



## Diagnóstico Bioquímico

# Ensayo de Cuarta Generación para HIV: ADALTIS Detect-HIV™ (v.4)

---

Dra. Patricia Etchevés  
Bioquímica  
presidencia@bioars.com.ar  
BIOARS S.A.  
Olleros 2537, C1426CRU  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina  
TE/FAX: (11) 4771-3783 / 7676  
www.bioars.com.ar  
Distribuidor exclusivo de ADALTIS Inc.

Referencias: Clinical evaluation of a new ELISA assay for multiple detection of HIV-1 and HIV-2 antibodies and the HIV-1 p24 antigen at the early stage of infection. BioMARIC N.V. p/a VIB Bioincubator Technologiepark 4/B2 B-9052 Gent, Belgium

Detect-HIV™ v.4 de ADALTIS Inc., es un inmunoensayo de “cuarta generación” o “ensayo combinado”, lo que se refiere a la habilidad de estos ensayos de detectar anticuerpos dirigidos hacia HIV-1 (incluyendo subtipos raros como el grupo O) y HIV-2, así también como antígeno p24 HIV-1. En general, este tipo de ensayos combinados permiten una significativa reducción del tiempo entre la infección inicial y el diagnóstico de laboratorio (ventana diagnóstica).

Los pocillos de la microplaca se encuentran recubiertos de antígenos que representan epitopes inmunodominantes de gp41 HIV-1 y gp36 HIV-2, así también como anticuerpos hacia antígeno p24. Los antígenos y anticuerpos han sido cuidadosamente seleccionados para asegurar el tamizaje de anticuerpos hacia todos los subtipos de HIV-1, incluyendo subtipo O y HIV-2, y la detección de antígeno p24. El kit cuenta con Certificación CE.

Diversos estudios fueron llevados a cabo para someter el reactivo a su aprobación en Europa de acuerdo a la directiva 98/79/EC de reactivos IVD. La fase de validación se realizó en Biomaric de acuerdo con el Anexo VIII de las directivas IVD 98/78 EC. Se realizó un ensayo

clínico que consistió en un estudio de especificidad (> 5000 muestras negativas) para determinar especificidad clínica; un estudio de sensibilidad (paneles de seroconversión HIV-1 y HIV-2) para determinar sensibilidad clínica; y muestras de pacientes hospitalizados y muestras potencialmente interferentes. Los ensayos fueron realizados en dos sitios; la mayor parte del estudio fue conducido en Biomaric (especificidad, sensibilidad, pacientes hospitalizados y muestras potencialmente interferentes). Una pequeña parte de los estudios se realizó en el Instituto de Medicina Tropical (ITM) Nationalestraat 155, Antwerp, Bélgica (muestras HIV-2 y subtipos de HIV-1).

### **Muestras**

Las muestras de sueros negativos provenían de donantes de sangre voluntarios del LFB (Laboratoire Français du Fractionnement et des Biotechnologies), donde sueros de diferentes centros del norte de Francia son centralizados y ensayados.

Los paneles de sueros HIV positivos, consistían en muestras de sueros o plasma recolectados de diferentes áreas del mundo. Las muestras tenían su origen en distintas fuentes: comerciales (BBI), hospitales, centros de referencia, centros colaboradores de WHO.

La mayoría de las muestras HIV-2 y HIV-1 subtipo no B fueron ensayadas en el ITM (centro colaborador del WHO). Todas las muestras excepto dos de HIV-2 fueron sueros, mientras que todas las demás muestras ensayadas en el ITM fueron plasma.

Las muestras de pacientes hospitalizados provenían de un hospital local y eran HIV negativas. Las muestras potencialmente interferentes contenían los siguientes parámetros: embarazo; hemólisis, factor reumatoideo; infecciones con Hepatitis C (HCV), Hepatitis B (HBV), Epstein barr virus (EBV); Varicela zoster o Hepatitis A (HAV).

Todas las muestras fueron analizadas con un ensayo de referencia para HIV.

### Sensibilidad Diagnóstica (muestras HIV-1 y HIV-2)

Se ensayaron un total de 541 muestras HIV-1 y HIV-2 (439 HIV-1, 102 HIV-2); 9 subtipos no B, con un mínimo de tres muestras por subtipo. Un resumen de las muestras ensayadas se muestra en la tabla 1.

Algunos de los resultados mostrados en la tabla 1 fueron obtenidos en el ITM (Abtwerp). Estos comprenden 90 muestras HIV-2; la mayoría de las muestras HIV-1 subtipo no B (40) y 75 de las muestras HIV-1 (no clasificadas en subtipos).

Todas las muestras ensayadas mostraron una fuerte reactividad con Detect-HIV™ (v.4) de ADALTIS. El valor index más bajo obtenido fue 2,5 y el más alto 9,9. Se obtuvo un 100% de sensibilidad con este grupo de 541 muestras HIV positivas.

Tabla 1: requisito mínimo de muestras a ensayar y número de muestras de diferentes tipo de HIV ensayadas en este estudio.

Tipo	Mínimo	Ensayadas
HIV-1 subtipo desconocido	360	397
HIV-1 subtipo no B	-	-
HIV-1 /A	3	8
HIV-1 /AE	3	3
HIV-1 /C	3	5
HIV-1 /D	3	6
HIV-1 /E	3	4
HIV-1 /F	3	4
HIV-1 /G	3	4
HIV-1 /H	3	3
HIV-1 /O	3	5
Subtotal HIV-1 subtipo no B	40	42
HIV-1 total	400	439
HIV-2	100	102
Total	500	541

### Sensibilidad Diagnóstica (Paneles)

Se ensayaron veinte paneles de seroconversión BB. La tabla 2 da un panorama de la sensibilidad del reactivo Adaltis Detect-HIV™ (v.4) con estos paneles.

Comparado con otros tests de cuarta generación (kits 2-5), Adaltis Detect-HIV™ (v.4) proporciona una sensibilidad superior o igual que los ensayos competidores (seis paneles). No existe otro ensayo de cuarta generación con menor ventana de seroconversión.

Comparado con los tests de tercera generación Adaltis Detect-HIV™ (v.4) detecta al mismo tiempo de toma de muestra o antes que los kits 7 y 8 para todos los

paneles. Comparado con el ensayo de antígeno p24 HIV (kit 6), Adaltis Detect-HIV™ (v.4) muestra la misma sensibilidad para 10 de 20 paneles. Los otros diez paneles fueron detectados en una toma de muestra posterior al ensayo de HIVp24 Ag.

Tabla 2: Resultados de los paneles de seroconversión ensayados con Adaltis Detect-HIV™ (v.4) e inmunoensayos comerciales para HIV.

BBI ID	1	2	3	4	5	6	7	8
1 AB/PRB927	2					2	2	
2 AC/PRB928	2					2	2	
3 AD/PRB929	4					3	6	7
4 AE/PRB930	2					1	3	3
5 AF/PRB931	6					5	6	6
6 AP/PRB940	2					2	3	3
7 AQ/PB941	4					3	4	5
8 AS/PRB943	4					3	6	6
9 AU/PRB945	4					4	4	4
10 AW/PRB947	2					2	2	2
11 BE/PRB955	3			4	4	2	4	
12 BI/PRB959	2	2	2	4	2	1	ND	
13 PRB933	2					2	2	
14 PRB934	1					1	2	2
15 PRB935	6					6	7	7
16 PRB938	2					1	3	3
17 PRB954	7			7		7	ND	
18 PRB956	4			ND	ND	4	ND	
19 PRB957	6	6	6	6	6	5		
20 PRB958	4	4	5	5	6	3		

  

Ensayo	Compañía
1 4th Gen	Adaltis Detect-HIV™ (V.4)
2 4th Gen	Dade Behring Integral
3 4th Gen	Diagnostic Pasteur Genscreen Plus
4 4th Gen	Organon Technica Uni-Form II
5 4th Gen	Roche Enzymun
6 HIV p24 Ag	Coulter HIV Ag
7 3th Gen	Abbot 3rd Gen Plus
8 3th Gen	BM Enzymun Gen 3

La tabla muestra el espécimen con el primer resultado positivo (COI >1). Los resultados de los kits 2-8 son de las hojas de información del BBI. Los resultados del kit 1 (Adaltis Detect-HIV™ (V.4)) son de este estudio clínico. "No detectado" indica un panel con todas las muestras por debajo del valor de corte.

### Especificidad Diagnóstica

La especificidad diagnóstica fue establecida utilizando sueros de donantes de sangre. En total se ensayaron 5007 muestras para este ensayo clínico. De estas 5007 muestras, 30 fueron inicialmente reactivas. Estas muestras fueron ensayadas nuevamente por duplicado. Esto resultó en 25 muestras repetidamente reactivas, o en 83% de las muestras inicialmente reactivas. Estas 25 muestras fueron, entonces, ensayadas con un test



confirmatorio (Innogenetics, Innolia HIV I/II Score). Una muestra de las 25 arrojó un resultado indeterminado y 24 muestras fueron negativas. La especificidad diagnóstica final calculada fue 99,52% (4982/5006). Los resultados se resumen en la tabla 3.

## Conclusión

La evaluación demostró que el nuevo kit Adaltis Detect-HIV™(v.4) cumple con todos los requerimientos definidos en las Especificaciones Técnicas Comunes (CTS) para evaluación de performance de reactivos para la detección y cuantificación en muestras humanas de marcadores de infección por HIV.

Tabla 3: Resumen de los resultados del test comparado con el status actual de las muestras

ESTATUS ACTUAL	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
Negativo	24	4982	5006
Positivo	0	0	0
Indeterminado	1	0	1
Total	25	4982	5007

## Muestras de pacientes hospitalizados

Un grupo de 208 muestras de pacientes hospitalizados fueron ensayadas con Detect-HIV™ (v.4). De estas 208 muestras, tres fueron inicialmente reactivas. Luego de volver a ensayarlas por duplicado, las tres muestras fueron repetidamente negativas. Los tests confirmatorios (Innogenetics, Innolia HIV I/II Score) resultaron en dos muestras negativas y una indeterminada.

## Sustancias Potencialmente interferentes

En la tabla 4 se observa un resumen del número de muestras ensayadas. Ninguno de los 103 especímenes potencialmente interferentes ensayados ha mostrado un COI mayor a 1. Más del 93% (96/103) tenían un COI menor a 0,5.

Tabla 4: Mínimo número requerido para ensayar y número actualmente ensayado para parámetros potencialmente interferentes.

Parámetro	Mínimo	Ensayado
Embarazo	25	25
Hemólisis	25	25
Factor reumatoideo	25	25
Otras infecciones	-	-
HCV	-	5
HTLV-1	-	4
HBV	-	5
EBV	-	4
VZV	-	5
HAV	-	5
Subtotal de otras infecciones	25	28
Total	100	103