

Experiencia en la Implementación de asistencia técnica horizontal a países en para el testeo de VIH

Dr. Freddy Tinajeros Guzmán

Consultor Internacional en ITS/VIH/SIDA

Curitiba, 30 de octubre de 2013

El contenido de la presentación es de responsabilidad del autor y no necesariamente refleja los puntos de vista de CDC o del Gobierno de los Estados Unidos de Norteamérica



Contenido

1. Antecedentes
2. Justificación
3. Selección del tipo de prueba
4. Validación de algoritmos
5. Control de calidad en los laboratorios a nivel descentralizado

Antecedentes

- La creciente epidemia del VIH en Latinoamérica requiere especial atención en el diagnóstico del VIH
- El diagnóstico de VIH necesita mejorar su calidad y los procedimientos para confirmar casos positivos de VIH
- Honduras, Bolivia y Nicaragua, solicitan apoyo para evaluar y actualizar los algoritmos de diagnóstico de VIH

Justificación

- Se han incorporado muchas pruebas de diagnóstico para confirmar un resultado positivo
- Necesidad de contar con diagnóstico de VIH costo-efectivos
- Necesidad de utilizar la evidencia de las bases de datos para la toma de decisiones en lo que se refiere a confirmar un caso positivo de VIH

Objetivos

- Proveer recomendaciones técnicas sobre el algoritmo diagnóstico de VIH basado en la evidencia propia (experiencia de Bolivia, Honduras y Nicaragua)

Metodología

- Se realizó una revisión de las pruebas y algoritmos de VIH en visita a los laboratorios de los países
- Se visitaron laboratorios o centros VCT que contaban con médicos y técnicos y los equipos necesarios para realizar la prueba ELISA y/o pruebas rápidas, según necesidad

Metodología (cont. 1)

- Los laboratorios de referencia de más alto nivel realizan pruebas adicionales para confirmar todas las muestras reactivas identificadas en las otras instalaciones
- Realizan pruebas diagnosticas de muestras provenientes de clientes que acuden directamente a estos laboratorios de referencia

Metodología (cont. 2)

- Se identificaron elementos en común que impactan un algoritmo con muchas pruebas para confirmar un diagnóstico
- Se revisaron los datos de registros de resultados de Pruebas Rápidas para VIH, Pruebas de ELISA y su concordancia con los resultados de Western Blot para VIH
- Para el desarrollo de la propuesta, nos basamos en la evidencia existente en cada departamento y en cada Laboratorio de Referencia Regional

- Los sitios carecían de información adecuada de los análisis
- El registro de las pruebas variaba entre sitios
- La información no se registraba consistentemente en el libro de registro, la mayoría de las veces se anotaba el resultado final en lugar de los resultados de las 2 o 3 pruebas individuales
- La falta de nombres de los kit de prueba, números de lote y fechas de expiración hace imposible identificar o tener acceso a los problemas

37	N-reactif	N-reactif	negatif
38	N-reactif	N-reactif	negatif
39	N-reactif	N-reactif	negatif
40	N-reactif	N-reactif	negatif
41	N-reactif	N-reactif	negatif
42	N-reactif	N-reactif	negatif
43	N-reactif	reactif	positif

Serial No.	Code No.	Date	Age	Sex	Result		Remark
					Positive	Negative	
5461		4/6/2000	48	M	✓		
5462		11		M	✓		
5463		11	18	F		✓	
5464		11	22	M	✓		
5465-A		11	32	F		✓	
5465-B		11	30	M		✓	
5466		11	24	M		✓	
5467		11	34	F	✓		

Fortalezas

- La calidad de pruebas y procesos de VIH en todos los sitios fue buena
- Existe seguimiento en profundidad de las muestras reactivas de VIH para confirmar su condición de seropositividad
- Casi todos los laboratorios indicaron que existe 100% de concordancia entre sus resultados y las series de pruebas realizados
- Solamente en un o dos sitios se tuvo discordancia, con una prueba reactiva positiva y Western Blot negativa

Fortalezas

- Las instalaciones que utilizaban la prueba ELISA usan Vironostika HIV-1-2-0 ELISA (Bio Merieux) y las pruebas rápidas utilizadas son VIH Determine (Abbott, ahora Inverness). Este hecho da consistencia en todo el país
- Por lo menos dos estudios comparativos realizados entre ELISA y la prueba rápida indican 100% de concordancia de resultados positivos y negativos
- Algunos Laboratorios están comenzando a utilizar la prueba rápida como la prueba principal

Fortalezas

- Los supervisores y el personal de laboratorio se desempeñan con un alto grado de profesionalismo y
- Tienen alto grado de conocimiento y compartieron datos y experiencias sin reservas
- Abiertos a las sugerencias y posibilidades de mejorar el algoritmo para VIH para que sea mas eficiente, ágil y costo-efectivo, a la vez manteniendo su eficacia y calidad
- Como medida adicional de evaluación de calidad, todos los laboratorios participan en el programa de evaluación

Debilidades

- El algoritmo de VIH era en:
 - Bolivia complejo e incluía muchas pruebas, que a través de ELISA o de prueba rápida incluía
 - a) hasta 5 a 6 pruebas ELISA y 4 rápidas
 - b) 2 a 3 muestras de sangre; y c) pruebas adicionales utilizando Western blot para confirmar los resultados reactivos iniciales.
- Esto demora y requiere trabajo manual y muchos recursos para confirmación
 - Nicaragua hasta 12 pruebas para confirmar un caso positivo y 1 mes
 - Honduras cuando se revisó hasta 8 pruebas y 30 días

Debilidades

- Durante la revisión en Honduras, Bolivia y Nicaragua:
 - A pesar de un acuerdo general sobre el manejo del flujo para las pruebas reactivas, existían diferencias en algunos detalles, incluyendo:
 - Número de pruebas rápidas
 - Número de repeticiones de ELISA realizadas en cada laboratorio
 - Toma de nuevas muestras de sangre (hasta 3).
 - El antiguo algoritmo no incluía el uso de las pruebas rápidas como resolución en la mayoría de casos, lo cual:
 - No permitía la expansión del uso de la prueba rápida en zonas o sitios donde el uso de ELISA no era práctico (bajo volumen de pruebas) o no es posible (zonas rurales).

Debilidades

- Los registros de los laboratorios no eran manejados de una manera que permite una rápida revisión o análisis de los datos
- La mayoría de los registros estaban en cuadernos, los cuales varían de sitio en sitio
- El manejo eficiente de datos y registros puede permitir mayores niveles de análisis y toma de decisiones a base de evidencia real.
- Algunos de los laboratorios tenían infraestructura deficiente y faltan instalaciones adecuadas para las pruebas y la bioseguridad.
- No habían recibido capacitaciones recientes en las pruebas de VIH, manejo de datos, calidad y otros temas.

Recomendaciones

- Los nuevos algoritmos para realizar el proceso de pruebas de VIH deberían ser:
 - Sencillos
 - Costo-efectivos y
 - Basados en la evidencia
 - No usar ELISA o de la misma marca o configuración para confirmar (no brinda información adicional)
- El nuevo algoritmo debería incorporar dos diferentes marcas de pruebas ELISA para aumentar el valor predictivo positivo y a la vez rebajar costos.

Recomendaciones (cont. 1)

- Los algoritmos deben tomar en cuenta:
 - El volumen de pruebas realizadas,
 - Experticia técnica
 - Disponibilidad de infraestructura para laboratorios y equipamiento.
- Los sitios con mayor grado de volúmenes, experticia y equipamiento deben utilizar el Algoritmo 1 para ELISA.
- Los que tienen bajos volúmenes, grados de experticia y/o equipamiento deben seguir los algoritmos diseñados para la prueba rápida (Algoritmo 2 o 3).

Recomendaciones (cont. 2)

- El manejo de los datos en todos los laboratorios debe ser consistente para todos los sitios de pruebas.
- Sugerimos el uso de una base de datos estandarizado, utilizando hojas de calculo Excel o una base en línea, lo cual permitirá el monitoreo y evaluación periódico.
- Financiamiento y otros recursos (ej. personal) deben ser provistos al Laboratorio Nacional para continuar y aumentar su programa evaluaciones externas de calidad

Recomendaciones (cont. 3)

- Implementar el libro de registro estandarizado en los sitios donde se realicen pruebas, el cual es importante para el monitoreo y la mejora de la calidad de las pruebas
- Incorporar herramientas simples, como la muestra seca en tubo, para los programas de proficiencia
- Garantizar personal y recursos dedicados al manejo de las actividades del aseguramiento de la calidad

Libro de registro

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Serial No.	Client or Specimen ID	Age (Yrs)	Sex	Date Tested	TEST 1 Kit Name Determine X1180 Lot No. Sept 2009 Exp. Date	TEST 2 Kit Name Unigold U-22111 Lot No. June 2009 Exp. Date	TEST 3 Kit Name Lot No. Exp. Date	FINAL RESULTS	Operator Name / Initials	Sent for Further QA Testing	Date Sent	Final QA Results	Date Received	Comments
1			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input checked="" type="checkbox"/>		P N I		
2			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
3			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
4			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
5			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
6			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
7			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input checked="" type="checkbox"/>	3/3/08	P N I	10/3/08	Neg on 2 EIAs
8			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
9			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
10			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
11			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
12			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
13			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
14			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
15			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
16			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
17			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
18			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input checked="" type="checkbox"/>		P N I		
19			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input type="checkbox"/>		P N I		
20			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input checked="" type="checkbox"/>		P N I		

PAGE TOTAL

Total Tested
Total Reactive/Positive
Total Non-Reactive/Negative
Total Invalid (or Indeterminate)

20	20	20	3
4	3	3	3
16	17	16	1
0		1	1

R = Reactive, NR = Nonreactive, and I = Invalid

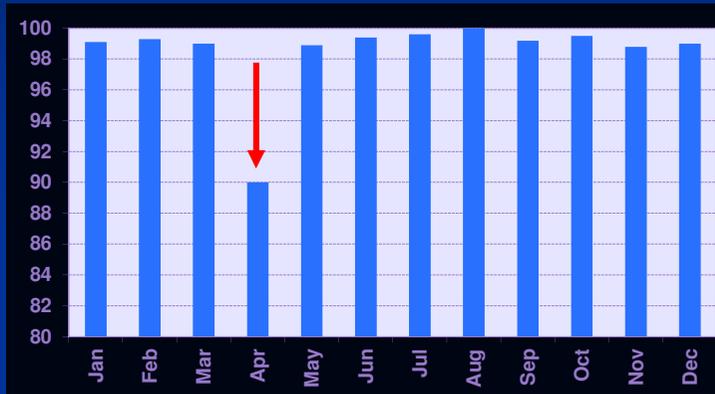
P = Positive, N = Negative and I = Indeterminate

El uso de un libro de registros permite:

- Capturar toda la información importante
- El mismo formato en todos los sitios donde se realiza la prueba
- Los elementos del aseguramiento de la calidad están incluidos
- Es fácil de revisar

Usando los datos del libro de registro para evaluar la calidad de las pruebas rápidas

El mismo sitio a través del tiempo



Diferentes operadores



Diferentes sitios



Algoritmo diagnóstico



% de concordancia entre prueba 1 y 2

Registros estandarizados como herramienta de aseguramiento de la calidad

Libro de registro estandarizado para ser usado en todos los sitios donde se realicen pruebas de VIH

- Simple y práctico
- Monitorea y mejora la calidad de los análisis
- Reduce el costo operacional y las necesidades de recursos humanos

Calidad de los kits de pruebas rápidas de VIH

- La OMS implementó un programa de pre-calificación realizado en su Centro de Colaboración en Bélgica, desde 2001
- USAID, en colaboración con CDC, desde el 2006, un programa de validación del kit de prueba para que los países apoyados por PEPFAR tengan acceso a un kit de prueba que aún no han sido aprobados por la FDA, pero que cumplen con los requisitos de desempeño.



USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE

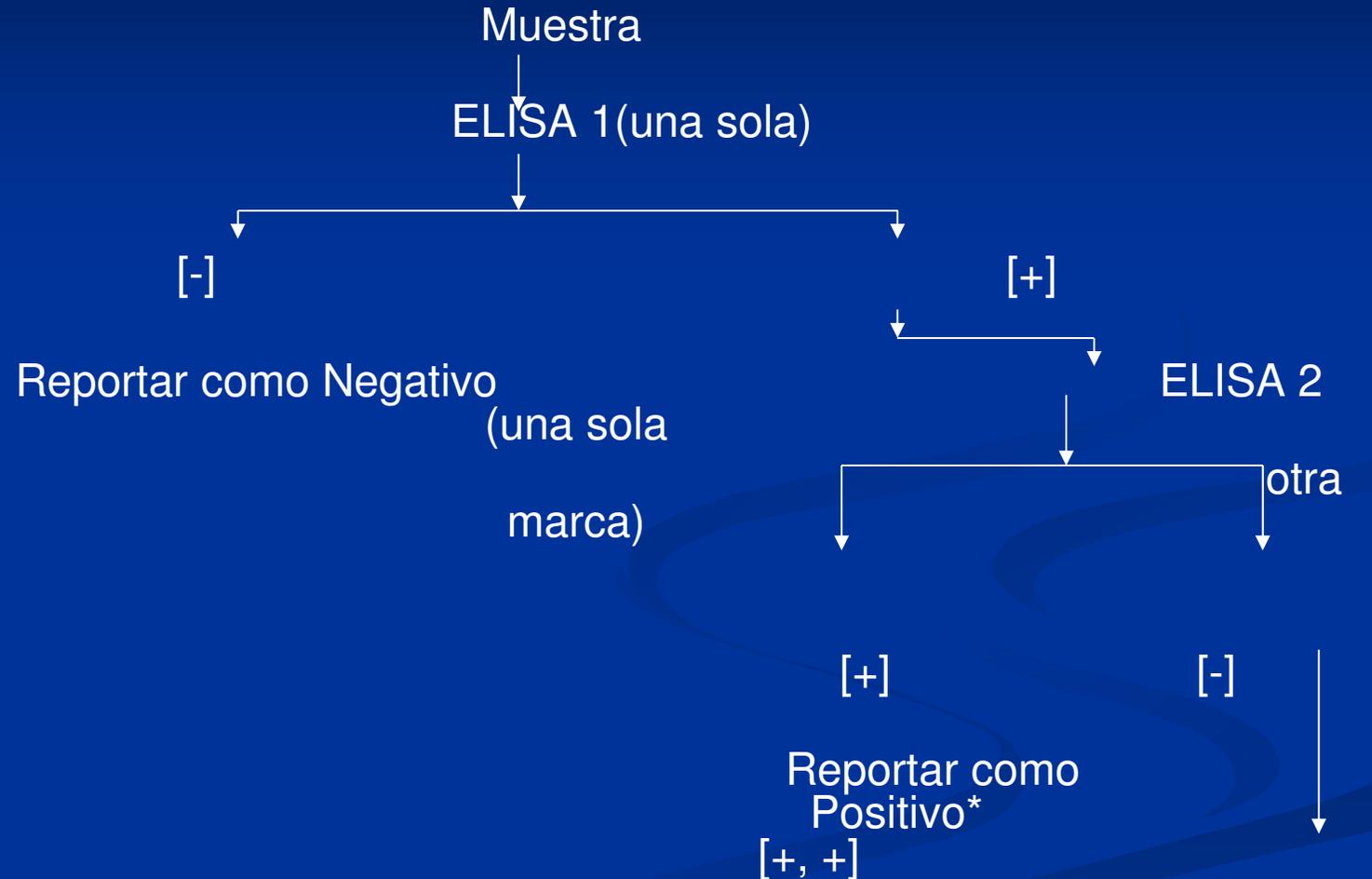
USAID List of Approved HIV/AIDS Rapid Test Kits - February 23, 2010

	Test Kit Name	Supplier	Approved by
1	ACON® HIV 1/2/0 Tri-line	Inverness Medical Innovations, Inc.*	USAID
2	Aware™ HIV-1/2 BSP	Calypte Biomedical*	USAID
3	Bioline HIV 1/2 3.0	Standard Diagnostics	USAID
4	Bionor™ HIV-1&2	Bionor A/S	USAID
5	Bundi™ Rapid HIV 1/2	Bundi International Diagnostics Ltd.	USAID
6	Calypte® Aware™ HIV-1/2 OMT	Calypte Biomedical Corp.*	USAID
7	Capillus™ HIV-1/HIV-2	Trinity Biotech	USAID
8	Care Start™ HIV 1-2-O	Access Bio, Inc.*	USAID
9	Clearview® COMPLETE HIV1/2 (formerly SURE	Inverness Medical Innovations, Inc.*	USAID
10	Clearview® COMPLETE HIV1/2 - US labeling** (formerly SURE CHECK® HIV1/2)	Inverness Medical Innovations, Inc.*	FDA
11	Clearview ® HIV 1/2 STAT-PAK® Assay - US labeling (formerly HIV 1/2 STAT-PAK® Assay - US labeling)**	Inverness Medical Innovations, Inc.*	FDA
12	Combaid RS Advantage	Span Diagnostics Ltd.	USAID
13	Determine™ HIV-1/2	Inverness Medical Innovations, Inc.* / Abbott Laboratories*	USAID

http://www.usaid.gov/our_work/global_health/aids/TechAreas/treatment/hiv_tests.pdf

Algoritmo 1

[Para Laboratorios que realizan ELISA]



Enviar al Lab de Ref.
para otros tests

Comentarios Algoritmo 1

1. ELISA 1 y ELISA 2 deben usar dos kits que utilizan diferentes principios/reactivos o que son de diferentes fabricantes.
2. Muestras con [-] se reportan como negativas.
3. *Muestras con valores altos de DO (>1.0) y con resultados positivos en ambas ELISAS [+,+] pueden ser reportadas como positivas sin necesidad confirmación, y no tienen que ser enviados al laboratorio de referencia.
4. Las muestras con valores altos de DO siempre salen positivas en Western blot, así que realizar el Western blot no agrega mas valor al diagnostico – solo agrega mas costo y tiempo (ver análisis).
5. Las muestras con [+,-] o [+,+] pero con valores bajos de DO en una o ambas pruebas ELISA deben ser enviadas al Laboratorio de referencia para pruebas adicionales, incluyendo Western blot, si esto parece justificado.
6. A todos los clientes que salen indeterminados con Western blot se les debe pedir que vuelvan a testearse en 30 días para evaluar si están en fase de sero-conversión y para determinar su estado serológico.
7. Un patrón de incrementos o en el valor de DO en ELISA y/o banda de WB puede sugerir un estado de sero-conversión temprana.

Comentarios Algoritmo 1

1. Aunque la confirmación a través de Western Blot no será necesaria con dos pruebas rápidas positivas, continuara para almacenar evidencia, los datos recogidos durante los primeros 6 meses se utilizarán para verificar si la confirmación con Western Blot sigue siendo necesaria.
2. PR-1 y PR-2 son dos pruebas rápidas distintas (marca/reactivo) con alta sensibilidad y especificad
3. Existen varias pruebas rápidas que reúnen estas características y que pueden ser escogidas de la lista de pruebas recomendadas
4. Los datos generados en Bolivia sugieren un rendimiento equivalente comparando Abbott Determine (PR) y ELISA.
5. El valor predictivo de dos pruebas rápidas con resultados verdaderamente positivos es muy alto y probablemente no requerirá confirmación de Western Blot.
6. Cualquier resultado débil o discordante de una PR requiere la confirmación del Laboratorio de Referencia

Algoritmo 3 (paralelo)

(para PTVMN, salas de emergencia o laboratorios de mayor volumen)

Sangre total/Pinchazo en el dedo

PR-1 and PR-2

[-, -]
Reportar
como Negativo

[+, +]
Reportar
como Positivo

[+, -]
Enviar al
Lab. Ref.

Ventajas del Algoritmo con base a Pruebas Rápidas (3)

- Resultados entregados el mismo día o la misma hora
- Mezcla/equivocación de muestras improbable
- Alto porcentaje de resultados comunicados a los clientes (no hay pérdidas por el tiempo de espera)
- Se puede combinar la prueba con consejería – aumenta la prevención para negativos y positivos
- Menos costo – mas gente puede acceder a la prueba
- Las Pruebas Rápidas se mantienen estables por hasta u1 año a temperaturas ambientales (comparada con la ELISA – con 6 meses o menos a 4 C)
- Es mas sencillo y mas barato realizarla, por lo tanto el uso y acceso a las PR puede ampliarse con menos costo
- Posible en áreas donde no hay infraestructura de laboratorio

Evaluación Externa de la calidad

- A. La participación en programas externos de análisis de proficiencia
- B. Re-análisis de un set de muestras en otro laboratorio competente o en un lugar de más alto nivel
- C. Visitas de supervisión realizadas por expertos

Programas de Proficiencia

- Los programas proficiencia utilizan muestras de suero y plasma que requieren estrictas condiciones de almacenamiento y transporte
- Para superar el problema de transporte con cadena de frío y los problemas en la entrega de los paneles se desarrolló una metodología de muestra seca en tubo (DTS)

Muestras secas en tubo (DTS)

1. Agregue tintura verde al suero o plasma (concentración final %)



2. Transfiera 20 µl de muestra al tubo.



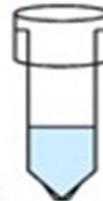
3. Deje secar durante la noche a temperatura ambiente



4. Tápelolo y guárdelo a 4°C.



6. Déle golpecitos para mezclar y deje que repose durante la noche



7. Déle golpecitos para mezclar y utilícelo para realizar la prueba rápida del VIH o EIA



5. Antes de hacer la prueba, agregue 200 µl de solución buffer PT (PBS Tween).

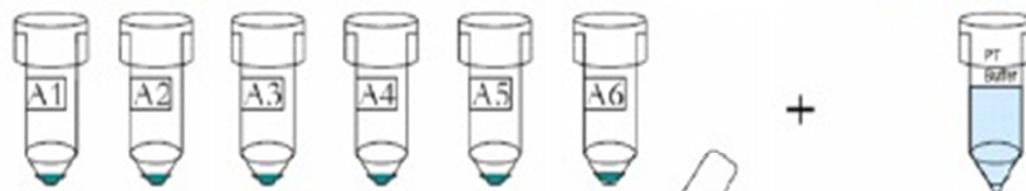


Instrucciones para análisis con DTS

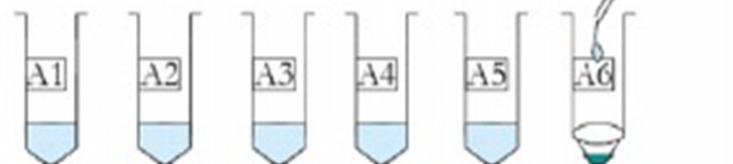
Seis muestras PT (A1 a A6)

(Asegurese de tener los gránulos verdes en el fondo del tubo)

1 vial de amortiguador PT



Agregue exactamente 7 gotas de solución amortiguadora PT a cada tubo

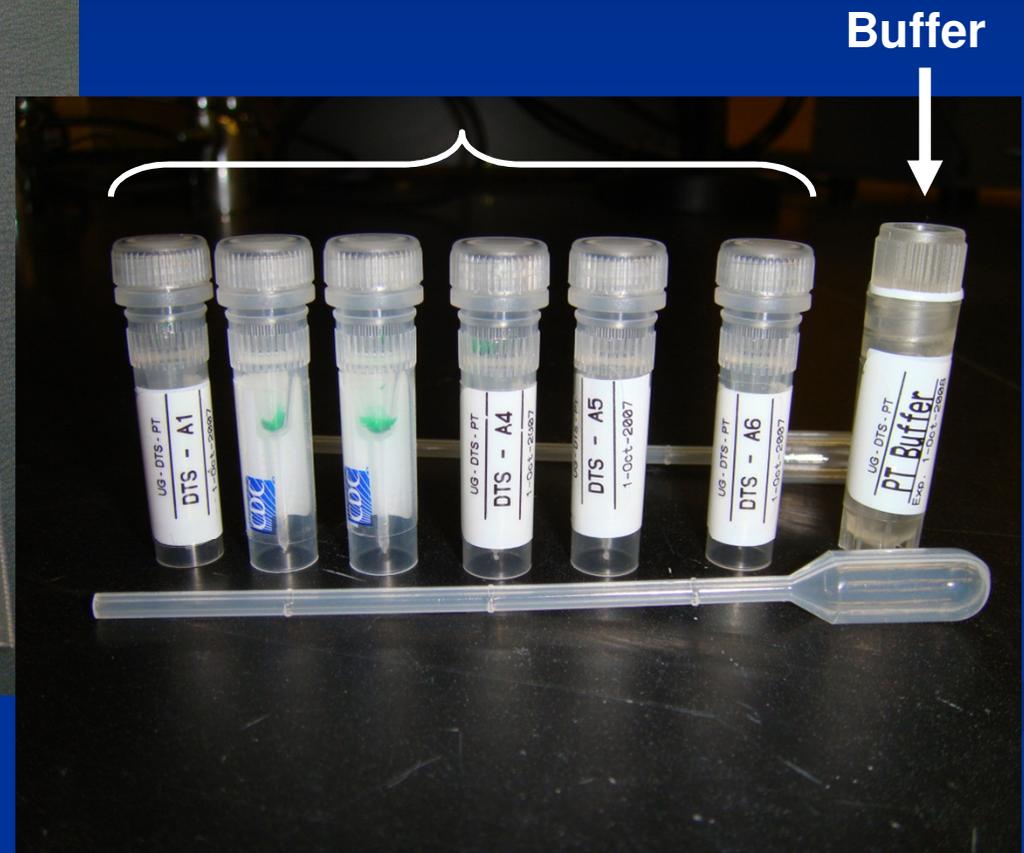
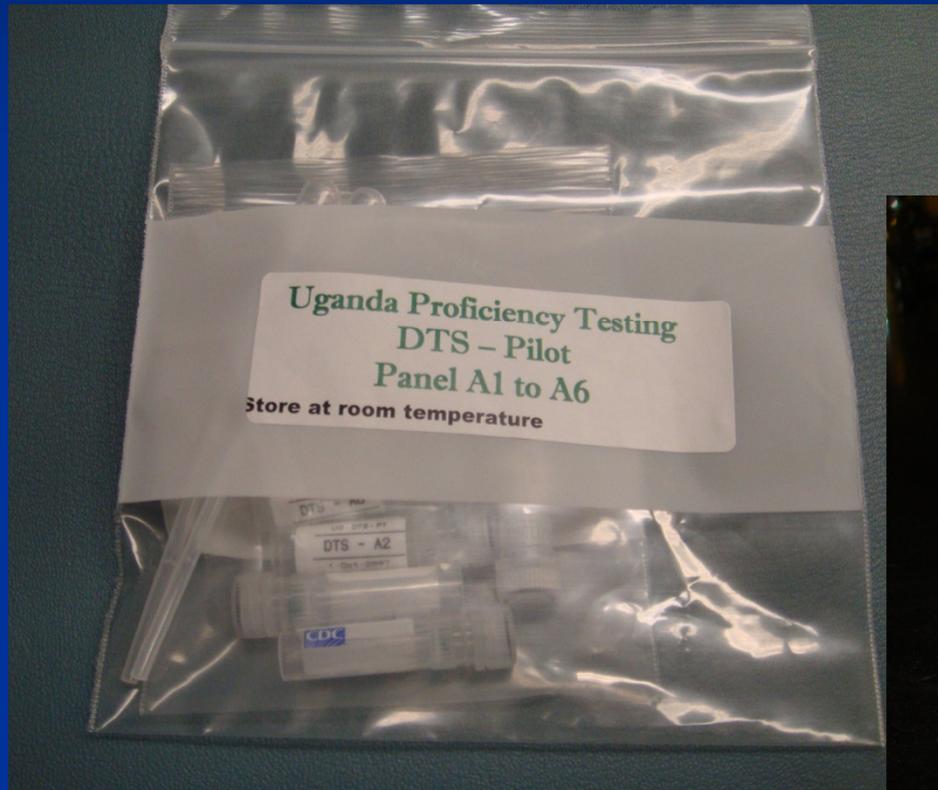


Tape los tubos, déles golpecitos suaves para mezclar bien e incube a temperatura ambiente toda la noche

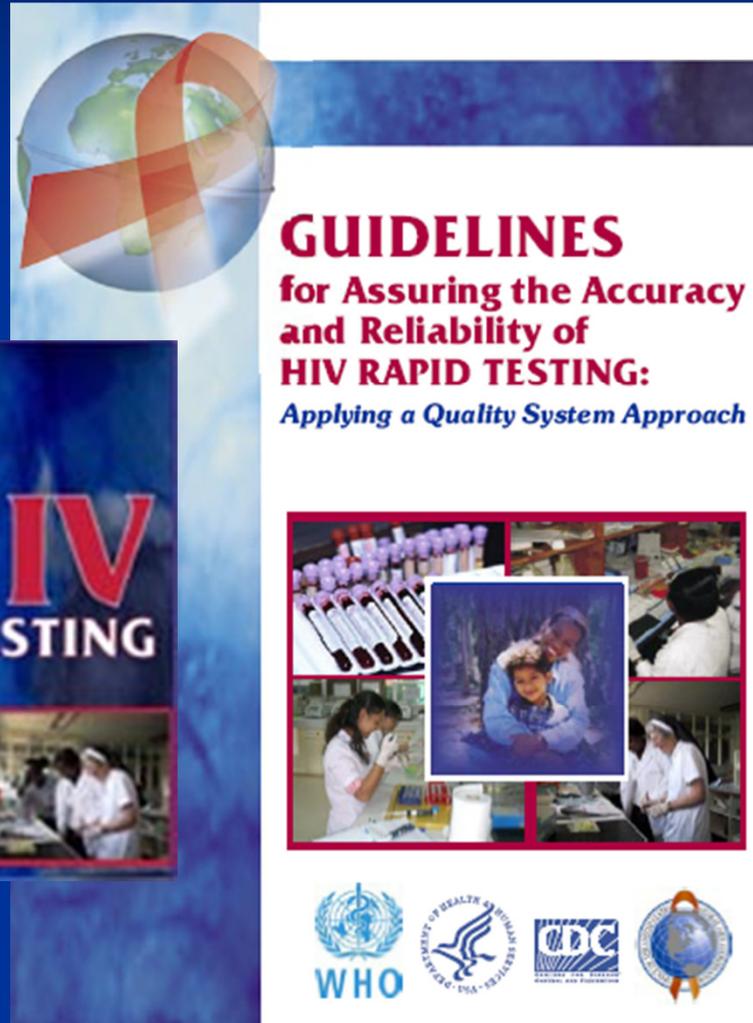


Al día siguiente, déles golpecitos suaves a los tubos para mezclar el contenido y lleve a cabo el RT según el algoritmo

Paquete de un de panel de proficiencia de DTS



Guías y materiales de capacitación



GUIDELINES
for Assuring the Accuracy
and Reliability of
HIV RAPID TESTING:
Applying a Quality System Approach



WHO
PAHO
CDC
UNAIDS



HIV
RAPID TESTING



Guidelines for
Appropriate Evaluations of
HIV Testing Technologies
in Africa



World Health Organization
Regional Office for Africa



DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES
Centers for Disease Control and Prevention

Materiales del CDC disponibles

- ❑ *Lista de pruebas rápidas aprobadas (USAID), última edición*
- ❑ *Paquete de entrenamiento de PR (Enfocado en aseguramiento de la calidad)*
- ❑ *Capacitación práctica de PR*
- ❑ *Modelo y guía para el libro estandarizado de registros*
- ❑ *Guías para la implementación de un programa de PT usando DTS*
- ❑ *POEs relevantes*
- ❑ *Herramientas para monitorear y evaluar el progreso*
- ❑ *Literatura*

- Parekh, B., Mireille B. Kalou, M., Alemnji, G., Ou, CY., Gershy-Damet, GM., and Nkengasong, J. Scaling Up HIV Rapid Testing in Developing Countries. *Am J Clin Pathol* 2010;134:573-584
- Guía practica para la implementación de pruebas de diagnostico del VIH fiables y eficientes, Región de América, OPS, noviembre 2007

Resultados finales del apoyo en red

- Implementación de los nuevos algoritmos de VIH en Honduras, Bolivia y Nicaragua
- Publicación de los nuevos algoritmos en las normas para el diagnóstico de VIH
- Implementación de control de calidad periódico a los laboratorios que realizan la prueba de VIH
- Compra de insumos basado en los listados de la OMS

Conclusiones

- Es posible la cooperación técnica horizontal para validación de algoritmos
- La experiencia de un país puede servir a otros
- El trabajo en equipo de expertos facilitan la evaluación y credibilidad en los países
- La gestión local y de políticas públicas es clave para dejar los algoritmos plasmados en las normas nacionales

Desafíos

- Evaluar los algoritmos dentro de un tiempo
- Incorporar programa de proficiencia del diagnóstico de VIH
- Incluir presupuesto para control de calidad
- Entrenamiento del personal y certificación de los laboratorios

Obrigado