos mediante quimioluminiscencia, que a su vez fueron positivos mediante NAT (12). Considerando que las características demográficas como el sexo, el estado de donante por primera vez y la educación no se asociaron significativamente con resultados falsos positivos; en cambio la edad y la raza/etnia se asociaron fuertemente con este resultado. Por esta razón se realizó un análisis de todas las donaciones que se recolectaron en el centro de BSI entre el 1 de enero de 2011 y el 31 de diciembre del 2012. Los que cumplen con la elegibilidad del estudio se incluyeron en un estudio de casos y controles para evaluar la asociación entre las características demográficas y la falsa reactividad para el HTLV, HIV, VHB y VHC. Los casos y controles se seleccionaron en función de las pruebas finales de ácido nucleico (NAT) y los resultados de pruebas serológicas. La población estudiada fue de 659,244 de las cuales 1441 resultaron falsos positivos 195 (HIV), 512(HTLV), 309 (HBV) y 425(HCV) (13). Cabe decir que, mediante la técnica de quimioluminiscencia para la detección de Ag/Ac contra VIH se analizaron retrospectivamente (desde enero del 2015 hasta julio del 2017) un total de 21 817 muestras del laboratorio en Nueva Delhi. Los resultados reactivos fueron reprocesados y confirmados por Western Blot; estos resultados se analizaron en 2 grupos; el primero con 9 363 muestras recolectadas entre el 2015 al 2016 y el segundo grupo con 12459 muestras procesadas entre el julio 2016 al julio 2017. Se obtuvieron resultados de sensibilidad, especificidad, VPP y VPN para la prueba de quimioluminiscencia. En el primer grupo se obtuvo 77 verdaderos positivos, 8 falsos positivos y 2 indeterminados; mientras que, en el segundo grupo, se obtuvo 70 verdaderos positivos, 32 falsos positivos y 4 indeterminados; encontrándose una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.01$).

El rango del valor de S/CO para las 40 muestras que exhibieron resultados falsos reactivos fue de 1.01 – 16.47; la especificidad y VPP para el primer y segundo grupo fue de 99.91% y 99.74%, y de 90.50% y 68.63%, respectivamente.

Adicionalmente, se observó que un valor de corte de 2 permite obtener una especificidad de 99.98% y un VPP de 93.04%; mientras que un valor de corte de 5, permite obtener una especificidad de 100% y un VPP de 98.66%.

El estudio concluyó que en una nación multirracial como la India (con diferentes grupos étnicos) se debería evaluar el S/CO y el rango de la zona gris para minimizar los falsos positivos (14).

Desde el punto de vista más reciente, se analizaron registros de 45 296 muestras desde el 5 agosto del 2016 al 16 marzo del 2021, que incluían valores de índice S/CO del ensayo quimioluminiscente y resultados de pruebas confirmatorias (Geenius VIH ½) de la prueba de detección de HIV; donde se obtuvo 128 con resultados positivos, de los cuales correspondería a 0.28% tasa general de positividad para la prueba de detección del VIH. Siendo al menos 12.5% de resultados falsos positivos confirmados con la prueba de confirmación y NAAT de VIH. Concluyendo; considerar un nuevo protocolo para disminuir la ansiedad en un entorno de baja prevalencia (15).

OBJETIVOS

- Describir los falsos reactivos en serología infecciosa HIV en donantes de sangre.
- Comprender los análisis que contribuyen a describir la correlación entre pruebas inmunoserológicas y pruebas confirmatorias; análisis de sensibilidad – especificidad, análisis de curvas de ROC y valor del ratio S/CO.
- Conocer la frecuencia de HIV reactivos por quimiolumiscencia y por IFI.

CUERPO

GENERALIDADES-

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) pertenece a la subfamilia Lentiviridae de la familia Retroviridae. El genoma de un retrovirus está formado de dos copias idénticas de ARN monocatenario y consta de tres genes principales: gag, pol y env, que codifican la proteína central, la proteína de la envoltura y la proteína enzimática, respectivamente(16).

El VIH infecta al organismo mediante tres vías que son: sexual, parenteral y vertical, primariamente infectan a los linfocitos (17).

Desde 1981, la manifestación inicial del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) se observó en Los Ángeles, Estados Unidos. Al principio era una enfermedad que afectaba a los hombres homosexuales y a los consumidores de drogas intravenosas, y rápidamente se convirtió en una epidemia que perjudicó a millones de personas de todos los continentes (18).

La infección por VIH comienza con una infección primaria sintomática, con similitudes a la mononucleosis infecciosa. Sin embargo, con el paso del tiempo, las manifestaciones clínicas desaparecen gradualmente, sólo para resurgir en forma de complicaciones de la enfermedad (5, 16, 18).

PRUEBAS DE DETECCIÓN DEL VIH EN DONANTES

La intención del tamizaje serológico del VIH es detectar anticuerpos y/o antígenos del virus en un donante. Aunque las pruebas de detección son muy sensibles, la ausencia de anticuerpos antivirales no excluye completamente la infección porque durante la

primera infección está presente la replicación viral pero no hay expresión serológica de anticuerpos anti-VIH. Esta fase puede durar varias semanas y se denomina período ventana (17).

Una prueba de detección reactiva indica la posibilidad de que la sangre esté contaminada. Cualquier resultado reactivo se procesará al menos una vez con la misma prueba de detección. Aunque las pruebas para detectar anticuerpos anti-VIH son muy sensibles, específicas y reproducibles, se debe exigir que las pruebas de detección sean 100% sensibles y al menos 97% específicas (5, 17).

Métodos de tamizaje serológico:

En los centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre las pruebas de tamizaje serológico que se utilizan con mayor frecuencia para detectar anticuerpos y/o antígeno anti-VIH son:

- **ELISA:** contienen varias generaciones; la primera generación utiliza lisados virales, que son antígenos preparados a partir de viriones del VIH. Tienen una sensibilidad alta pero una baja especificidad (17,19).

Posteriormente se desarrollaron pruebas de ELISA de segunda generación que utilizaban antígenos recombinantes preparados mediante ingeniería genética, después se crearon pruebas de ELISA de tercera generación, que utilizaban antígenos péptidos sintéticos producidos mediante síntesis química y por último, se introdujeron las pruebas ELISA de cuarta generación, que no solo detecta anticuerpos, sino también el antígeno p24 del VIH-1 mediante la introducción de anticuerpos monoclonales en el soporte sólido (17,19).

ELISA se caracterizan por una alta sensibilidad (100%), y una buena especificidad (99,5%). La importancia de la clase de antígeno que abarca la prueba corresponde a la especificidad y define la generación; actualmente se encuentran aceptables los ELISA de tercera y cuarta generación. (20) tienen diferentes mecanismos para capturar los anticuerpos: indirecto (considerada por tener alta sensibilidad y menos especificada, suscitando falsos reactivos); competitivo (son altamente específicos); sándwich (aumento de sensibilidad y altamente específicos) y de captura (alta sensibilidad y alta especificidad) (17, 20, 21).

- **Quimioluminiscencia.** - está fundamentada en el principio de emisión luminosa desarrollando de una reacción enzima-sustrato; es por ello, que un resultado no reactivo es más confiable, y específico.; mientras que los resultados reactivos deben constatarse mediante pruebas confirmatorias; y los resultados débilmente reactivos o dudosos se repiten y si en el reproceso se obtiene un valor similar se considerarán reactivos (19, 20).

Estas pruebas tienen limitantes que pueda dar como resultados:

Falsos no reactivos: persona con resultados de tamizaje VIH no reactivos pero que en realidad si tiene la enfermedad. Ocurre con menos frecuencia por la alta sensibilidad que desarrollan las pruebas de tamizaje utilizadas; produciéndose en periodo ventana, terapia inmunosupresora, disfunción de los linfocitos B (1, 7).

Falsos reactivos: persona con resultado de tamizaje VIH reactivas pero que en realidad no tiene la enfermedad. Ocurren con más frecuencia debido a algunas características propias del paciente y del método diagnóstico (calidad de los antígenos y principio técnico) (1, 5).

El tamizaje serológico para la detección de VIH nos permite detectar anticuerpos y antígenos en el donante. Sin embargo, suelen ser muy sensibles, si no existe presencia de anticuerpos contra el virus no prescinde en su totalidad la infección, ya que existe el periodo ventana que es la primera infección donde hay replicación viral sin expresión serológica de los anticuerpos contra el VIH prolongándose por varias semanas. Los resultados de tamizaje reactivos nos señalan que hay probabilidad de sangre infectada, por tal motivo, toda muestra reactiva requiere un reproceso con el tubo primario y otra con la muestra plasma (20, 22).

En la actualidad los resultados de tamizaje serológico que se obtienen juegan un papel primordial y estos son obtenidos de los analizadores siendo las principales metodologías disponibles ELISA y quimioluminiscencia, siendo esta última la de mayor uso y presentando una sensibilidad del 100% y especificidad $\geq 98\%$ (16); pero al ser tan sensible produce casos de resultados falsos reactivos y en menor frecuencia de resultados falsos no reactivos; y debido a las limitaciones de la especificidad un resultado falso reactivo para HIV requiere repetirse y en caso de resultar nuevamente reactivos requiere una técnica confirmatoria (11, 21).

Los resultados falsos no reactivos son de menor frecuencia y pueden ser el periodo ventana inmunológico, pero estos no son reconfirmados si no existe una indicación clínica. (11) En cambio, los resultados falsos reactivos sobre todo en personas sin ningún factor de riesgo como son los donantes de sangre puede ser problemáticos tanto a la pérdida de los hemocomponentes, problemas de administrativos y el impacto psicosocial al donante (9); es por ello la importancia de la descripción de los falsos reactivos que se obtiene con quimioluminiscencia con la finalidad de mejorar la prueba y la detección; proporcionándonos conocimiento para definir la relación entre los valores de S/CO con respecto a la prueba confirmatoria (23); y se podrá justificar

acciones tomadas frente a los equipos utilizados como es el cambio del mismo o algún algoritmo de trabajo para minimizar los falsos reactivos; otra de las razones es para salvaguardar la seguridad del donante ya que al brindarle el resultado genera un impacto de ansiedad y stress; debido a que el resultado de la prueba confirmatoria se demora alrededor de 15 días.

Métodos confirmatorios:

Las pruebas confirmatorias para HIV son usadas para corroborar los resultados reactivos en las pruebas serológicas. Se emplean varias pruebas confirmatorias para determinar la infección por HIV como son: las que utilizan antígenos propios del virus como la inmunoelectrotransferencia o Western Blot (WB), la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y las que utilizan péptidos sintéticos y proteínas recombinantes como los inmunoblots o inmunoensayos en línea (LIA) (24).

La prueba de inmunofluorescencia indirecta la usada por nuestro centro de referencia (INS) por ser de menor costo y fácil de ejecutar (25) (Anexo 1).

En el momento que un resultado da reactivo VIH en la prueba de tamizaje, requiere solicitar la prueba confirmatoria las cuales cuentan con características de alta especificidad (5). Puesto que la inmunofluorescencia indirecta es la prueba confirmatoria con menos periodo de ejecución, con técnica simple, y tiene sensibilidad y especificidad semejante al Western Blot, siendo la más empleada (22); estableciendo a nivel público con el 95 % de las confirmaciones.

Los resultados con positividad por IFI indica un diagnóstico concluyente de la infección por VIH y el negativo indica que no hay infección, teniendo como excepción la exposición actual y reiterativa, solo cuando se genere estas condiciones se sugiere rehacer el ensayo dentro de tres y seis meses según corresponda (1, 23). La técnica de

Western Blot es considerada una prueba altamente específica, pero los costos son demasiados elevados y se aplica primordialmente para ratificar los resultados indeterminados presentados en IFI (26). En efecto si el resultado es positivo corrobora rotundamente la infección; tanto que el negativo indica sin infección, a menos que se halle alguna manifestación actual o reincidente a esta infección; si surgiera esta eventualidad deberá rehacer el ensayo luego de tres y seis meses según corresponda. Sin embargo, si el resultado corresponde a dudoso o indeterminado, esto acontece a la aparición de algunas bandas que no satisfacen los criterios del CDC, aconsejando volver a reprocesar la prueba después de tres y seis meses, determinando los factores de riesgo en cada caso (1, 23); y Line Immuno Assay (LIA) la utilización se encuentra en menor difusión que IFI y WB, pero cabe conocer su performance, puesto que es superior, de lectura estructurada y puede realizarse mediante densitometría en algunos casos (1, 23, 27, 28).

METODOLOGÍA

La monografía se realizó a través de investigaciones retrospectivas, es decir se revisó estudios sobre el tema orientado.

Al iniciar la monografía, se revisaron fuentes primarias en relación al tema, a nivel nacional e internacional.

RESULTADOS

De un total de 250 donantes entre reactivos y no reactivos para para Ag/Ac HIV por quimioluminiscencia, distribuidos proporcionalmente en 50% para cada grupo, se observó que la distribución de los niveles del logaritmo de URL para los grupos es muy

diferenciada, siendo la mediana del logaritmo de URL en el grupo no reactivo igual $ME_{no\ reactivo} = -2.53$ (escala antilogaritmo $ME=0.08$) y para el grupo de reactivo un valor de $ME_{reactivo} = 0.736$ (escala antilogaritmo $ME=2.09$), siendo además muy variable en el grupo de reactivos (Anexo 2).

En base a los casos analizados (Anexo 3), se observó que un 42.9% de las clasificaciones realizadas, corresponden a falsos positivos mientras que un 0% de la clasificación corresponde a falsos negativos.

Por otro lado, se estimó que el porcentaje de verdaderos positivos en la muestra (sensibilidad) fue del $Sen=100\%$, para los verdaderos negativos (especificidad) fue de $Esp=57.1\%$, el valor predictivo positivo $VPP=24.8$ y para el valor predictivo negativo igual a $VPN=100\%$ (Anexo 4).

Finalmente, mediante un análisis ROC para los niveles de URL para la detección de casos positivos para Ag/Ac HIV por Inmunofluorescencia indirecta, se encontró que la capacidad discriminatoria tuvo un índice de $AUC=0.999$ ($IC95: 0.996 - 1.000$).

DISCUSIÓN

En la actualidad, los inmunoensayos de quimioluminiscencia para la detección de Ag/Ac HIV han demostrado ser muy confiables; pero en ámbitos de baja prevalencia se presentan con mayor continuidad resultados falsos positivos (1, 24, 2). Es necesario, que estos resultados requieren una evaluación adicional debido al efecto que produce en los donantes y en la pérdida del suministro de sangre; además, se debe sopesar una atención en el asesoramiento de donantes que reciben estos resultados (30).

A nivel nacional, los bancos de sangre no cuentan con una estandarización en el tamizaje serológico (inmunoensayos quimioluminiscentes y pruebas de ácidos nucleicos) para la detección de Ag/Ac HIV , siendo necesario para confirmar el resultado el uso de Pruebas Confirmatorias; por ello en este estudio, con el propósito de determinar la tasa de falsos positivos para la detección de HIV, se decide evaluar los resultados obtenidos de quimioluminiscencia con los resultados obtenidos de la prueba confirmatoria IFI, sin embargo, se observa que otros trabajos publicados utilizan al Western Blot como prueba confirmatoria (1, 10, 28, 29) y adicionalmente NAT (15, 24).

De las 125 muestras reactivas obtenidas por quimioluminiscencia, se encontró que 42.9% fueron falsos positivos, similar a lo descrito en otros estudios, donde se reportó 46.08% de falsos positivos de un total de 217 casos reactivos analizados (19) y 43.4% de FRP parecido a otros informes para la detección de HIV (2).

Por análisis de Curva ROC, el AUC fue de 0.99 para los resultados Positivos con prueba confirmatoria IFI y el valor de corte optimo obtenido para proporcionar alta sensibilidad y especificidad fue de 46.6; diferente a los obtenido en la región sur de Italia (12), donde se considera que el mejor umbral S/CO es 69 con una sensibilidad y especificidad al 100 % pero la curva de ROC no fue confiable debido a la disminución de muestra positivas, y en comparación con el noreste de China (19); fue mayor; debido a que reporto el punto de corte de 24.4 con igual sensibilidad y especificidad; en todos los casos la tasa de falsos positivos se redujo a 0 en cada valor de corte hallado; pero al sudeste de China (2) se considera que el umbral optimo fue de 8.82 S/CO obteniendo sensibilidad al 100% y VPP del 90.91%.

Por otro lado; no se investigó los factores demográficos ni la edad, donde se considera que personas mayores iguales a 60 años tienen más probabilidad de tener resultado

Falso Positivo que personas menores de 40 años (19); siendo una limitante de nuestro estudio; tampoco se evidencio enfermedades como lo indicaron en otros estudios (29); considerando la asociación de enfermedades para los falsos positivos.

CONCLUSIONES

Lo expuesto a lo largo de esta monografía permite arribar a las siguientes conclusiones:

1. En cuanto a la descripción de falsos reactivos en serología infecciosa HIV.

A pesar de que los donantes de sangre voluntarios son una población de bajo riesgo; aún existe los resultados falsos positivos que conlleva a eliminar unidades de sangre cada año; es por ello, que a partir de la descripción de datos, se encontró que la tasa de los falsos positivos para la detección de Ag/Ac HIV mediante IFI; es similar a los resultados obtenidos en otros trabajos a nivel global, que utilizan Western Blot como prueba confirmatoria.

De esta manera, podemos justificar las acciones tomadas para la reducción de este valor; como es la implementación de estrategias de notificación o el cambio de equipo utilizado en cada institución.

2. Comprender los análisis para la describir la correlación entre pruebas.

Según los resultados encontrados, se describió el valor de corte (S/CO) basado en la sensibilidad y especificidad de la prueba, obteniendo así un valor de corte óptimo para que el Valor Predictivo Positivo aumente y los resultados falsos positivos disminuyan a 0; generando experiencias previas con la prueba confirmatoria IFI utilizada actualmente en los donantes; considerando así, que las donaciones con S/CO superior al óptimo establecido como Positivo sin generar pruebas adicionales o si se considera muy alta la relación S/CO se utilizaría un inmunoensayo adicional.

A partir de los análisis precedentes, es posible vislumbrar la evidencia que ayuda a resaltar información útil y entender los riesgos para apoyar en la toma de decisiones.

3. Conocer la frecuencia de HIV reactivos por IFI y quimioluminiscencia.

Es importante destacar que los resultados de frecuencia de HIV reactivos por quimioluminiscencia son similares con otros autores. Mientras que, en relación a la prueba confirmatoria IFI no cuenta con muchas referencias bibliográficas; sin embargo, se comparó con otros trabajos que utilizan Western Blot como prueba confirmatoria siendo muy dispersa; pero generando datos importantes para futuros trabajos.

RECOMENDACIONES

A pesar de los datos hallados existen diferentes plataformas analíticas, reactivos y algoritmos de trabajo; por tal motivo recomendamos evaluar sus inmunoensayos quimioluminiscentes y la tasa de falsos positivos, publicando sus hallazgos.

Finalmente, existen desafíos asociados con informar los resultados de los donantes, por el tiempo que tarda en resolverse los Falsos Positivos. Por tal motivo, se debe implementar estrategias de notificación y aplazamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ortiz de Lejarazu Leonardo R, Ortega Lafont M, Eiros Bouza JM. Control de Calidad SEIMC. [Online].; 2001.. Disponible en: <https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/serologia/VIHrev02.pdf>.
2. Huang Y, Liu H, Dai S, Lan X, Liu S, Ren X, et al. Evaluation of a two-test strategy for HIV screening in a low-prevalence setting and the indications for optimizing clinical management. *Heliyon*. 2023; 9(9).
3. Campuzano Lupera G, Bajaan Gómez CA, Córdova Cedeño EM, Baque Castro CE. VIH/SIDA: Pruebas y su Efectividad. *RECIAMUC*. 2019; 3(1 : 653-669).
4. Sánchez Frenes P, Sánchez Bouza MdJ, Hernández Malpica S. Las enfermedades infecciosas. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 2012; 59(4).
5. Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. *Enfermedades infecciosas : Principios y practica*. 9th ed.: Elsevier; 2020.
6. Heredia-Salazar LM, Jiménez-Flores JE, Fernández-Mogollón JL, Poma-Ortiz J, Díaz-Vélez C. Proceso de atención a donantes de sangre con pruebas reactivas al tamizaje en un hospital de Lambayeque. *Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo*. 2018; 11(2 : 95 - 101).
7. Kiely P, Stewart Y, Castro L. Analysis of voluntary blood donors with biologic false reactivity on chemiluminescent immunoassays and implications for donor management. *Transfusion*. 2003; 43(5 : 584 - 590).

8. Sheikh AA, Sheikh AS, Sheikh NS, Shan RU, Malik MT, Afridi F. High frequency of false positive results in HIV screening in blood banks. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2004; 16(1: 28 - 31).
9. Thakral B, Saluja K, Sharma R, Marwaha N. Algorithm for recall of HIV reactive Indian blood donors by sequential immunoassays enables selective donor referral for counseling. *Journal of Postgraduate Medicine*. 2006; 52(2 : 106 - 109).
10. Arreguín V, Álvarez P, Simón JI, Valderrama JA, Macías AE. VIH en donadores mexicanos de sangre y el riesgo residual calculado de la transfusión. *Revista de Investigacion Clínica*. 2008; 60(4 : 278 - 283).
11. Rahman M, Khan S, Lodhi Y. Unconfirmed reactive screening tests and. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 2008; 24(4 : 517 - 9).
12. Sommese L, Iannone C, Cacciatore F, De Iorio G, Napoli C. Comparison Between Screening and Confirmatory Serological Assays in Blood Donors in a Region of South Italy. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2014; 28(3 : 198 - 203).
13. Vo MT, Bruhn R, Kaidarova , Custer BS, Murphy EL, Bloch EM. A retrospective analysis of false-positive infectious screening results in blood donors. *Tranfussion*. 2016; 56(2 : 457 - 465).
14. Roy P, Kapoor R, Rawat P, Aggarwal M, Gaur5 R, Anand M, et al. Occurrence of false positivity in a fourth generation (Ag/Ab) HIV. *International Journal of Research in Medical Sciences*. 2018; 6(7 : 2423 - 2429).
15. Wiredja D, Ritchie TA, Tam G, Hogan CA, Pinsky B, Zhang Shi R. Performance evaluation and optimized reporting workflow for HIV diagnostic

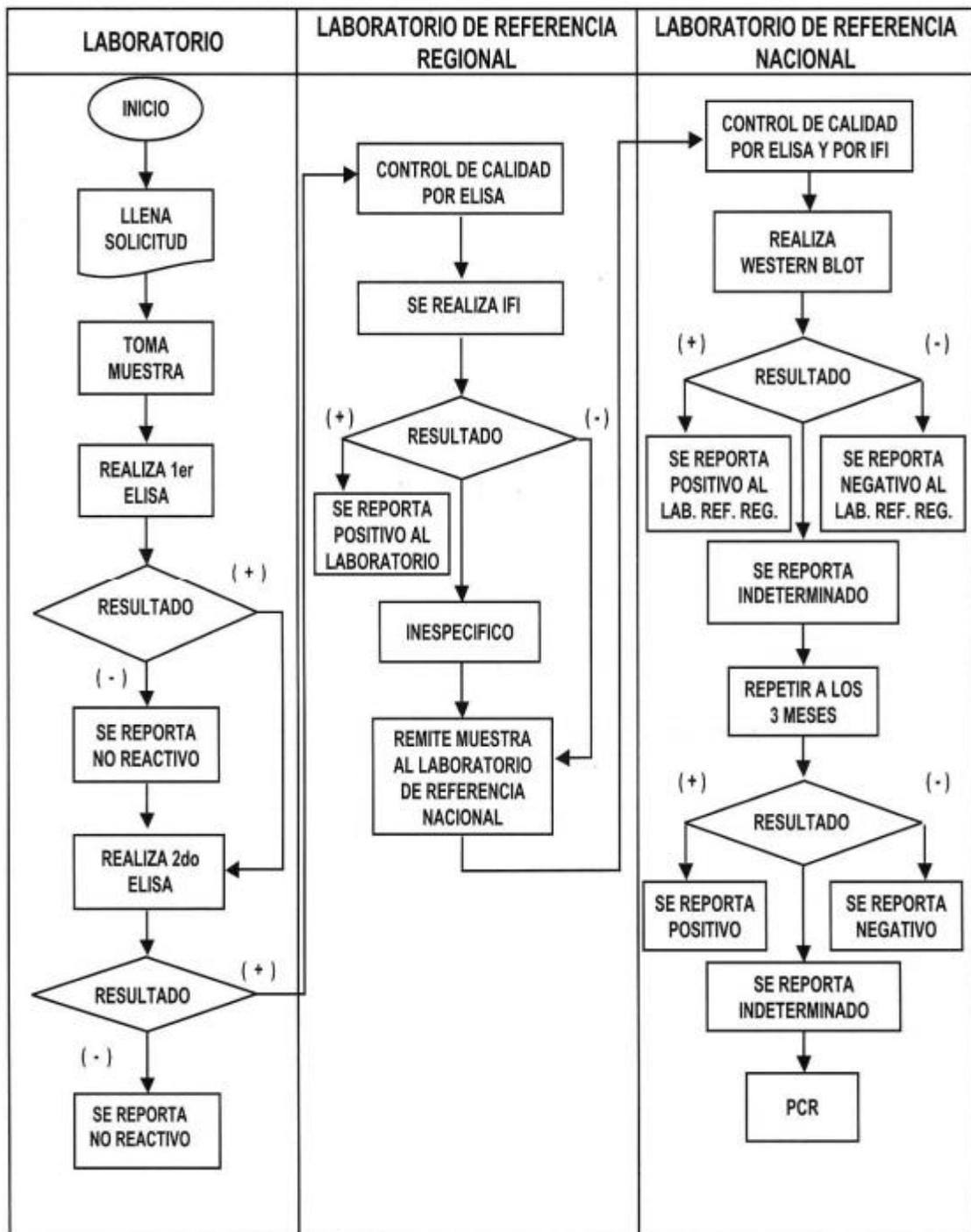
- screening and confirmatory tests in a low prevalence setting. *Journal of Clinical Virology*. 2021; 145(105020)
16. Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL. *Harrison, Principios de Medicina Interna*. 21st ed.: McGraw-Hill; 2022.
 17. Alexander TS. Human Immunodeficiency Virus Diagnostic Testing: 30 Years of Evolution. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2016; 23(4 : 249 - 253).
 18. CHÁVEZ RODRÍGUEZ E, CASTILLO MORENO RDC. Revisión bibliográfica sobre VIH/sida. *Revista Médica MULTIMED*. 2017; 17(4 : 189 - 213).
 19. Wang L, Xiao Y, Tian XD, Ruan Jx, Chen W, Yu Y. HIV infection in Xi'an, China: epidemic characterization, risk factors to false positives and potential utility of the sample-to-cutoff index to identify true positives using Architect HIV Ag/Ab combo. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* volume. 2019; 8(1 : 1 - 9).
 20. Álvarez-Carrasco RI. Interpretación de las pruebas usadas para diagnosticar la infección por virus de la inmunodeficiencia humana. *Acta Médica Peruana*. 2017; 34(4 : 309 - 316).
 21. Jaramillo Tobón AC. 4th generation HIV serology tests, diagnostic molecular biology, and the new HIV testing algorithms. *Medicina*. 2013; 18(1 : 45 - 52).
 22. Ausina V, Catalán V, Cercenado E, Pelaz Antolín C. Procedimientos en microbiología clínica.. *Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2005; 20.
 23. Kim S, Lee JH, Yong Choi , Myung Kim J, Kim HS. False-Positive Rate of a “Fourth-Generation” HIV Antigen/Antibody Combination Assay in an Area of

- Low HIV Prevalence. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2010; 17(10 : 1642 - 1644).
24. Barros Liñan EC. Evaluación de las pruebas confirmatorias disponibles en Colombia para el diagnóstico de la infección por VIH-1: Western blot e inmunoblots de péptidos sintéticos y proteínas recombinantes. Tesis Doctoral.
25. Perú Mds. 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. Norma Técnica.
26. Valverde A, Romero S. Manual de procedimientos para diagnóstico del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1) por inmunofluorescencia indirecta. Valverde A, Romero S. Manual de procedimientos para diagnóstico del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1) por inmunofluorescencia indirecta. Ministerio de Salud. INS. Serie Normas técnicas N° 29-2001.
27. Valverde A, Romero S, Cabezas C. Inmunofluorescencia indirecta como prueba alternativa para la confirmación diagnóstica de infección por VIH en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 1997; 14(1 : 19 - 21).
28. 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. *Revista de la Facultad de Medicina Humana*. 2021; 21(4: 696 - 703).
29. Lin YQ, Gao YL, Wang M, Yan SD, Lin LR. Analysis of the characteristics of patients with false-positive HIV screening assay results. *International Immunopharmacology*. 2022; 105(108556).
30. Kiely P, Hoad VC, Wood EM, Erica M. Wood. *Vox Sanguinis*. 2018; 113(6 : 530 - 539).

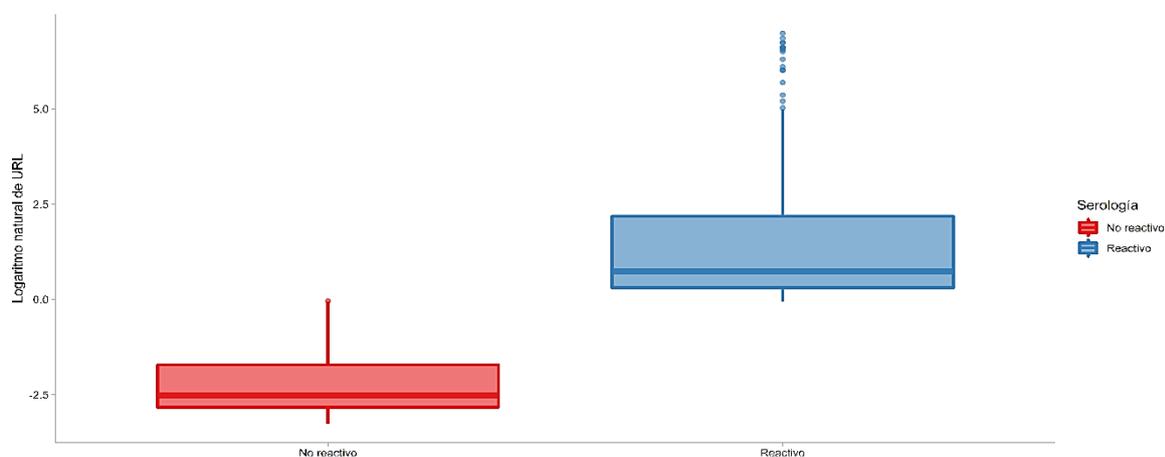
ANEXOS

Anexo 1 - Flujoograma para el diagnóstico de infección por VIH

FLUJOGRAMA PARA EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE INFECCIÓN POR VIH EN LA RED DE LABORATORIOS DE REFERENCIA NACIONAL



Anexo 2 – Distribución de la relación S/CO en logaritmo de las muestras para Ag/Ac HIV, de acuerdo con los resultados obtenidos por Quimioluminiscencia.



Anexo 3 – Valores de Quimioluminiscencia y valores de Inmunofluorescencia Indirecta

Serología	Total		IFI			
	N	%	Negativo	%	Positivo	%
No reactivo	125	50.0	125	57.1	0	0.0
Reactivo	125	50.0	94	42.9	31	100.0

Anexo 4 – Análisis de sensibilidad y especificidad

	Indicador (%) e IC95%
Sensibilidad	100.0 (98.4 – 100.0)
Especificidad	57.1 (50.3 – 63.9)
VPP	24.8 (16.8 – 32.8)
VPN	100.0 (99.6 – 100.0)