

“V Taller Internacional Pruebas de Diagnóstico con Calidad Asegurada y Accesibles para Programas de Salud Pública”

# Herramienta simple y práctica para el monitoreo y mejoramiento de la calidad de pruebas rápidas de VIH

Freddy Tinajeros MPH, PhD  
Consultor en ITS/VIH y SIDA  
Miembro de ALADDIV

Lima, 14 y 15 de mayo de 2015

# Pruebas Rápidas de VIH

- Miles de sitios para pruebas
- Miles de personas haciendo pruebas
- Competencia del operador?
- Problemas con los kits de pruebas (vigilancia post mercadeo)
- Cuestiones específicas del lugar (por ejemplo, almacenamiento)
- Monitoreo de la calidad?
  - El mayor desafío

# Areas Críticas

- Mejora de la formación del personal
- Entrenamiento en elementos de aseguramiento de la calidad
- Mantenimiento de registros, simple pero estandarizado
- Programa de ensayos de aptitud simplificado
- Continúa el monitoreo y seguimiento
- Recursos y personal dedicados una Red de Laboratorios de Referencia

# Mantenimiento de registros detallado

- Ejemplos de lo que no se debe hacer  
¿Por qué es importante?
- Mantenimiento de registros = QA
- Cómo - plantilla

# Mantenimiento de registros - Ejemplo 1

A handwritten ledger on grid paper with four columns. The entries are as follows:

	N-reactif	N-reactif		negatif
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	reactif	positif

- Columnas dibujados a mano (lo más común)
- Sin título de la columna
- No hay datos sobre los clientes o los kits de prueba



# Mantenimiento de registros – Ejemplo 2

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	28	M	✓		
	5465-A	11	32	F		✓	
	5465-B	11	30	M		✓	
	5466	11	24	M		✓	
	5467	11	34	F	✓		

- Columnas impresas con encabezamientos
- No hay datos sobre los kits de prueba (nombre, lote #, fecha de caducidad, etc.)
- Número de pruebas utilizadas o algoritmo
- ¿Quién realiza la prueba?

# Problemas de calidad

- Lo que funciona y lo que necesita mejorar
- ¿El algoritmo de pruebas está funcionando bien?
- ¿Cómo usted proporciona alguna orientación?
- ¿Cómo se puede solucionar?
- ¿Cómo se compara este sitio con otros sitios de pruebas?

# Libro de registro estandarizado

- Desarrollo de un libro de registro estandarizado
- Captura de la información importante
- Mismo formato en todos los sitios de prueba
- Elementos de control de calidad son parte de este cuaderno de bitácora
- Fácil de opinar
- Posibles problemas pueden ser identificados
  - Los kits de ensayo (por ejemplo, el rendimiento, expiró kits)
  - Algoritmo (si esta trabajando bien)
  - Personal
  - Sitios



# Plantilla de libro de registro estandarizado primera página

Testing Site Name : \_\_\_\_\_

Testing Site Type (circle)

- VCT
- Mobile VCT
- TB Center
- Antenatal Clinic (PMTCT)
- Outpatient Clinic
- Hospital Name : \_\_\_\_\_
- Other (specify) : \_\_\_\_\_

Location : \_\_\_\_\_

Algorithm (circle)

- 2-test
- 3-test

Algorithm (circle)

- Serial
- Parallel

Logbook Start Date : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Logbook End Date : \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Logbook Number (1, 2, ...) : \_\_\_\_\_

# Plantilla de libro de registro estandarizado

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			TEST 2			TEST 3			FINAL RESULTS	Operator Name / Initials	Sent for Further QA Testing	Date Sent	Final QA Results	Date Received	Comments
					Kit Name	Lot No.	Exp. Date	Kit Name	Lot No.	Exp. Date	Kit Name	Lot No.	Exp. Date							
1			M F		R NR I	R NR I	R NR I	P N I		<input 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 type="checkbox"/>		P N I								
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 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 type="checkbox"/>		P N I								

PAGE TOTAL

Total Tested

Total Reactive/Positive

Total Non-Reactive/Negative

Total Invalid (or Indeterminate)


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

P = Positive, N = Negative and I = Indeterminate

# Plantilla de libro de registro estandarizado

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 KI: Name Lot No. Exp. Date	TEST 2 KI: Name Lot No. Exp. Date	TEST 3 KI: Name Lot No. Exp. Date	FINAL RESULTS	Operator Name / Initials	Sent for Further QA Testing	Date Sent	Final QA Results	Date Received	Comments
			M F		Determine KI: Name X1180 Lot No. Sept 2009	Unigold KI: Name U-22111 Lot No. June 2009								
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		
4	3		3	3	3
16	17		16		1
0			1		

R = Reactive, NR = Non-reactive, and I = Invalid

P = Positive, N = Negative and I = Indeterminate

# Preparación de resumen semanal / mensual y anual (algoritmo paralelo)

	Test 1	Test 2	% Agreement	EQA	Final status
# Negative	945	945	100%		945
# Positive	55	Pos 53 Neg 2	=53/55 96.4%	Pos 53 Neg 2	Pos 53 Neg 2
Total tested	1000	1000	=998/1000 99.8%		1000

# Preparación de resumen semanal / mensual y anual (algoritmo en serie)

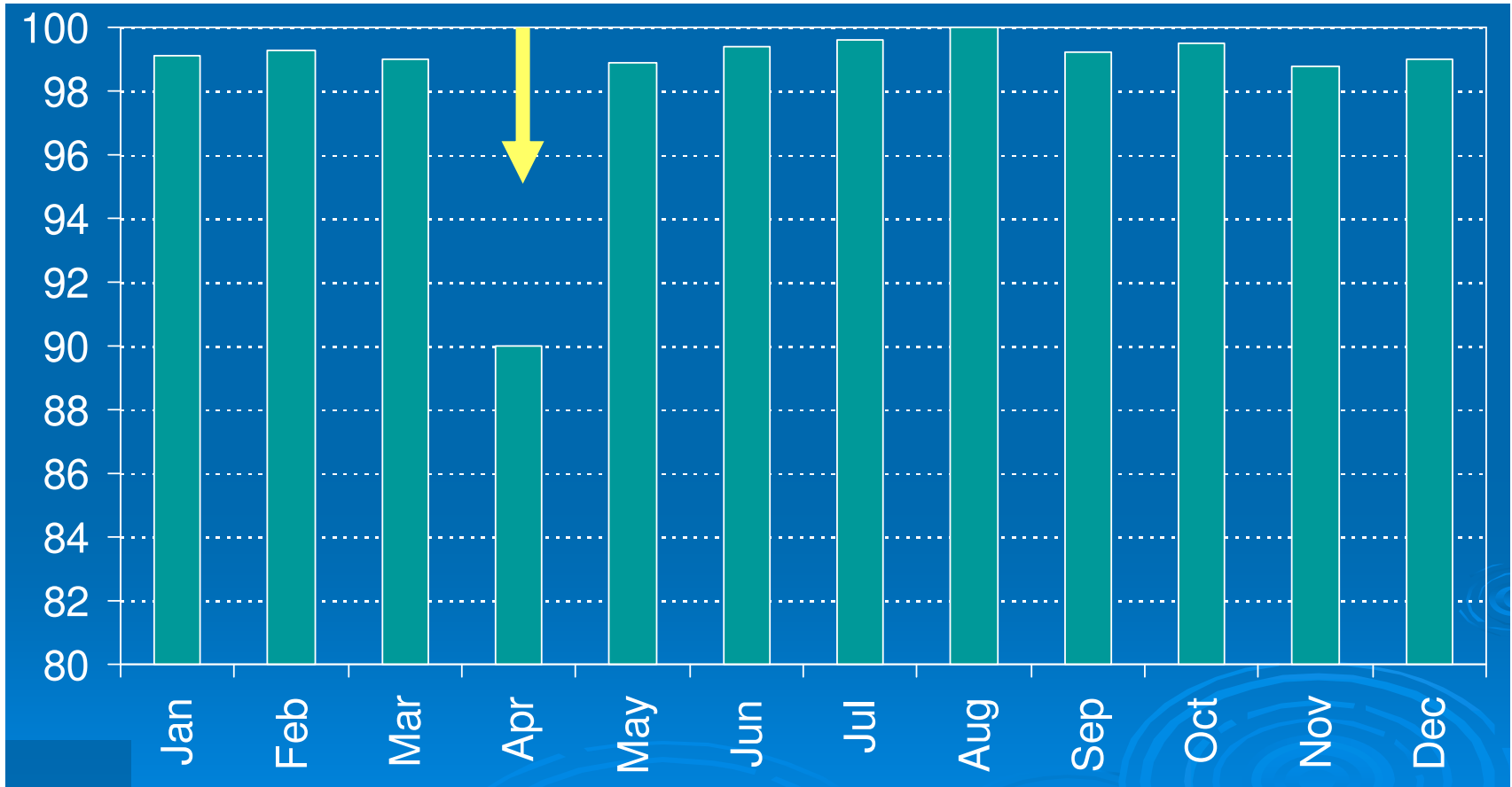
	Test 1	Test 2	% Agreement	EQA	Final status
# Negative	945		100% (assumed)		945
# Positive	55	Pos 53 Neg 2	=53/55 96.4%	Pos 53 Neg 2	Pos 53 Neg 2
Total tested	1000	1000	=998/1000 99.8%		1000

# Monitoreo de control de calidad en curso

- Rendimiento en un sitio en el tiempo
- Comparación de pruebas realizada por el personal
- Comparación del rendimiento del sitio diferente
- Validez del algoritmo de la prueba

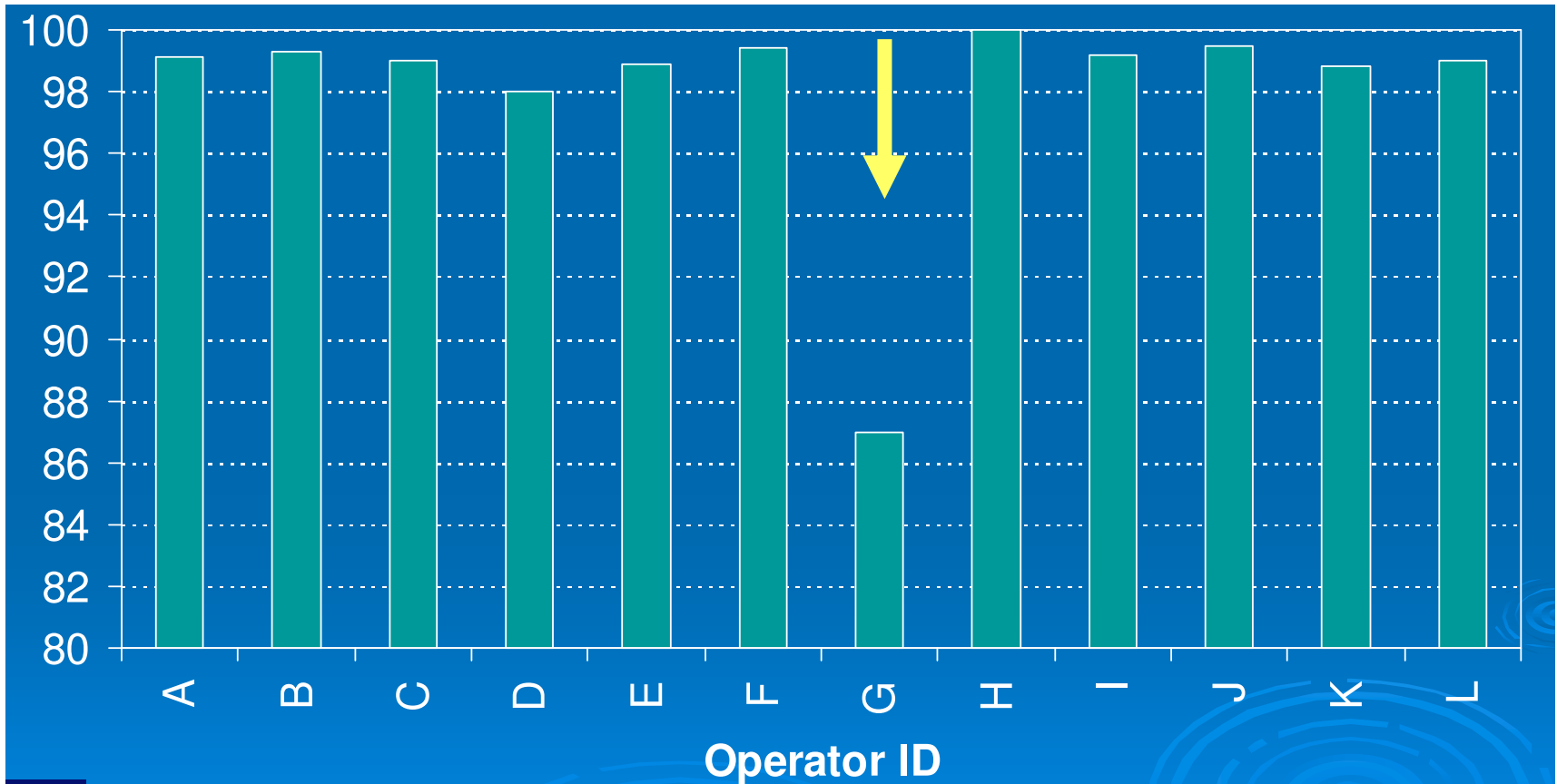


# Tasa de concordancia mensual Sitio Individual



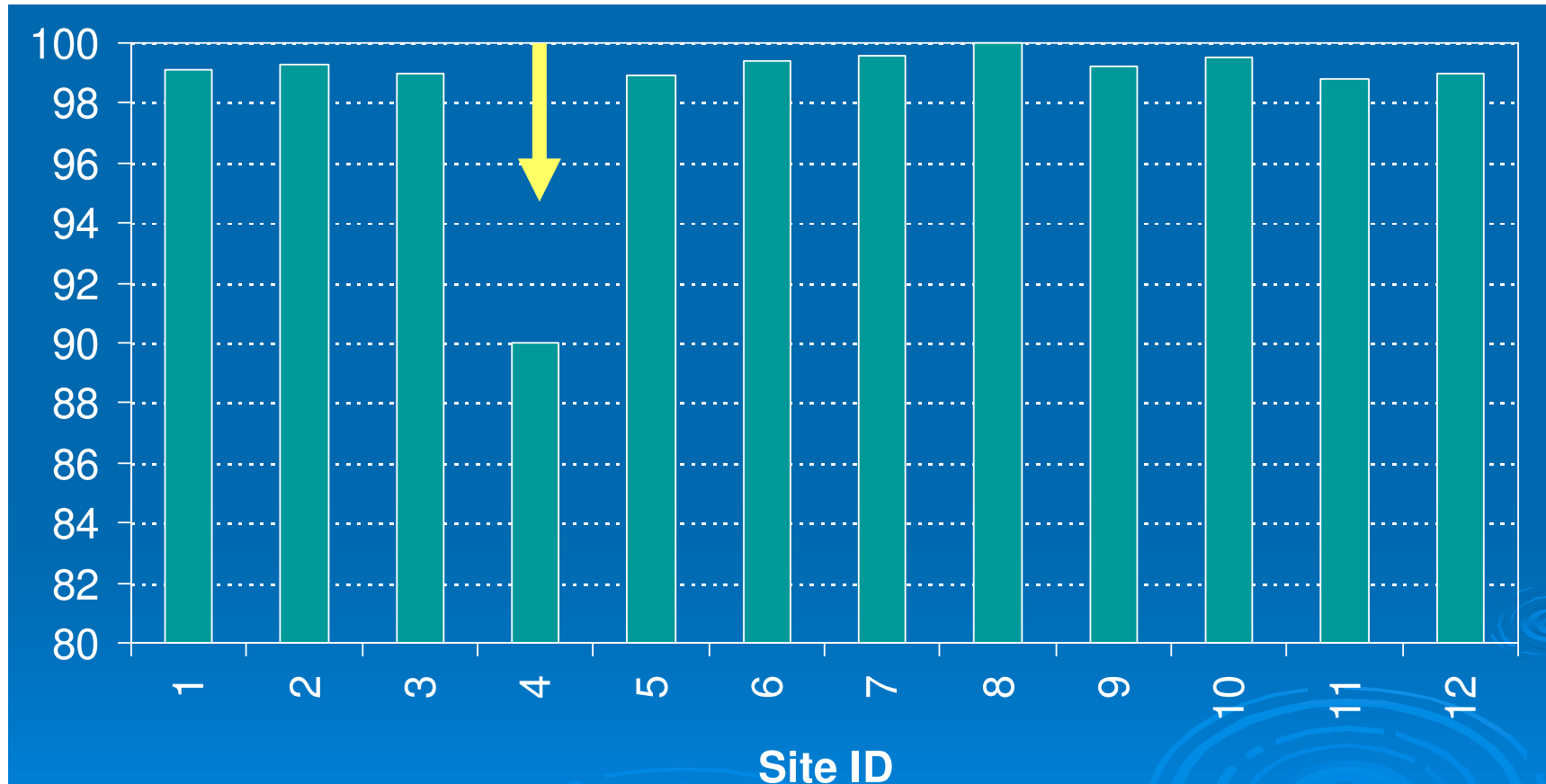
# Tasa de concordancia entre los operadores

## ¿Están todos funcionando bien?



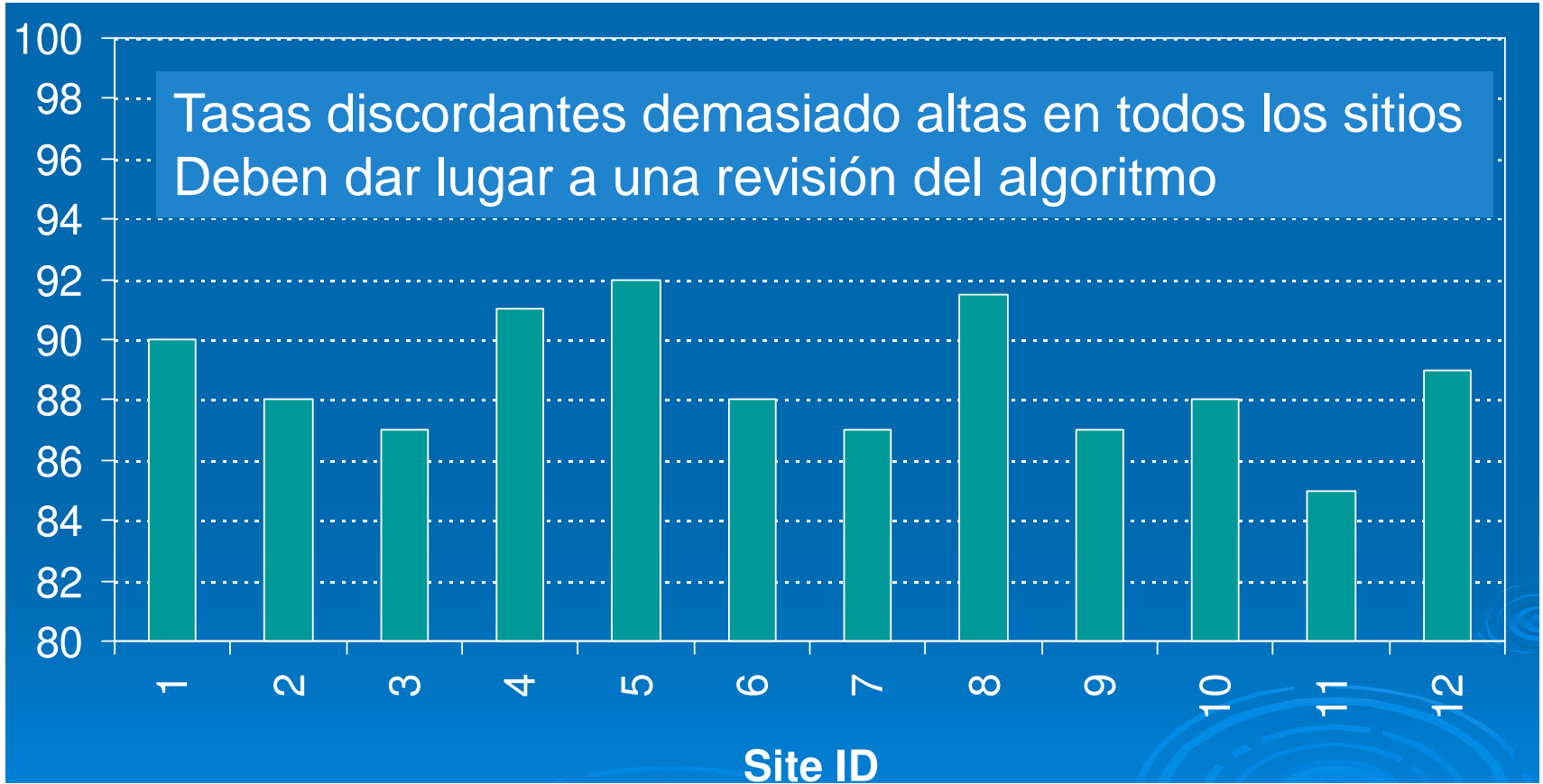
# Tasa de concordancia entre los diferentes sitios

## ¿Están todos funcionando bien?

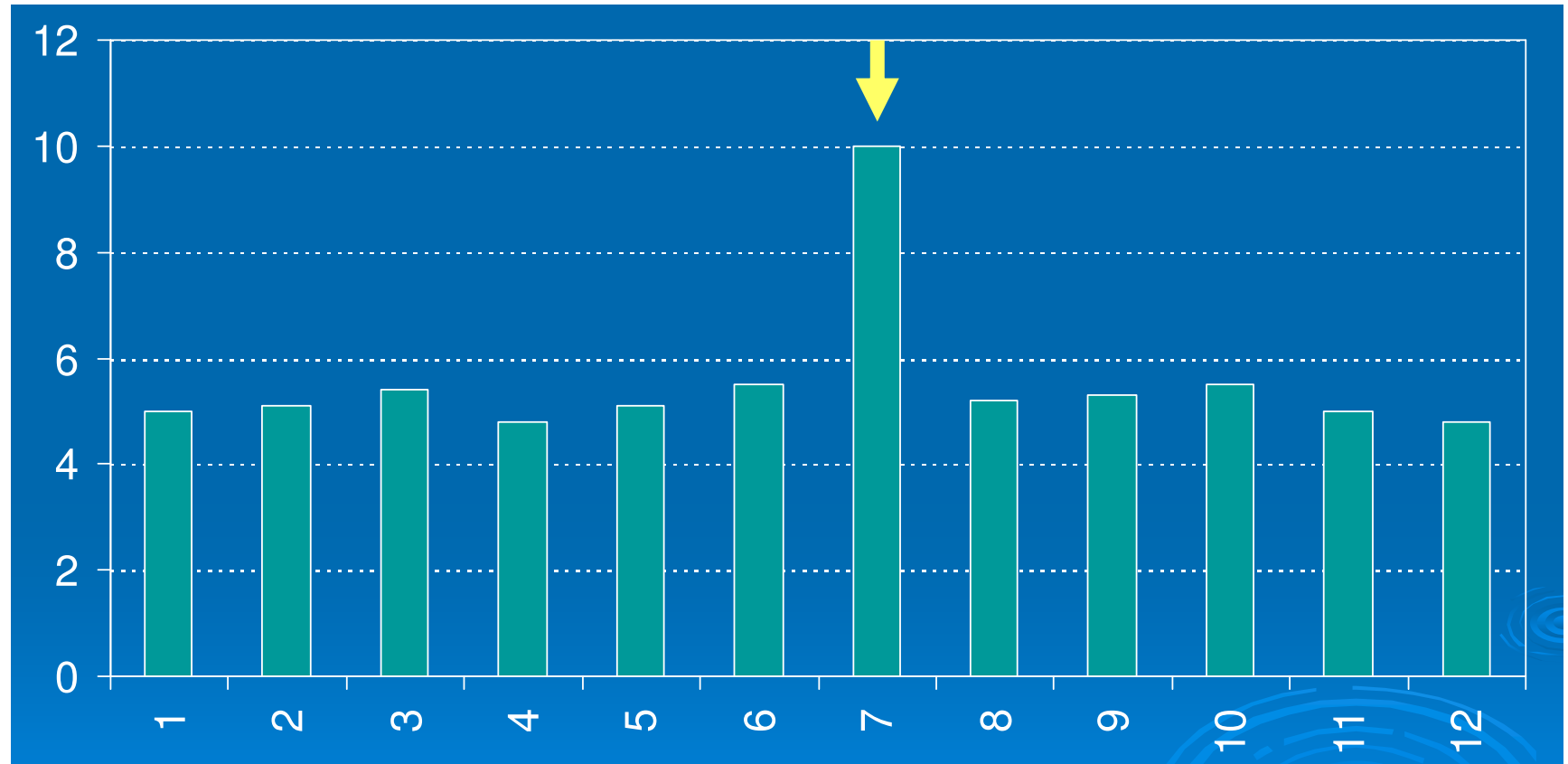


# Tasa de concordancia entre los diferentes sitios

## Evaluar el algoritmo - está funcionando bien?



# Monitoreo del porcentaje de positivos (prevalencia regional)



**Mes**

# Cuaderno de bitácora de datos es una herramienta de aseguramiento de la calidad en curso

- Tasa discordante mínimo constante entre las dos pruebas
- Revisión continua de los resultados de las pruebas rápidas y nuevas pruebas = revisión del algoritmo de prueba
- Detectar
  - Excesivos discordantes o resultados No válidos
  - Problemas relacionados con los kits
  - Operador o sitios con problemas específicos (formación, almacenamiento, etc.)
- Oficial de control de calidad deben revisar compilado de datos del sitio con regularidad y proporcionar retroalimentación TPSP





# **Programa de Proficiencia de Pruebas (PP)**

# Programa de Proficiencia de Pruebas (PP)

- Tradicionalmente usar suero o plasma líquido
- El transporte requiere hielo seco o hielo (costoso, no es práctico)
- Envío de muestras líquidas - aumento de riesgo biológico
- Especímenes secos en tubos (DTS), un nuevo concepto desarrollado en los laboratorios del CDC, ofrece una alternativa práctica para el Programa de Proficiencia

# Muestras secas en tubo (DTS)

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



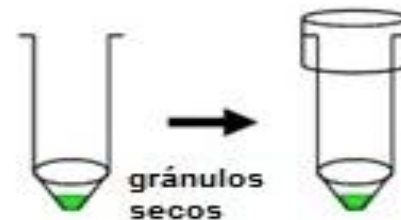
2. Transfiera 20 µl de muestra al tubo.



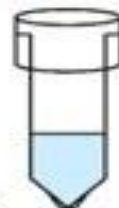
3. Deje secar durante la noche a temperatura ambiente



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).



# DTS versus Suero/Plasma

N=303 pruebas (135 positivas, 168 negativas)

Determine	EIA/WB	
	P	N
DTS		
P	134	1
N	1	167

*Sensitivity = 99.3%*

*Specificity = 99.4%*

OraQuick	EIA/WB	
	P	N
DTS		
P	133	0
N	2	168

*Sensitivity = 98.5%*

*Specificity = 100%*

# Estudio de Estabilidad

- 10 muestras - Panel de Desempeño
- DTS preparado (20µl / tubo), múltiples conjuntos
- Almacenado a 4 oC, 25 oC, 37 oC y 45 oC
- Analizados semanalmente durante 4 semanas
- Rehidratada con 0,2 ml de PBS / Tween-20, RT, durante la noche
- Siguiendo día – Analizada con pruebas rápidas
- Determine, OraQuick, Unigold, Capillus y BioLine (limitado)
- También analizado por Genetic Systems VIH-1-2-O EIA

# Estabilidad de muestras de DTS a 25 oC durante 4 semanas cuando se analizó por prueba rápida

## Determine HIV-1/2

Specimen ID	Day 1	Day 8	Day 15	Day 22	Day 29
P06001	P (++)	P(++)	P(++)	P(++)	P(+)
P06002	N	N	N	N	N
P06003	N	N	N	N	N
P06004	N	N	N	N	N
P06005	P (++)	P(++)	P(++)	P(++)	P(++)
P06006	N	N	N	N	N
P06007	P (+++)	P(+++)	P(+++)	P(+++)	P(+++)
P06008	P (++)	P(++)	P(++)	P(++)	P(++)
P06009	N	N	N	N	N
P06010	N	N	N	N	N




# Estabilidad de muestras de DTS a 45 oC durante 4 semanas cuando se analizó por prueba rápida Determine HIV-1/2

Specimen ID	Day 1	Day 8	Day 15	Day 22	Day 29
P06001	P (++)	P(++)	P(+)	P(+)	P(+)
P06002	N	N	N	N	N
P06003	N	N	N	N	N
P06004	N	N	N	N	N
P06005	P (++)	P(++)	P(++)	P(++)	P(++)
P06006	N	N	N	N	N
P06007	P (+++)	P(+++)	P(+++)	P(+++)	P(+++)
P06008	P(++)	P(++)	P(++)	P(+)	P(+)
P06009	N	N	N	N	N
P06010	N	N	N	N	N

# Estabilidad de muestras de DTS a 45 oC durante 4 semanas cuando se analizó por GS EIA (dilución 1/1000)

Specimen ID	Day 1	Day 8	Day 15	Day 22	Day 29
P06001	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
P06002	N	N	N	N	N
P06003	N	N	N	N	N
P06004	N	N	N	N	N
P06005	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
P06006	N	N	N	N	N
P06007	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
P06008	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
P06009	N	N	N	N	N
P06010	N	N	N	N	N

# Reporte del Programa de Proficiencia

	<b>Proficiency Testing Program using Dried Tube Specimens (DTS)</b>	
	<b>Doc. No.:</b>	<b>Rev. No.: 00</b>
	<b>Effective Date:</b> August 20, 2007	<b>Page:</b> 1 of 4
<b>Written by:</b> Hetal Patel	<b>Revised:</b> Sept 23, 2008 Bharat Parekh	

## 1.0 TITLE

Proficiency Testing Program using Dried Tube Specimens (DTS)

## 2.0 PURPOSE

The purpose of this procedure is to provide guidance to setup proficiency testing (PT) program using Dried Tube Specimens (DTS) to ensure the quality of HIV testing in PEPFAR countries.

## 3.0 EQUIPMENT

NA

## 4.0 SUPPLIES

- 2.0 mL conical bottom sarstedt tubes (catalog # 72-694-007; [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com))
- Green food coloring dye (Kroger brand)
- Pipettes those are capable of multi-dispensing (Rainin EDP3 pipette, catalog # E3-20).
- Pipette tips
- Disposable transfer pipettes (Samco Transfer pipet catalog number 282)
- Freezer boxes
- Tube racks

# Preparación de DTS

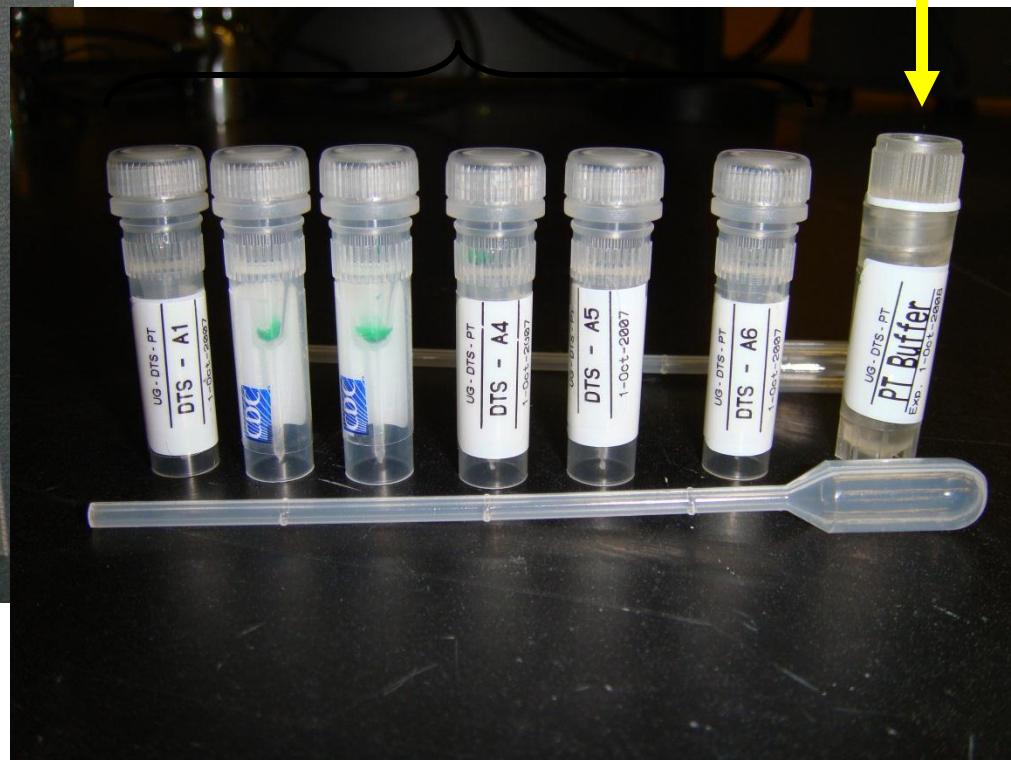
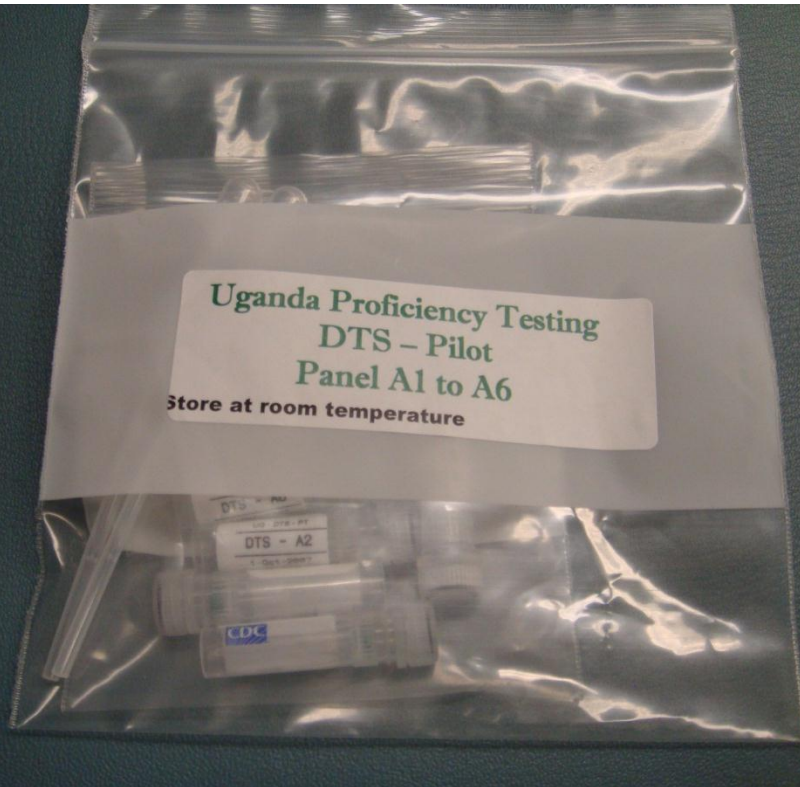
## 6.5 Preparation of PT buffer (PBS/Tween-20)

- 6.5.1 Phosphate buffered saline with tween 20 pouches can be commercially purchased from Sigma (catalog # 3563).
- 6.5.2 Dissolve one foil pouch of phosphate buffered saline with tween 20, pH 7.4 in 1 L of deionized water. It will yield 0.01 M PBS; NaCl 0.138 M; KCl 0.0027 M; Tween 20 – 0.05%; pH 7.4.
- 6.5.3 Filter it through 0.2  $\mu$  filter flask.
- 6.5.4 Prepare 1.8 ml aliquots in pre-labeled 2 ml screw capped tubes.
- 6.5.5 The label on tube should include the following:
  - 6.5.5.1 Identify the tube as “PT buffer”
  - 6.5.5.2 Set an expiration date of 1 year after you prepare

## 6.6 Preparation of DTS

- 6.6.1 Create a panel of 6 samples from the characterized specimens with a combination of negative and positive reactivity for HIV.
- 6.6.2 Carefully blind the panel assigning a new ID to each of the 6 member panel. For example DTS-A1 to DTS-A6. Ensure there is a link of the original ID and new ID.
- 6.6.3 Label each tube with appropriate new ID.
- 6.6.4 Depending on the number of labs enrolled in the PT program, prepare 10 to 20 extra sets.

# Paquete de un de panel de proficiencia de DTS





# Instrucciones para el análisis con DTS

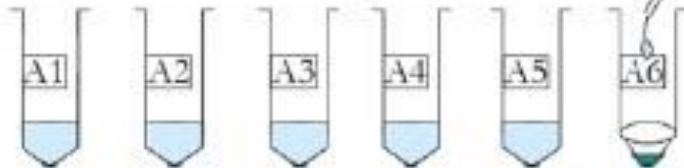
## Instrucciones para análisis con DTS

Seis muestras PT (A1 a A6)  
(Asegurese de tener los gránulos verdes en el fondo del tubo)

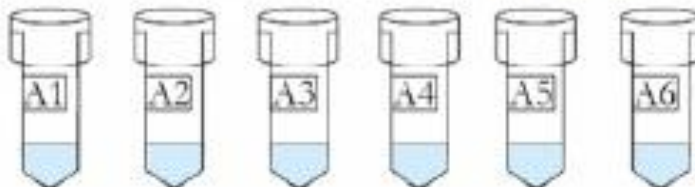
1 vial de amortiguador PT



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

# Programa de Proficiencia (PP) basado en DTS

- Pilotado en Uganda, Kenia, Costa de Marfil, y Haití
- Se está piloteando en República Democrática del Congo, Botswana e India
- Comentarios muy positivos
- Planes para ampliar el programa para cubrir los sitios que tradicionalmente no son parte del programa de PT
- Herramienta adicional para controlar la calidad de pruebas de VIH

# Pilotaje de DTS en Kenya

## Número de sitios CT = 24

Table 2. Number of testing sites reporting screening results

Specimen Number	Expected Results	Positive	Negative	Invalid	No interpretation
A1	Positive	24	0	0	0
A2	Positive	24	0	0	0
A3	Negative	0	24	0	0
A4	Negative	0	24	0	0
A5	Positive	24	0	0	0
A6	Negative	0	23	1	0



# Pilotaje de DTS en Kenya

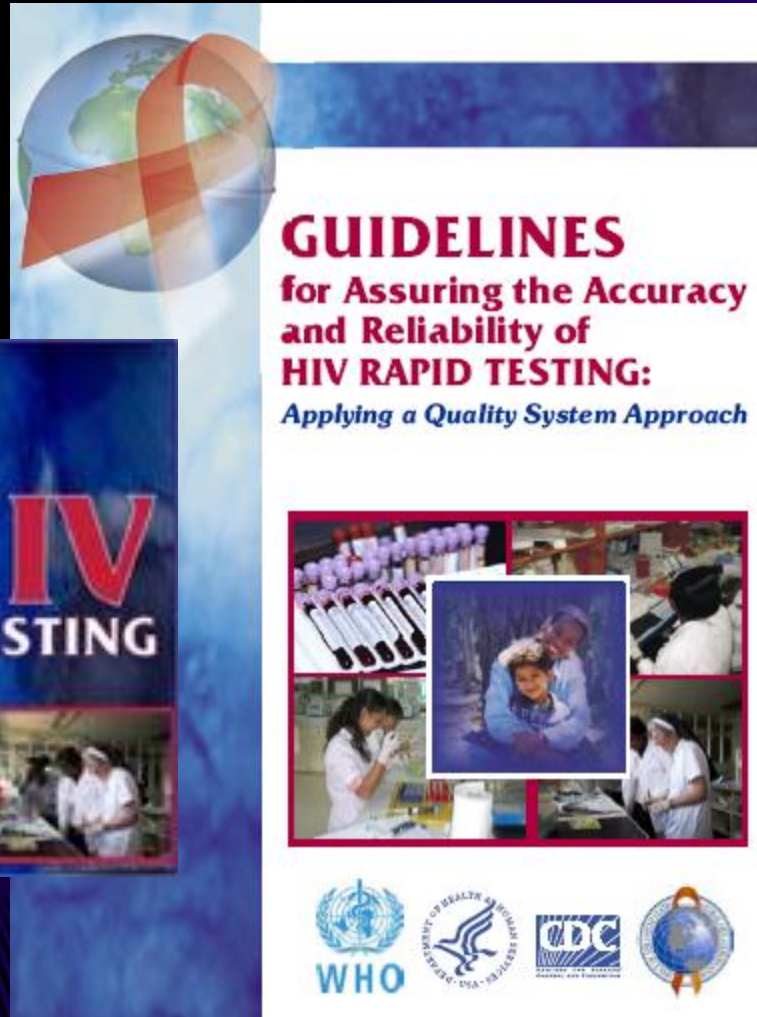
## Conclusion, Recommendation and Way forward

- The sites that participated in PT DTS pilot performance were good.
- We strongly feel that PT for HIV testing using DTS has more merits than repeat testing which is currently ongoing.
  - easy to prepare
  - specimen stable at high temperatures
  - easy storage and transport
  - Short turnaround time for feedback
- Based on outcome of the pilot PT, we strongly recommend an elaborate PT roll-out plan to all HIV testing sites
- PT using DTS should supplement repeat testing. Retesting should be scaled down to new sites and poorly performing old sites.

# Recomendaciones en resumen

- Implementar libro de registro estandarizado en todos los sitios de prueba que es importante para el seguimiento y la mejora de la calidad de las pruebas
- Incorporar herramienta sencilla, como DTS, para el programa de proficiencia de pruebas
- Reducir proporcionalmente volver a analizar como una estrategia de aseguramiento de la calidad (EQA) para sitios nuevos o de bajo rendimiento (tiempo para ser eficaz)
- Asegurar que el personal y los recursos dedicados a ejecutar y gestionar las actividades de control de calidad estén trabajando

# Guías y materiales de capacitación



# Agradecimientos

- Dr. Parek Barath
- Dra. Sandra Juarez



# Gracias

[ftinajeros@aladdiv.org.br](mailto:ftinajeros@aladdiv.org.br)