

GUÍA PARA LA VIGILANCIA POR LABORATORIO DEL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANO - VIH

DIRECCIÓN REDES EN SALUD PÚBLICA

SUBDIRECCIÓN LABORATORIO NACIONAL DE
REFERENCIA

GRUPO DE VIROLOGÍA

2017

1 de 26



GOBIERNO DE COLOMBIA



Dirección

Martha Lucia Ospina Martínez
Directora General Instituto Nacional de Salud

Coordinación

María Alexandra Durán Romero
Director Técnico (E)
Redes en Salud Pública

Rosa Elvinia Rodríguez Rodríguez
Subdirectora (E)
Laboratorio Nacional de Referencia

Dioselina Peláez Carvajal
Coordinadora
Grupo de Virología
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección Redes en Salud Pública

Omayda Cárdenas Bustamante
Equipo Técnico
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección de Redes en Salud Pública

Elaborado por

Catleya Abella Barreto
Grupo de Virología
Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia
Dirección Redes en Salud Pública

Tabla de contenido

ALCANCE	4
DEFINICIONES, SIGLAS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS	5
1. GENERALIDADES	6
1.1 Agente Etiológico	6
1.2 Modo de transmisión.....	7
1.3 Prevención.....	8
2. DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO	8
2.1. Bioseguridad.....	8
2.2 Toma de muestras.....	9
2.3 Tipo de muestra, conservación, almacenamiento y transporte.....	9
2.4 Documentación requerida.....	17
2.5 Métodos de Laboratorio empleados para el diagnóstico del agente etiológico	19
2.5.1 Según su alcance dentro del algoritmo diagnóstico	19
2.5.2 Según el marcador que detecta	19
2.5.3 Según el formato o plataforma empleada	20
3. CONTROL DE CALIDAD	23
3.1. Control de calidad directo	23
3.2. Control de Calidad Indirecto	23
5.1 Instituciones Prestadoras de Servicios de Salud (IPS) Laboratorios clínicos del sector público y privado	24
5.2 Laboratorios de Salud Pública (LSP).....	24
5.3 Instituto Nacional de Salud (INS).....	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

OBJETIVOS DE LA GUÍA

Describir los lineamientos y el proceso de vigilancia por laboratorio del VIH.

Establecer los procesos de obtención, conservación y transporte de las muestras para la detección del VIH.

Describir los fundamentos técnico-científicos de los métodos de ensayos empleados para el diagnóstico por laboratorio del VIH.

Describir los criterios técnico-operativos para la participación de los laboratorios de salud pública en el programa interlaboratorio de control de calidad para la evaluación del desempeño directo PEDD (PIVI) e indirecto PEEDI.

Precisar cómo se articula la red nacional de laboratorios para la vigilancia por laboratorio del VIH, así como describir las funciones y responsabilidades en cada uno de los niveles.

ALCANCE

La presente guía aplica para la vigilancia por laboratorio del Virus de la Inmunodeficiencia Humana en diferentes matrices y métodos con los cuales se detectan en el laboratorio nacional de referencia del INS.

DEFINICIONES, SIGLAS, ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

- **VIH:** Virus de Inmunodeficiencia Humano
- **SIDA:** Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
- **IPS:** Institución prestadora de salud
- **LSP:** Laboratorio de salud pública
- **Mensurando:** es el marcador que se quiere determinar.
- **Matriz:** es el medio en donde se encuentra suspendido el mensurando.
- **CDC:** Center for disease Control and prevention.
- **INH:** Institute National Health of United State.
- **OMS:** Organización mundial de la salud.
- **ONUSIDA:** El Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/Sida
- **Resultados cualitativos:** determinan la presencia o ausencia de marcadores serológicos, proteínas o ARN viral.
- **Resultados cuantitativos:** son aquellos que indican una concentración de marcadores serológicos, proteínas o ARN viral.
- **Resultados semi-cuantitativos:** son aquellos que determinan un resultado cuantitativo y que partiendo de un punto de corte determina la presencia o ausencia de marcadores serológicos, proteínas o ARN viral.
- **ELISA:** Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzima
- **ELFA:** Inmunoensayo de fluorescencia ligado a enzima
- **PIVI:** Prueba de Idoneidad en Virología
- **PEEDD:** Programa de evaluación externa del desempeño directo
- **PEEDI:** Programa de evaluación externa del desempeño indirecto
- **EIA:** Ensayo inmunoenzimático

1. GENERALIDADES

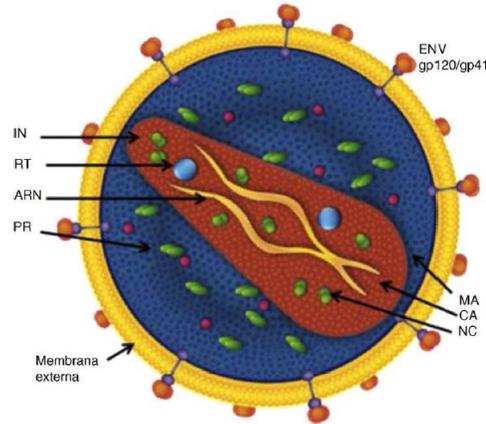
1.1 Agente Etiológico

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) pertenece al género Lentivirus de la familia *Retroviridae*. El VIH se clasifica en dos tipos: VIH-1 y VIH-2. El VIH- 1 es el responsable de la pandemia del SIDA (síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida). El VIH-2 se considera menos patogénico y transmisible y se encuentra con mayor frecuencia en África occidental, aunque ya se han reportado algunos casos en Europa y Estados Unidos (Delgado, 2011).

Según su homología genética, el VIH-1 se divide en cuatro grupos: M (Main o principal), N (no M no O), O (Outlier) y P. El grupo M se encuentra distribuido a nivel mundial, el cual se subdivide en 9 subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J y K) con una diferencia del 35% en la secuencia de aminoácidos de sus genomas y ocho subsubtipos, seis clados A (A1, A2, A3, A4, A5, A6) y dos F (F1 y F2). Debido a la alta tasa de mutación, los retrovirus tienen una gran variabilidad genética por lo cual actualmente se han reportado 88 cepas recombinantes circulantes inter-subtipo o inter-subsubtipo y algunas cepas recombinantes únicas (Gall et al., 2012).

El VIH es un virus esférico con un tamaño de 100 a 120 nm de diámetro, posee una envoltura fosfolipídica que proviene de la célula huésped y en donde se anclan unas estructuras glicoproteicas transmembrana (gp41), cuya zona externa está limitada por la glicoproteína de superficie viral (gp120). Al interior de la envoltura, la proteína de la matriz (p17) sirve de sostén para la cápside icosaédrica (p24) la cual protege el material genético viral constituido por dos hebras de ARN idénticas unidas por puentes de hidrogeno y almacena enzimas virales necesarias para su replicación (Integrasa, Transcriptasa inversa y proteasa), figura No. 1 (Delgado, 2011).

Figura No. 1. Estructura del VIH-1 (Delgado, 2011)



Fuente: Delgado, R. (2011). [Virological characteristics of HIV]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 29(1), 58-65. doi:10.1016/j.eimc.2010.10.001

1.2 Modo de transmisión

El mecanismo de transmisión del VIH está ligado a la exposición de células con receptores de membrana CD4 presentes en sangre, membranas mucosas (recto, vagina y boca) y tejidos lesionados, con las glicoproteínas de superficie viral gp120 (Tang, 2014). Del mismo modo las personas infectadas pueden liberar partículas virales en ciertos líquidos corporales tales como la sangre, el semen, el líquido pre seminal, las secreciones rectales, las secreciones vaginales y la leche materna. Por lo anterior las vías de transmisión del VIH son:

- Transmisión sexual: relaciones anales o vaginales con una persona infectada sin usar condón.
- Compartir agujas y jeringas con una persona infectada.

Con menor frecuencia:

- Transmisión vertical: se refiere a la transmisión de madre a hijo durante el embarazo, parto y/o lactancia.
- Transfusión sanguínea.

- Contacto de heridas de piel abiertas y membranas mucosas con sangre o líquidos corporales contaminados con el VIH (CDC, 2017).

1.3 Prevención

Para el año 2020 se espera la reducción del 75% en la cantidad de nuevas infecciones con respecto al registro del año 2010. El conjunto integral de medidas preventivas relativas al VIH deben incluir las siguientes intervenciones:

- Lubricantes y preservativos masculinos y femeninos.
- Reducción de daños a los consumidores de drogas inyectables.
- Prevención basada en fármacos antirretrovíricos.
- Prevención de la infección de VIH en lactantes.
- Circuncisión médica masculina voluntaria.
- Seguridad de las transfusiones sanguíneas.
- Intervenciones dirigidas a modificar comportamientos.
- Prevención y gestión de violencia sexual y de género (WHO, 2016).

La vulnerabilidad de algunos grupos poblacionales de acuerdo a su alto grado de exposición al VIH tales como trabajadoras del sexo, personas privadas de la libertad, y usuarios de drogas inyectables, entre otros; incita a la construcción de guías de apoyo de prevención específicas tales como la guía de Prevención y tratamiento del VIH y otras infecciones de transmisión sexual entre las personas trabajadoras del sexo en países de ingresos bajos y medios (OMS, 2012) y la guía de Prevención, tratamiento y atención del VIH en las cárceles y otros lugares de reclusión: conjunto completo de intervenciones (OMS,2013).

2. DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO

2.1. Bioseguridad

El desconocimiento de la naturaleza infecciosa de las muestras utilizadas para la detección serológica y molecular del VIH, sugiere que su procesamiento se debe realizar bajo las recomendaciones establecidas en el nivel de bioseguridad 2, las cuales se encuentran alineadas con los requisitos establecidos en la norma de Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA), cuyo enfoque es de prevenir la exposición de membranas mucosas o percutáneas con materiales clínicos (CDC-INH, 2004; WHO, 2016)

Cada institución debe establecer un lineamiento que garantice las medidas necesarias de protección personal; manejo de material contaminado y cortopunzante; disposición final de residuos biológicos y químicos; transporte seguro de muestras biológicas; infraestructura y capacitación del talento humano para la realización de estas pruebas, para lo cual pueden ser consultados los siguientes documentos técnicos de orden nacional e internacional entre otros:

- Manual de bioseguridad en el laboratorio de la OMS.
- Bioseguridad en laboratorios de microbiología y biomedicina del CDC e INH.
- Manual de gestión integral de residuos y gestión de salud ocupacional.
- Todos los documentos sugeridos para cumplir con el reglamento ambiental y sanitario para la gestión integral de residuos generados para la atención en salud en Colombia del decreto 351 del 19 de febrero de 2014.
- Resolución 2338 de 2013 por la cual se establecen directrices para el entrenamiento y realización de pruebas rápidas para facilitar el acceso al diagnóstico de VIH y otras enfermedades de transmisión sexual.

2.2 Toma de muestras

Para el tamizaje de VIH es indispensable que antes del proceso de toma de muestra, el paciente reciba una asesoría de prueba voluntaria (APV) pre-test, autorizando la realización de la prueba bajo un consentimiento informado.

El aseguramiento de la calidad durante la fase pre-analítica minimiza el riesgo de alterar la precisión de los resultados, por lo que cada institución debe construir procedimientos o guías que estandaricen este proceso, teniendo en cuenta el tipo de muestra, técnicas de punción venosa y capilar estándar, tipo de dispositivos a usar (sistema cerrado o abierto, tubos secos, con gel o con anticoagulante), tipo de paciente (ej.: pediátrico o adulto), el procesamiento posterior a la toma y su adecuada conservación.

2.3 Tipo de muestra, conservación, almacenamiento y transporte

Para la vigilancia de la infección por VIH se pueden usar diferentes muestras o matrices como plasma, suero, sangre total, gota de sangre seca en papel filtro (GSS) y fluido oral. La elección de la muestra está supeditada a la selección del método de ensayo cuya sensibilidad y especificidad ha sido demostrada con matrices específicas, así como también de la realización de la prueba inmediata o muy posterior a la toma de la muestra, la logística para su conservación y

transporte, y el algoritmo sugerido para el diagnóstico de VIH. Estas muestras deben ser siempre recolectadas, analizadas y conservadas bajo estrictas condiciones como lo muestra la tabla No.1.

Tabla No. 1. Matrices o muestras aplicadas en la vigilancia de VIH.

Matriz	Método de obtención	Condiciones de Conservación	Técnicas empleadas	Ventajas y desventajas
Suero	La sangre total se extrae por venopunción en tubos sin anticoagulante, el suero es la fase líquida del tejido sanguíneo el cual se obtiene por centrifugación quedando el paquete celular (Glóbulos rojos y blancos)	<p>Separe el suero y plasma del contenido celular en el menor tiempo posible.</p> <p>Evite congelar y descongelar las muestras repetidamente. Si necesita ejecutar pruebas posteriormente efectúe alícuotas de la muestra en viales.</p> <p>2 a 8°C por 5 días</p> <p>-20°C o Temperaturas inferiores por tiempo superior a 5 días estable de 1 a 3 meses.</p>	<p>Inmunoensayos: ELISA Prueba rápida ELFA Quimioluminiscencia</p> <p>Inmunoblot: Western blot inmunoblot recombinante inmunoensayo línea (LIA)</p> <p>o en</p>	<p>Ventajas Suero/plasma</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mayor concentración de anticuerpos contra el VIH que los líquidos orales. • Tienen potencial de pruebas adicionales de rutina (por ejemplo, sífilis, hepatitis B, hepatitis C) de

Matriz	Método de obtención	Condiciones de Conservación	Técnicas empleadas	Ventajas y desventajas
Plasma	La sangre total se extrae por venopunción en tubos con anticoagulante EDTA, el plasma es la fase líquida del tejido sanguíneo el cual se obtiene por centrifugación quedando el paquete celular (Glóbulos rojos y blancos)	<p>Para carga viral o pruebas moleculares el plasma es estable por periodos de tiempo superior a 3 meses separado y ultra congelado a -70°C.</p> <p>Las muestras frescas pueden someterse a la prueba inmediatamente.</p> <p>Para el suero o plasma previamente congelado:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Descongel e completamente y mezcle cuidadosamente. • centrifugue según el tiempo y revoluciones por minuto (rpm) establecidas en cada institución. 	<p>Inmunoensayos: ELISA Prueba rápida ELFA Quimioluminiscencia</p> <p>Inmunoblot Western blot inmunoblot recombinante inmunoensayo línea (LIA) o en</p> <p>Carga viral</p> <p>Genotipificación</p>	<p>una sola muestra.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tienen potencial de estudios especiales (por ejemplo, pruebas de infecciones recientes, tipificación del VIH-1 vs VIH-2 genotipificación para resistencia a los antirretrovirales (este último en el casi del plasma). • Son fáciles de recoger y probar en entornos clínicos con un flebotomista entrenado y un laboratorio. <p>Desventajas del suero/plasma</p> <ul style="list-style-type: none"> • Requieren una técnica invasiva de recolección, que implica tener personal entrenado para la toma y procesamiento (centrifugación, separación y conservación) de las muestras

Matriz	Método de obtención	Condiciones de Conservación	Técnicas empleadas	Ventajas y desventajas
				<p>y equipos de laboratorio.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Son difíciles de recolectar en situaciones no clínicas. • Implican mayor riesgo para los trabajadores de la salud y el personal a través de la exposición accidental debido a las concentraciones de VIH más altas y el uso de dispositivos de recolección agudos.
Sangre seca en papel filtro (GSS)	Se obtiene por punción capilar o venosa y se dispensa en cuatro gotas separadas en papel filtro Watman o S&S 903.	<p>Temperatura ambiente por dos semanas.</p> <p>4°C por un mes.</p> <p>-20°C o Temperaturas inferiores por tiempo superior a un mes.</p>	<p>Inmunoensayos: ELISA Prueba rápida ELFA Quimioluminiscencia</p> <p>Inmunoblot Western blot inmunoblot recombinante inmunoensayo en línea (LIA)</p> <p>Carga viral</p> <p>Genotipificación</p>	<p>Ventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Son fáciles de recolectar en un entorno clínico y no clínico. • No requiere centrifugas u otro equipo para procesar la muestra de sangre. • Una vez seca, se puede almacenar a temperatura ambiente durante un corto período de tiempo.

Matriz	Método de obtención	Condiciones de Conservación	Técnicas empleadas	Ventajas y desventajas
				<ul style="list-style-type: none"> • Puede transportarse fácilmente. • Facilitar las pruebas de prevalencia, incidencia y estudios especiales como resistencia a los antiretrovirales. <p>Desventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Requiere papel de filtro específico para la preparación. • Se debe estandarizar el proceso de Elución para cada técnica. • Potencial de menor precisión (falsos positivos y / o falsos negativos) si no se evalúa el desempeño de la técnica con el uso de GSS. • El tiempo de la técnica se prolonga dado a que es necesario realizar un

Matriz	Método de obtención	Condiciones de Conservación	Técnicas empleadas	Ventajas y desventajas
				<p>paso de elución.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Número limitado de pruebas validadas para su uso con muestras de GSS.
Sangre total	<p>Se obtiene por punción capilar o venopunción en tubos con anticoagulante EDTA y Citrato de sodio. Es de uso inmediato.</p> <p>Para su conservación por periodos prolongados se recomienda el uso de papel filtro.</p>	<p>Temperatura ambiente 2 horas</p> <p>4 a 8°C por 6 horas</p> <p>Nunca debe congelarse</p>	<p>Inmunoensayos:</p> <p>ELISA</p> <p>Prueba rápida</p> <p>ELFA</p> <p>Quimioluminiscencia</p>	<p>Ventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mayor concentración de anticuerpos contra el VIH que los líquidos orales. • Tienen potencial de pruebas adicionales de rutina (por ejemplo, sífilis, hepatitis B, hepatitis C) de una sola muestra. • Es fácil de recoger y probar en entornos clínicos (con flebotomista entrenado, si es venoso). • Es fácil de recolectar en lugares no clínicos (si es por punción capilar)

Matriz	Método de obtención	Condiciones de Conservación	Técnicas empleadas	Ventajas y desventajas
				<p>Desventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> • Requiere una técnica invasiva de recolección que implica tener personal entrenado para la toma de las muestras.
Fluido Oral	La muestra se recoge realizando un barrido de la cavidad oral con hisopo.	Es una muestra de uso inmediato por lo tanto no hay recomendaciones establecidas para su conservación.	<p>Inmunoensayos:</p> <p>Pruebas rápidas</p>	<p>Ventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> • No requiere el uso de materiales cortopunsantes . • Es fácil de recoger y probar en entornos clínicos y no clínicos • La recolección de líquido oral puede ser más aceptable para las poblaciones de difícil acceso por lo tanto, un mayor porcentaje de la población objeto puede estar de acuerdo en hacerse la prueba. <p>Desventajas</p> <ul style="list-style-type: none"> • La concentración

Matriz	Método de obtención	Condiciones de Conservación	Técnicas empleadas	Ventajas y desventajas
				<p>de anticuerpos es menor.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Puede requerir dispositivos de recolección especial. • Las plataformas de diagnóstico disponibles para el uso de fluidos orales son limitados. • No se puede utilizar para realizar pruebas adicionales para estudios especiales subtipificación del VIH, resistencia a los ARV). • La misma muestra no puede utilizarse para confirmar la reactividad inicial con una segunda prueba; • No debe usarse para pruebas vinculadas confidenciales (es decir, con la devolución de resultados al paciente)

Fuente: adaptado de Guidelines for Using HIV Testing Technologies in Surveillance: Selection, Evaluation and Implementation (CDC-ONUSIDA-WHO, 2009)

Para el tamizaje y confirmación de caso, las muestras deben ser rotuladas como mínimo con:

- Nombre completo del paciente
- Número de documento de identidad
- Fecha de recolección de la muestra

El volumen de muestra requerido para realizar ensayos relacionados para la detección del VIH lo establece cada IPS y LSP, de acuerdo a las técnicas empleadas en el laboratorio. Para el control de calidad realizado en el INS, el volumen mínimo requerido en matrices de plasma y suero es de 1 mL. Para el envío de sangre total se recomienda 4 gotas de sangre seca en papel filtro.

Para las condiciones de embalaje y transporte de las muestras consulte el capítulo 10 del manual para obtención y envío de muestras para análisis de eventos de interés en salud pública del Instituto Nacional de salud. Para mayor información consultar el link <http://www.ins.gov.co/tramites-y-servicios/examenes-de-inter%C3%A9s-en-salud-publica/SiteAssets/Manual%20obtencion%20y%20envio%20de%20muestras%20de%20EISP.pdf>.

2.4 Documentación requerida

La documentación requerida en el envío de muestras para la realización de pruebas de VIH varía según:

- El servicio requerido tamizaje, seguimiento, referencia y control de calidad.
- La entidad a la cual es remitida.

Tabla No.2. Documentación mínima requerida para el análisis de VIH.

Servicio solicitado	Entidad responsable	Documento
Tamizaje (siempre con inmunoensayos tales como prueba rápida, ELISA, ELFA, Quimioluminiscencia) y confirmación del diagnóstico ósea segunda prueba o tercera de desempate entre de primera y segunda prueba no concordantes (inmunoensayos, western blot y carga viral)	Laboratorios de prestación de servicios públicos y privados.	Consentimiento informado Todos los establecidos por la IPS. Ej.: Historia clínica, fotocopia documento de identidad, entre otros.
Referencia (No concordancia entre las dos primeras pruebas)	Laboratorios de salud pública. Instituto Nacional de salud.	<ol style="list-style-type: none"> Carta de solicitud de prueba de desempate para definición de caso. Resultado de las dos primeras pruebas realizadas por el prestador en donde se incluya: <ul style="list-style-type: none"> Datos completos del paciente. Tipo de muestra (especificar si es plasma o suero) Fecha de toma de muestra. Temperatura en la que ha sido conservada la muestra. nombre del estuche empleado en la primera y segunda prueba. Resultado cualitativo y/o cuantitativo (si aplica) Cuando sea posible incluir la historia clínica del paciente.
Control de Calidad Programa de evaluación externa del desempeño indirecto (PEEDI)	Laboratorios de salud pública. Instituto Nacional de salud.	<ul style="list-style-type: none"> Formato de remisión de muestras con los siguientes ítems: Código del laboratorio correspondiente a la red. Nombre del laboratorio remitente. Fecha de envío de muestras. Tipo de muestra (especificar si es suero o plasma, en el caso de ser plasma que anticoagulante se usó) Fecha de toma de cada una de las muestras Fecha de cohorte de recolección de las muestras. Temperatura de conservación en la IPS y en el LSP. Técnica empleada primera prueba de tamizaje (IPS). Técnica empleada segunda prueba de confirmación (IPS).

		<ul style="list-style-type: none"> • Técnica utilizada en el control de calidad realizado por el LSP) • Nombre del estuche, lote, fecha de vencimiento y generación. • Datos de la muestra, código, resultado cuantitativo (cuando aplique), punto de corte e interpretación. • Nombre del profesional a cargo del procesamiento de las muestras.
--	--	---

2.5 Métodos de Laboratorio empleados para el diagnóstico del agente etiológico

Los ensayos para el diagnóstico de VIH tienen diferentes criterios de clasificación:

2.5.1 Según su alcance dentro del algoritmo diagnóstico

- Ensayos de primera línea: se refiere a los que utilizan como primera prueba presuntiva o tamizaje.
- Ensayos de segunda línea: se refiere a la segunda prueba empleada para confirmar de la primera prueba presuntiva o de tamizaje.
- Ensayos de tercera línea: son los que se realizan como tercera prueba complementaria de desempate de resultados previos no concordantes (WHO, 2015).

2.5.2 Según el marcador que detecta

- Ensayos serológicos: detección de anticuerpos dirigidos contra proteínas virales env (gp160, gp120 y gp41), pol (p65, p51, p41, p33) y gag (p24, p17) del VIH de tipo 1 y 2 y la detección de la proteína viral p24. En Colombia circulan dos tipos de ensayo:
 - I. Tercera generación: detección de anticuerpos contra las proteínas del VIH de tipo 1 y 2.
 - II. Cuarta generación: detección simultánea de anticuerpos contra las proteínas del VIH de tipo 1 y 2 y de la proteína p24 viral.
- Ensayos moleculares: se basan en la detección de un fragmento del ARN genómico viral por medio de dos ensayos diferentes:
 - I. Cualitativa: genotipificación de la región del gen pol que codifica para la transcriptasa y proteasa viral con el fin de encontrar mutaciones que favorecen a la resistencia del virus frente a los antirretrovirales.
 - II. cuantitativa (carga viral): corresponde a la amplificación y cuantificación del número de copias de una región que codifica para la p24 viral.

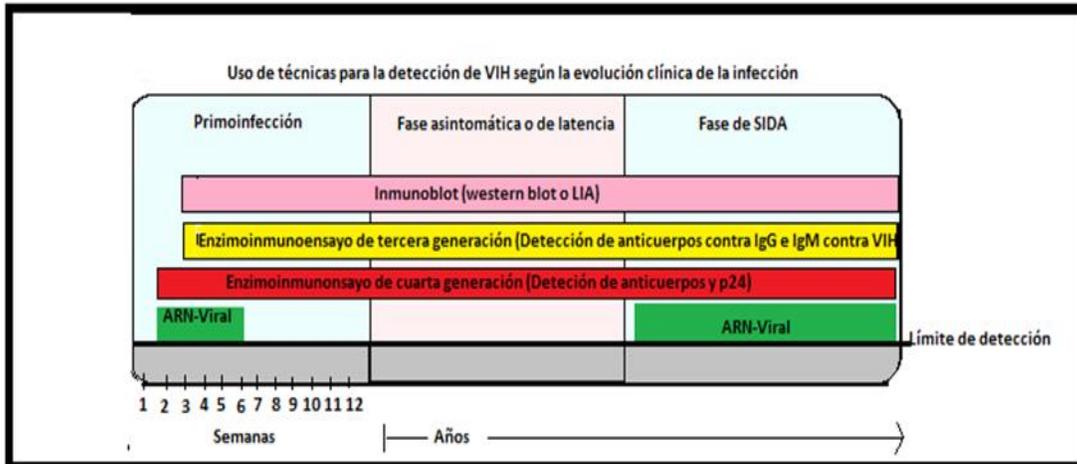
- Inmunoblot: son técnicas que se utilizan para confirmar que los anticuerpos detectados en los ensayos serológicos están dirigidos contra proteínas específicas del VIH. Los más utilizados son:
 - I. Western blot (WB): a través de cultivos se obtienen proteínas virales las cuales son transferidas según su peso molecular en una tira de nitrocelulosa, lo que permite detectar de manera individual los anticuerpos contra cada una de las proteínas VIH.
 - II. LIA (Inmunoensayo en línea): tiene la misma finalidad que el WB con la diferencia que las proteínas virales son de tipo recombinante.

2.5.3 Según el formato o plataforma empleada

Los ensayos inmunoenzimáticos (EIA) se caracterizan por usar reacciones de antígeno y anticuerpos ligados a enzimas, que en contacto con el sustrato específico permite evidenciar la presencia de anticuerpos humanos contra el VIH y/ o la proteína viral p24, figura No. 2. Dentro de los cuales se encuentran los siguientes formatos:

- I. Pruebas rápidas (PR): son técnicas que permiten el análisis de muestras de manera individual y en un tiempo promedio de 10 a 20 minutos. Por la “simplicidad” en su montaje el formato más utilizado es la inmunocromatografía. La reacción enzima-sustrato se evidencia por la aparición de una línea sobre una membrana de nitrocelulosa. Con este formato se obtienen resultados de tipo cualitativo.
- II. ELISA (Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzima) Son ensayos que permiten el procesamiento simultáneo de varias muestras. La reacción enzimática permite un cambio de color cuya lectura se realiza determinando la absorbancia de la muestra comparada frente a un blanco de reactivo. Con este formato se obtienen resultados cuali-cuantitativos.
- III. ELFA (Inmunoensayo de fluorescencia ligado a enzima): Son ensayos que permiten el procesamiento simultáneo de varias muestras. La reacción enzimática-sustrato se revela a través de la emisión de fluorescencia. Con este formato se obtienen resultados cuali-cuantitativos.
- IV. Quimioluminiscencia: Son ensayos que permiten el procesamiento simultáneo de varias muestras. La utilización enzimas y sustratos que producen reacciones de tipo oxidativo permiten la emisión de luminiscencia. Con este formato se obtienen resultados de tipo cuali-cuantitativo.

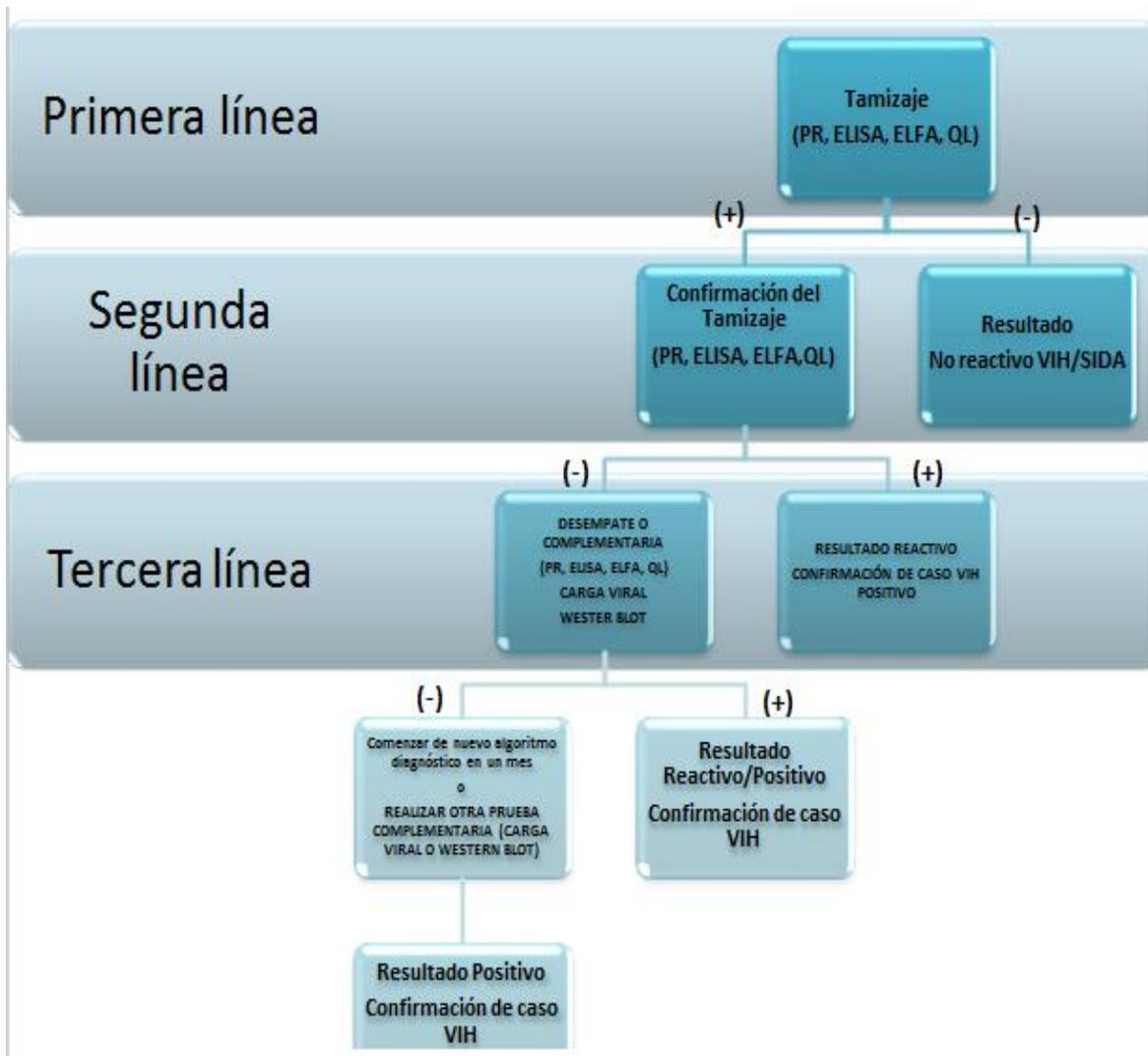
Figura No. 2. Uso de pruebas de diagnóstico para VIH según la fase clínica de la infección



Fuente: Adaptado de Diagnóstico de laboratorio de la infección por el VIH, del tropismo viral y de las resistencias a los antirretrovirales (García, 2011).

Es así que el algoritmo de diagnósticos y las recomendaciones planteadas para resolver todos los escenarios posibles durante el diagnóstico de VIH descritos en la Guía de práctica clínica (GPC) basada en la evidencia científica para la atención de la infección por VIH/Sida en adolescentes (con 13 años de edad o más) parten del uso previsto de cada una de las técnicas mencionadas como lo indica la figura No. 3.

Figura No. 3. Uso de técnicas para el diagnóstico de VIH.



Fuente. Adaptado de: Guía de práctica clínica (GPC) basada en la evidencia científica para la atención de la infección por VIH/Sida en adolescentes (con 13 años de edad o más) y adultos (ACIN, 2014)

sitios en donde circula con el fin de suministrar información que permita orientar las acciones de prevención primaria y secundaria así como estrategias de control.

De igual manera se definirán indicadores que permitirán resumir estos aspectos y realizar su publicación en forma periódica, a través de informes técnicos, así como en la construcción de repositorios institucionales donde fácilmente se puedan obtener los microdatos y permitir su uso por parte de la comunidad científica, médica, académica y administrativa del sistema de salud y el público en general.

5. ESTRUCTURA Y FUNCIONES DE LA RED NACIONAL DE LABORATORIOS (RNL) PARA EL EVENTO

5.1 Instituciones Prestadoras de Servicios de Salud (IPS) Laboratorios clínicos del sector público y privado

- Realizar asesoría pre prueba y pos prueba, realizar el diagnóstico individual de la infección acorde con las guías de práctica clínica basada en la evidencia científica para la atención de la infección por VIH/Sida en adolescentes (con 13 años o más de edad) y adultos (ver algoritmos protocolo de vigilancia para VIH/SIDA INS. <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20VIH%20-%20SIDA.pdf>).
- Garantizar la realización de las pruebas de laboratorio y asegurar que se realice la respectiva notificación al SIVIGILA cuando el diagnóstico esté confirmado.
- Garantizar la calidad en todos los procesos analíticos para la emisión de resultados confiables y con calidad.
- Mantener una base de datos actualizada con las muestras recibidas por municipios y los resultados luego del procesamiento de las mismas.
- Participar en los programa de control de calidad que realiza el laboratorio de salud pública de su entidad territorial.

5.2 Laboratorios de Salud Pública (LSP)

- Realizar el control de calidad pertinente a los laboratorios de diagnóstico en su jurisdicción y realizar un informe de retroalimentación con los resultados a los laboratorios evaluados.
- Participar en el programa de control de calidad que realiza el grupo de virología de la Dirección de Redes en Salud Pública del Instituto Nacional de

Salud.

- Realizar capacitaciones y asesoría técnica a los profesionales de la salud de los municipios (médicos, enfermeros, bacteriólogos) en lo relacionado con el diagnóstico de VIH (toma de muestras, tipo de pruebas, condiciones para el transporte y conservación, realización de pruebas y emisión de informes).
- Mantener una base de datos actualizada con las muestras recibidas por municipios y los resultados luego del procesamiento de las mismas.
- Retroalimentar los resultados del control de calidad a las IPS para que ellos apliquen las acciones necesarias de mejora continua y de búsqueda de pacientes en el caso de encontrar resultados no concordantes.

5.3 Instituto Nacional de Salud (INS)

- El laboratorio de virología realiza el control de calidad directo e indirecto a los Laboratorios Departamentales y distritales de Salud Pública en pruebas serológicas de tamizaje y confirmatorias para la detección de VIH.
- Servir como laboratorio de referencia en caso de que la IPS y el LSP no hayan podido realizar la definición de caso por técnicas no concordantes.
- Proponer y participar en estudios que aporten a la vigilancia del VIH en Colombia.
- Brindar asistencia técnica según su competencia, a los departamentos y distritos en caso de ser requerido.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACIN. (2014). *Guía de práctica clínica (GPC) basada en la evidencia científica para la atención de la infección por VIH/Sida en adolescentes (con 13 años de edad o más) y adultos* (978-958-8735-92-4). Retrieved from www.acin.org/acin/new/Portals/0/Templates/GPC_Comple_VIHADULTOS_web.pdf
- CDC-INH. (2004). *Bioseguridad en laboratorios de microbiología y biomedicina*. Retrieved from http://www.uib.cat/digitalAssets/195/195210_cdc_bmb1_4.pdf
- CDC-ONUSIDA-WHO. (2009). *Guidelines for Using HIV Testing Technologies in Surveillance: Selection, Evaluation and Implementation*. Retrieved from http://www.who.int/hiv/pub/surveillance/hiv_testing_technologies_surveillance.pdf
- CDC. (2017). *Transmisión del VIH*. Retrieved from United States: <https://www.cdc.gov/hiv/spanish/basics/transmission.html>
- Delgado, R. (2011). [Virological characteristics of HIV]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 29(1), 58-65. doi:10.1016/j.eimc.2010.10.001
- Gall, A., Ferns, B., Morris, C., Watson, S., Cotten, M., Robinson, M., . . . Kellam, P. (2012). Universal amplification, next-generation sequencing, and assembly of HIV-1 genomes. *J Clin Microbiol*, 50(12), 3838-3844. doi:10.1128/JCM.01516-12
- García, F., Alvarez, M., Bernal, C., Chueca, N., Guillot, V. (2011). Diagnóstico de laboratorio de la infección por el VIH, del tropismo viral y de las resistencias a los antirretrovirales. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 29-4, 297-307.
- Tang, Y., George, A., Nouvet, F., Sweet, S., Emeagwali, N., Taylor, H., Simmons, G., Hildreth, J. E. (2014). Infection of female primary lower genital tract epithelial cells after natural pseudotyping of HIV-1: possible implications for sexual transmission of HIV-1. *PLoS One*, 9(7), e101367. doi:10.1371/journal.pone.0101367
- WHO. (2015). *HIV ASSAYS LABORATORY PERFORMANCE AND OTHER OPERATIONAL CHARACTERISTICS*. Retrieved from http://www.who.int/diagnostics_laboratory/publications/evaluations/en/
- WHO. (2016). *ESTRATEGIA MUNDIAL DEL SECTOR DE LA SALUD CONTRA EL VIH 2016–2021 HACIA EL FIN DEL SIDA*. Retrieved from <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250574/1/WHO-HIV-2016.05-spa.pdf?ua=1>