

De León, Juan Felipe

# Detección de anticuerpos anti VIH: evaluación de un suero control y su aplicación

---

Tesis para la obtención del título de posgrado de  
Doctor en Medicina

Director: Sambuelli, Rubén Horacio

Documento disponible para su consulta y descarga en **Biblioteca Digital - Producción Académica**, repositorio institucional de la **Universidad Católica de Córdoba**, gestionado por el **Sistema de Bibliotecas de la UCC**.



Esta obra está bajo licencia 2.5 de Creative Commons Argentina.

Atribución-No comercial-Sin obras derivadas 2.5



## **Detección de anticuerpos anti VIH. Evaluación de un suero control y su aplicación**

La pandemia de VIH/SIDA afecta a más de 33 millones de personas portadoras del VIH en el mundo y se estima que 130.000 personas viven con VIH en Argentina. Disponer de resultados de laboratorios confiables es imprescindible para su abordaje. En Argentina, pocos laboratorios están enrolados en programas de evaluación externa existiendo la posibilidad de resultados inseguros. Contar con un suero control utilizado para la evaluación externa de laboratorios que realizan detección de anticuerpos anti VIH es indispensable. Ello avala el objetivo del desarrollo de un suero control, su evaluación y la de su aplicación.

Para elaborarlo se utiliza, como materia prima, plasma humano, proveniente de unidades de sangre de donantes seropositivas para VIH, el cual es sometido a un proceso de purificación, estabilización y filtración; para la obtención del suero que servirá como elemento de control. Se evalúa su precisión, validez y estabilidad. Se efectúan diluciones seriadas del suero control y utiliza como testigo positivo la mayor dilución que resulta positiva para todas las pruebas además del *Western Blot* como *gold standard*.

Una vez evaluado, se conforman paneles de cinco muestras, se distribuyen, respetando las medidas de bioseguridad, con instructivo y planilla registro de resultados.

En tres rondas, se enrolaron: 114, 113 y 216 laboratorios (total: 443). Analizadas las respuestas, el número de muestras incorrectas descendió un 50% de la primera a la tercera ronda. De los laboratorios que utilizaron ELISA, tuvieron una evolución favorable de resultados falsos negativos, del 11,18% al 0%, mientras que, las pruebas cuyos resultados son de interpretación visual, son más propensas a generar errores. Del total de las muestras reportadas incorrectas los falsos negativos pasaron del 40% en la primera ronda al 5,3% en la tercera, esto se relaciona a la aplicación del programa de control, coincidente con los lineamientos de OMS seguidos en este trabajo. La evaluación del suero control como la de su aplicación es satisfactoria. Como recomendación, y como aconseja la OPS en la Reunión de Consenso de 2012, debemos contar con “resultados confiables” por lo cual los laboratorios deberían estar enrolados en programas de monitoreo externo.

**Palabras clave:** Anticuerpos Anti-VIH. Control de Calidad Externo. SIDA. Suero control.

## **Detection of antibodies to HIV. An evaluation and application control serum**

The pandemic of HIV / AIDS affects over 33 million people living with HIV worldwide and 130,000 people living with HIV in Argentina. To obtain reliable laboratory results is mandatory in the diagnosis of the infection. In Argentina, since few laboratories are enrolled in external evaluation programs the possibility of yielding unsafe results means a risk. Thus, the availability of a control serum to be used for the external evaluation of laboratories performing HIV antibody detection is imperative. This supports the goal of the present work: to develop a control serum, its evaluation and application.

The control is elaborated from human plasma: blood units from HIV sero-positive blood donors undergo a process of purification, stabilization and filtration, to obtain the serum that will serve as a control. Thereafter, its accuracy, validity and stability are evaluated. Serial dilutions of the control serum are performed; being the highest dilution that yields positive results for all tests included Western Blot (a gold standard test), used as a positive control.

Once evaluated, control panels consisting of five samples each, are distributed under bio-safety measures, along with instructions for both, results registration and report.

In three consecutive rounds, 114, 113 and 216 laboratories (total: 443) were enrolled. After analyzing the responses, the number of incorrect samples declined 50% from the first to the third round. The laboratories that used ELISA methods, had a favorable evolution of false negative results from 11.18% to 0%; while tests whose results are based on visual interpretation, were more prone to error. Considering the total samples that were incorrectly reported, false negatives decreased from 40% in the first round to 5.3% in the third. This is attributable to the implementation of the control program, in agreement to the "WHO" guidelines followed in this work. The evaluation of control serum and its application were successful. As a recommendation, and as advised by the "PAHO Consensus Meeting" held in 2012, laboratories should be enrolled in external monitoring programs to obtain reliable results.

**Keywords:** Anti-HIV antibodies. External Quality Control. AIDS. Control Serum.



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CÓRDOBA.  
FACULTAD DE MEDICINA

**DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI VIH  
EVALUACIÓN DE UN SUERO CONTROL Y SU  
APLICACIÓN**

Sr. Méd. Juan Felipe de León

Tesis Doctoral



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CÓRDOBA.  
FACULTAD DE MEDICINA

**DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI VIH  
EVALUACIÓN DE UN SUERO CONTROL Y SU  
APLICACIÓN**

Autor

Sr. Méd. Juan Felipe de León



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CÓRDOBA.  
FACULTAD DE MEDICINA

**DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI VIH  
EVALUACIÓN DE UN SUERO CONTROL Y SU  
APLICACIÓN**

**Director de Tesis**

Prof. Dr. Rubén Sambuelli



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CÓRDOBA.  
FACULTAD DE MEDICINA

# **DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI VIH EVALUACIÓN DE UN SUERO CONTROL Y SU APLICACIÓN**

## **Comisión Asesora de Tesis Doctoral:**

Prof. Dr. Carlos Gatti

Prof. Dr. Ernesto Jakob

Prof. Dr. Pablo Novoa



## **Dedicatoria**

A la memoria de mi padre.

A mi madre.

A Marisa, a mis hijos y nietos, por su tolerancia, comprensión y los momentos que dejamos de compartir.

A aquellos con quienes día a día trabajamos por la salud de los demás.

## **Agradecimientos**

A la UCC y su Facultad de Medicina

Al Profesor Dr. Rubén Sambuelli, Director de Tesis

A la Comisión de Tesis, Profesores: Dr. Carlos Gatti, Dr. Ernesto Jakob y Dr. Pablo Novoa.

A quienes años atrás creyeron en este proyecto.

A mi equipo de trabajo del Laboratorio Central.

Al equipo de trabajo del Laboratorio de Serología de la Fundación

Al aquellos que colaboraron desde la UCC

A todos aquellos que hicieron posible este trabajo y de alguna manera lo hicieron también propio.

A mi familia.

## Índice General

Capítulo I: Introducción .....	1
Capítulo II: Material y métodos .....	13
Capítulo III: Resultados .....	26
Capítulo 4: Discusión .....	48
Capítulo 5: Conclusiones .....	63
Capítulo 6: Recomendaciones .....	65
Anexos .....	67
Glosario .....	85
Bibliografía .....	86

## Índice de tablas

Tabla 1: métodos y reactivos utilizados	.....	16
Tabla 2: criterios de positividad según reactividad de WB	.....	22
Tabla 3: formulario de carga de resultados	.....	24
Tabla 4: estabilidad	.....	31
Tabla 5: valores de concordancia y coeficiente Kappa de la 1 <sup>o</sup> ronda de 2011	.....	37
Tabla 6: valores de concordancia y coeficiente Kappa de la 2 <sup>o</sup> ronda de 2011	.....	42
Tabla 7: valores de concordancia y coeficiente Kappa de la ronda de 2012	.....	47
Tabla 8: ELISA: causas probables de falsos positivos y falsos negativos	.....	54
Tabla 9: coeficiente de Kappa	.....	61

## Índice de figuras

Figura 1: período de ventana inmunológica	.....	6
Figura 2: período de ventana de los ensayos para VIH	.....	8
Figura 3: esquema de diluciones en serie	.....	21
Figura 4: esquema de diluciones y ensayos con distintos métodos	.....	22
Figura 5: gráficos de Levey-Jennings de los ensayos efectuados del día 21 al 40.	.....	28
Figura 6: gráficos de Levey-Jennings de los ensayos efectuados del día 61 al 80.	.....	28
Figura 7: gráficos de Levey-Jennings de los ensayos efectuados del día 121 al 140.	.....	29
Figura 8: gráficos de Levey-Jennings de los ensayos efectuados del día 161 al 180.	.....	29
Figura 9: sensibilidad / especificidad e índice de concordancia de determinaciones positivas (ICP) / índice de concordancia de determinaciones negativas (ICN) del suero control (positivo y negativo).N: 360.	.....	30
Figura 10: enrolamiento de laboratorios para las tres rondas de pruebas de CCE durante los años 2011-2012. N: 443	.....	32
Figura 11: resultados de la 1º ronda de 2011. Distribución de los 114 paneles que corresponden a 570 muestras enviadas a los laboratorios participantes. N: 114	.....	33
Figura 12: resultados de la 1º ronda de 2011. Distribución de los 104 paneles que corresponden a 520 muestras enviadas por los laboratorios participantes según resultado.	.....	34
Figura 13: resultados de la 1º ronda de 2011. Distribución de los 20 paneles que corresponden a 100 muestras enviadas por los laboratorios participantes según resultados. N: 20 paneles.	.....	34
Figura 14: resultados de la 1º ronda de 2011. Distribución de las 151 respuestas generadas por los 104 laboratorios participantes según técnica utilizada en CCE. N: 151 respuestas. .	.....	35
Figura 15: resultados de la 1º ronda de 2011. Distribución de las 755 muestras generadas por las 151 respuestas de los 104 laboratorios participantes según técnica utilizada en CCE los falsos positivos y falsos negativos. N: 755 muestras.	.....	36
Figura 16: sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del sistema de la 1º	.....	37

ronda de 2011.

Figura 17: resultados de la 2º ronda de 2011. Distribución de los 113 paneles que corresponden a 565 muestras enviadas a los laboratorios participantes. N: 113.	.....	38
Figura 18: resultados de la 2º ronda de 2011. Distribución de los 110 paneles que corresponden a 550 muestras enviadas por los laboratorios participantes según resultado. N: 110 paneles.	.....	39
Figura 19: resultados de la 2º ronda de 2011. Distribución de los 22 paneles que corresponden a 110 muestras respondidas por los laboratorios participantes según resultado. N: 20 paneles.	.....	39
Figura 20: resultados de la 2º ronda de 2011. Distribución de las 150 respuestas generadas por los 113 laboratorios participantes según técnica utilizada en CCE. N: 110 respuestas.	.....	40
Figura 21: resultados de la 2º ronda de 2011. Distribución de las 750 muestras generadas por las 150 respuestas de los 113 laboratorios participantes según técnica utilizada en CCE los falsos positivos y falsos negativos. N: 755 muestras.	.....	41
Figura 22: sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del sistema de la 2º ronda de 2011.	.....	42
Figura 23: resultados de la ronda de 2012. Distribución de los 216 paneles que corresponden a 1080 muestras enviadas a los laboratorios participantes. Los valores se expresan en frecuencias y porcentajes. N: 216.	.....	43
Figura 24: resultados de la ronda de 2012. Distribución de los 195 paneles que corresponden a 975 muestras enviadas por los laboratorios participantes según resultado. N: 195 paneles.	.....	44
Figura 25: resultados de la ronda de 2012. Distribución de los 38 paneles que corresponden a 190 muestras enviadas por los laboratorios participantes según resultado. N: 38 paneles	.....	44
Figura 26: resultados de la ronda de 2012. Distribución de las 311 respuestas generadas por los 216 laboratorios participantes según técnica utilizada en CCE. N: 110 respuestas.	.....	45
Figura 27: resultados de la ronda de 2012. Distribución de las 1.555 muestras generadas por las 311 respuestas de los 216 laboratorios participantes según técnica utilizada en CCE falsos positivos y falsos negativos. N: 755 muestras	.....	46
Figura 28: sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del sistema de la ronda de 2012.	.....	47

Figura 29: histogramas de control positivo (izquierda) y negativo (derecha) del suero control utilizado en este trabajo.	.....	53
Figura 30: gráfico comparativo de AP (FP y FN) de las tres rondas.	.....	58
Figura 31: gráfico comparativo de muestras de los paneles incorrectos en las tres rondas.	.....	59
Figura 32: proceso de implementación de un programa de evaluación externa del desempeño en la red.	.....	60

## **Abreviaturas**

A.N.M.A.T: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología médica

Ac Anti-VHC: Anticuerpos anti Virus de Hepatitis C

Ac Anti-VIH: Anticuerpos anti Virus de la Inmunodeficiencia Humana

Ag HBs: Antígeno de superficie del Virus de Hepatitis B

AP: Aglutinación de partículas

ARN viral: Ácido ribonucleico viral

CC: Control de Calidad

CCE: Control de Calidad Externo

CCI: Control de Calidad Interno

CDC: *Center for Disease Control and Preventions*

CMIA: Inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas

CV: Coeficiente de Variación

DDHH: Derechos Humanos

DE: Desviación Estándar

DS y ETS: Dirección de SIDA y Enfermedades de Trasmisión Sexual

E: Especificidad

EIE: Enzimoimmunoensayo

ELFA: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas fluorescente

ELISA: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

ETS: Enfermedades de Transmisión Sexual

F(-): Falso negativo

F(+): Falso positivo

FDA: *Food and Drug Administration*

HTLV: Virus Linfotrópico de células T del ser Humano

IC: Índice de Confianza

IgG: Inmunoglobulinas G

NR: No Reactivo

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

PCR: *Protein Chain reaction*

POE: Procedimiento Operativo Estándar

R: Reactivo

RP: Relación de Positividad

S: Sensibilidad

SIDA: Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

SRA: Síndrome Retroviral Agudo

TR: Test Rápido

UNICEF: *United Nations International Children's Emergency Fund*

VHB: Virus de Hepatitis B

VHC: Virus de Hepatitis C

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

VIH-1: Virus de la Inmunodeficiencia Humana tipo 1

VPN: Valor Predictivo Negativo

VPP: Valor Predictivo Positivo

WB: *Western Blot*

WHO: Organización Mundial de la Salud

X: Promedio

CAPÍTULO I  
INTRODUCCIÓN

Este documento, resultado de la investigación que presento en la Facultad de Medicina, de la Universidad Católica de Córdoba, también es resultado de muchos años dedicados al estudio del tema y al trabajo realizado, de una manera muy especial, con pasión y rigor científico.

Su origen, se remonta a mis primeras publicaciones acerca de inmunodeficiencias en 1980 (1) y a los estudios de laboratorio de las sub poblaciones linfocitarias, observando las diferencias entre los linfocitos T en distintas patologías, efectuado en la *Clinique des Maladies du Sang, Centre Hospitalier Universitaire, Strasbourg, Francia*.

Luego, continué con el descubrimiento y descripción de una nueva variante de hemoglobina J (Hb J), usando técnicas de biología molecular. Este trabajo fue realizado en forma conjunta con distintas unidades del, *Institut National de la Santé et de la Recherche Medicale (INSERM)* y del *Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS)* de Francia (2).

Estos últimos diez años, fueron dedicados entre otras cosas, a la detección de la infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH). (3) (4) (5) (6) Estas actividades y muchos otros trabajos, son el sustento del presente.

Respecto al origen de esta epidemia, en junio de 1981, aparece la primera publicación sobre una nueva enfermedad que posteriormente se llamaría Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), que fue presentada por M. Gottlieb (7). Él era un profesor auxiliar de Inmunología de la Universidad de California, de 33 años de edad, quien buscando con sus ayudantes, casos "interesantes", encontró un hombre con fiebre de origen desconocido, pérdida de peso y alteración del sistema inmune. El paciente tenía en la boca una candidiasis muy llamativa, y Gottlieb sabía que eso se asociaba a defectos en las células T, y confirma después su escaso número y mala función. Además logra luego establecer que, entre los linfocitos T, faltaban los tipo CD4. Dentro de los antecedentes epidemiológicos, se registraba que era homosexual. Posteriormente se le diagnostica al paciente una neumonía por *Pneumocystis carinii*, una entidad rara, pero no tanto entre los enfermos inmunodeprimidos.

Tiempo después, llegó hasta Gottlieb la información de dos pacientes homosexuales varones con fiebre crónica, diarrea, adenopatías y la ausencia de

células CD4, quienes posteriormente desarrollaron neumonía por *P. carinii* y citomegalovirus (CMV).

El profesor trató de relacionar estos cuadros clínicos con homosexuales varones. Por otro lado, uno de sus ayudantes, Shandera, toma conocimiento de un paciente que padecía neumonía por *P. carinii* en Santa Mónica, quien también era homosexual y que falleció poco después, confirmándose en la autopsia además, la participación del CMV.

Gottlieb, creyendo estar ante una nueva enfermedad, contactó al director del *New England Journal of Medicine*, quien le recomienda que publicara una nota en el *Morbidity and Mortality Weekly Report*, ya que ellos tardarían al menos tres meses en publicar su observación. Así lo hizo, y es el artículo original, que menciona por primera vez el evento. (8)

El editor de la publicación hace su aporte final en el artículo comentando que: ... "*todas las observaciones anteriores sugieren la posibilidad de una disfunción inmune-celular relacionada a una exposición común, que predispone a los individuos a infecciones oportunistas, como neumocistosis y candidiasis. Aunque el rol de la infección por CMV en la patogénesis de la neumocistosis permanece desconocida, la posibilidad de la infección por P. carinii debe ser cuidadosamente considerada en un diagnóstico diferencial en varones homosexuales previamente sanos, con disnea y neumonía*". Este tipo de publicaciones, no son lo suficientemente leídas por profesionales de equipos de salud, motivo por el cual no tuvo la difusión que adquirió el artículo posterior, referido al mismo tema.

Meses después se publicó un extenso artículo de Gottlieb en el *New England Journal of Medicine*, donde afirmaba que algún agente infeccioso o tóxico debía ser la causa de la inmunodeficiencia, y que el citomegalovirus sería una consecuencia más. (9)

A partir de la descripción de los primeros casos de SIDA en el mundo, se suceden una serie de observaciones clínicas, estudios epidemiológicos e investigaciones que permiten identificar el agente etiológico, definir la historia natural de la enfermedad y estimar las posibles vías de transmisión, las cuales luego se fueron confirmando.

El descubrimiento del virus que originó la pandemia del SIDA fue, sin duda alguna, un hecho trascendental. Dejando de lado las rivalidades científicas, los intereses económicos y las disputas de política internacional, los dos principales protagonistas del descubrimiento del VIH son Luc Montagnier (10) y Robert Gallo (11).

Desde la descripción clínica de los primeros casos de SIDA en 1981 hasta el aislamiento del virus en 1983, transcurrieron sólo dos años. Hechos como éstos, es decir la identificación de nuevos virus, son posibles cuando se cuenta con una infraestructura científica apropiada, como lo es la biología molecular, previa y fuertemente desarrollada a partir del *National Cancer Act*.<sup>a</sup>

Nixon había firmado, en 1971 dicha acta diciendo "*si pudimos llegar a la luna, al disponer de la misma cantidad de dinero podremos vencer al cáncer*", seguido del *U.S. Virus Cancer Program* con el lema de Sabin "*un cáncer, un virus, una vacuna*". Como resultado del esfuerzo y los experimentos, se dieron una sucesión de descubrimientos que cambiaron paradigmas y lograron varios Premios Nobel.

Cuando debemos referirnos al diagnóstico de infección por VIH, el laboratorio adquiere una relevancia muy especial. Frente al síndrome retroviral agudo post contagio, si éste no está acompañado de todos los elementos epidemiológicos y aun estando, el médico requiere, una serie de estudios de laboratorio a fin de descartar otras patologías y de confirmar su sospecha clínica. En el diagnóstico diferencial, el laboratorio cumple un rol irremplazable.

La importancia que posee la elaboración del primer reactivo para diagnóstico de infección por VIH es relevante y trascendente, dado que da origen a nuevas técnicas y metodologías que evolucionan y logran paulatinamente una mejora constante, en cuanto a la sensibilidad y especificidad de los mismos. Estos elementos son necesarios para obtener un resultado correcto y oportuno, siendo ésta la base del éxito terapéutico y preventivo, objetivo que buscan tanto los profesionales médicos como los demás integrantes de los equipos multidisciplinarios que abordan la pandemia.

---

<sup>a</sup> National Cancer Act (H RES 531 / S RES 347; 112th Congress)

En la primera mitad de la década del 80, todo era distinto en relación al VIH y al SIDA, comparado al mundo de hoy. La sociedad en general tenía una gran preocupación dado que tener un diagnóstico de SIDA o infección por VIH, equivalía prácticamente a una sentencia de muerte. En esos momentos, al no existir ensayos de diagnóstico validados y accesibles, ni tratamientos, había un temor generalizado, inclusive a ciertos actos médicos como la transfusión de sangre, ya que se conocía como una posible vía de transmisión de la infección.

Pero, el 2 de marzo de 1985 la *Food and Drug Administration* (FDA) de Estados Unidos autoriza el uso y comercialización de la primera prueba o reactivo de screening de sangre para anticuerpos del virus del VIH, desarrollado por Abbott. Se trata de una técnica de laboratorio, enzimoimmunoensayo (ELISA) cuyo desarrollo requiere de equipamiento adecuado y entrenamiento del personal de laboratorio (12).

Este hecho marcó un hito histórico en la salud a nivel mundial, y fue el resultado de meses de trabajo ininterrumpido de los científicos e investigadores, para desarrollar un ensayo confiable para el tamizaje de sangre. Para lo cual nueve meses antes, el Instituto Nacional de Cáncer de Estados Unidos, había proporcionado a *Abbott Laboratories* células con el virus del VIH con el fin de desarrollar un ensayo para la detección del mismo.

En cuanto a la evolución de las pruebas de laboratorio, que permiten detectar anticuerpos Anti Virus de la Inmunodeficiencia Humana (AC Anti VIH), las de primera generación lo hacían a las 4 ó 5 semanas de producido el contagio. El lapso de tiempo comprendido entre el momento del contagio ó ingreso del virus al huésped y la detección de los anticuerpos generados por éste, es denominado "período ventana" o también "período de ventana inmunológica", es decir, es el tiempo que transcurre entre la infección de una persona y la detección de anticuerpos que se generan en esa persona infectada.

Al respecto, Cudolá A. publica en su tesis doctoral "... desde entonces, se perfeccionan los ensayos disponibles, se desarrollan y aprueban nuevas versiones, se incorporan elementos para reducir el período de ventana tanto como es posible, y se lanzan al mercado ensayos complementarios para

asegurar un screening correcto. Las primeras pruebas que aparecen en el mercado, son llamadas de 1ª generación y utilizan como antígeno un lisado viral VIH, le siguen las de 2ª generación que utilizan péptidos recombinantes o sintéticos de VIH-1 y VIH-2. Luego aparecen las pruebas de 3ª generación, diseñadas con péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2 y antígeno VIH-1 del grupo O (outlayer o marginal) y por último las de 4ª sensibilizadas con péptidos recombinantes/sintéticos de VIH-1 y VIH-2 y VIH-1 "O", y anticuerpos para detectar el antígeno p24. De esta manera el período de ventana pudo reducirse en promedio de 45 días a 15, situación muy importante para la detección de infecciones tempranas, y para el tamizaje serológico de la sangre a transfundir". (13) Se muestra graficado a continuación (figura 1).

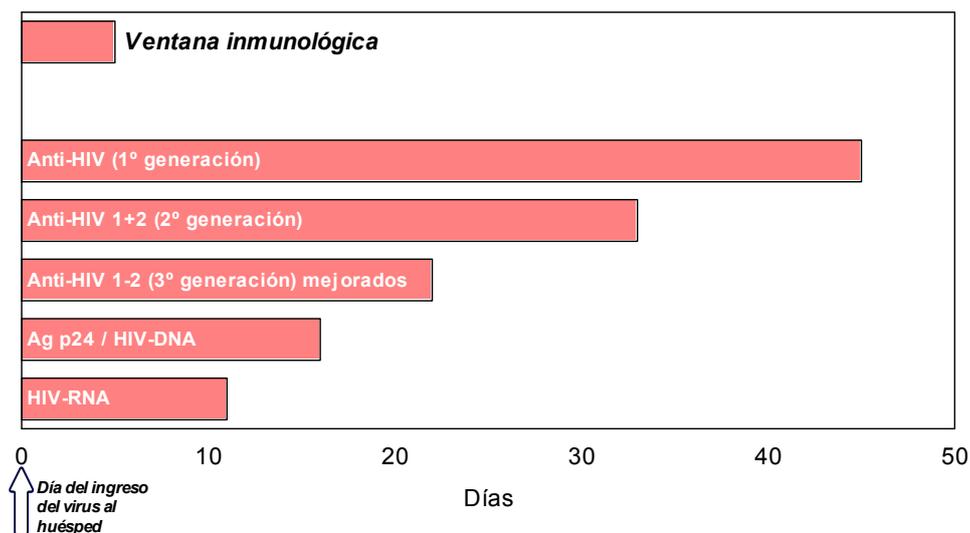


Figura 1: período de ventana inmunológica. Tomado y modificado de Cudolá A. (13)

Además de la evolución en la performance de los reactivos, debe destacarse el avance en el diseño de la metodología para el desarrollo de estas pruebas, de manera tal que, para diferentes escenarios epidemiológicos, hay distintos ensayos de mayor o menor complejidad.

Actualmente, la disponibilidad del equipamiento robótico para el trabajo automatizado en el laboratorio, contrasta con la simpleza de los métodos manuales, única alternativa en lugares de escasa demanda o menores recursos.

Por ejemplo, mientras se dispone de sistemas totalmente automáticos con metodología de inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA), también se realizan análisis con la técnica de ELISA o con las técnicas de aglutinación de partículas (AP) entre otras, cuya lectura es visual y la interpretación de su resultado, subjetiva. Todas son utilizadas frecuentemente en nuestro medio, cada una según el escenario al que corresponda.

Además, se suma la relativamente reciente incorporación del test rápido (TR), que constituye una valiosa herramienta por las características del mismo: simple de realizar y rápido, puede efectuarse la determinación en no más de 15 minutos y hasta, en algunos casos, se está promocionando el auto test. (14)

Cabe aclarar, que la disponibilidad de recursos en materia de diagnóstico de infección por VIH, está fuertemente ligada a la vigilancia epidemiológica que pretende aplicarse en cada escenario. De hecho que, los lineamientos nacionales en política de salud, apuntan a la accesibilidad al diagnóstico en tiempo y forma. (15) Esto, sin duda, está ligado a su vez a la misma consigna que imparten los organismos internacionales. Como ejemplo podemos citar una de las metas fijadas por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) dirigidas a la eliminación de la transmisión materno-infantil de VIH y Sífilis congénita en América Latina y el Caribe.<sup>b</sup>

En una edición especial sobre Actualizaciones en SIDA, publicada a partir del cumplimiento de los 30 años de la epidemia, se menciona como uno de los pasos "del camino a seguir", una mayor oferta de pruebas para detección de Ac anti VIH, incrementando el número de las que ya se están realizando, y así garantizar la accesibilidad equitativa al diagnóstico a toda la población, poniéndose énfasis en los sectores claves o más vulnerables. (16)

En la figura 2 que se reproduce a continuación, adaptado de Stekler J et al., se puede observar de forma esquemática la evolución de las técnicas, con la descripción de los métodos y las ventajas que cada una aporta para la detección de la infección por el VIH en relación al período ventana. (17)

---

<sup>b</sup> Guia Clínica para la eliminación de la transmisión materno-infantil de VIH y de la Sífilis congénita en América Latina y el Caribe OPSW 2010 pag 15.

**Table 1. HIV testing assays and their "window periods."**

HIV test	Assay method	"Window period" estimates, weeks <sup>a</sup>	"Window period" reduction, days <sup>b</sup>
First-generation EIA	Viral particles used to bind patient HIV Ab, detected by marker conjugated to anti-human Ab	~6	...
Second-generation EIA	Same as first-generation EIA except uses purified HIV Ag or recombinant virus	~4-6	10
Third-generation EIA	"Antigen sandwich": synthetic peptide used to bind patient HIV Ab followed by marker conjugated to additional HIV Ag; able to detect IgM	~3-4	6
Fourth-generation EIA	Uses third-generation EIA methodology plus monoclonal Ab to p24 Ag to detect patient p24 Ag	~2	5
Pooled HIV NAT	First combines multiple individual samples into one common pool, then uses PCR or other amplification techniques to detect patient viral nucleic acids	<1-2	3
Individual HIV NAT	As above, except that samples are tested individually rather than diluted by pooling	<1-2	3

**NOTE.** Data are from [5, 6, 16, 19]. Ab, antibody; Ag, Antigen; HIV NAT, HIV nucleic acid testing.

<sup>a</sup> "Window periods" listed are averages. For example, although second generation EIAs will detect HIV infection in nearly all individuals within 6 weeks of HIV acquisition, in a study of occupationally exposed health care workers, 5% of subjects did not have seroconversion until at least 6 months following the exposure [20].

<sup>b</sup> Compared with an immediate less sensitive assay, the "window period" for pooled HIV NAT is, on average, 3 days shorter than the "window period" for a fourth-generation EIA.

Figura 2: período de ventana de los ensayos para VIH. Tomado y modificado de Stekler. (17)

Como muestra el cuadro, con la aplicación de las técnicas moleculares o reacción en cadenas de polimerasa (PCR), se reduce ostensiblemente el período ventana y marca el comienzo de una nueva etapa del conocimiento del VIH/SIDA. Esta aplicación nos aporta nuevos elementos, útiles para un mayor conocimiento de los mecanismos de infección, ciclo de replicación, respuesta a los tratamientos, para mencionar solo los de mayor relevancia. (17)

A pesar de los avances en el desarrollo de nuevos métodos diagnósticos, si los resultados de las determinaciones que se efectúan no son confiables y no poseen la certificación de calidad correspondiente, dichos avances carecen de valor. Lo concreto es que hoy, en la provincia de Córdoba y en Argentina, en general, son pocos los laboratorios enrolados en un programa de evaluación externa y con ello surge la posibilidad de la inseguridad de los resultados. Las constataciones de los errores de laboratorio, efectuadas en años anteriores, forman parte de las razones que motivaron la elección del tema.

De allí que un abordaje integral de esta epidemia, requiera aplicar distintas estrategias de diagnóstico, tratamiento y prevención, en los que deben intervenir todos los actores del equipo de salud, contemplando las particularidades de cada región. La evolución del conocimiento, le otorga un

singular dinamismo, siendo necesarios continuos aportes y acciones de parte de la comunidad científica. (18)

La epidemia crece: los datos aportados en el Congreso de SIDA 2010, dan cuenta que ya existían 33,4 millones de personas portadoras del VIH en el mundo, y cada año se infectan 2,7 millones de personas. Esto genera la necesidad de optimizar respuestas concretas ante esta demanda.<sup>c</sup>

El recurso humano también debe estar capacitado, ser permanentemente actualizado, y evaluarse todos los factores que influyen en la calidad de un resultado de laboratorio. Una de las principales herramientas, es el monitoreo externo de los laboratorios, que no se lleva a cabo adecuadamente en nuestro país por diversos factores. Entre algunos de ellos, podemos mencionar la escasa disponibilidad de paneles de evaluación externa para VIH en nuestro medio, ya que es poca la oferta. Su accesibilidad, por su costo, no es universal y además, la burocracia para la compra de estos en el extranjero se convierte en otro obstáculo importante.

Años atrás el *Center for Disease Control* (CDC) de Atlanta, Georgia, USA ofrecía un programa: "*Model Performance Evaluation Program Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Antibody Testing*", al cual se accedía de manera gratuita, y permitía a los laboratorios estar evaluados permanentemente. La discontinuidad en el acceso al mismo obliga a buscar nuevas alternativas de control.<sup>d</sup>

En este sentido, Cudolá A. manifiesta "*Por otro lado, los organismos nacionales e internacionales que se ocupan de la epidemia, promueven la instalación de nuevos centros de testeos a fin aumentar la accesibilidad al diagnóstico oportuno y al asesoramiento adecuado, y con ello aumenta también el número de laboratorios que deben ser evaluados en su desempeño*". De hecho el Programa Provincial de VIH/SIDA del Ministerio de Salud provincial viene realizando campañas de testeos, centrando el interés en los grupos más vulnerables, y de esta manera también se incrementa el número de personas testeadas en el laboratorio. Esta actividad es realizada en sintonía con la

---

<sup>c</sup> 6<sup>th</sup> IAS Conference on HIV pathogenesis, treatment and prevention 17 – 20 July 2011 – Rome , Italy

<sup>d</sup> U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES Centers for Disease Control and Prevention Public Health Practice Program Office Division of Laboratory Systems Atlanta, Georgia 30341-3717.

propuesta del Ministerio de Salud de la Nación, que en su plan estratégico, propone implementar, "*por lo menos un sitio centinela por cada población específica por provincia*", (13) también sugerido por organismos internacionales.

Los últimos reportes estadísticos argentinos muestran que cada año se notifica, a la Dirección de SIDA y Enfermedades de Trasmisión Sexual (DS y ETS) del Ministerio de Salud de la Nación alrededor de 5.500 diagnósticos nuevos de infección por VIH. En el año 2009, esto representó una tasa de 12 diagnósticos de infección por cada cien mil habitantes. Según la última publicación, se estima en 130.000 la cantidad de personas que viven con VIH en Argentina. Ese mismo año la tasa de SIDA fue de 3,9 y la de muertes por SIDA de 3,5 por 100.000 habitantes. Asimismo diversos estudios revelan que hasta un 50% de las personas infectadas del país podrían desconocer su condición.<sup>e</sup>

Reducir la cantidad de personas que no conocen su infección es una prioridad, ya que muchas de ellas pueden tener acceso a una atención oportuna y con ello disminuir el riesgo de complicaciones y mejorar su pronóstico y calidad de vida. Por lo tanto, es necesario tener la certeza de que cada infectado por VIH conoce su condición de tal, para poder tomar las medidas de prevención y seguimiento y así llegar a cortar la cadena de trasmisión de la infección.

Con la finalidad de que se efectúen todos los test de detección necesarios, el Ministerio de Salud a través del programa nacional de la DS y ETS distribuye reactivos a nivel nacional para efectuar las determinaciones de screening. En el año 2010 se distribuyen alrededor de dos millones de determinaciones para VIH. Entre las diferentes técnicas usadas se encuentran las reacciones por ELISA, AP y/o TR.

Mejorar el acceso a las pruebas del VIH es uno de los cinco pilares de la iniciativa: Tratamiento 2.0 de la OPS, en la cual, se menciona que es posible reducir más del 90% la trasmisión de la infección y con ello, el impacto

---

<sup>e</sup> Boletín sobre VIH-sida en la Argentina, Dirección de Sida y ETS Ministerio e Salud de la Nación, Nº 28 Año XIV, Diciembre 2011, pag 4-5.

estimado sería evitar diez millones de muertes por esta causa hasta el año 2025.<sup>f</sup>

La necesidad de resultados de laboratorio seguros, tanto para el paciente, como para el médico y para los responsables de implementar las políticas de salud y toma de decisiones en esta realidad que es la pandemia del SIDA, es indiscutible. Ante este escenario es imprescindible contar con un elemento que sea confiable, seguro, accesible y sustentable en el tiempo, para la evaluación externa de laboratorios que realizan detección de Ac anti VIH. Este trabajo pretende aportar una respuesta a esta demanda actual.

Contar con resultados de laboratorio confiables y poder así cumplir con las recomendaciones internacionales, responde a una necesidad diaria del paciente y del médico, más allá de lo ético, la responsabilidad profesional y las recomendaciones nacionales e internacionales.

En los ESTÁNDARES DE CALIDAD PARA LABORATORIOS CLÍNICOS, elaborados en el "*Workshop on the Management of Clinical Laboratories*", Manila, Philipines, la *World Health Organization (WHO)* recomienda: B/3 "*El laboratorio debe realizar el control de calidad interno y participar en la evaluación externa de la calidad*".<sup>g</sup>

Recomendaciones acerca de la calidad de los resultados de los laboratorios se reiteran en distintos ámbitos: la OPS desde el Área de tecnología, Atención de la Salud e Investigación (THR) Proyecto de Tecnologías de Salud para la Calidad de la Atención (HT) en el "*Curso de Gestión de Calidad y Buenas Prácticas de Laboratorio*" pone énfasis en la calidad de los resultados de laboratorio.<sup>h</sup>

En la Reunión de Consenso sobre Consejería y Prueba Voluntaria del VIH en Bogotá – Colombia, (19) entre sus conclusiones y recomendaciones destaca los cinco ejes constitutivos, en relación a la consejería y prueba, en el marco del trabajo en una perspectiva de Derechos Humanos (DDHH) y enfoque de salud pública: consejería, consentimiento, confidencialidad, resultados confiables y vinculación al cuidado.

---

<sup>f</sup> OPS. Nota técnica: tratamiento 2.0, Octubre 2011, p.1

<sup>g</sup> Rs/2003/GE/27(PHL).

<sup>h</sup> OPS. Documentos Técnicos. Políticas THR/HT-2009/001

Para ello, se debe trabajar con sueros control que sirvan de controles de calidad (CC), tanto internos como externos. Como ya se mencionó, la escasa disponibilidad de paneles de evaluación externa, para poder evaluar el desempeño de los laboratorios, por ser poca la oferta y dificultosa su accesibilidad, son obstáculos importantes. Ello avala y sustenta el objetivo del desarrollo de un suero control. El mismo debe ser evaluado en cuanto a su uso como control de calidad externo (CCE) y las posibles mejoras en el desempeño de los laboratorios, que nos permita establecer los alcances de su aplicación.

CAPÍTULO II  
MATERIAL Y MÉTODOS

Para la elaboración del suero control se utiliza, como materia prima, el plasma humano que se obtiene de Bancos de Sangre, debidamente autorizados por el Ministerio de Salud de la Provincia. (20)

A dichos Bancos, se les solicita la provisión de las unidades de plasma, que resultaron REACTIVAS para la determinación de Ac anti VIH en el proceso de tamizaje serológico, debiendo informar el tipo de equipo y reactivo donde se corre la prueba.

La técnica que se usa es ELISA de cuarta generación o CMIA. Son consideradas reactivas aquellas cuyos resultados tengan un valor superior al punto de corte o *cut off* especificados por el fabricante.

El plasma es tratado in vitro según el procedimiento que se describe posteriormente, para obtener una solución de proteínas purificada y estable. Dicha solución, que está compuesta mayoritariamente por albúmina y gammaglobulina, se utiliza como control positivo a la hora de efectuar los test de tamizaje o screening de laboratorio para la detección de infección por VIH. Los anticuerpos que se ponen de manifiesto son inmunoglobulinas de tipo IgG, es decir gamma globulinas.

A partir del conocimiento de fraccionamiento plasmático por el método de Cohn, y modificaciones posteriores, es posible purificar individualmente las distintas proteínas plasmáticas: albumina, gammaglobulinas, polivalentes o específicas, factores de coagulación y otras, para su uso farmacológico. Cada una posee su respectiva indicación médica.

El método de fraccionamiento plasmático conocido como Método de Cohn, durante el proceso de obtención de albúmina utiliza etanol, temperatura, pH y la fuerza iónica, a los fines de insolubilizar y precipitar las proteínas no deseadas. Fue publicado originalmente por Cohn & Oncley en 1946 y continua hoy siendo el principal método de procesamiento de plasma en la manufacturación de albumina. (21) (22)

Si bien Nitschamann y Kistler describen posteriormente un método más corto para el procesamiento de albúmina, éste no se impuso (23). Estos mismos autores publican ocho años de experiencia del fraccionamiento plasmático en 1962. (24)

Una revisión interesante de los métodos de fraccionamiento plasmático se encuentra en *The Lancet*, donde se citan las mayores contribuciones de la historia en esta tecnología. (21) (22) (24) (25) (26) (27) (28) (29) (30) (31)

A partir de la universalización de la producción de albumina de forma convencional, se planteó el desafío de la inactivación viral y su estabilización a largo plazo. Para ello se introduce el agregado de caprilato de sodio para procesar plasma y aportarle a la albúmina mayor estabilidad e inclusive la posibilidad de su pasteurización. Hoy es el método más extendido. Desde la publicación de Cohn et al en 1946 pasaron más de veinte años hasta que se publica el artículo de M. Steinbuch, con la alternativa de agregar caprilato de sodio al proceso. (32)

El estabilizante de la gamma globulina líquida que se utiliza como medicamento es el sorbitol. En el procedimiento seguido para la producción de gamma globulina más utilizado se parte de una fracción rica en gammaglobulina, preferentemente de la Fracción II del método de Cohn-Oncley, con una pureza >95% en gamma globulina. Se añade glicina y bentonita, se centrifuga y filtra. Se obtiene así, una solución de gamma globulina la cual requiere ser estabilizada tanto para su duración como para ser tratada térmicamente. La etapa de tratar térmicamente una solución acuosa, que comprende gamma-globulina no modificada químicamente implica el agregado de hasta 70 gr de sorbitol por cada 100 mL de la solución acuosa.

Cuando se requiere utilizar el conjunto de las proteínas, para otros destinos, sin fraccionarlas, la purificación de las mismas, utilizando en forma abreviada algunos de los métodos descritos para cada una de ellas, es un proceso más simple. Además se puede lograr el incremento de su estabilidad, adicionando los productos ya mencionados y aprovechar el hecho de que las proteínas, entre sí, se estabilizan mutuamente.

## 1. Materia Prima, Reactivos e Instrumentos

Tal como se mencionó, el plasma humano, utilizado como materia prima, se obtiene de unidades de sangre, estudiadas según las normas regulatorias en la materia que garantizan su calificación cualitativa. (20)

A las mismas se le realizan los estudios serológicos para la detección de distintas infecciones, indicadas por la legislación vigente. Estas son para: VIH, virus de Hepatitis B (VHB), virus de Hepatitis C (VHC), virus linfotrópico de células T del ser humano (HTLV) y para las enfermedades de Chagas, Sífilis y Brucelosis. También se realiza la detección de ARN viral para VIH, VHB y VHC, mediante técnicas de biología molecular.

El plasma humano reactivo solamente para VIH, es el utilizado para elaborar el suero control. Como testigo negativo y como diluyente del testigo positivo, cuando éste es fuertemente reactivo, se utiliza plasma no reactivo para todas las pruebas serológicas incluyendo las pruebas de detección de ARN viral. Todo ello se efectúa con reactivos y técnicas aprobadas por ANMAT.

Para el análisis de las unidades utilizadas en este estudio, se utilizan los métodos y reactivos que se detallan a continuación:

Tabla 1: métodos y reactivos utilizados

Infección /Marcador	Método	Marca
CHAGAS	HAI	WIENER®
CHAGAS	ELISA	BIOSCHILE®
SIFILIS	VDRL	WIENER®
BRUCELOSIS	HUDDLESSON	WIENER®
HEPATITIS C Ac anti VHC	CMIA	ABBOTT®
HEPATITIS B Ag HBs	CMIA	ABBOTT®
HEPATITIS B Anti HBcore	CMIA	ABBOTT®
HTLV 1/2 Ac Anti HTLV	CMIA	ABBOTT®
VIH Ag P24 Ac anti VIH	CMIA	ABBOTT®
Ácidos Nucleicos HIV VHC VHB	PCR real time	ROCHE®

Otros materiales que se utilizan son: ácido caprílico o caprilato de sodio, sorbitol, ácido sódica, solución fisiológica, todos en cantidades especificadas en

el procedimiento (ver anexo). También se utiliza en el procesamiento del plasma, como precipitante, un derivado de la bentonita: sílice o sílica. Una interesante revisión de este mineral la realiza Martin K (33) y se encuentra disponible en internet<sup>i</sup>.

Respecto al equipamiento necesario para el procesamiento del plasma hasta la obtención del suero control, se requiere de: heladeras, *freezer* de menos 20°C, baño maría, centrifuga refrigerada, estufa de cultivo, pipetas automáticas, tubos y equipamiento menor de uso en la rutina de todo laboratorio clínico.

Se utiliza un equipo de ultrafiltración tangencial: *Quix Stand<sup>MR</sup>* de *GE Healthcare Lifesciences* con cartuchos filtrantes a base de fibras huecas. El elemento filtrante es, a su vez, esterilizante de la solución dado que posee poros de 0,2 µ. Éste instrumental específico para el procesamiento del plasma cumple un rol preponderante al momento de la purificación del mismo y le confiere los atributos para comportarse como suero control.

Una vez finalizado el procedimiento, se evalúa la reactividad del suero control y para ello se utilizan en la detección de anticuerpos humanos anti VIH los siguientes métodos: ELISA, CMIA, AP, TR, el *gold standard* o test confirmatorio que se utiliza en VIH es la inmunotransferencia o Western Blot (WB), de acuerdo a las recomendaciones de los expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (34).

## 2. Preparación del suero control

El plasma, como ya se mencionó proviene de las unidades de sangre seropositivas para VIH de donantes de sangre voluntarios. Cada unidad de sangre, se procesa para la separación de los elementos formes de la sangre, del propio plasma, mediante centrifugación. El plasma es trasvasado a una bolsa satélite y congelado a menos 20°C. El laboratorio solicita la derivación de los plasmas VIH reactivos, a los fines de ser procesado y utilizado como suero

---

<sup>i</sup> <http://www.bago.com/BagoArg/Biblio/clmedweb683.htm>

testigo o control positivo y cuando se recibe el plasma con su correspondiente informe serológico se mantiene en stock a -20°C hasta la fecha de su utilización.

El plasma humano, que se utiliza como materia prima del suero control no reactivo, negativo para todas las determinaciones, también es obtenido de las unidades de sangre con serología no reactiva y sometido al mismo procedimiento que el plasma reactivo para VIH.

Luego se procede a su tratamiento físico, purificación, estabilización y filtración, para la obtención del control, que presente todos los atributos necesarios para su correcta utilización. El procedimiento operativo estándar (POE) se encuentra descrito en detalle en el anexo 1.

### 3. Diseño metodológico

Todo trabajo de investigación, requiere de un diseño que oriente la construcción y aplicación de un instrumental que permita la recolección de datos e información para su posterior tratamiento, análisis y elaboración de conclusiones.

No existe un criterio único acerca de lo que se define como diseño de investigación. Por el contrario, nos encontramos con autores que hacen énfasis a aspectos metodológicos para referirse al diseño y con otros que incluyen además aspectos administrativos de la investigación. Sin embargo, en términos generales se puede afirmar que el diseño metodológico es la descripción de cómo se va a realizar la investigación y se asume como una estrategia de carácter general que orienta el proceso. (35)

El marco metodológico constituye un espacio en el que se deben prever los procedimientos lógicos, técnicos y operacionales que envuelven al proceso de investigación con el propósito de descubrir y analizar los supuestos del estudio.

Además comprende a la población, la muestra de estudio, las técnicas e instrumentos de recolección y análisis de datos.

Diferentes autores destacan, que la recolección de los datos es el paso previo y sistemático, a su posterior análisis por diferentes métodos. (36) (37)

Para gran parte de los metodólogos investigadores uno de los problemas a cuidar a la hora de seleccionar, diseñar y aplicar técnicas e instrumentos de investigación, es el de su validez y confiabilidad.

La validez se refiere a la capacidad de recoger los datos que se pretenden recoger, mientras que la confiabilidad, al grado en el que su aplicación repetida a los mismos sujetos y en condiciones iguales sus resultados sean iguales.

- VALIDEZ: Se refiere al grado en que se logra medir lo que se pretende medir. La validez es requisito para lograr confiabilidad de los datos. Si una información es válida, también es confiable.
- CONFIABILIDAD: Se refiere a la consistencia, coherencia o estabilidad de la información recolectada. Los datos son confiables cuando al ser medidos en diferentes momentos, por diferentes personas o por distintos instrumentos; son iguales. Un dato puede ser confiable pero no válido.

Los distintos tipos de hipótesis demandarán investigaciones que se clasifican como cuantitativas o cualitativas (38). Las investigaciones cualitativas hacen más énfasis en la validez, mientras que las cuantitativas en la confiabilidad y a la reproducibilidad de una investigación (39).

Según lo propuesto por Hernández y cols (36) se consideran cuatro tipos de metodología de la investigación los cuales son:

- A) Investigación exploratoria. Consiste en estudiar un tema poco estudiado.
- B) Investigación descriptiva. Va en busca de especificar las propiedades, características y rasgos que son considerados relevantes de cualquier fenómeno.
- C) Investigación correlacional. Evalúa la relación que existe entre dos o más variables.
- D) Investigación explicativa. Establece las causas de los eventos, sucesos o fenómenos que se estudian.

El presente trabajo de investigación se encuadra en el tipo de estudio, descriptivo y correlacional, con enfoque cuantitativo y prospectivo en el tiempo.

Descriptivo porque es el que se utiliza para conocer la distribución y características de los problemas que afectan a las personas u objetos de estudio y saber cuándo hay un fenómeno medible o cuantificable.

Cuantitativo pues pretende analizar y entender un fenómeno, según variables prefijadas, dentro de una población determinada y en este caso en puntos determinados de tiempo (cortes transversales) a lo largo del estudio (37).

#### 4. Diseño del estudio del Suero Control

En la evaluación del suero control, se valora la precisión, que refleja la medida en que los valores de una serie repetida de ensayos analíticos, que se realizan sobre una muestra homogénea, son semejantes entre sí. (40)

La *United States Pharmacopeial Convention* (USP) XXII (41) afirma que, la precisión es la expresión del grado de la reproducibilidad mientras que la Norma Británica<sup>j</sup> incluye a la repetitividad y la reproducibilidad.

El índice utilizado, para medir la reproducibilidad, es el índice de concordancia, el cual muestra la proporción global de acuerdos de un número determinado de observaciones de un mismo fenómeno o en este caso, determinaciones hechas en el suero control por un mismo examinador<sup>k</sup>.

Se comprueba la repetitividad, realizando de 20 a 30 mediciones en días diferentes, registrando los datos en el gráfico de Levey & Jennis y validando los resultados con reglas de Westgard. Es decir, los resultados son evaluados con herramientas de estadística básica, para el control estadístico del proceso: Promedio (X), Desviación Estándar (DS), que se vuelcan a los Gráficos de Levey & Jennings, que se interpretan según las Reglas de Westgard y Coeficiente de variación (CV) siguiendo el procedimiento operativo de validación. (42) (43)

La sensibilidad y especificidad de los diferentes ensayos nos permite medir la validez del suero. La sensibilidad (capacidad para identificar

---

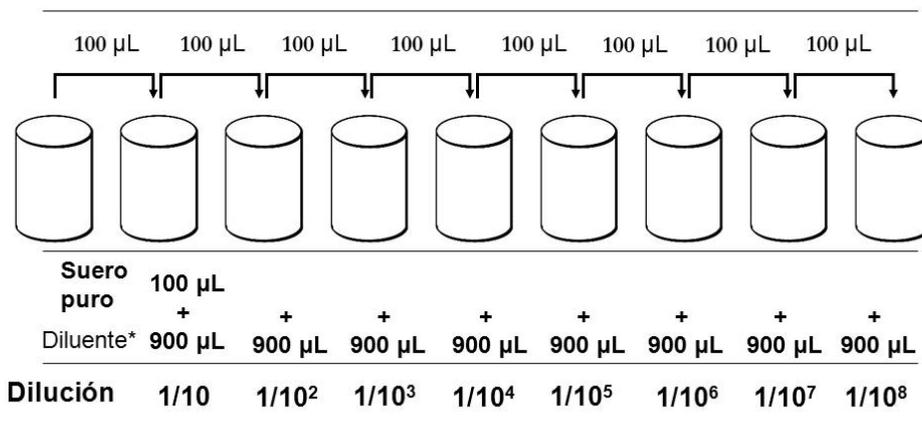
<sup>j</sup> British Standard No. BS 5497. Precision of Test Methods. 1979; pte 1

<sup>k</sup> Tamizaje de las Poblaciones, Instituto Nacional de Epidemiología "Dr Juan H Jara" Mar del Plata Argentina Mayo 2002

correctamente los positivos) y la especificidad (capacidad para identificar correctamente los negativos) se calcularon según los métodos convencionales<sup>1</sup>.

La reactividad del suero control, debe ser ajustada a la menor concentración posible de anticuerpos que sea detectable por todos los métodos. A los fines de ajustar su concentración se efectúan diluciones seriadas según la descripción en la figura siguiente:

## Diluciones en Serie



(\*): pool de sueros negativos

*Amadeo Sáez-Alquézar  
Colombia 2006*

Figura 3: esquema de diluciones en serie.

El criterio de positividad utilizado en este trabajo, (Criterio de la Cruz Roja Americana) es el que resultó adecuado para la población de nuestro medio, según un trabajo ya publicado. En dicho estudio se muestra que el 94,28% de los resultados indeterminados fueron, a partir del seguimiento, definidos como negativos, en muestras posteriores. De esta manera, este criterio permitió clasificar como indeterminadas (10,61%: 7/66) muestras que hubieran sido consideradas positivas por otros criterios consensuados internacionalmente. (44)

<sup>1</sup> Tamizaje de las Poblaciones, Instituto Nacional de Epidemiología "Dr Juan H Jara" Mar del Plata Argentina Mayo 2002

Se utiliza como testigo positivo a la mayor dilución que resulta positiva para todas las pruebas, siendo el WB el mandatario en su condición de *gold standard* conforme se representa en la figura siguiente.

### Suero anti-HIV Positivo Diluciones con Distintos Kits

Muestra	ELISA 1	ELISA 2	ELISA 3	WB
Dil: 1/....	DO/CO	DO/CO	DO/CO	Resultado
1	>12,8	>23,5	19,5	+
10	>12,8	23,2	18,4	+
10 <sup>2</sup>	>12,8	22,7	8,1	+ CCE
10 <sup>3</sup>	>12,8	20,2	0,6	-
10 <sup>4</sup>	>12,8	13,3	0,1	-
10 <sup>5</sup>	>12,8	8,0	0,1	- CCI
10 <sup>6</sup>	7,9	3,1	0,1	
10 <sup>7</sup>	3,2	1,4	0,0	
10 <sup>8</sup>	1,5	0,8	0,0	

Figura 4: esquema de diluciones y ensayos con distintos métodos.

Además, la técnica de WB tiene sus particularidades a la hora de su interpretación, ya que, distintos organismos internacionales utilizan diferentes criterios, que deben ser adoptados por los laboratorios que realizan el diagnóstico.

Se considera POSITIVA, a una muestra REACTIVA para Ac anti VIH, cuando se detecten por WB, glicoproteínas codificadas por los gen ENV, POL o GAG. El cuadro siguiente resume los distintos criterios de positividad vigentes actualmente. (Tabla 2) (45)

Tabla 2: criterios de positividad según reactividad de WB

Criterio	Reactividad a
OMS	Dos glucoproteínas cualquiera de: gp160, gp120, gp41
Cruz Roja Americana	Una proteína de cada gen estructural (env, pol y gag)
FDA	p24 + p32 + (gp41 o gp120 o gp160)
CRSS	p24 + (gp41 o gp120 o gp160) o p32 (gp41 o gp120 o gp160)
CDC/ASTPHLD	p24 + (gp41 o gp120 o gp160) o gp41 + (gp120 o gp160)

## 5. Evaluación de la Aplicación y Utilización del Panel de Suero Control

Los envases que contienen los CCE, son tubos de base plana para que no requieran de soportes especiales para su apoyo mientras se utilizan (por ejemplo gradillas de laboratorio) y la tapa es con cierre a rosca a fin de evitar salpicaduras o aerosoles que se puedan generar durante su apertura, cuando se utiliza tapa a presión.

El panel, para su traslado, se coloca en un sobre de plástico, también de cierre hermético, el cual a su vez se pone en otro sobre flexible de material absorbente en su interior, respetando así las normas de bioseguridad vigentes.

Para la evaluación de la aplicación del suero control, como parte del sistema completo de monitoreo externo de laboratorios, se incluyen laboratorios que efectúan ensayos para detección de infección por VIH a distintas poblaciones: pacientes de demanda espontánea que concurren a los establecimientos de salud, donantes de sangre a quienes se les realiza la serología pretransfusional, personas estudiadas por diferentes programas como el control de embarazadas, hemodializados, proyectos especiales llevados a cabo en distintos sectores como en campañas de testeo voluntario en universidades, entre otros.

El suero control, se envía a los laboratorios participantes enrolados en el programa de control de calidad externo, que realizan la detección de anticuerpos anti VIH pertenecientes a la Red Provincial y Nacional de VIH, Bancos de Sangre de distintas provincias y laboratorios independientes. Se envía en forma de panel de cinco muestras, con distintas reactividades, de las cuales por lo menos una y no más de tres deben ser negativos o positivos<sup>m</sup>.

A los laboratorios participantes, se les remite el panel de CCE y se le adjunta un instructivo, es decir las normas y procedimientos de utilización, de los sueros control. El mismo se reproduce en anexo 2.

El laboratorio participante debe procesar el suero control en un ensayo de rutina y con igual procedimiento que realiza cotidianamente, tal como

---

<sup>m</sup> Se comenzó por un número reducido y se llegó a más de 200 efectores, está programado efectuar dos rondas anuales.

aconsejan los expertos en la materia para cualquier control de evaluación externa. (45)

Una vez que se reciben las respuestas de cada laboratorio, según el plazo estipulado, se realiza el envío de los resultados correctos, es decir la clave de resultados, con el fin de que cada uno pueda comparar su respuesta con los resultados correctos del panel de sueros control, anexo 3.

## 6. Instrumentos para la recolección de datos

Los resultados recibidos en tiempo y forma, en los formularios correspondientes, son volcados a la ficha global *ad hoc*.

Tabla 3: formulario de carga de resultados

LABORATORIOS	PE	R	NR	C	I	F(+)	F(-)
Provincia Nº 1							
Provincia Nº 2							
Provincia Nº 3							
Provincia Nº 4							
Provincia Nº 5							
Provincia Nº 6							
Provincia Nº 7							
Provincia Nº 8							
Provincia Nº 9							
Provincia Nº 10							
Provincia Nº 11							
Provincia Nº 12							
Provincia Nº 13							
Provincia Nº 14							
Provincia Nº 15							
Provincia Nº 16							
TOTAL							
%							

Referencias: PE: paneles enviados; R: respondieron; NR: no respondieron; C: correctos; I: incorrectos; F(+): falso positivo; F(-): falso negativo

Ésta permite una rápida apreciación de los resultados y extraer los datos para su procesamiento. Luego se desglosa en partes según la técnica utilizada. El detalle completo de las fichas está en el anexo 4.

## 7. Tratamiento y Análisis de los datos

Finalizado el plazo estipulado en el instructivo que acompaña cada envío de paneles, constituidos por el suero control en sus distintas diluciones, se procesa la información recibida.

La recopilación, organización y análisis parcial y total de las respuestas se efectúan en planillas específicas, ya mencionadas.

En el trabajo se respetan las etapas que contempla el diseño metodológico: recopilación de datos, organización, análisis de las series de datos, presentación de resultados y formulación de conclusiones.

Luego se realizan estudios comparativos de calidad de desempeño de los laboratorios. Todos los datos tienen su correspondiente tratamiento estadístico, seleccionando el que se considere más adecuado.

El tratamiento estadístico se efectuará aplicando el índice de Concordancia y el coeficiente Kappa a fin de medir el grado de concordancia no aleatoria.<sup>n</sup>

Una vez concluido el análisis, se efectúa la devolución del informe final tanto a cada participante como a las autoridades jurisdiccionales y a la DS y ETS.

El análisis conforme lo antes descripto, nos permite llegar a las conclusiones en cada ronda, la presentación de las mismas y sugerencias finales.

---

<sup>n</sup> Tamizaje de las Poblaciones, Instituto Nacional de Epidemiología "Dr Juan H Jara" Mar del Plata Argentina Mayo 2002

CAPÍTULO III  
RESULTADOS

Los resultados de la evaluación del suero control y su aplicación, que se efectúa de acuerdo a estándares internacionales usando la metodología antes descrita, se detallan y se representan en forma gráfica, para una mejor visualización.

Entre las técnicas para representar los resultados cuantitativos de Control de Calidad (CC), se utilizan los gráficos de Levey-Jennings. Estos exponen datos del comportamiento del CC en el tiempo. En el eje de abscisas se registra el tiempo y en ordenadas las concentraciones o resultados. Se obtiene la media con los límites de control superior e inferior. Nos permite ver los resultados durante semanas o meses.

Para establecer la media y desviación estándar (DE), se deben efectuar 20 determinaciones en al menos 5 procesos diferentes, de las cuales surgirán dichos valores.

El DE se usa para establecer los límites de control fijos ( $\pm 3$  DE a partir de la media del objetivo). Esto nos servirá luego para determinar la repetitividad del suero control.

## RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DEL SUERO CONTROL

### PRECISIÓN

Tal como ya fue expresado, la precisión refleja la medida en que los valores de una serie repetida de ensayos analíticos, realizados sobre una muestra homogénea, son semejantes entre sí.

A continuación se muestran la representación de los resultados obtenidos durante diferentes períodos de tiempo en la evaluación del suero control utilizando la metodología de CMIA de marca *Abbott®*, por ser la de mayor difusión en nuestro medio dentro de los sistemas automatizados. Períodos de 20 días, no consecutivos de seis meses de trabajo, se muestran graficados a continuación (Figuras 5, 6, 7, 8).

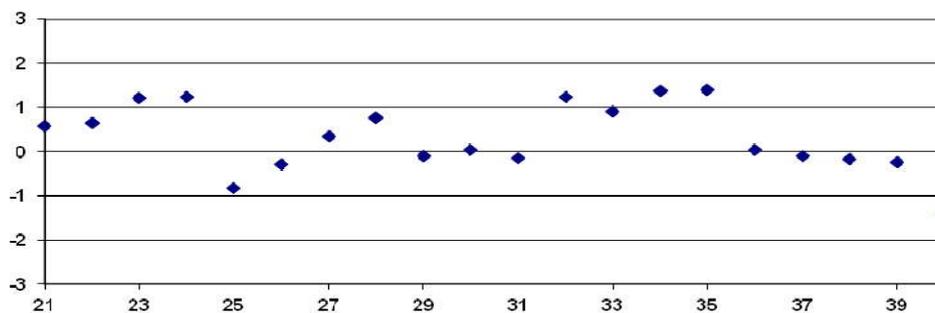


Figura 5: gráficos de Levey-Jennings de los ensayos efectuados del día 21 al 40.

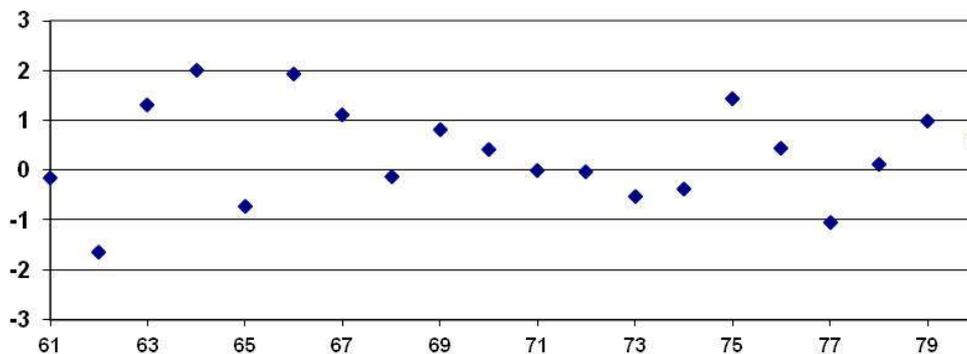


Figura 6: gráficos de Levey-Jennings de los ensayos efectuados del día 61 al 80.

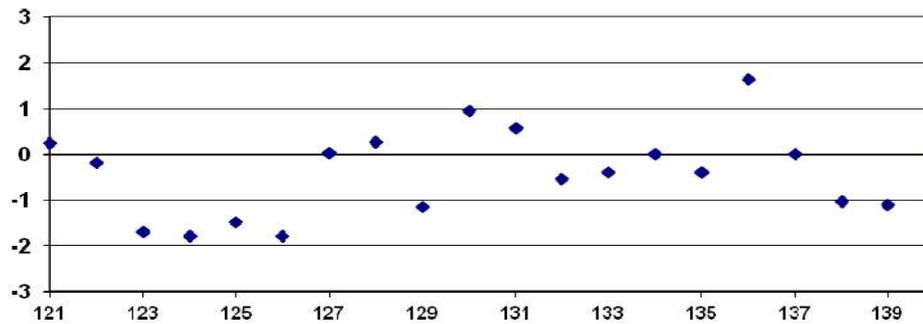


Figura 7: gráficos de Levey-Jennings de los ensayos efectuados del día 121 al 140.

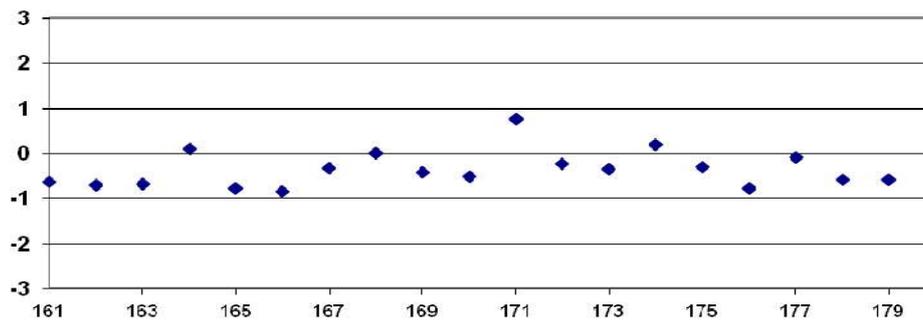


Figura 8: gráficos de Levey-Jennings de los ensayos efectuados del día 161 al 180.

Se encuentran graficados otros períodos en anexos 5 y 6.

### VALIDEZ

La validez del suero control se determina a partir de la reactividad del mismo frente a los diferentes ensayos, efectuados para tal fin y se clasifica como positivo al suero control que resulta reactivo, utilizando reactivos validados previamente y siguiendo el procedimiento establecido por el fabricante (n:180) y como negativo el suero control no reactivo (N: 180).

El suero control positivo, es entendido como un instrumento de referencia, que permite clasificar correctamente el resultado de una prueba, realizada para detectar la presencia de Ac anti VIH. Su *sensibilidad* es evaluada

según su comportamiento frente al *gold standard*. La misma, es este caso, fue del 100%.

El suero control negativo, es entendido como un instrumento de referencia, que permite clasificar correctamente el resultado de una prueba, realizada para detectar Ac anti VIH. Su *especificidad* es evaluada según su comportamiento frente al *gold standard*. La misma, es este caso, fue del 100%.

Los resultados de las determinaciones efectuadas a lo largo del tiempo mostraron una completa concordancia, se muestra graficado a continuación (figura 9).

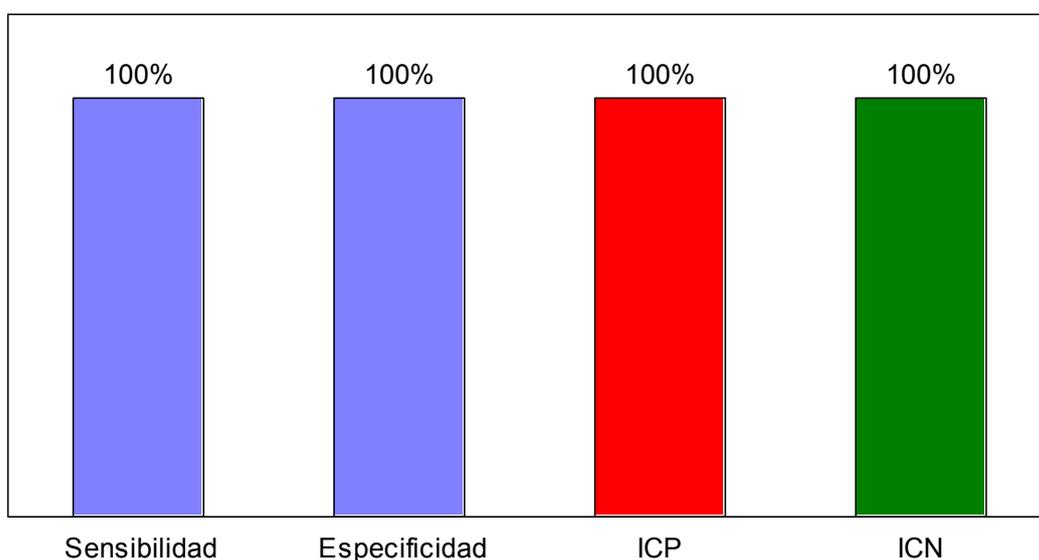


Figura 9: sensibilidad / especificidad e índice de concordancia de determinaciones positivas (ICP) / índice de concordancia de determinaciones negativas (ICN) del suero control (positivo y negativo). N: 360.

### ESTABILIDAD

A los fines de determinar la estabilidad del suero control, el mismo fue sometido a distintas situaciones de estrés térmico y por diferentes períodos de tiempo, lo cual permite evaluar y estimar su comportamiento a largo plazo.

El promedio de la relación de positividad (RP) de las pruebas efectuadas por duplicado fue: para el testigo mantenido entre 2°C y 8°C durante siete días, de 4,256 mientras que, las muestras sometidas a 60°C durante 10 horas, mostraron un valor de 4,208. En los ensayos mantenidos durante 7 días a 20°C y a 37°C se obtuvieron valores de 3,973 y 4,428 respectivamente.

En la tabla 4 se muestra el detalle de los resultados, todos efectuados por duplicado. En el anexo 7 se reproducen los resultados de otros ensayos de estabilidad y se muestran los resultados de AP, TR y WB.

Tabla 4: estabilidad

PRUEBA	ELISA para Ac anti VIH		Lectura / cut-off RP
	lectura	cut-off	
#1: 2° a 8°C, 7 días	0,858	0,187	4,256
	0,735	0,187	
#2: 60°C 10 hs. luego 2° a 8°C, 7 días	0,886	0,187	4,208
	0,688	0,187	
#3: -20°C, 7 días.	0,845	0,187	3,973
	0,642	0,187	
#4: 37°C, 7 días.	0,951	0,187	4,481
	0,726	0,187	

Referencias: °C: grados centígrados; hs: horas; cut-off: valor de corte; RP: relación de positividad.

## EVALUACIÓN DE LA APLICACIÓN DEL CCE

Una vez obtenido el suero control, se ajusta la concentración efectuando diluciones seriadas ya consignadas en material y métodos y se conforman los paneles de cinco tubos según lo ya descrito. Se toma el criterio de conformar los paneles, con un testigo negativo y cuatro positivos.

Se conforma un listado de laboratorios interesados en participar de la evaluación externa a los cuales se les efectuaron los envíos de sueros control que conformaron el panel de CCE. Los mismos se acompañaron de sus respectivos instructivos.

Cada participante debe procesar las muestras de suero control que integran el panel de CCE, conforme al instructivo que se adjuntó, como una muestra normal a ser procesada de forma rutinaria con las técnicas que utiliza normalmente.

Para la primera ronda del año 2011 se enrolaron 114 laboratorios, en la segunda ronda del año 2011 lo hicieron 113 y en el año 2012 solicitaron su participación 216 laboratorios. Se muestran graficados a continuación (figura 10).

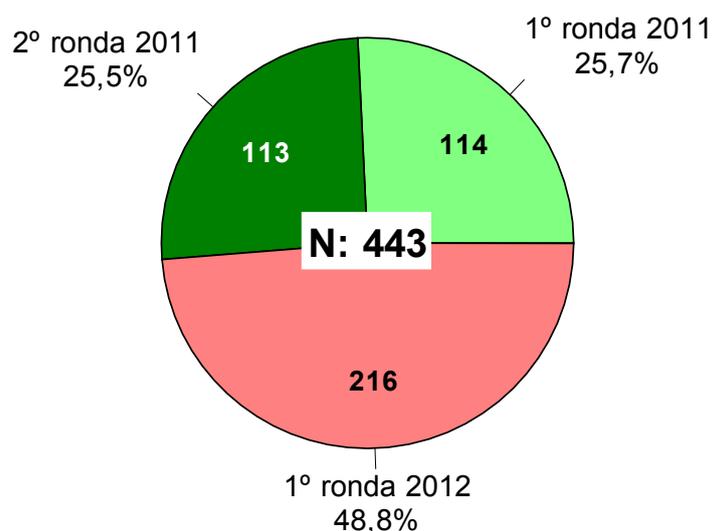


Figura 10: enrolamiento de laboratorios para las tres rondas de pruebas de CCE durante los años 2011-2012. N: 443

## PRIMERA RONDA AÑO 2011

De los 114 laboratorios a los que se les enviaron paneles, respondieron 104 y 10 no enviaron sus resultados. De los 104 que respondieron, 84 paneles fueron respondidos de manera correcta mientras que 20 tuvieron una o más respuestas incorrectas. (Figura 7)

Cada panel tiene cinco muestras y cada laboratorio, puede tener entre cero y cinco respuestas incorrectas por panel. El criterio utilizado es que, con sólo una muestra incorrecta, el panel es considerado incorrecto.

Los resultados y sus porcentajes se muestran graficados a continuación (figura 11).

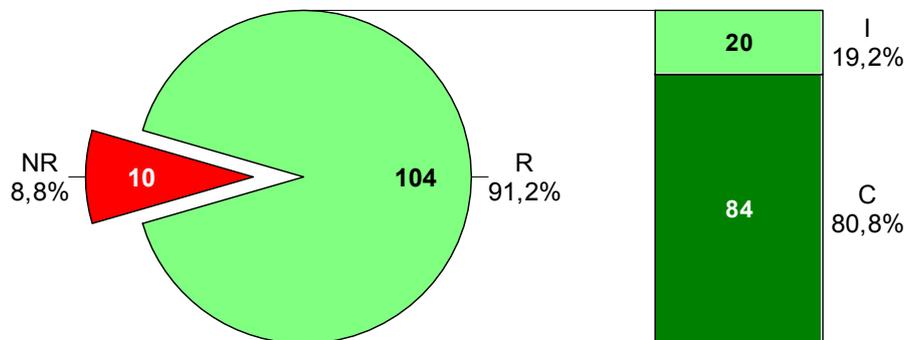


Figura 11: resultados de la 1ª ronda de 2011. Distribución de los 114 paneles que corresponden a 570 muestras enviadas a los laboratorios participantes. Los valores se expresan en frecuencias y porcentajes. Referencias: NR: no respondieron; R: respondieron; I: incorrectos; C: correctos. N: 114.

Los 114 paneles enviados en esta ronda, implican 570 muestras, por lo que las 104 respuestas son 520 muestras analizadas y respondidas. Los 10 paneles no respondidos, son 50 muestras sin resultados.

El total de los 84 paneles que respondieron correctamente equivalen a 420 muestras, mientras que los 20 paneles incorrectos implican entre 20 y 100 muestras incorrectas (figura 12).

El número de paneles respondidos, se muestran graficados a continuación (figura 12).

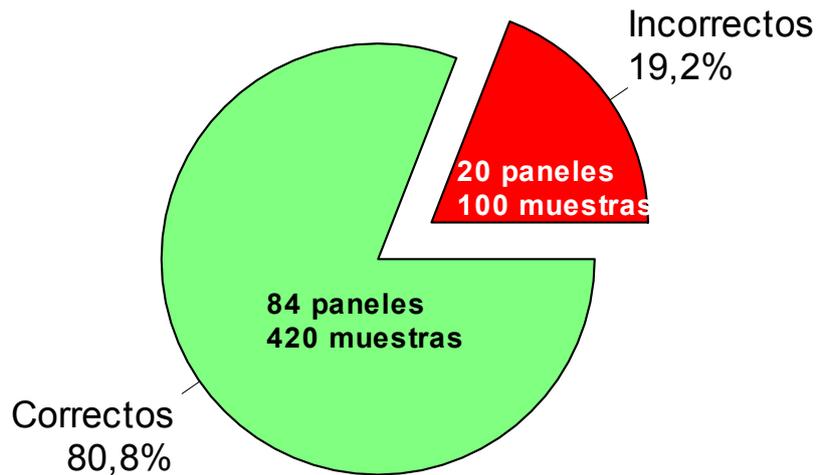


Figura 12: resultados de la 1ª ronda de 2011. Distribución de los 104 paneles que corresponden a 520 muestras enviadas por los laboratorios participantes según resultado. Los valores se expresan en frecuencias y porcentajes. N: 104 paneles.

Cada laboratorio que respondió un panel incorrecto puede responder entre una y cinco muestras incorrectas. Los resultados de estos 20 laboratorios fueron: Resultados falsos negativos: 40 muestras, resultados falsos positivos: 16 muestras y resultados correctos 44 muestras. La proporcionalidad de cada uno se muestra graficado a continuación (figura 13).

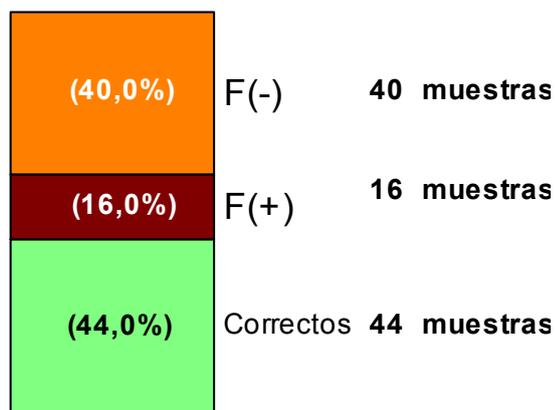


Figura 13: resultados de la 1ª ronda de 2011. Distribución de los 20 paneles que corresponden a 100 muestras enviadas por los laboratorios participantes según resultados. Los valores se expresan en frecuencias y porcentajes. Referencias: F(-): falso negativo; F(+): falso positivo. N: 20 paneles.

Dado que algunos laboratorios usan más de una técnica, las 104 respuestas remitidas, mostraron que el panel se utilizó en 151 oportunidades en esta ronda de CCE por distintas técnicas. Su distribución y porcentaje de utilización de cada metodología, se muestran graficados a continuación (figura 14).

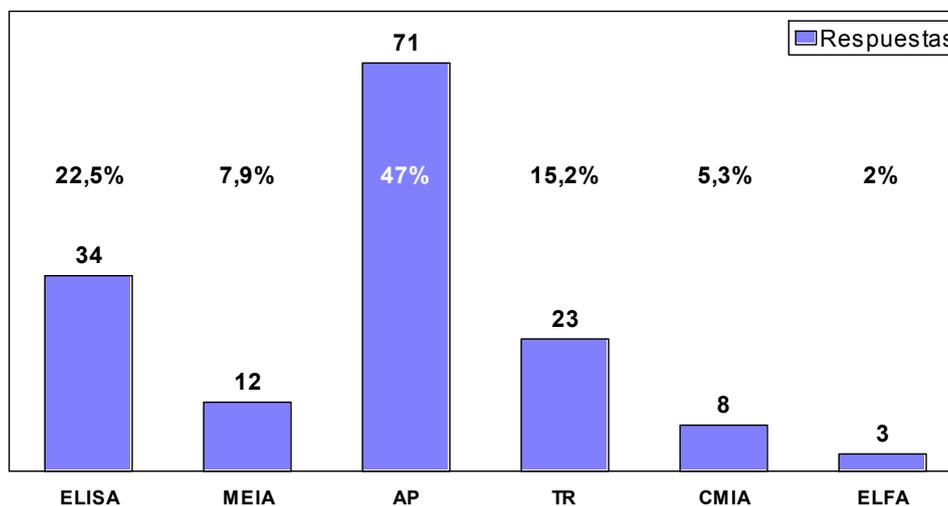


Figura 14: resultados de la 1ª ronda de 2011. Distribución de las 151 respuestas generadas por los 104 laboratorios participantes según técnica utilizada en CCE. Los valores se expresan en frecuencias y porcentajes. Referencias: ELISA: acrónimo del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas; MEIA: inmunoensayo por micropartícula; AP: aglutinación de partículas; TR: test rápido; OTRA: inmunoensayo magnético quimioluminiscente (CMIA); ELFA: *Enzyme Linked Fluorescence Immunoassay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas fluorescente. N: 151 respuestas.

La distribución por técnica de los resultados, con la distribución de los paneles incorrectos según presentaran resultados falsos positivos o falsos negativos se muestran graficados a continuación (figura 15).

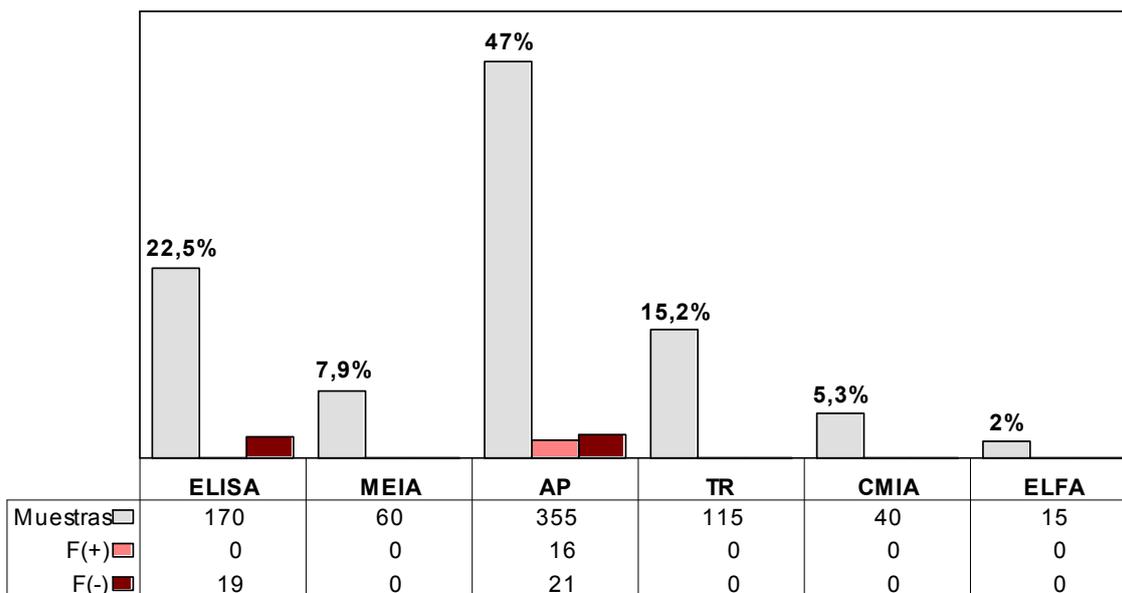


Figura 15: resultados de la 1<sup>o</sup> ronda de 2011. Distribución de las 755 muestras generadas por las 151 respuestas de los 104 laboratorios participantes según técnica utilizada en CCE los falsos positivos y falsos negativos. Referencias: F(+): falso positivo; F(-): falso negativo; ELISA: acrónimo del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas; MEIA: inmunoensayo por micropartícula; AP: aglutinación de partículas; TR: test rápido; OTRA: inmunoensayo magnético quimioluminiscente (CMIA); ELFA: *Enzyme Linked Fluorescence Immunoassay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas fluorescente. N: 755 muestras.

La sensibilidad del sistema que evalúa el conjunto de los laboratorios que respondieron en esta ronda fue del 90,38%.

Los falsos negativos representaron el 7,69% de las muestras de los paneles incorrectos.

El índice de concordancia es del 89,23% en esta ronda también.

La sensibilidad<sup>o</sup> y la especificidad<sup>p</sup> del sistema junto a los valores predictivos y su concordancia se muestran y grafican a continuación (figura 16).

<sup>o</sup> capacidad para identificar correctamente los positivos.

<sup>p</sup> capacidad para identificar correctamente los negativos.

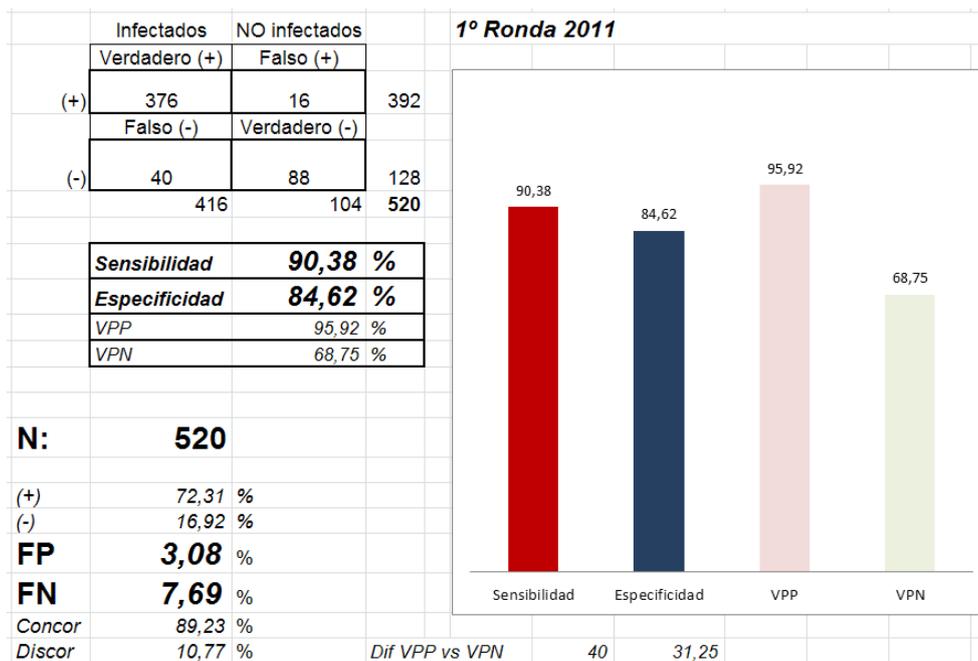


Figura 16: sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del sistema de la 1º ronda de 2011.

El tratamiento estadístico, aplicando el índice de concordancia observada, el índice de concordancia esperada y el coeficiente Kappa a fin de medir el grado de concordancia no aleatoria (tabla 5), muestra los siguientes resultados:

Tabla 5: valores de concordancia y coeficiente *Kappa* de la 1º ronda de 2011

Concordancia	Índice
Observada	0,892
Esperada	0,652
Coeficiente de <i>Kappa</i>	0,689

## SEGUNDA RONDA AÑO 2011

En la segunda ronda del año 2011 se enrolaron y recibieron paneles 113 laboratorios; de los cuales respondieron 110 laboratorios y 3 no enviaron sus resultados. De los 110 que respondieron, 88 paneles fueron correctos mientras que 22 tuvieron una o más respuestas incorrectas (figura 17).

Los resultados y sus porcentajes se muestran graficados a continuación (figura 17)

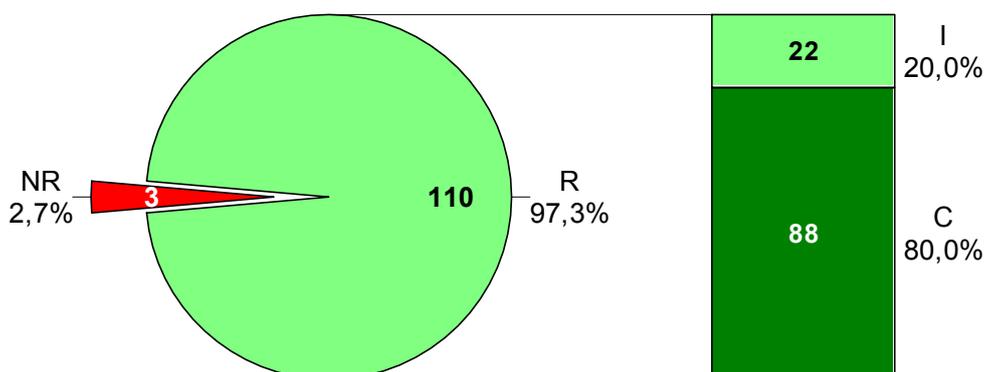


Figura 17: resultados de la 2ª ronda de 2011. Distribución de los 113 paneles que corresponden a 565 muestras enviadas a los laboratorios participantes. Los valores se expresan en frecuencias y porcentajes. Referencias: NR: no respondieron; R: respondieron; I: incorrectos; C: correctos. N: 113.

En esta oportunidad los 113 paneles enviados implicaron 565 muestras, por lo que las 110 respuestas son 550 muestras analizadas y respondidas y los 3 paneles no respondidos corresponden a 15 muestras.

Los 88 paneles respondidos correctamente son 440 muestras, mientras que los 22 paneles incorrectos implican entre 22 y 110 muestras incorrectas. Se grafican y muestran los porcentajes por separado. El número de paneles, se muestran graficados a continuación (figura 18).

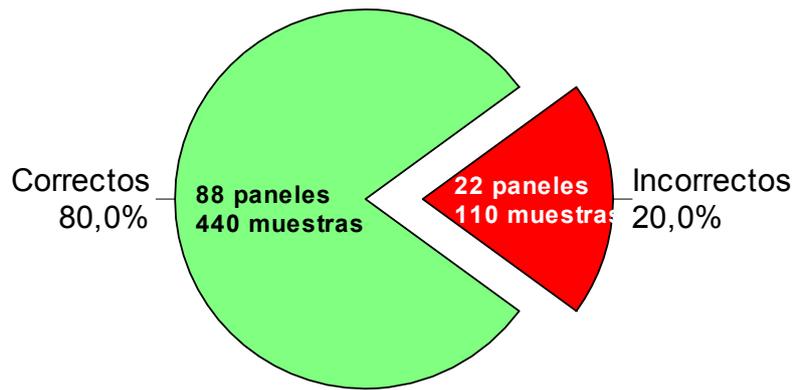


Figura 18: resultados de la 2ª ronda de 2011. Distribución de los 110 paneles que corresponden a 550 muestras enviadas por los laboratorios participantes según resultado. Los valores se expresan en frecuencias y porcentajes. N: 110 paneles.

Los 22 paneles incorrectos implican 110 muestras. Cada laboratorio que respondió un panel incorrecto, puede responder entre una y cinco muestras incorrectas. Los resultados de estos 22 laboratorios fueron: Resultados falsos negativos: 28 muestras, resultados falsos positivos: 3 muestras y resultados correctos 79 muestras. La proporcionalidad de cada uno, se muestra graficado a continuación (figura 19).

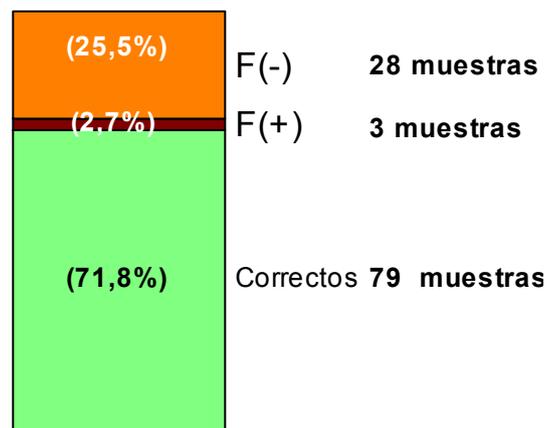


Figura 19: resultados de la 2ª ronda de 2011. Distribución de los 22 paneles que corresponden a 110 muestras respondidas por los laboratorios participantes según resultado. Los valores se expresan en frecuencias y porcentajes. Referencias: F(-): falso negativo; F(+): falso positivo. N: 20 paneles.

Las 110 respuestas, mostraron la utilización de más de una técnica. En total, el panel se utilizó en 150 oportunidades en esta ronda de CCE por distintas técnicas. Su distribución y porcentaje de participación de cada metodología se muestra graficado a continuación (figura 20).

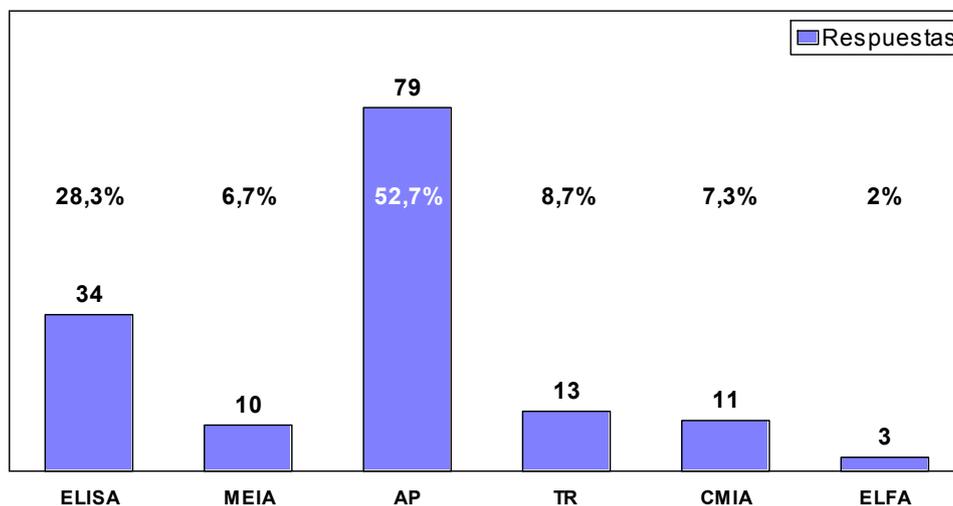


Figura 20: resultados de la 2ª ronda de 2011. Distribución de las 150 respuestas generadas por los 113 laboratorios participantes según técnica utilizada en CCE. Los valores se expresan en frecuencias y porcentajes. Referencias: ELISA: acrónimo del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas; MEIA: inmunoensayo por micropartícula; AP: aglutinación de partículas; TR: test rápido; OTRA: inmunoensayo magnético quimioluminiscente (CMIA); ELFA: *Enzyme Linked Fluorescence Immunoassay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas fluorescente. N: 110 respuestas.

Los resultados, con su distribución según técnicas utilizadas y falsos positivos o falsos negativos, se muestran graficados a continuación (figura 21).

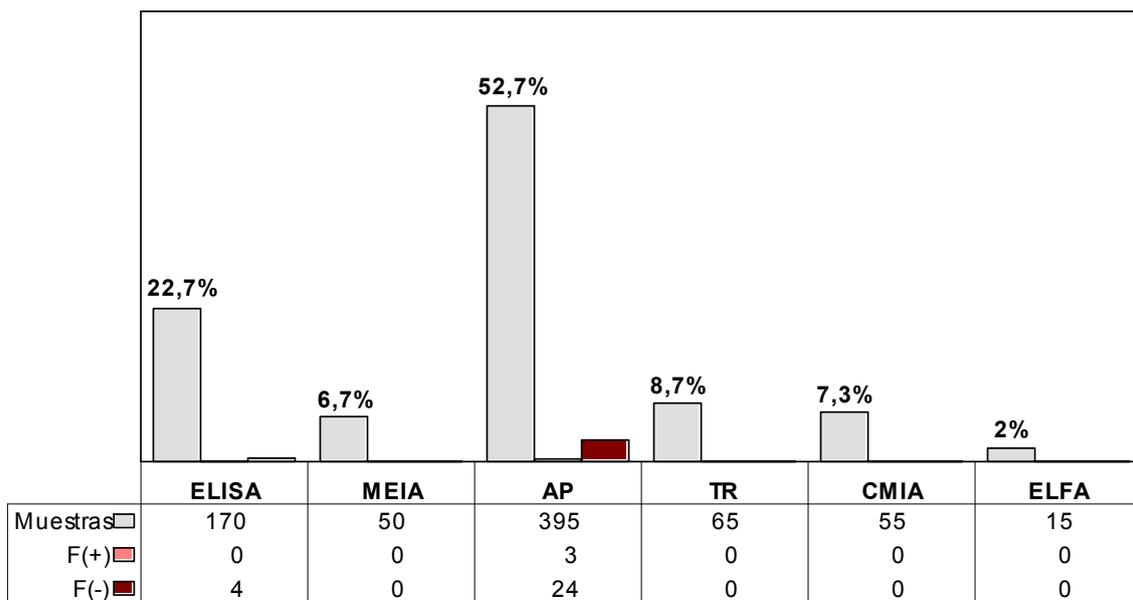


Figura 21: resultados de la 2<sup>o</sup> ronda de 2011. Distribución de las 750 muestras generadas por las 150 respuestas de los 113 laboratorios participantes según técnica utilizada en CCE los falsos positivos y falsos negativos. Referencias: F(+): falso positivo; F(-): falso negativo; ELISA: acrónimo del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas; MEIA: inmunoensayo por micropartícula; AP: aglutinación de partículas; TR: test rápido; OTRA: inmunoensayo magnético quimioluminiscente (CMIA); ELFA: *Enzyme Linked Fluorescence Immunoassay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas fluorescente. N: 755 muestras.

La sensibilidad del sistema que evalúa el conjunto de los laboratorios que respondieron en esta ronda fue del 93,64%.

Los falsos negativos representaron el 5,09% de las muestras de los paneles incorrectos.

El índice de concordancia es del 94,36%. Estos resultados se muestran y grafican a continuación (figura 22).

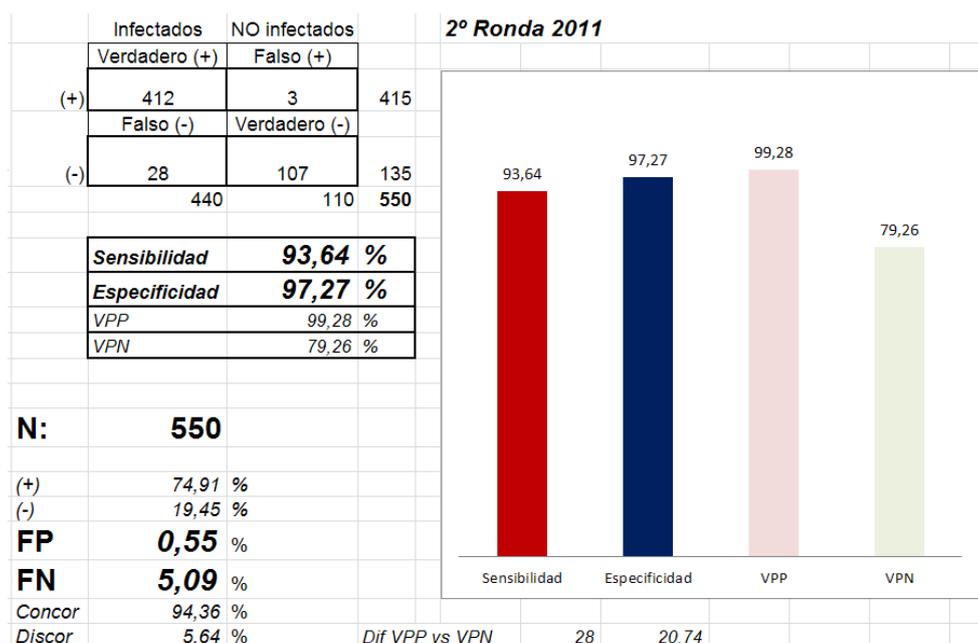


Figura 22: sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del sistema de la 2<sup>o</sup> ronda de 2011.

El tratamiento estadístico aplicando el índice de concordancia observada, el índice de concordancia esperada y el coeficiente Kappa a fin de medir el grado de concordancia no aleatoria (tabla 6), muestra los siguientes resultados:

Tabla 6: valores de concordancia y coeficiente *Kappa* de la 2<sup>o</sup> ronda de 2011

Concordancia	Índice
Observada	0,943
Esperada	0,652
Coeficiente de <i>Kappa</i>	0,836

## RONDA AÑO 2012

En la ronda del año 2012, se enrolaron 216 laboratorios y recibieron cada uno su panel. De ellos respondieron 195 laboratorios mientras que 21 no enviaron sus resultados. De los 195 que respondieron, 157 paneles fueron correctos mientras que 38 tuvieron una o más respuestas incorrectas.

Los resultados y sus porcentajes, se muestran graficados a continuación (figura 23).

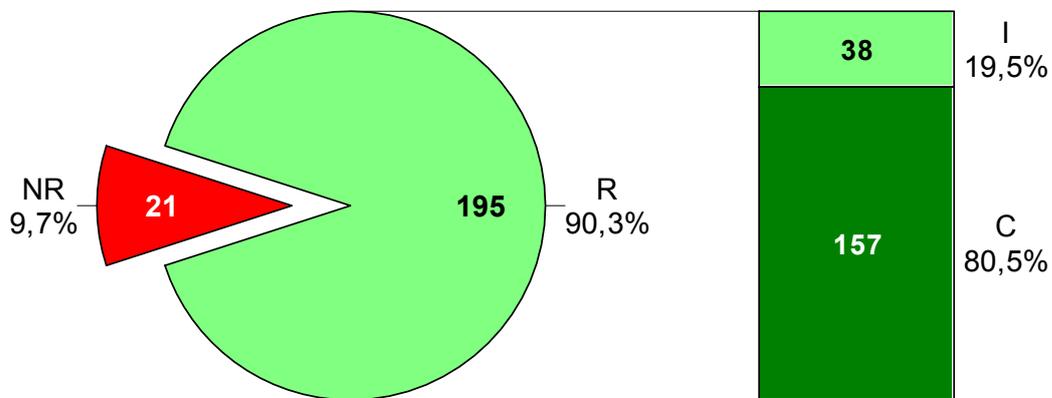


Figura 23: resultados de la ronda de 2012. Distribución de los 216 paneles que corresponden a 1080 muestras enviadas a los laboratorios participantes. Los valores se expresan en frecuencias y porcentajes. Referencias: NR: no respondieron; R: respondieron; I: incorrectos; C: correctos. N: 216.

En esta oportunidad, los 216 paneles enviados implican 1080 muestras en total, por lo que las 195 respuestas son 975 muestras analizadas y respondidas y los 21 paneles no respondidos son 105 muestras sin resultados.

Los paneles correctos fueron 157 (785 muestras) y los incorrectos 38 (190 muestras). El número de paneles, se muestran graficados a continuación (figura 24).

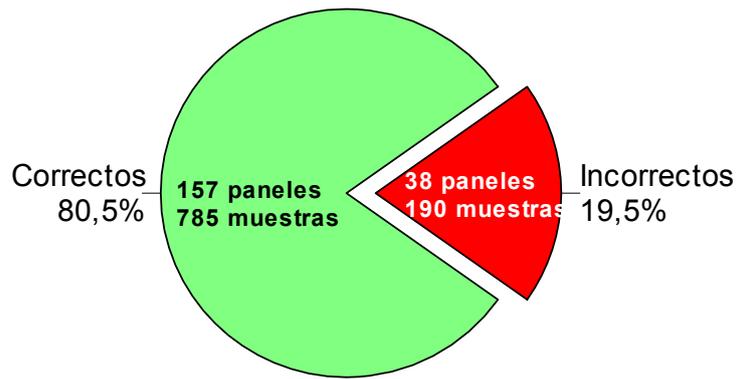


Figura 24: resultados de la ronda de 2012. Distribución de los 195 paneles que corresponden a 975 muestras enviadas por los laboratorios participantes según resultado. Los valores se expresan en frecuencias y porcentajes. Referencias: C: correctos; I: incorrectos. N: 195 paneles.

Cada laboratorio que respondió un panel incorrecto, pudo responder entre una y cinco muestras incorrectas. Los resultados de estos 38 laboratorios fueron: Resultados falsos negativos: 10 muestras, resultados falsos positivos: 38 muestras y resultados correctos 142 muestras. La proporcionalidad de cada uno, se muestra graficado a continuación (figura 25).

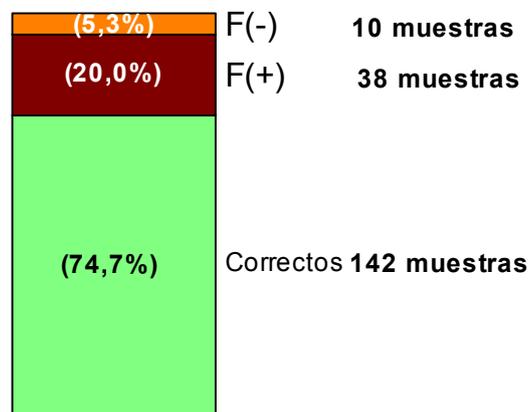


Figura 25: resultados de la ronda de 2012. Distribución de los 38 paneles que corresponden a 190 muestras enviadas por los laboratorios participantes según resultado. Los valores se expresan en frecuencias y porcentajes. Referencias: F(-): falso negativo; F(+): falso positivo. N: 38 paneles.

Las 195 respuestas, se generaron por la utilización de más de una técnica. En total el panel se procesó en 311 oportunidades en esta ronda de

CCE por distintas técnicas, su distribución y porcentaje de participación de cada metodología se muestra graficado a continuación (figura 26).

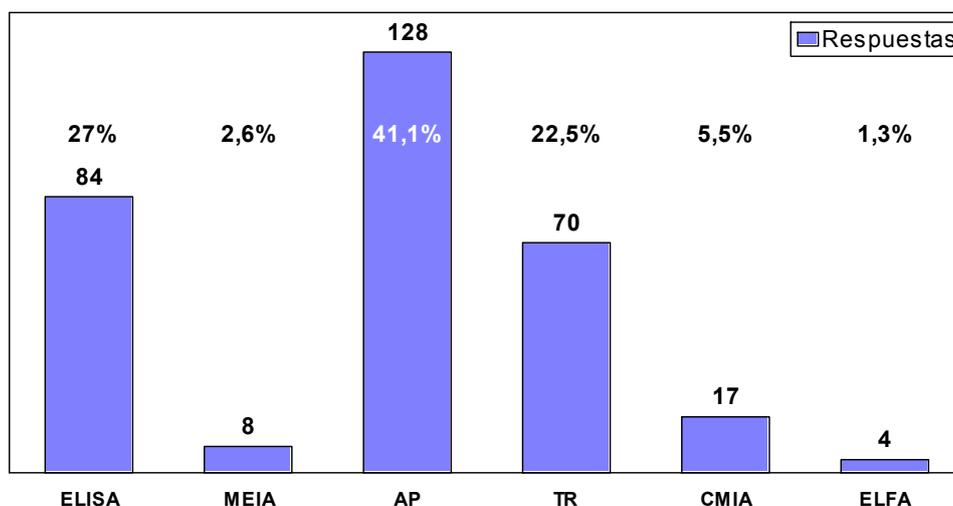


Figura 26: resultados de la ronda de 2012. Distribución de las 311 respuestas generadas por los 216 laboratorios participantes según técnica utilizada en CCE. Los valores se expresan en frecuencias y porcentajes. Referencias: ELISA: acrónimo del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas; MEIA: inmunoensayo por micropartícula; AP: aglutinación de partículas; TR: test rápido; OTRA: inmunoensayo magnético quimioluminiscente (CMIA); ELFA: *Enzyme Linked Fluorescence Immunoassay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas fluorescente. N: 110 respuestas.

La distribución por técnica de los resultados y falsos positivos o falsos negativos, se muestran graficados a continuación (figura 27).

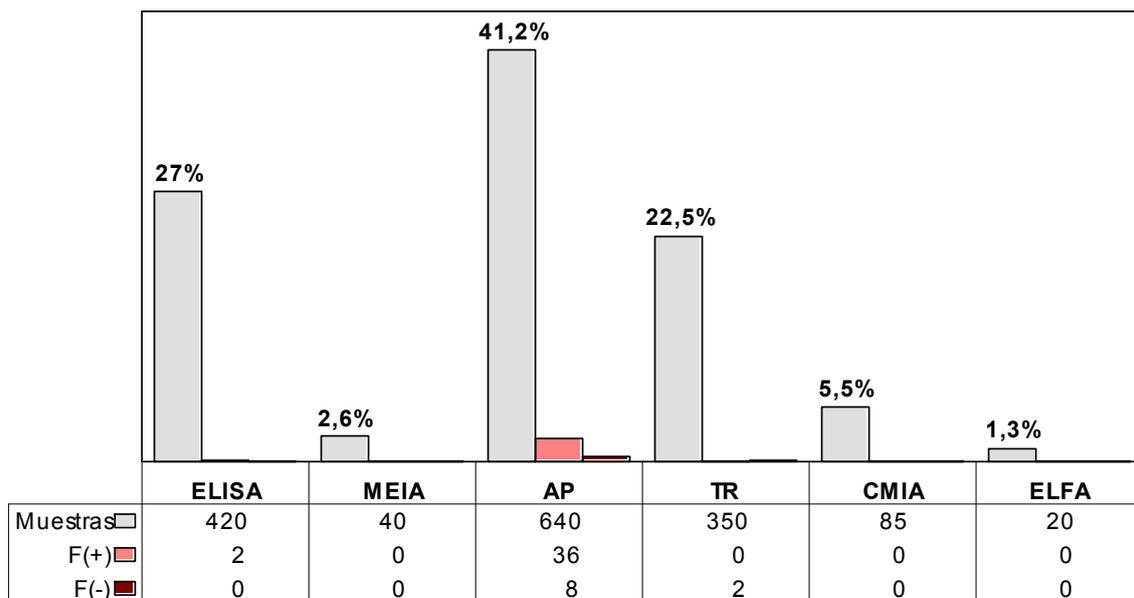


Figura 27: resultados de la ronda de 2012. Distribución de las 1.555 muestras generadas por las 311 respuestas de los 216 laboratorios participantes según técnica utilizada en CCE falsos positivos y falsos negativos. Referencias: F(+): falso positivo; F(-): falso negativo; ELISA: acrónimo del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas; MEIA: inmunoensayo por micropartícula; AP: aglutinación de partículas; TR: test rápido; OTRA: inmunoensayo magnético quimioluminiscente (CMIA); ELFA: *Enzyme Linked Fluorescence Immunoassay*, Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas fluorescente. N: 755 muestras.

La sensibilidad del sistema que evalúa el conjunto de los laboratorios que respondieron en este caso, fue del 98,72%.

Los falsos negativos representaron el 1,03% de las muestras de los paneles incorrectos en esta ronda.

El índice de concordancia es del 95,08%, Estos resultados se muestran y grafican a continuación (figura 28).

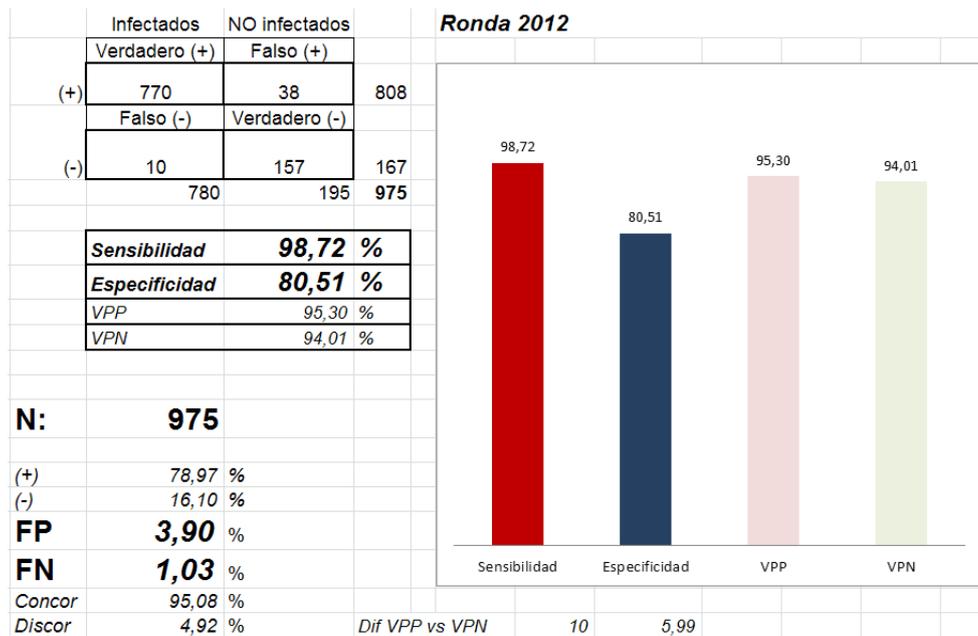


Figura 28: sensibilidad, especificidad, VPP y VPN del sistema de la ronda de 2012.

El tratamiento estadístico aplicando el índice de concordancia observada, el índice de concordancia esperada y el coeficiente *Kappa* a fin de medir el grado de concordancia no aleatoria (tabla 7), muestra los siguientes resultados:

Tabla 7: valores de concordancia y coeficiente *Kappa* de la ronda de 2012

Concordancia	Índice
Observada	0,950
Esperada	0,697
Coeficiente de <i>Kappa</i>	0,834

CAPÍTULO IV  
DISCUSIÓN

El laboratorio adquiere una relevancia muy especial en la confirmación diagnóstica de una posible infección por el VIH. El síndrome retroviral agudo post contagio, aun acompañado de datos epidemiológicos, requiere por parte del médico, de una serie de estudios de laboratorio con el fin de descartar otras patologías y de confirmar su sospecha clínica, más aún si no poseemos los antecedentes clínicos y/o epidemiológicos.

Contar con resultados de laboratorio confiables, responde a una necesidad diaria del paciente y del médico, más allá de lo ético, de la responsabilidad profesional y de las recomendaciones nacionales e internacionales.

Por ello, disponer de un CCE para ensayos dirigidos a la detección de Ac anti VIH, utilizado como herramienta para el monitoreo y control de los procedimientos de los laboratorios, nos aporta la seguridad de los resultados finales, para actuar en consecuencia. El suero control evaluado y aprobado para su aplicación como elemento de monitoreo externo permite disponer de resultados de laboratorio correctos.

Estos resultados, no sólo impactan en el adecuado abordaje del paciente de manera individual, sino que, dado el escenario tan heterogéneo que presenta la pandemia en los distintos puntos del país y del mundo, son una herramienta indispensable para la toma de decisiones, en las estructuras sanitarias, nacionales e internacionales, responsables de las políticas de salud.

Como ejemplo de lo citado anteriormente, se puede mencionar que en la última Reunión de Consenso, realizada en abril de 2012 en Colombia, se presentaron a los "resultados confiables" como uno de los 5 ejes de las recomendaciones del evento. (19)

Las normas y estándares mundiales tienen requisitos o guías específicas sobre el control de la calidad, en especial las ISO 15189 (46). Cumplir estos requisitos, cuando sean aplicables, es responsabilidad de cada laboratorio. *"El laboratorio debe diseñar sistemas de control de la calidad internos que verifiquen que se consigue la calidad prevista de los resultados". "El sistema de gestión de la calidad debe incluir, entre otros, el control de la calidad interno y*

*la participación en comparaciones entre laboratorios, tales como los programas de evaluación externa de la calidad". (47)*

De esta manera, y atento a que en nuestro país, existe poca accesibilidad al CCE para monitoreo de laboratorios que realizan pruebas de VIH y, escasa reglamentación a cerca de su utilización, se desarrolla el presente trabajo cuyo objetivo principal fue *"Evaluar un suero control para laboratorios que realizan la detección de anticuerpos del VIH en sangre, y su aplicación como elemento de monitoreo externo de dichos laboratorios"*.

Del mismo, se desprenden todos los objetivos específicos planteados en este trabajo:

- Evaluar su sensibilidad y especificidad, con diferentes técnicas y marcas comerciales de reactivos, para detección de Ac anti VIH.
- Establecer la robustez del control, es decir, la reproducibilidad a través del tiempo, conservado en condiciones estándar.
- Evaluar la estabilidad del control en el tiempo y ante condiciones físicas de transporte y conservación exigentes.
- Elaborar el soporte administrativo adecuado, es decir normas y procedimientos.
- Evaluar e identificar los resultados remitidos por los laboratorios participantes.
- Identificar situaciones de desempeño incorrecto y las posibles causas.
- Evaluación de la aplicación del suero control y recomendaciones.

El CCE, en el laboratorio clínico, forma parte del sistema de garantía de calidad, diseñado para incrementar la probabilidad de que cada resultado reportado sea válido y pueda ser utilizado con confianza por el médico para tomar una decisión diagnóstica o terapéutica.

Los procedimientos de CC funcionan detectando los errores analíticos y cualquier error, que sea suficiente para invalidar la utilidad médica de los resultados de laboratorio, debe ser detectado.

En la práctica, muchos procedimientos de CC operan introduciendo controles (muestras bien caracterizadas por ensayos previos) al proceso del laboratorio y comparando los resultados de la prueba con el rango de valores esperado derivado del ensayo previo.

Las medidas estadísticas de control del CC son relativamente sencillas. Estas medidas estadísticas incluyen: la media, desviación estándar (DS) y coeficiente de variación (CV).

La media identifica el "valor objetivo" de un conjunto de datos, usualmente de un control. Es la medida estadística fundamental usada para comparar o calcular otros valores estadísticos. El Comité Nacional para Estándares Clínicos de Laboratorio "*National Committee for Clinical Laboratory Standards*" (NCCLS) de EEUU, recomienda que se obtengan al menos 20 datos de 20 o más corridas, para ser utilizados en la obtención de los valores (media y DS) del laboratorio para los materiales de control.

La DS, cuantifica el grado de dispersión de los puntos de los datos cerca de la media y es usada, para establecer los límites en los que es determinada la aceptabilidad del resultado del control. Los datos de CC muestran con frecuencia una distribución "normal" Gaussiana alrededor de la media. (48)

Al momento del diseño del CCE para ensayos serológicos, debe tenerse en cuenta que estas pruebas son cualitativas, informan sobre presencia o ausencia del marcador a detectar. Por esto, los sueros control que integran un panel de CCE deben estar bien caracterizados para asegurar la confiabilidad de los resultados de los laboratorios participantes.

Al evaluar la sensibilidad y la especificidad del suero control, entendido como un instrumento de referencia, que permite clasificar correctamente el resultado de una prueba, realizada para detectar Ac anti VIH, los resultados mostraron un comportamiento óptimo dado que ambas fueron del 100%. Entendiendo que ambas variables son críticas en todo reactivo que debe seleccionarse para ser utilizado en un laboratorio, por lo que se procede con igual criterio para su evaluación.

Una vez elaborado el suero control y después de ajustar su reactividad, utilizando diluciones conforme a estándares internacionales y recomendaciones

de expertos en la materia, se lo ensayó según lo expuesto sobre estabilidad, en el capítulo de resultados. Estas evaluaciones nos muestran la validez del suero y en ello coincide con los procedimientos recomendados por Amadeo Sáez Alquézar. (49)

Respecto a la precisión de éste suero control, los resultados obtenidos en el tiempo demuestran que la repetitividad y la reproducibilidad son las adecuadas a un elemento que se debe utilizar para monitoreo de laboratorios.

Es importante señalar, que las pruebas de laboratorio efectuadas en este trabajo fueron realizadas con metodología automatizada para garantizar la total objetividad de los resultados. En su elección, se escogieron aquellas de uso más frecuente en nuestro medio como es CMIA, pero también se ensayaron con ELISA de 3<sup>o</sup> y 4<sup>a</sup> generación, respetando el procedimiento indicado por el fabricante. Además se efectuaron las pruebas con metodologías manuales como AP y TR, cuyos resultados también fueron concordantes. De esta manera se incluye la mayoría de los ensayos disponibles en el mercado local.

Cuando un proceso analítico está en control, es decir que el proceso funciona correctamente, los resultados de CC formarán una curva de distribución normal Gaussiana, donde aproximadamente el 99,7% de los resultados caerán dentro de los límites de  $\pm 3$  DS.

Los resultados de CC que están fuera de los límites de 3 DS son generalmente considerados fuera de control, y el ensayo debería ser rechazado.

Los resultados de CC mayores a 2 DS, pero dentro del límite 3 DS no necesariamente indican que el ensayo deba ser rechazado, ya que aproximadamente 4% de los resultados válidos pueden caer entre 2 DS y 3 DS.

Se puede observar a continuación el gráfico de distribución Gaussiana de los resultados obtenidos en el presente trabajo con el suero control positivo y negativo (figura 29).

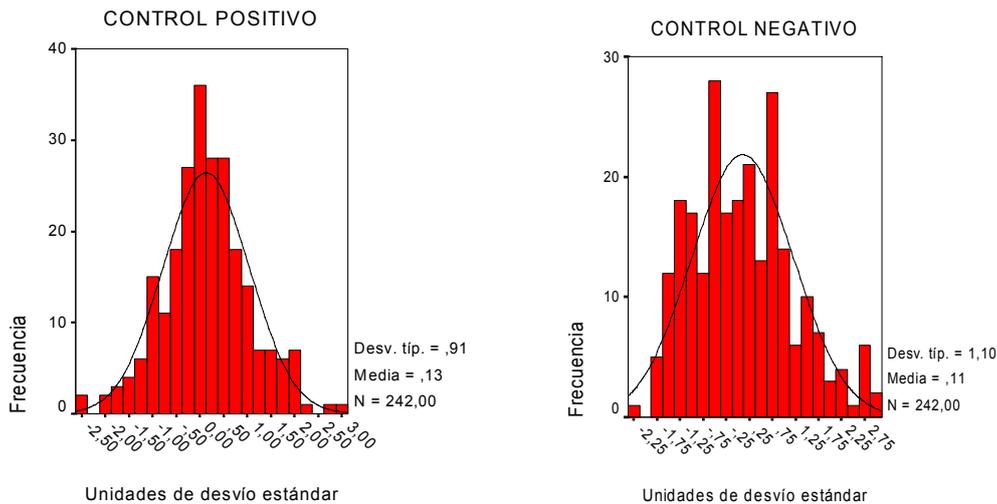


Figura 29: histogramas de control positivo (izquierda) y negativo (derecha) del suero control utilizado en este trabajo.

La validez y la precisión de este suero control, están dentro de los parámetros exigidos y coinciden con las recomendaciones de las agencias regulatorias. Para el cumplimiento de las buenas prácticas de laboratorio, la validación es imprescindible. (50) (51)

Respecto a la estabilidad del suero control, requisito crítico a la hora de programar la distribución y posterior ensayo, quedó demostrado, a partir de las pruebas de estrés, que este suero se adapta plenamente para su uso dentro del programa de CCE, puesto que presenta una estabilidad real tanto a temperatura ambiente, como en condiciones de estrés térmico por largos períodos de tiempo.

Para su distribución los CCE se envasan en tubos, con tapa con cierre a rosca. El panel, para su traslado, se coloca en un sobre de plástico con cierre hermético, respetando las normas de bioseguridad vigentes.

El CCE permite ser distribuido sin que se altere su comportamiento a través del tiempo de transporte, justamente por su estabilidad previamente mencionada.

Otro aspecto importante de destacar, es la posibilidad de ser utilizado con los instrumentos y metodologías de laboratorio más frecuentes en nuestro país y de esta manera, cubre un gran espectro de los mismos.

No obstante, el ajuste de este ensayo, requirió contemplar la evolución de la metodología. Los métodos han evolucionado y mejorado su performance, con el objetivo de obtener un resultado correcto y definitivo, así como también evolucionaron los diferentes criterios adoptados, para el algoritmo diagnóstico para infección por VIH.

Actualmente los algoritmos vigentes indican que, las pruebas de tamizaje, ante resultados reactivos, por ejemplo de una prueba de ELISA, se confirman con un test confirmatorio como es el WB. Esto es porque en las pruebas de tamizaje, existen posibilidades de falsos positivos y negativos, citando en la próxima tabla las principales causas que dan origen a estas situaciones.

Tabla 8: ELISA: causas probables de falsos positivos y falsos negativos

<b>Falsos positivos:</b>
• Ac anti HLA.
• Trasfusiones múltiples.
• Vacunación para la influenza (reciente).
• Muestra en mal estado.
• Otras.
<b>Falsos negativos:</b>
• Período de ventana por infección reciente.
• Hipoproteinemia (gamma).
• Infección por VIH-2.
• Infección de genotipo inusual.

En la actualidad, dada la gran especificidad y sensibilidad que fueron adquiriendo los distintos métodos, se encuentra en revisión el algoritmo diagnóstico, incluso se está reevaluando la necesidad de confirmar con WB.

Esta revisión se basa, no solo en la mejora desarrollada en la performance de las pruebas de tamizaje, sino al incremento del uso de pruebas moleculares que, en algunos casos brindan, a partir de sus resultados, información que permite dar inicio precoz al tratamiento adecuado de los infectados.

Además, la técnica de WB también tiene sus particularidades a la hora de su interpretación ya que, distintos organismos internacionales rectores en la

materia, utilizan diferentes criterios que son adoptados por los laboratorios que realizan el diagnóstico, según los consideren más adecuados a su realidad (34).

En nuestra provincia de Córdoba, por ejemplo, se desarrollaron trabajos de investigación, que brindaron información interesante aplicable a poblaciones claves como son las embarazadas, por el impacto sanitario de la transmisión vertical.

Uno de ellos, realizado durante el período comprendido entre los años 2004 y 2008, indica que, el criterio del CDC para la interpretación del WB, adoptado por el Laboratorio Central es el adecuado pues evita informar resultados falsos positivos.

Según la conclusión de ese trabajo, el 94,28% de los resultados indeterminados (por WB), posteriormente fueron definidos como negativos mediante muestras obtenidas durante el seguimiento. El criterio de positividad adoptado, permitió clasificar como indeterminadas esas muestras que hubieran sido consideradas positivas siguiendo criterios de otras agencias internacionales. (52)

Validado el suero control se utiliza como CCE, siendo éste una herramienta indispensable en un programa de evaluación externa, y como parte del mismo, permite comparar los resultados de un laboratorio con los resultados de cientos de laboratorios en el país.

Estos son los llamados Test de Proficiencia y son provistos por entidades de reconocida solvencia técnica y profesional. El proveedor mide el nivel de exactitud y reporta la condición, comparada con cientos de laboratorios del país. Esta es la mejor medida del grado de calidad alcanzado por un laboratorio.

Dada la necesidad de estandarizar la elaboración, envío, manejo, recepción de datos, procesamiento de resultados y realización del posterior informe sobre la utilización del suero control; se elaboraron los soportes pertinentes para documentar la información nombrada que se envió y recibió de los laboratorios participantes.

Dicha documentación establece normas y procedimientos estándar de utilización, que fueron óptimos para demostrar la aplicabilidad del suero con el que se confeccionó el panel de CCE.

Luego, los soportes administrativos fueron archivados como documentos que acreditaron la performance de calidad de los laboratorios durante su participación en el programa de CCE de este trabajo.

En lo que respecta a la aplicación del suero control, evaluado en el presente trabajo, la cantidad de participantes en las dos rondas de CCE de 2011, tienen una diferencia mínima dado que se enrolaron 114 y 113 laboratorios en la primera y segunda rondas respectivamente.

Los resultados remitidos, en lo que respecta a cantidad de laboratorios que respondieron, siempre estuvieron dentro de los estándares esperados. Nuestro objetivo fue obtener más de un 90% de respuestas.

La cantidad de respuestas en la segunda ronda de ese año, mejoró dado que sólo el 2,7% de los participantes, no envió sus resultados.

Luego, en el año 2012 se enrolaron en el programa un mayor número de laboratorios, se llegó a 216 participantes y con un índice de respuestas superior al 90%.

Evaluar e identificar los resultados remitidos, llevó implícita la evaluación del funcionamiento del sistema. Es decir que, de forma directa o indirecta, apreciamos el desempeño global, desde la elaboración y envío de los paneles, la recepción, su análisis, el remito de los resultados y el análisis de estos.

Es importante tener presente que la calidad de los resultados de los laboratorios, se deben al cumplimiento correcto o no de los procedimientos, que incluye las etapas: pre analítica, analítica y post analítica; a su vez, dentro de cada una de éstas, influyen los roles que cumplen el recurso humano, el equipamiento, los reactivos, entre otros. Por lo cual ante un resultado incorrecto debe revisarse todo el proceso.

En las distintas rondas que se analizaron en este trabajo, se encontraron casos de resultados incorrectos, tanto falsos positivos como falsos negativos.

En las tres rondas analizadas, la cantidad de paneles incorrectos reportados en cada oportunidad fue del 19,2%, 20,0% y 19,5% en la 1º, 2º y 3º rondas respectivamente.

Llevado el análisis, no al número de paneles, sino al número de muestras que componen los paneles incorrectos, el porcentaje de éstas descendió del 56% al 28,2% de la primera a la segunda ronda de 2011.

En la ronda de 2012, las muestras incorrectas representaron el 25,3%, siempre en referencia a las muestras de los paneles incorrectos, habiendo disminuido así más del 50% en referencia a la 1º ronda de 2011.

Analizados por metodología, en el caso de los que utilizaron ELISA, observamos que los falsos negativos, en los cuales es necesario poner más atención, fueron: 1º ronda 2011: 19 (11,18%) muestras; 2º ronda 2011: 4 (2,35%) muestras; y finalmente en la 1º ronda de 2012: 0 (0%) respuesta o muestra incorrecta.

Las causas posibles más frecuentes de error, estuvieron centradas en la falta de equipamiento, equipamiento defectuoso, en su mal uso o mantenimiento inadecuado, así como al recurso humano poco entrenado o reactivos vencidos, entre otros.

En relación a la identificación de situaciones de desempeño incorrecto y sus posibles causas, el grupo que utilizó la metodología de aglutinación de partículas, es en el que se concentró la mayor cantidad de muestras con resultados incorrectos.

Al respecto en la primera ronda de 2011, el 47% de las muestras, fueron procesadas con la metodología de AP e informadas como incorrectas el 10,40%. (Figura 30)

En la segunda ronda de 2011, el 52,7% de las muestras, fueron procesadas con la metodología de AP e informadas incorrectas el 6,86%. (Figura 30)

En la ronda de 2012, el 41% de las muestras, fueron procesadas con la metodología de AP e informadas incorrectas el 6,85%. (Figura 30)

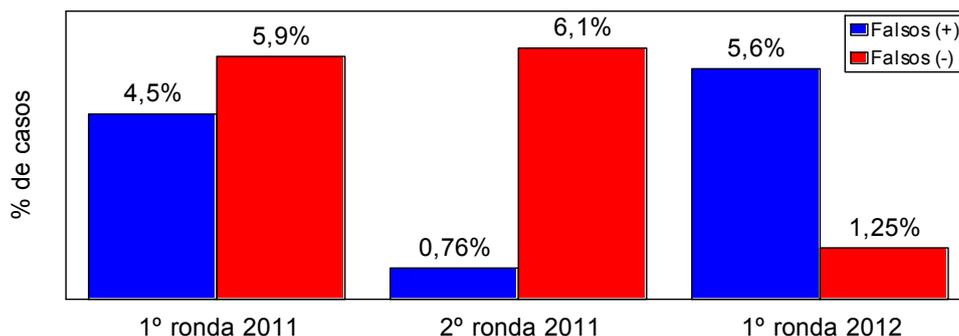


Figura 30: gráfico comparativo de AP (FP y FN) de las tres rondas.

Se pone así de manifiesto, que las pruebas cuyos resultados son de interpretación visual, cargados de subjetividad, son más propensas a generar errores.

Además, en la ronda de 2012, analizando las posibles causas de los resultados incorrectos, se detectó un error en el inserto de uno de los reactivos de AP utilizados por 6 provincias. Si bien no puede asegurarse que este hallazgo se vincule directamente a los resultados falsos positivos que se muestran en la tabla antes expuesta y que se destaca por la magnitud de esos resultados, podría presumirse como un factor que contribuyó a esta situación.

La observación demuestra la utilidad práctica del sistema de evaluación externa en nuestro medio, coincidiendo con las recomendaciones internacionales. (53) (54) (55) (56)

Los resultados expuestos muestran una evolución favorable en la calidad de los mismos; principalmente las respuestas Falso Negativo lo que es objetivamente apreciable al comparar los gráficos de las tres rondas y luego la evolución de los falsos negativos. (Figura 31)

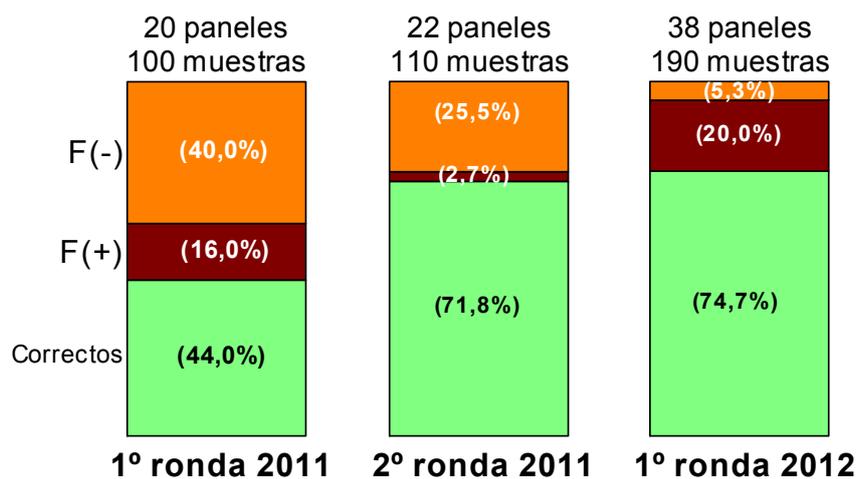
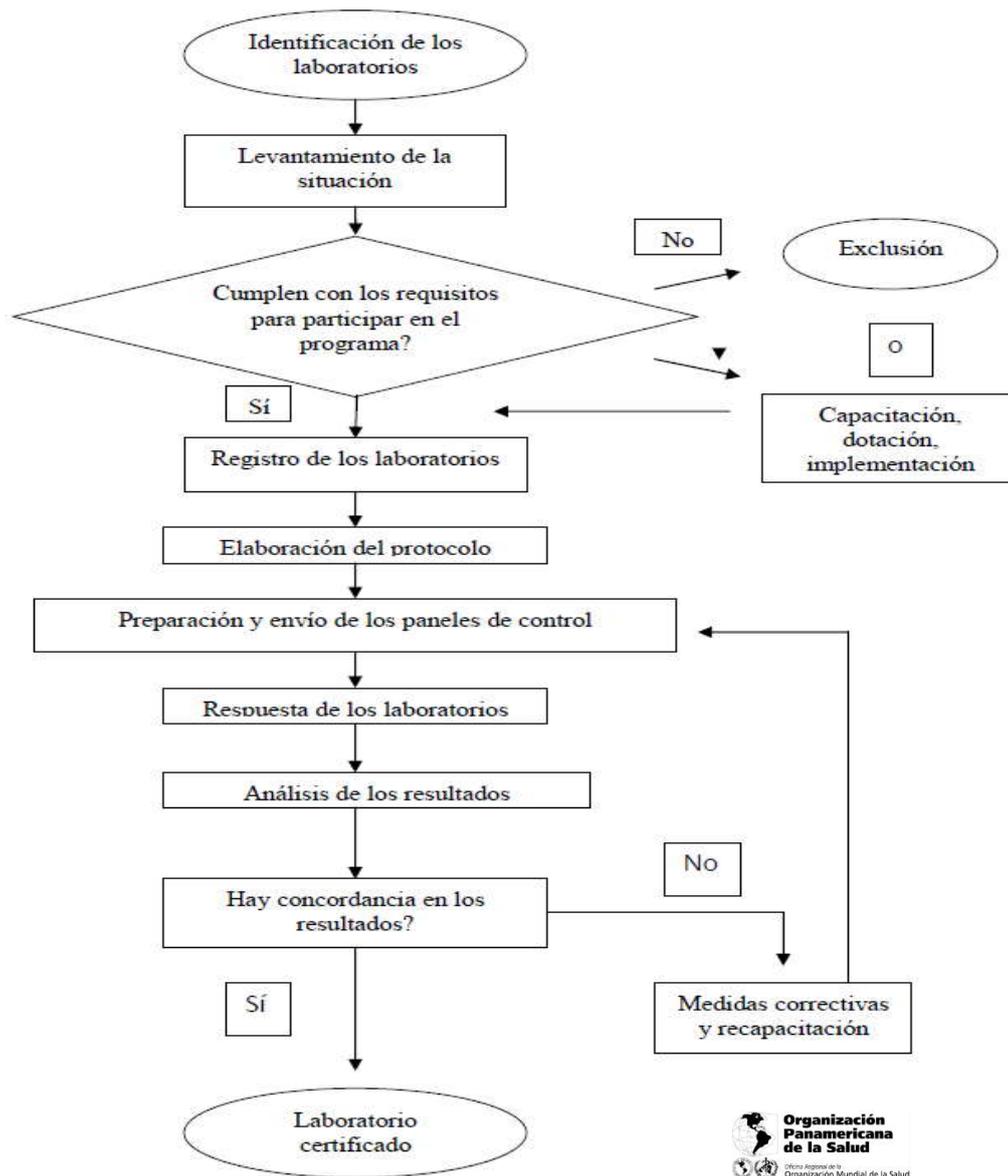


Figura 31: gráfico comparativo de muestras de los paneles incorrectos en las tres rondas.

Sin dudas esto se relaciona a la aplicación del programa de CCE, en coincidencia con las recomendaciones de la OMS, cuyos lineamientos se siguieron en el presente trabajo.

A continuación se presenta el proceso mencionado.



Tomado de: Curso de Gestión de calidad para laboratorios.  
 Módulo 3: Documentación del sistema de calidad OPS. Washington D.C., 2005

Figura 32: proceso de implementación de un programa de evaluación externa del desempeño en la red.

El índice de concordancia no aleatoria nos permite medir la proporción global de acuerdos de dos observaciones realizadas por un mismo examinador. A partir de éste podemos conocer el Coeficiente de *Kappa* si relacionamos la concordancia observada a la concordancia esperada o debida solamente al azar.

En la primera ronda de 2011 conforme a la interpretación del coeficiente de *Kappa* del 0,69%, fue moderado, mientras que en la segunda de ese año y en el 2012 el índice del 0,83% es bueno.

Tabla 9: coeficiente de *Kappa*

INTERPRETACIÓN
<ul style="list-style-type: none"><li>• Excelente concordancia: <math>K &gt; 90\%</math></li><li>• Buena concordancia: <math>K</math> entre 75 y 90%</li><li>• Moderada concordancia: <math>K</math> entre 50 y 75%</li><li>• Baja concordancia: <math>K &lt; 50\%</math></li></ul>

La sensibilidad del sistema permite identificar a los laboratorios que definen correctamente a quienes tienen la infección. El desempeño del conjunto, varió a medida que se evaluó y se aplicaron las acciones tendientes a corregir los resultados incorrectos. Ésta fue desde el 90,38%, 93,64% y 98,72% para las rondas analizadas.

Su evolución fue favorable. Los resultados generados por las medidas correctivas que debieron tomarse a partir de las no conformidades detectadas durante su aplicación, como por ejemplo, la decisión de cambio de reactivos, instalación de equipamiento adecuado, revisión de las variables críticas de un insumo, como la fecha de vencimiento, entre otras, son las más claras evidencias.

De esta manera se contribuye con uno de los objetivos propuestos en la Declaración del Milenio, del 2000, el cual es: "*el acceso a la detección de la infección por VIH, voluntarios y confidenciales*".

La misma fue aprobada en la Cumbre del Milenio de las Naciones Unidas celebrada en septiembre de 2000 en la que se definieron ocho objetivos para ser alcanzados en el año 2015. (57)

Además, una de las áreas, en la que la aplicación de técnicas estadísticas ha tenido gran difusión y al mismo tiempo un enorme éxito, es en la que se

relaciona con el control de calidad del suministro de servicios, como son los laboratorios de análisis clínicos, o los bancos de sangre.

En este campo, el control estadístico de procesos es una metodología que utiliza fundamentalmente gráficos y permite monitorizar en tiempo real, la estabilidad (calidad) de un servicio, de forma que se detecte, cuanto antes, cualquier situación inadecuada.

Los gráficos de control fueron propuestos originalmente por W. Shewhart (58) en 1931, y en ellos se representa a lo largo del tiempo el estado del proceso que estamos monitorizando. Como ya se menciona en material y métodos, en el mismo se fijan los límites superior e inferior de control, escogidos éstos de tal forma, que la probabilidad de que una observación esté fuera de esos límites sea muy baja, si el proceso está en estado de control.

La finalidad del control es, por lo tanto, monitorizar el sistema para su buen funcionamiento y detectar rápidamente cualquier anomalía respecto al patrón correcto, puesto que ningún proceso se encuentra espontáneamente en ese estado de control. Conseguir llegar a él supone un éxito tan valioso como mantenerlo. Ese es el objetivo del CCE, pero su consecución y mantenimiento exige un esfuerzo sistemático, en primer lugar para eliminar las causas asignables y en segundo para mantenerlo dentro de los estándares de calidad fijados.

En sintonía con lo antes expuesto en el último Consejo Federal de Salud (COFESA) realizado en octubre del 2012 en Catamarca, el Director Ejecutivo de la DS y ETS del Ministerio de Salud de la Nación, Dr. Carlos Falistocco, manifestó que "entre otras actividades, realiza la compra de reactivos, brinda apoyo técnico a las jurisdicciones y también apoya la elaboración del Programa de Control de Calidad en Diagnóstico para Laboratorios de todo el país. (59)

Hoy 216 laboratorios, distribuidos en 14 provincias, están bajo el programa y además, está en marcha una política de convocatoria para la inclusión progresiva de otros, tendiente a lograr equidad en la calidad del diagnóstico, como parte de la política de trabajo.

CAPÍTULO V  
CONCLUSIONES

- A partir de los resultados obtenidos y presentados en este trabajo, se puede concluir que la evaluación del suero control utilizado como CCE para ensayos de VIH, es satisfactorio. El mismo reúne las cualidades necesarias y cumple los estándares recomendados por los principales organismos internacionales.
- Su matriz es 100% humana, se entrega listo para ser utilizado como una muestra biológica en un ensayo de rutina y su manipulación requiere iguales medidas de bioseguridad que el resto de las muestras biológicas.
- El diseño del soporte administrativo, que incluye el instructivo que se adjunta a los paneles de CCE, al momento de la distribución, además de las planillas para registro y envío de resultados por parte de los laboratorios participantes, son lo suficientemente claras y simples para su interpretación y registro de los resultados.
- El procedimiento para su aplicación y el sistema montado para llevar adelante el programa de evaluación externa, pone en evidencia sus atributos y lo convierte en una valiosa herramienta para monitoreo externo del desempeño de laboratorios, que realizan diagnóstico de infección por VIH.

CAPÍTULO VI  
RECOMENDACIONES

Como recomendación, y tal como aconseja la OPS en la última Reunión de Consenso en abril del año 2012, debemos contar con “resultados confiables” (60). Por lo cual todos los laboratorios deberían estar enrolados en un programa de monitoreo externo suficientemente avalado.

Acuerdo con el Licenciado Rafael Velasco, Rector de ésta UCC, quien afirma: *"la Universidad tiene fundamentalmente dos bienes importantes: el conocimiento que produce y trasmite, y su credibilidad institucional. La elección fundamental es que hacer con estos bienes ¿A favor de quién va a poner sus conocimientos y su credibilidad?"* (61)

Este aporte está dirigido a aquellos con los que me siento comprometido: los más vulnerables, como son las personas infectadas por VIH, más allá de la condición social, económica o cultural. Su vulnerabilidad es aún mayor si desconoce su condición de infectado, y llega al extremo en el caso de aquellos por nacer de madres infectadas por VIH.

La herramienta generada a partir de este trabajo puede contribuir, en nuestro medio, al objetivo mundial planteado por la ONU, en el marco de la lucha contra el SIDA para el año 2015, cuyo lema es “Por una generación de niños, libre de SIDA en el año 2015” (62) (63).

## ANEXOS

ANEXO 1

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTANDARIZADO (POE)  
PARA LA ELABORACIÓN DEL SUERO CONTROL

Procesamiento de plasma Fecha: ..... dd / mm /aaaa.

PRECIPITACIÓN MÁS ULTRA FILTRACIÓN TANGENCIAL

1. Obtener las unidades de plasma para la conformación de un pool, las unidades deben estar libres de lipemia, hemólisis, etc. Descongelarlo si están congelados.

NOTA: A los efectos prácticos se considera: 1000 mL = 1000 grs.

2. Hacer un pool de plasmas, preferentemente de 500 mL o uno de hasta 1000 mL y fraccionar en dos partes iguales anotar el volumen.

Nombre de cada pool:..... Volumen del pool:.....mL

Unidades utilizadas:

Código	Fecha

Código	Fecha

#Separar una pequeña muestra (2 mL) en un tubo tipo Ependorf, rotular con el nombre del pool y las iniciales M.I. (muestra inicial) de paso N° 2 y congelar.

Fraccionar en unidades iguales de 500 mL o lo que resulte dividiendo en partes iguales el volumen total.

Volumen de plasma A:.....mL

Volumen de plasma B:.....mL

\*Efectuado por: N y A..... Fecha y hora: dd /mm / aaaa. ....hs

3. Calcular el volumen de sílica requerido a razón de 18 mL/L, para cada unidad.

Volumen del plasma:.....mL a 18 mL/L=..... mL de sílica / unidad.

Agregar el volumen calculado de Sílica a cada unidad de plasma suavemente con agitación.

\*Efectuado por: N y A..... Fecha y hora dd /mm / aaaa .....hs

#Separar una pequeña muestra (2 mL) en un tubo tipo Ependorf, rotular con el nombre del pool y las iniciales M.I. (muestra inicial), de paso N° 3 y congelar.

4. Calcular el volumen de cloruro de calcio (1 Molar) requerido a razón de 20 mL/L, para cada unidad.

Volumen del plasma:.....mL a razón de 20 mL/L=..... ml de Solución de  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  / unidad.

Agregar el volumen calculado de  $\text{Cl}_2\text{Ca}$  a cada unidad de plasma, suavemente con agitación.

\*Efectuado por: N y A..... Fecha y hora dd /mm / aaaa .....hs

#Separar una pequeña muestra (2 mL) en un tubo tipo Ependorf, rotular con el nombre del pool y las iniciales M.I. (muestra inicial), de paso N° 4 y congelar.

5. Continuar agitando el plasma a temperatura ambiente por 3 a 5 hs.

Hora de comienzo:.....am/pm Hora de finalización: .....am/pm

\*Efectuado por: N y A ..... Fecha y hora dd /mm / aaaa .....hs

#Separar una pequeña muestra (2 mL) en un tubo tipo Ependorf, rotular con el nombre del pool y las iniciales M.I. (muestra inicial), de paso N° 5 y congelar.

6. Colocar todo el plasma en el freezer a  $-20^\circ\text{C}$ , una noche como mínimo.

N° de frascos congelados: .....

\*Efectuado por: N y A ..... Fecha y hora dd /mm / aaaa .....hs

7. Descongelar el plasma a temperatura ambiente (prever un tiempo de 8 a 10 hs)

N° de frascos descongelados: .....

\*Efectuado por: N y A..... Fecha y hora dd /mm / aaaa .....hs

8. Centrifugar el plasma 30 minutos a 3000 rpm. Compensar cuidadosamente.

Hora de inicio: ..... am/pm Hora de finalización: ..... am/pm

\*Efectuado por: N y A ..... Fecha y hora dd /mm / aaaa. ....hs

9. Transferir el sobrenadante a un frasco limpio para el siguiente paso. Evitar contaminación.

Volumen del sobrenadante: A..... B..... mL / unidad.  
Descartar el precipitado.

\*Efectuado por: N y A..... Fecha y hora dd /mm / aaaa .....hs

#Separar una pequeña muestra (2 mL) en un tubo tipo Ependorf, rotular con el nombre del pool y las iniciales M.I. (muestra inicial), de paso N° 9 y congelar.

10. Determinar el pH del sobrenadante y ajustar a  $7,5 \pm$  usando solución de ácido clorhídrico diluida al 5,6% o bien una solución de hidróxido de Sodio (1 M) según corresponda.

Anotar ácido o base usado por cada unidad.

pH inicial: .....

Volumen de ácido usado: A..... B..... mL/ unidad.

Volumen de base usado: A..... B..... mL/ unidad.

pH final: .....

\*Efectuado por: N y A ..... Fecha y hora dd /mm / aaaa .....hs

#Separar una pequeña muestra (2 mL) en un tubo tipo Ependorf, rotular con el nombre del pool y las iniciales M.I. (muestra inicial), de paso N° 10 y congelar.

11. Calcular y medir el volumen de sodio azida (0,25 gr/mL) requerido a razón de 0,9 gr/L, para cada unidad.

Volumen de suero A.....mL a 0,9 gr/L = .....mL de  $\text{NaN}_3$ / unidad.

Volumen de suero B.....mL a 0,9 gr/L = .....mL de  $\text{NaN}_3$ / unidad.

Agregar suavemente la cantidad de sodio ácida calculada a cada unidad.

\*Efectuado por: N y A..... Fecha y hora dd /mm / aaaa .....hs

#Separar una pequeña muestra (2 mL) en un tubo tipo Ependorf, rotular con el nombre del pool y las iniciales M.I. (muestra inicial), de paso N° 11 y congelar.

12. Preparar el equipo de ultra filtrado, enjuagar con agua destilada hasta neutralizar el pH, lavar el equipo con solución fisiológica. Controlar el pH y filtrar.

Hora de comienzo del lavado: .....am/pm

Hora de finalización del lavado: .....am/pm

\*Efectuado por: N y A..... Fecha y hora dd /mm / aaaa .....hs

13. Comenzar a ultra filtrar con velocidad lenta y homogénea, recibir el ultra filtrado en bolsas de plasmas estériles.

Volumen del POOL.....mL sin filtrar.

Volumen del POOL.....mL filtrado.

\*Efectuado por: N y A..... Fecha y hora dd /mm/aaaa .....hs

#Separar una pequeña muestra (2 mL) en un tubo tipo Ependorf, rotular con el nombre del pool y las iniciales M.I. (muestra inicial), de pa so N° 13 y congelar.

14. Calcular el volumen de ácido Caprílico a razón de 0.70 mL/L, para el pool filtrado.

Volumen del plasma:.....mL a 0.70mL/L=.....mL de ácido Caprílico.  
Agregar el volumen calculado de ácido Caprílico al pool de plasma filtrado, suavemente con agitación a T° amb.

#Separar una pequeña muestra (2 mL) en un tubo tipo Ependorf, rotular con el nombre del pool y las iniciales M.I. (muestra inicial), de paso N° 14 y congelar.

\*Efectuado por: N y A..... Fecha y hora: dd /mm / aaaa. ....hs

15. Calcular el volumen de Sorbitol requerido a razón de 80mL/L, para el pool filtrado.

Volumen del plasma:.....mL a 80mL/L=.....mL de Sorbitol.  
Agregar el volumen calculado de Sorbitol al pool de plasma filtrado, suavemente con agitación a T° amb.

#Separar una pequeña muestra (2 mL) en un tubo tipo Ependorf, rotular con el nombre del pool y las iniciales M.I. (muestra inicial), de paso N° 15 y congelar.

\*Efectuado por: N y A..... Fecha y hora: dd /mm / aaaa. ....hs

16. Titular la muestra al terminar de filtrar, para lo cual se toma una alícuota de 1 ml. se rotula con el nombre del pool y las iniciales P. F. (producto final) y la fecha. Efectuar detección de Ac anti VIH por: ELISA, CMIA, TR, AP.

Análisis solicitado: ..... Derivado a:.....

Rotular y conservar el producto final en heladera, no congelar.

\*Efectuado por: N y A..... Fecha y hora dd /mm / aaaa .....hs

## ANEXO 2

### PANEL DE CONTROL DE CALIDAD EXTERNO PARA ENSAYOS SEROLÓGICOS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI – VIH

Propósito: adjuntos a la presente remitimos a Usted 5 (cinco) tubos conteniendo muestras de suero a ser procesadas, en el marco del programa de CCE que se ha implementado.

Instructivo: Procesamiento: Las muestras deberán ser analizadas con los métodos y reactivos que utiliza habitualmente para el screening serológico de Infección por VIH.

Procedimiento: Las muestras deberán procesarse de forma habitual como cualquier muestra de paciente efectuando solo una determinación por técnica y utilizando todas las pruebas de screening serológico con que cuenta su Laboratorio para detección de Ac anti VIH dentro de los diez días hábiles de la recepción del material.

Conservación: Conservar las muestras en heladera 4°C, no congelar. Una vez procesadas descartar como todo material biológico potencialmente patógeno.

Resultados: Los mismos deberán registrarse y remitirse en la planilla adjunta, que se reproduce a continuación de este instructivo, completando todos los datos solicitados y siguiendo las indicaciones allí consignadas. La fecha límite de entrega de resultados es el ..... Su envío deberá efectuarse teniendo la certeza y/o constancia de su recepción.

Reporte: Una vez recibidos sus resultados, se le enviará un reporte con la clave de resultados que le permitirá evaluar su desempeño individual y luego un informe general con el desempeño de todos los laboratorios.

Precauciones: El material adjunto debe ser tratado como potencialmente contaminante, si bien es no reactivo para Ag VHC, HTLV I/II, VHB y Sífilis. Su traslado puede efectuarse a temperatura ambiente. En caso de recibir el material en condiciones inadecuadas, y previa consulta, podrá solicitar nuevo envío.

Advertencia: la continuidad de la participación de su Laboratorio estará solamente condicionada al envío de sus resultados en tiempo y forma.

### ANEXO 3

#### CLAVE DE RESULTADOS DEL PANEL DE CONTROL DE CALIDAD EXTERNO VIH

Nº RONDA - AÑO

IDENTIFICACION DEL LABORATORIO:

PROFESIONAL RESPONSABLE DEL LABORATORIO:

OPERADOR/ES:

Remitimos a Ud. la clave de resultados correctos, de los sueros control que conforman el Panel de Control de Calidad Externo para ensayos serológicos de detección de Anticuerpos anti VIH, Lote: (colocar Nº) (elaboración: mes y año – vencimiento: mes y año) y enviado a su Laboratorio, en el mes de agosto del presente año.

Se expide el presente a fin de que pueda compararlos con los resultados por Ud. enviados.

MUESTRAS	INTERPRETACIÓN
MUESTRA Nº 1	REACTIVO / NO REACTIVO
MUESTRA Nº 2	REACTIVO / NO REACTIVO
MUESTRA Nº 3	REACTIVO / NO REACTIVO
MUESTRA Nº 4	REACTIVO / NO REACTIVO
MUESTRA Nº 5	REACTIVO / NO REACTIVO

Saludo atte.

## ANEXO 4

### INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

LABORATORIOS	TECNICAS					
	ELISA	MEIA	AP	TR	OTRA (CMIA)	OTRA( ELFA)
Provincia Nº 1						
Provincia Nº 2						
Provincia Nº 3						
Provincia Nº 4						
Provincia Nº 5						
Provincia Nº 6						
Provincia Nº 7						
Provincia Nº 8						
Provincia Nº 9						
Provincia Nº 10						
Provincia Nº 11						
Provincia Nº 12						
Provincia Nº 13						
Provincia Nº 14						
Provincia Nº 15						
Provincia Nº 16						
TOTAL						
TOTAL GRAL						
%						

Que se completa de las tablas discriminadas por técnica (seis en total) como se muestra a continuación.

LABORATORIOS	TÉCNICA ANALIZADA						
	PE	R	NR	C	I	F(+)	F(-)
Provincia Nº 1							
Provincia Nº 2							
Provincia Nº 3							
Provincia Nº 4							
Provincia Nº 5							
Provincia Nº 6							
Provincia Nº 7							
Provincia Nº 8							
Provincia Nº 9							
Provincia Nº 10							
Provincia Nº 11							
Provincia Nº 12							
Provincia Nº 13							
Provincia Nº 14							
Provincia Nº 15							
Provincia Nº 16							
TOTAL							
%							

Referencias: PE: paneles enviados; R: respondieron; NR: no respondieron; C: correctos; I: incorrectos; F(+): falso positivo; F(-): falso negativo

## ANEXO 5

### Controles positivos

<b>Control interno reactivo</b>	<b>HIV Ac</b>
Lote Control interno N°	312
Vencimiento	Mar-2013

Diluc: 1/4

Método	QUIMIOLUMINISCENCIA
Marca comercial	ABBOTT
Lote N°	10032LI00
Vencimiento	19/07/2012

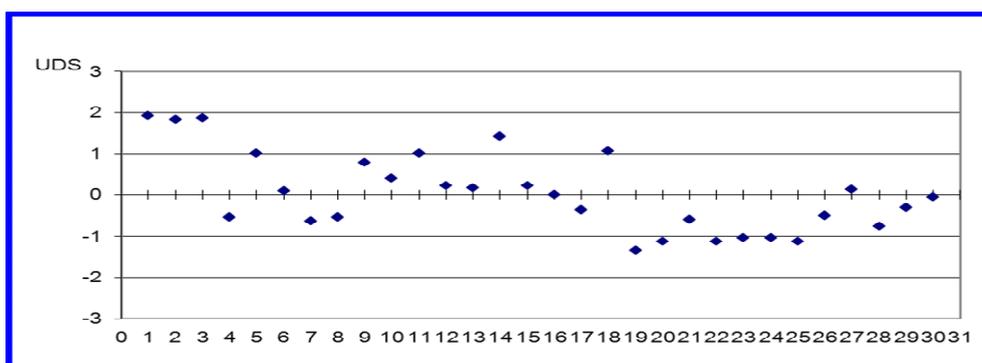
### Tabla de validación

Determ N°	DO	CO	DO/CO
1	2,910	1,000	2,91
2	2,750	1,000	2,75
3	2,820	1,000	2,82
4	3,070	1,000	3,07
5	2,980	1,000	2,98
6	3,120	1,000	3,12
7	2,940	1,000	2,94
8	2,930	1,000	2,93
9	3,210	1,000	3,21
10	2,640	1,000	2,64
11	2,760	1,000	2,76
12	2,640	1,000	2,64
13	2,660	1,000	2,66
14	2,660	1,000	2,66
15	2,640	1,000	2,64
16	2,780	1,000	2,78
17	2,920	1,000	2,92
18	2,720	1,000	2,72
19	3,340	1,000	3,34
20	3,310	1,000	3,31
Promedio de DO/CO (Media)			2,890
Desvío estandar (DS)			0,224
CV%			7,76

Media + 3 DS = 3,56  
 Media + 2 DS = 3,34  
 Media + 1 DS = 3,11  
 Media = 2,89  
 Media - 1 DS = 2,67  
 Media - 2 DS = 2,44  
 Media - 3 DS = 2,22

### Tabla de uso diario

Determ N°	DO	CO	DO/CO	Fecha	UDS
1	3,320	1,000	3,32	15-05-12	1,92
2	3,300	1,000	3,30	16-05-12	1,83
3	3,310	1,000	3,31	17-05-12	1,87
4	2,770	1,000	2,77	18-05-12	-0,54
5	3,120	1,000	3,12	21-05-12	1,03
6	2,910	1,000	2,91	22-05-12	0,09
7	2,750	1,000	2,75	23-05-12	-0,62
8	2,770	1,000	2,77	24-05-12	-0,54
9	3,070	1,000	3,07	28-05-12	0,80
10	2,980	1,000	2,98	29-05-12	0,40
11	3,120	1,000	3,12	30-05-12	1,03
12	2,940	1,000	2,94	31-05-12	0,22
13	2,930	1,000	2,93	01-06-12	0,18
14	3,210	1,000	3,21	04-06-12	1,43
15	2,940	1,000	2,94	05-06-12	0,22
16	2,890	1,000	2,89	06-06-12	0,00
17	2,810	1,000	2,81	07-06-12	-0,36
18	3,130	1,000	3,13	08-06-12	1,07
19	2,590	1,000	2,59	11-06-12	-1,34
20	2,640	1,000	2,64	12-06-12	-1,11
21	2,760	1,000	2,76	13-06-12	-0,58
22	2,640	1,000	2,64	14-06-12	-1,11
23	2,660	1,000	2,66	15-06-12	-1,03
24	2,660	1,000	2,66	18-06-12	-1,03
25	2,640	1,000	2,64	19-06-12	-1,11
26	2,780	1,000	2,78	21-06-12	-0,49
27	2,920	1,000	2,92	22-06-12	0,13
28	2,720	1,000	2,72	25-06-12	-0,76
29	2,820	1,000	2,82	26-06-12	-0,31
30	2,880	1,000	2,88	27-06-12	-0,04





<b>Control interno reactivo</b>	<b>HIV Ac</b>
Lote Control interno N°	312
Vencimiento	Mar-2013

Diluc: 1/4

Método	QUIMIOLUMINISCENCIA
Marca comercial	ABBOTT
Lote N°	14928LI00 16612LI00
Vencimiento	23/12/2012 02/03/2013

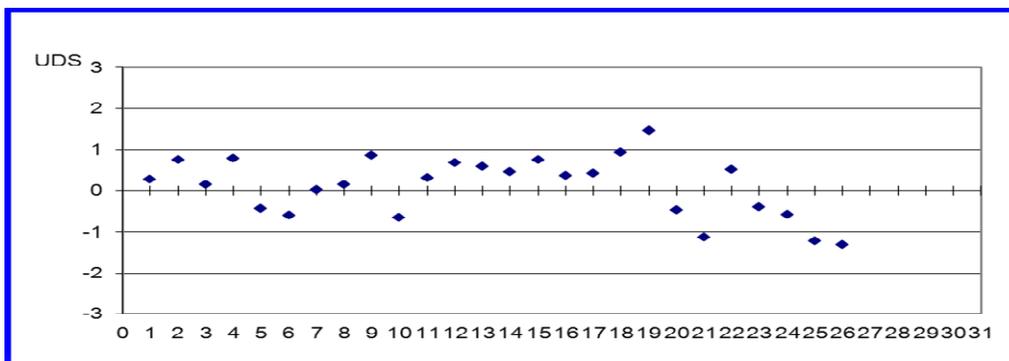
**Tabla de validación**

Determ N°	DO	CO	DO/CO
1	3,830	1,000	3,83
2	3,530	1,000	3,53
3	2,640	1,000	2,64
4	3,550	1,000	3,55
5	2,910	1,000	2,91
6	3,420	1,000	3,42
7	2,720	1,000	2,72
8	2,610	1,000	2,61
9	3,230	1,000	3,23
10	2,610	1,000	2,61
11	3,540	1,000	3,54
12	2,640	1,000	2,64
13	3,610	1,000	3,61
14	3,320	1,000	3,32
15	3,530	1,000	3,53
16	2,600	1,000	2,60
17	3,420	1,000	3,42
18	3,280	1,000	3,28
19	3,830	1,000	3,83
20	3,230	1,000	3,23
Promedio de DO/CO (Media)			3,203
Desvío estandar (DS)			0,431
CV%			13,47

Media + 3 DS = 4,50  
 Media + 2 DS = 4,07  
 Media + 1 DS = 3,63  
 Media = 3,20  
 Media - 1 DS = 2,77  
 Media - 2 DS = 2,34  
 Media - 3 DS = 1,91

**Tabla de uso diario**

Determ N°	DO	CO	DO/CO	Fecha	UDS
1	3,320	1,000	3,32	06-08-12	0,27
2	3,530	1,000	3,53	07-08-12	0,76
3	3,270	1,000	3,27	08-08-12	0,16
4	3,550	1,000	3,55	09-08-12	0,81
5	3,010	1,000	3,01	10-08-12	-0,45
6	2,940	1,000	2,94	13-08-12	-0,61
7	3,210	1,000	3,21	14-08-12	0,02
8	3,270	1,000	3,27	15-08-12	0,16
9	3,580	1,000	3,58	16-08-12	0,88
10	2,920	1,000	2,92	17-08-12	-0,65
11	3,340	1,000	3,34	21-08-12	0,32
12	3,500	1,000	3,50	22-08-12	0,69
13	3,460	1,000	3,46	23-08-12	0,60
14	3,400	1,000	3,40	24-08-12	0,46
15	3,530	1,000	3,53	27-08-12	0,76
16	3,360	1,000	3,36	28-08-12	0,37
17	3,390	1,000	3,39	29-08-12	0,43
18	3,610	1,000	3,61	30-08-12	0,94
19	3,830	1,000	3,83	31-08-12	1,45
20	3,000	1,000	3,00	03-09-12	-0,47
21	2,720	1,000	2,72	04-09-12	-1,12
22	3,430	1,000	3,43	05-09-12	0,53
23	3,030	1,000	3,03	06-09-12	-0,40
24	2,950	1,000	2,95	07-09-12	-0,59
25	2,680	1,000	2,68	10-09-12	-1,21
26	2,640	1,000	2,64	11-09-12	-1,30



## ANEXO 6

### Controles negativos

<b>Control int. No reactivo</b>	<b>HIV Ac</b>
Lote Control interno N°	312
Vencimiento	Mar-2013

Método	QUIMIOLUMINISCENCIA	
Marca comercial	ABBOTT	
Lote N°	08483LI00	09295LI00
Vencimiento	08/07/2012	22/07/2012

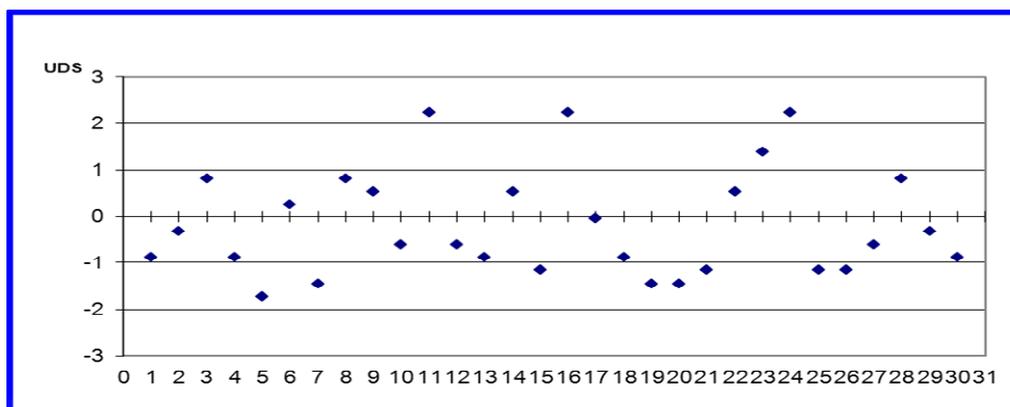
**Tabla de validación**

Determ N°	DO	CO	DO/CO
1	0,170	1,000	0,17
2	0,130	1,000	0,13
3	0,200	1,000	0,20
4	0,120	1,000	0,12
5	0,150	1,000	0,15
6	0,190	1,000	0,19
7	0,090	1,000	0,09
8	0,170	1,000	0,17
9	0,150	1,000	0,15
10	0,180	1,000	0,18
11	0,130	1,000	0,13
12	0,120	1,000	0,12
13	0,110	1,000	0,11
14	0,170	1,000	0,17
15	0,120	1,000	0,12
16	0,070	1,000	0,07
17	0,100	1,000	0,10
18	0,120	1,000	0,12
19	0,170	1,000	0,17
20	0,160	1,000	0,16
Promedio de DO/CO (Media)			0,141
Desvío estandar (DS)			0,035
CV%			24,98

Media + 3 DS = 0,25  
 Media + 2 DS = 0,21  
 Media + 1 DS = 0,18  
 Media = 0,14  
 Media - 1 DS = 0,11  
 Media - 2 DS = 0,07  
 Media - 3 DS = 0,04

**Tabla de uso diario**

Determ N°	DO	CO	DO/CO	Fecha	UDS
1	0,110	1,000	0,11	28-05-12	-0,88
2	0,130	1,000	0,13	29-05-12	-0,31
3	0,170	1,000	0,17	30-05-12	0,82
4	0,110	1,000	0,11	31-05-12	-0,88
5	0,080	1,000	0,08	01-06-12	-1,73
6	0,150	1,000	0,15	04-06-12	0,26
7	0,090	1,000	0,09	05-06-12	-1,45
8	0,170	1,000	0,17	06-06-12	0,82
9	0,160	1,000	0,16	07-06-12	0,54
10	0,120	1,000	0,12	08-06-12	-0,60
11	0,220	1,000	0,22	11-06-12	2,24
12	0,120	1,000	0,12	12-06-12	-0,60
13	0,110	1,000	0,11	13-06-12	-0,88
14	0,160	1,000	0,16	14-06-12	0,54
15	0,100	1,000	0,10	15-06-12	-1,16
16	0,220	1,000	0,22	18-06-12	2,24
17	0,140	1,000	0,14	19-06-12	-0,03
18	0,110	1,000	0,11	21-06-12	-0,88
19	0,090	1,000	0,09	22-06-12	-1,45
20	0,090	1,000	0,09	25-06-12	-1,45
21	0,100	1,000	0,10	26-06-12	-1,16
22	0,160	1,000	0,16	27-06-12	0,54
23	0,190	1,000	0,19	28-06-12	1,39
24	0,220	1,000	0,22	29-06-12	2,24
25	0,100	1,000	0,10	02-07-12	-1,16
26	0,100	1,000	0,10	03-07-12	-1,16
27	0,120	1,000	0,12	04-07-12	-0,60
28	0,170	1,000	0,17	05-07-12	0,82
29	0,130	1,000	0,13	10-07-12	-0,31
30	0,110	1,000	0,11	11-07-12	-0,88





<b>Control int. No reactivo</b>	<b>HIV Ac</b>
Lote Control interno N°	312
Vencimiento	Mar-2013

Método	QUIMIOLUMINISCENCIA
Marca comercial	ABBOTT
Lote N°	14311LI00 14928LI00
Vencimiento	24/10/2012 23/12/2012

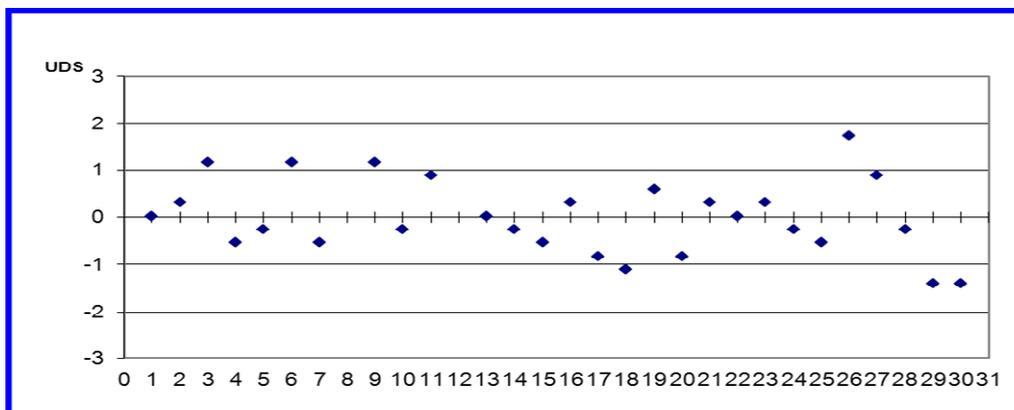
**Tabla de validación**

Determ N°	DO	CO	DO/CO
1	0,170	1,000	0,17
2	0,180	1,000	0,18
3	0,140	1,000	0,14
4	0,130	1,000	0,13
5	0,120	1,000	0,12
6	0,150	1,000	0,15
7	0,110	1,000	0,11
8	0,100	1,000	0,10
9	0,160	1,000	0,16
10	0,110	1,000	0,11
11	0,150	1,000	0,15
12	0,140	1,000	0,14
13	0,150	1,000	0,15
14	0,130	1,000	0,13
15	0,120	1,000	0,12
16	0,240	1,000	0,24
17	0,170	1,000	0,17
18	0,130	1,000	0,13
19	0,090	1,000	0,09
20	0,090	1,000	0,09
Promedio de DO/CO (Media)			0,139
Desvío estandar (DS)			0,035
CV%			25,34

Media + 3 DS = 0,24  
 Media + 2 DS = 0,21  
 Media + 1 DS = 0,17  
 Media = 0,14  
 Media - 1 DS = 0,10  
 Media - 2 DS = 0,07  
 Media - 3 DS = 0,03

**Tabla de uso diario**

Determ N°	DO	CO	DO/CO	Fecha	UDS
1	0,140	1,000	0,14	14-08-12	0,03
2	0,150	1,000	0,15	15-08-12	0,31
3	0,180	1,000	0,18	16-08-12	1,16
4	0,120	1,000	0,12	17-08-12	-0,54
5	0,130	1,000	0,13	21-08-12	-0,26
6	0,180	1,000	0,18	22-08-12	1,16
7	0,120	1,000	0,12	23-08-12	-0,54
8	0,250	1,000	0,25	24-08-12	3,15
9	0,180	1,000	0,18	27-08-12	1,16
10	0,130	1,000	0,13	28-08-12	-0,26
11	0,170	1,000	0,17	29-08-12	0,88
12	0,250	1,000	0,25	30-08-12	3,15
13	0,140	1,000	0,14	31-08-12	0,03
14	0,130	1,000	0,13	03-09-12	-0,26
15	0,120	1,000	0,12	04-09-12	-0,54
16	0,150	1,000	0,15	05-09-12	0,31
17	0,110	1,000	0,11	06-09-12	-0,82
18	0,100	1,000	0,10	07-09-12	-1,11
19	0,160	1,000	0,16	10-09-12	0,60
20	0,110	1,000	0,11	11-09-12	-0,82
21	0,150	1,000	0,15	12-09-12	0,31
22	0,140	1,000	0,14	13-09-12	0,03
23	0,150	1,000	0,15	14-09-12	0,31
24	0,130	1,000	0,13	17-09-12	-0,26
25	0,120	1,000	0,12	18-09-12	-0,54
26	0,200	1,000	0,20	19-09-12	1,73
27	0,170	1,000	0,17	20-09-12	0,88
28	0,130	1,000	0,13	21-09-12	-0,26
29	0,090	1,000	0,09	25-09-12	-1,39
30	0,090	1,000	0,09	26-09-12	-1,39



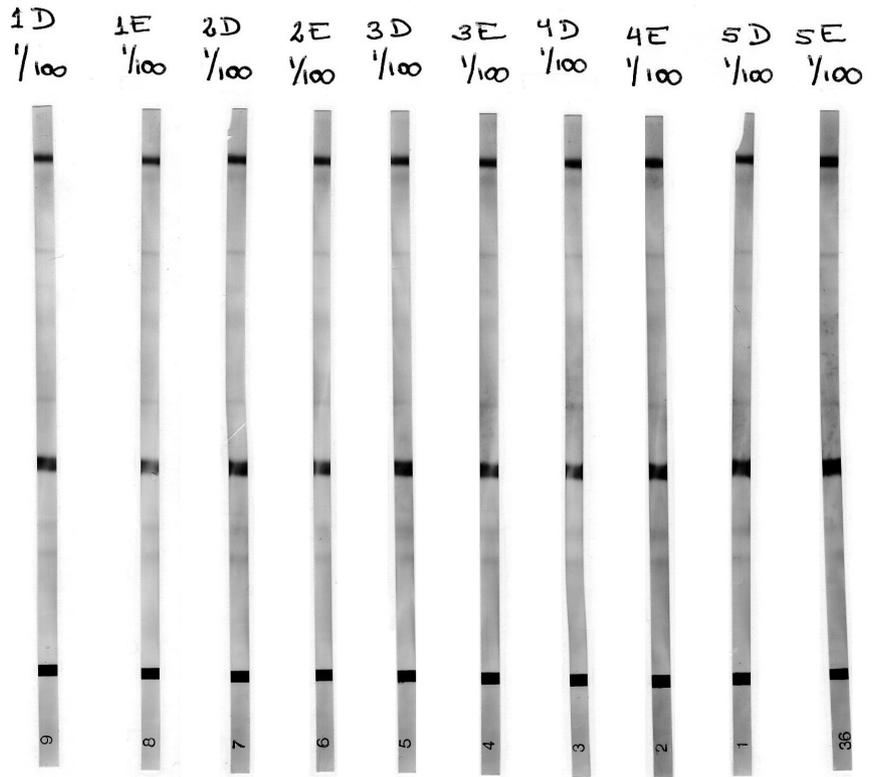
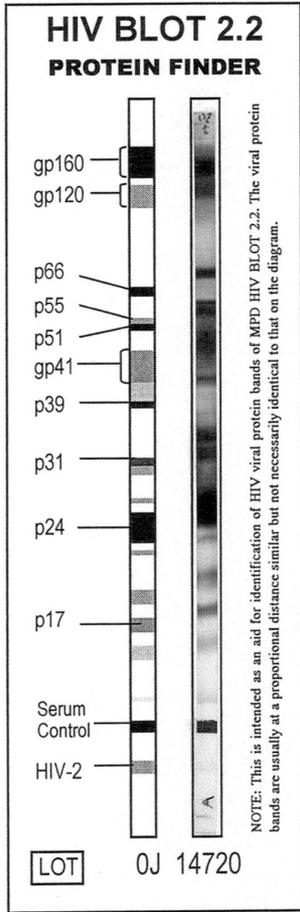
## ANEXO 7

Ensayos de estabilidad del suero control

Técnicas	Temperatura y tiempo	Dilución del suero control	
		1/50	1/100
<b>CMIA</b> <i>Inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas</i>	4°C 7 días	202 209	132 138
	-20°C 7 días	204 212	135 128
	30°C 7 días	219 221	139 129
	37°C 7 días	210 216	139 135
	60°C, 10 hs 4°C, 7 días	202 213	127 125
<b>ELISA</b> <i>Enzimoimmunoensayo</i>	4°C 7 días	>3 >3	2,99 2,99
	-20°C 7 días	>3 >3	>3 >3
	30°C 7 días	>3 >3	>3 >3
	37°C 7 días	>3 >3	2,96 2,99
	60°C, 10 hs 4°C, 7 días	>3 >3	>3 >3
<b>TEST RÁPIDO</b> <i>Determine™ HIV-1/2</i>  <b>TEST DE AGLUTINACIÓN DE PARTÍCULAS</b> <i>SERODIA® HIV-1/2</i>	4°C 7 días	+/+	+/+
	-20°C 7 días	+/+	+/+
	30°C 7 días	+/+	+/+
	37°C 7 días	+/+	+/+
	60°C, 10 hs 4°C, 7 días	+/+	+/+
<b>INMUNOTRANSFERENCIA</b> <i>Western Blot (WB)</i>	4°C 7 días	+/+	+/+
	-20°C 7 días	+/+	+/+
	30°C 7 días	+/+	+/+
	37°C 7 días	+/+	+/+
	60°C, 10 hs 4°C, 7 días	+/+	+/+

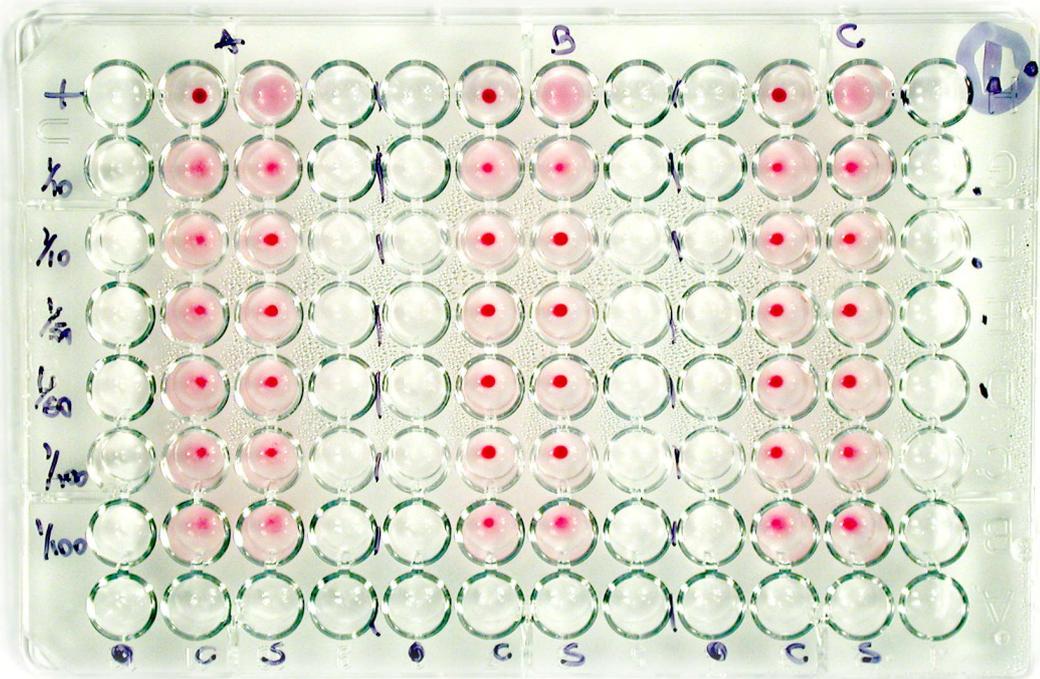
Resultado de los ensayos del suero control después de haber sido sometido a diferentes temperaturas por distintos períodos de tiempo.

Ensayos de estabilidad del suero control

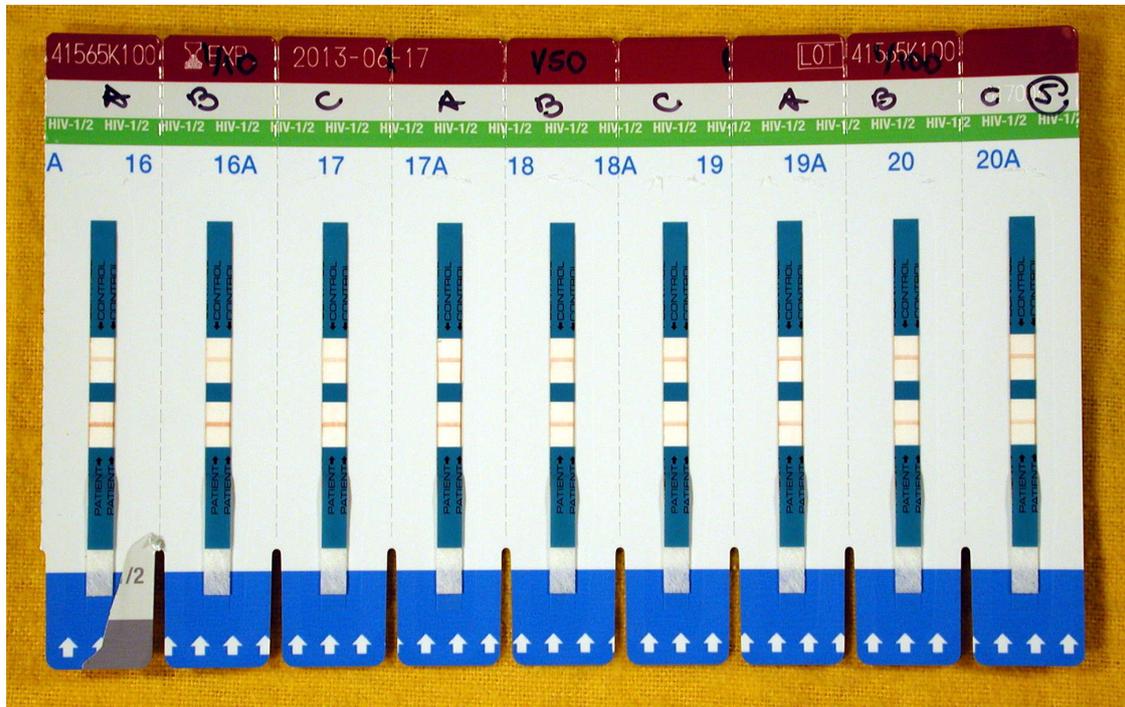


INMUNOCROMATOGRAFÍA - WESTERN BLOT

Ensayos de estabilidad del suero control



TEST DE AGLUTINACIÓN DE PARTÍCULAS  
SERODIA® HIV-1/2



TEST RÁPIDO – Determine™ HIV-1/2

## GLOSARIO

*Anticuerpos anti VIH:* anticuerpos específicos que el organismo produce como respuesta a la presencia del virus de inmunodeficiencia humana.

*Control de Calidad Externo:* procedimiento utilizado para evaluar el desempeño de los laboratorios mediante el análisis de los resultados de muestras de referencia.

*Cut-off:* valor de corte en los resultados de laboratorios.

*Gráfico de Levey & Jenning:* gráfico control en el que se representa la magnitud medida en función del tiempo. En él se señala el valor medio y una, dos y tres desviaciones estándar.

*Período de ventana inmunológico:* tiempo comprendido entre el momento del ingreso del virus al huésped y la aparición de los anticuerpos generados por el paciente (seroconversión).

*Pruebas moleculares:* se basan en la detección de ácidos nucleídos específicos (ADN o ARN) y tienen diversas aplicaciones. Éstas pueden ser cuantitativas y cualitativas.

*Reglas de Westgard:* son 6 reglas, establecen las bases para la evaluación de la calidad analítica de los laboratorios clínicos mediante principios estadísticos y pueden emplearse individualmente o en combinación para evaluar la calidad del proceso analítico.

*Síndrome retroviral agudo (SRA):* período inmediatamente posterior a la infección viral primaria durante el cual puede aparecer fiebre, adenopatía, decaimiento, entre otros síntomas.

*Tamizaje:* evaluación masiva de sujetos asintomáticos respecto de una patología específica y antes que ellos consulten espontáneamente. Se utilizan exámenes específicos para identificar una afección determinada en una población aparentemente sana, en mayor riesgo de padecerla y que hasta ese momento no se les ha diagnosticado.

*Test de VIH:* prueba de laboratorio para la detección de anticuerpos anti VIH, presentes en los pacientes infectados con el virus.

*Validación:* es la confirmación mediante examen y aporte de evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos particulares para el uso específico previsto (ISO 8402, ISO 17025).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Lang JM, Giron C, De Leon J, Oberling F. "Delayed cutaneous hypersensitivity testing in untreated Hodgking's disease using a standardized new device". *Biomedicine*. 1980, vol. 33, p. 62-64.
2. Bardakdjian J, Kister J, Arous N, De Leon J, North ML et al. "[a2Ab2 95 (FG2)LYS → MET] A New HB Variant Found in Argentina". *Hemoglobin*. 1988, vol. 12, num. 1, p. 1-11.
3. Cudola A, Kademian S, Barbas MG, De León JF. "Cross-Resistance Among Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs): Genotypic evaluation of the Sensitivity to Etravirine (ETR) in HIV-1 infected patients following failure to "first line "treatments based on Nevirapine (NVP) and/or Efavirenz". En: *Conference: XIX International AIDS Conference* (Córdoba, Argentina, 2012).
4. Balangero M, Cudolá A, de León J, et al. "Detección de RNA del virus HIV-1 por NAT en muestras reactivas por serología". *Rev Arg Transf*. 2009, vol. XXXV, num. 3, p. 166-167.
5. Gallego S, Cudolá A, de León J, et al. "Evaluación del equipo de ELISA de cuarta generación para HIV DETECT-HIV TM (v.4)". *Actualiz SIDA*. 2009, vol. 17, num. 1, p. 62.
6. Kademian S, Barbas MG, De León JF, Cudolá A. "Resistencia cruzada en inhibidores no nucleosídicos de transcriptasa reversa (INNTRs): evaluación genotípica de la sensibilidad a etravirina en pacientes infectados con vih -1 con fallo a regímenes de primera línea basados en nevirapina y efavirenz." En: *X Congreso Argentino de Virología* (Argentina, 2011).
7. Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, Weisman JD, Saxon A et al. "Pneumocystis carinii Pneumonia and Mucosal Candidiasis in Previously Healthy Homosexual Men — Evidence of a New Acquired Cellular Immunodeficiency". *N Engl J Med*. 1981, vol. 305, p. 1425-1431.
8. CDC. "Morbidity and Mortality Weekly Report, Pneumocystis Pneumonia - Los Angeles". *MMRW*. 1981, vol. 30, num. 21, p. 1-3.

9. Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, Weisman JD, Saxon A, et al. "Pneumocystis carinii Pneumonia and Mucosal Candidiasis in Previously Healthy Homosexual Men — Evidence of a New Acquired Cellular Immunodeficiency". *N Engl J Med*. 1981, vol. 305, p. 1425-1431.
10. Montagnier, L. "A history of HIV discovery". *Science*. 2002, vol. 298, p. 1727-8.
11. Gallo, RC. "The early years of HIV/AIDS". *Science*. 2002, vol. 298, p. 1728-30.
12. Food and Drugs Administration (FDA). "HIV/AIDS Historical Time Line 1981-1990, FDA approved first enzyme linked immunosorbant assay (ELISA) test kit to screen for antibodies to HIV". Disponible en: [http://abbott.com/news-media/press-releases/Press\\_Release\\_0825.htm](http://abbott.com/news-media/press-releases/Press_Release_0825.htm). MD 20993. (Consulta: Julio de 2012).
13. Cudolá, AE. "VIH/SIDA: 25 años de epidemia en la provincia de Córdoba – Argentina". *Tesis Doctoral, Universidad Católica de Córdoba* (Córdoba, Argentina, 2012).
14. Mavedzenge, SN. "A systematic review of HIV self-testing: research, policy and new era en HIV prevention". Dept Infectious Disease Epidemiology IAS, (Roma, Italia, 2011).
15. Weller, S. "¿Dónde estamos, adonde queremos ir? Respuesta al VIH desde el sistema público de salud". En: *Ministerio de Salud Presidencia de la Nación* (Buenos Aires, UBATEC SA, 2009).
16. Caffé, S. "Treinta años del VIH en la Región de las Américas: Reflexiones sobre la epidemia por VIH y la Cooperación técnica de la OPS". En: *Actualizaciones en SIDA* (Buenos Aires, OPS, 2011).
17. Stekler J, Maenza J, Stevens CE, Swenson PD, Coombs RD, et al. "Screening for Acute HIV Infection: Lessons Learned". *CID*. 2007, vol. 44, p. 459-461.
18. Cudola A, Barbas MG, De León JF, Kademian S, Gallego S, Gatti C, Jakob E, Sambuelli R. "HIV/AIDS: 25 years overview of the epidemic in Cordoba – Argentina". En: XIX International AIDS, Conference (Córdoba, Argentina 2012).

19. OMS, CDC, UNISEF. "Reunión de Consenso. Conclusiones y recomendaciones". En: *Consejería y Prueba Voluntaria del VIH en Sudamérica* (Bogotá, Colombia, 2012).
20. Argentina. Ley 8241. Ley provincial de Sangre y decretos reglamentarios. *Decreto 631/97, 17 de Julio de 1997*. Legislatura de la Provincia de Córdoba, 1997.
21. Cohn EJ, Strong LE, Hughes WL, et al. "Preparation and properties of serum and plasma proteins. A system for the separation into fractions of the protein and lipoprotein components of biological tissues and fluids". *J Am Chem Soc.* 1946, vol. 68, p. 459-475.
22. Oncley JL, Melin M, Richert DA, et al. "The separation of antibodies, isoagglutinins, prothrombin, plasminogen, and beta- 1-lipoprotein into subfractions of human plasma". *J Am Chem Soc.* 1949, vol. 71, p. 541-550.
23. Nitschmann H, Kistler P, Lergier W. 21. "Vereinfachtes Verfahren zur Gewinnung von humanem Albumin and gamma-Globulin aus Blutplasma mittels Alkoholfällung". *Helv Chim Acta.* 1954, vol. 37, p. 866-873.
24. Kistler P, Nitschmann HS, et al. "Large scale production of human plasma fraction. Eight years experience with the alcohol fractionation procedure of Nitschmann Kistler and Lergier". *Vox Sang.* 1962, vol. 7, p. 414-424.
25. Kistler P, Nitschmann H. "Large scale production of human plasma fractions". *Vox Sang.* 1962, vol. 7, p. 414-424.
26. Lever AML, Webster ADB, Brown D, Thomas HC. "Non-A, non-B hepatitis after intravenous gammaglobulin". *Lancet.* 1985, vol. I, p. 587.
27. Hink JH, Hidalgo J, Seeberg VP, Johnson FF. "Preparation and properties of a heat- treated human plasma protein fraction". *Vox Sang.* 1957, vol. 2, p. 174-186.
28. John TJ, Ninan Gt, Rajagopalan MS, et al. "Epidemic hepatitis B caused by commercial human immunoglobulin". *Lancet.* 1979, vol. I, p. 1074.
29. Tabor E, Gerety R. "Transmission of hepatitis B by immune serum globulin". *Lancet.* 1979, vol. ii, p. 1293.
30. Lane, RS. "Non-A, non-B hepatitis from intravenous immunoglobulin". *Lancet.* 1983, vol. ii, p. 974-975.

31. Ochs HD, Fischer SH, Virant FS, et al. "Non-A, non-B hepatitis and intravenous immunoglobulin". *Lancet*. 1985, vol. I, p. 404-405.
32. Steinbuch, M. "Precipitation Methods in Plasma Fractionation". *Vox Sang*. 1972, vol, 23, num. 1-2, p. 92-106.
33. Martin, K. "The Chemistry of Silica and its Potential Health Benefits". *J Nutr Health Aging*. 2007, vol. 11, num. 2, p. 94-98.
34. World Health Organization, WHO. "Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS): proposed WHO criteria for interpreting results from Western blot assays for HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II". *Weekly epidemiological record*. 1990, vol. 65, num. 37, p. 281-283.
35. Pineda E, Luz de Alvarado E. "*Metodología de la Investigación. 3º Ed*". Washington, DC: Organización Panamericana de la Salud, 2008.
36. Hernández-Sampieri R, Fernández-Collado C, Baptista LP. "*Metodología de la Investigación (2ª ed)*". México: McGraw Hill, 1999.
37. Dawson-Saunders B, Trapp RG. "*Bioestadística Médica*". Mexico: Manual Moderno, 2002.
38. Sousa V, Driessnack M, Costa I. "An overview of research designs relevant to nursing. Quantitative research designs". *Rev Latino Am Enfermagem*. 2007, vol. 15, num. 5.
39. La-Cerda, H. "*Los elementos de la Investigación*". Bogotá. Colombia: Editorial El Búho, 1991.
40. Calpena AC, Escribano E, Fernández C. Validación de los métodos analíticos. *Farm Clin*. 1991, vol. 7, num. 9, p. 749-58.
41. United States Pharmacopeia. "*22ª ed. XXII, United States Pharmacopeial Convention USP'*". Easton: Mack Printing, 1990, p. 1225,1710.
42. Jacobsson, K. "Guidelines for the evaluation of diagnostic kits. General principles and out-line produces for the evaluation of kits for qualitative test". *Eur Commit Clin Laborat Stand*. 1987, p. 1-40.
43. Constantine NT, Callahan JD, Watts DM. "Pruebas para la detección de VIH y control de la calidad: Guía para personal de laboratorio". *Fam Health Intern*. 1979, p. 1-179.

44. Borda M, Barbás G, Gallego S, de León J, Cudolá A, et al. "Perfiles de Wb indeterminados para VIH-1 en la población de mujeres embarazadas de la provincia de Córdoba". *Actual SIDA*. 2009, vol. 17, num. 1, p. 61.
45. World Health Organization, WHO. "Estándares de Calidad para Laboratorios Clínicos". Report series number: RS/2003/GE/27(PHL), 2003.
46. ISO, *International Organization for Standardization*. *ISO 15189:2012 - Medical laboratories – Particular requirements for quality and competence. 2º Edition*. (en línea). ISO. Disponible en: [http://www.iso.org/iso/catalogue\\_detail?csnumber=42641](http://www.iso.org/iso/catalogue_detail?csnumber=42641). (Consulta: Noviembre de 2012).
47. OMS. "Estándares de calidad para laboratorios clínicos. Annex 5 of Draft Standards for the Medical Laboratory Report series number: RS/2003/GE/27(PHL)". Washington DC: OMS, 2003.
48. NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards. "Internal quality control: principles and definitions; Tentative Guideline". NCCLS. 1991, document C24-A.
49. Sáez-Alquézar A, Otani MM, Sabino EC, Salles NA, Chamone DAF. "Programas de Control Externo de la Calidad en Serología desarrollados en América Latina con el apoyo de la OPS entre 1997 y 2000". *Panamerican J Public Health*. 2003, vol. 82, num. 13, p. 91–102.
50. Food and drug administration (FDA). "Guideline for Submitting Samples and Analytical Data for Method Validation". *Center for Drugs and Biologics, Department of Health and Human Service*, 1987.
51. ECIS, European Community Information Service. "Analytical Validation, Volume 3A of The Rules Governing Medicinal Products in the European Community". *Office Publications ECIS*. 1990, p. 1-16.
52. Borda M, Barbás G, Gallego S, de León J, Cudolá A, et al. "Perfiles de Wb indeterminados para VIH-1 en la población de mujeres embarazadas de la provincia de Córdoba". *Actualiz SIDA*. 2009, vol. 17, num. 1, p. 61.
53. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). "A Quality System Model for Health Care; Approved Guideline. NCCLS document HS1-A". *NCCLS*. 2002, vol. 19, num. 20.

54. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). "Application of a Quality System Model for Laboratory Services; Approved Guideline. NCCLS document GP26-A2". *NCCLS*. Vol. 23, num. 3.
55. Kieviet W, Blaton V, Kovacs GL, Palicka V, Pulkki K. "The Management of Clinical Laboratories in Europe: a FESCC Survey". *Clin Chem Lab Med*. 2002, vol. 40, num. 3, p. 312-9.
56. Ramon F, Alsina MJ, Álvarez V, Cortés M, Cava F, Hernández A, et al. "XII Programa de Evaluación Externa de la Calidad de Bioquímica (suero) de la Sociedad Española de bioquímica Clínica y Patología Molecular (2001)". *Quim Clin*. 2002, vol. 21, p. 93-151.
57. Organización de Naciones Unidas (ONU). "*Asamblea General. Declaración de los Objetivos del Milenio*". Nueva York: ONU, 2000.
58. Shewhart, W. "*The Economic Control of Quality of Manufactured Products*". New York: Van Nostrand, 1931.
59. Servicio de Infectología, Hospital Nuestra Señora de la Misericordia. "Consejo Federal de Salud (COFESA). III Reunión Ordinaria. Catamarca: REC Nº 1001". *Reporte Epidemiológico Córdoba* (Córdoba, 2012).
60. Hirnschal G, Schwartlander B. "Treatment 2.0: catalysing the next phase of scale-up". *Lancet*. 2011, vol. 378, p. 209-211.
61. Velasco, L. "La trata de personas. Editorial". *Noticias UCC*. 2012, vol. XXIX, p. 3.
62. Lake, A. "*El Director Ejecutivo de UNICEF y otros dirigentes se centran en la infancia para combatir el VIH/SIDA. UNICEF*". Disponible en: [http://www.unicef.org/spanish/aids/index\\_58860.html](http://www.unicef.org/spanish/aids/index_58860.html). Consulta: Noviembre de 2012.
63. UNAIDS. "*Global plan towards the elimination of new HIV infections among children by 2015 and keeping their mothers alive 2011-2015*". New York: Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS) / JC2137E, 2011.