



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Tecnología Médica

**Factores asociados a la variación a través del tiempo de
la densidad óptica del enzimoimmunoensayo
HerpeSelect 2 para la detección de anticuerpos anti-
proteína G del virus herpes simple 2 en varones con
conductas de riesgo y residentes de Lima
metropolitana y provincias**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciada en Tecnología
Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

AUTOR

Claudia Lizeth ALMONACID SARA

ASESORES

César Arturo GUTIERREZ VILLAFUERTE

Segundo Ramos LEÓN SANDOVAL

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Almonacid C. Factores asociados a la variación a través del tiempo de la densidad óptica del enzimoimmunoensayo HerpeSelect 2 para la detección de anticuerpos anti-proteína G del virus herpes simple 2 en varones con conductas de riesgo y residentes de Lima metropolitana y provincias [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Tecnología Médica; 2017.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
 (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA



"AÑO DEL BUEN SERVICIO AL CIUDADANO"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Conforme a lo estipulado en el Art. 45.2 y, Art. 100.13 de la Ley 30220. El Jurado de Sustentación de Tesis nombrado por la Directora de la Escuela Profesional de Tecnología Médica, conformado por los siguientes docentes:

Presidente: Lic. Giuliana Mercedes Romero Barrenechea
 Miembro : Lic. Elizabeth Irene Pareja Cuadros
 Lic. Carlos Raúl Sevilla Andrade

Se reunieron en la ciudad de Lima, el día 27 de abril de 2017, procediendo a evaluar la Sustentación de Tesis titulada **"FACTORES ASOCIADOS A LA VARIACIÓN A TRAVÉS DEL TIEMPO DE LA DENSIDAD ÓPTICA DEL ENZIMOINMUNOENSAYO HERPESELECT 2 PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-PROTEÍNA G DEL VIRUS HERPES SIMPLE 2 EN VARONES CON CONDUCTAS DE RIESGO Y RESIDENTES DE LIMA METROPOLITANA Y PROVINCIAS"** para optar el Título Profesional de Licenciada en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica de la Bachiller:

CLAUDIA LIZETH ALMONACID SARA

Habiendo obtenido el calificativo de:

12
 (en números)

DOCE
 (en letras)

Que corresponde a la mención de: **REGULAR**

Quedando conforme con lo antes expuesto, se disponen a firmar la presente Acta.

Presidente
 Lic. Giuliana Mercedes Romero Barrenechea

Miembro
 Lic. Elizabeth Irene Pareja Cuadros

Miembro
 Lic. Carlos Raúl Sevilla Andrade



Asesor (a) de Tesis
 Mg. César Arturo Gutiérrez Villafuerte

Agradecimientos

Al Laboratorio de Salud Sexual de UPCH, por autorizar el análisis en sus instalaciones.

A Segundo León y Antonio Flores, por la oportunidad de elaborar esta tesis y ayudarme con mis dudas.

A Cesar Gutierrez, por permitirme ser su tesista y todo su apoyo en la estadística.

A Alexander Winnett, por las correcciones en el resumen.

Dedicatoria

A mi familia, especialmente a mi Tía Silvia Sara Rojas, por su paciencia impaciente desde siempre.

A mi abuela Graciela Rojas Pajuelo, a la que pude hacer sentir orgullosa el 8 de marzo del 2008 por última vez.

A mis compañeros y amigos quienes siguen conmigo a pesar de mi carácter y que muchas veces me han permitido mostrar matices de mí que no creía tener.

A Enrique Espinoza, por los buenos momentos a su lado, su apoyo incondicional, y ser mi tecnólogo médico favorito desde diciembre 2010.

Índice

Agradecimientos	1
Dedicatoria.....	2
Índice	3
Resumen	5
Abstract.....	6
1. Introducción y Objetivos.....	7
1.1. Introducción	7
1.2. Objetivos	11
1.2.1. General	11
1.2.2. Específicos.....	11
2. Material y Métodos.....	11
2.1. Tipo de investigación.....	11
2.2. Población.....	11
2.3. Muestra	11
2.4. Tipo de muestreo.....	12
2.5. Variables	12
2.5.1. Independientes	12
2.5.2. Dependiente.....	12
2.6. Método	12
2.6.1. Estudio preliminar y elección de vecindarios	12
2.6.2. Elección de la muestra para el estudio basal:	13
2.6.3. Colección de datos y toma de muestra basal.	13
2.6.4. Criterios de inclusión y exclusión para la selección de datos.....	14
2.6.4.1. Inclusión	14
2.6.4.2. Exclusión	14
2.6.5. Análisis estadístico.....	14
3. Resultados:	14
3.1. Descripción de la base de datos y elección de la muestra.....	14
3.2. Análisis de los resultados inmunoserológicos en el grupo de estudio.....	15

3.3. Análisis de los valores de DO obtenidos en la prueba de Elisa para VHS-2.	16
3.4. Análisis bivariado	17
4. Discusión:	21
5. Conclusiones y recomendaciones	22
6. Bibliografía.....	23
7. Anexos.....	27
7.1. Formato de tamizaje y contacto, estudio C-POS	28
7.2. Consentimiento informado	34
7.3. Fragmento de Encuesta C-POS	42
7.4. Inserto de Focus Diagnostic VHS-2	44
7.5. Inserto de reactivo VIH Kit ELISA BIOMERIEUX.....	49
7.6. Hoja de acumulado de datos	55

Resumen

Entre las pruebas diagnósticas desarrolladas para diagnóstico y control del Virus de Herpes Simple 2 (VHS-2) se encuentra el Enzimo Inmuno Ensayo (EIA), siendo el de la marca Focus Diagnostics (HerpeSelect® HSV-2) el que presenta la mejor correlación con la prueba de oro, el Western Blot. El objetivo del presente estudio fue analizar la variación a través del tiempo del valor de la DO de la prueba de EIA y su posible relación con factores de riesgo en los participantes VHS-2 positivo del estudio Comunidades Positivas (C-POS) 2008. Se analizaron los datos de 198 participantes, entre ellos se consideró los tres valores de DO del EIA para detectar infección por VHS-2 (muestra basal y dos seguimientos), conducta sexual y estado serológico para VIH y Sífilis. La DO promedio de la muestra basal fue 1.5 (± 0.81 ; 95% IC). La edad promedio fue 30.8 años (± 7.08 ; 95% IC), 49 (24.75%) participantes presentaron VIH, 59 (29.8%) Sífilis y 18 (9.09%) tuvieron coinfección VIH/Sífilis. De todos, 139 participantes manifestaron tener práctica sexual receptiva (70.20%), 50 reportaron ser modernos (25.25%) y 9 penetrativos (4.55%). Se observó diferencias significativas en la comparación del seguimiento1 (media 1.522) versus la medición basal (mediana 1.791; valor $p > 0.001$; 95% IC) y el seguimiento2 (mediana 1.338; valor $p = 0.004$; 95% IC) pero no al subclasificarlos en grupos (valores p obtenidos entre 0.046-0.722; 95% IC). El estudio concluye que no existiría variación de las DO al ser subclasificado por la conducta sexual y serología del paciente.

Abstract:

Amongst the available tests developed for diagnostic and control of the Herpes Simplex Virus 2 (HSV-2) is the Enzyme Immunoassay (EIA), being Focus Diagnostics (HerpeSelect® HSV-2) that shows the best correlation with the gold standard in HSV-2 diagnostics, the Western Blot. The objective of the present study was to analyze the variation in the Optical Density (OD) value of the EIA for participants over time to identify a possible relation with risk factors in HSV-2 positive participants from the Positive Communities 2008 study (C-POS). We analyzed 198 participants' data, considering three OD values (one basal and two follow-ups), sexual behavior and serological status of HIV and Syphilis. Total OD media was 1.5 (± 0.81 ; 95% CI). Average participant age was 30.8 years old (± 7.08 ; 95% IC). 49 (24.75%) participants were HIV positive, 59 (29.8%) had current Syphilis infection, and 18 (9.09%) had both HIV and Syphilis coinfection. 139 (70.20%) reported to be receptive, 50 (25.25%) "modernos", and 9 (4.55%) penetrative. Significant differences were found when we compared follow-up1 (median 1.522) with basal (median: 1.791; p value > 0.001 ; 95% CI) ODs, and for follow-up2 (median 1.338; p value = 0.004; 95% CI) relative to basal, though not when classifying in subgroups (obtained values between 0.046-0.722; 95% CI). This study concludes there is no variation of ODs when is subclassifying by sexual behavior and patient serology.

1. Introducción y Objetivos:

1.1. Introducción.

La infección por el Virus del Herpes Simple Tipo 2 (VHS-2) es una de las infecciones de transmisión sexual (ITS) virales más prevalentes a nivel mundial.^{1, 2} siendo su distribución considerada como un indicador de la conducta sexual de la población.³ La distribución de este virus varía dependiendo de la región, siendo más prevalente en África que en el resto del mundo; ^{4,5} respecto a la edad es más frecuente en adultos que en jóvenes; ^{6, 7} y finalmente de acuerdo al sexo, más prevalente en mujeres respecto a varones heterosexuales.^{6,8-10} Hasta ahora se conocen varios aspectos de la transmisión e infección^{11,12} del VHS-2, así mismo se han desarrollado pruebas para detectar y confirmar casos con presencia o ausencia de signos y síntomas.^{13, 14} En la actualidad existen diversas pruebas para detectar anticuerpos contra el VHS-2, las cuales son altamente sensibles y específicas, siendo los enzoinmunoensayos (EIA) los más difundidos en nuestro medio. ¹⁵ De todos los EIA disponibles en el mercado, el más utilizado tanto en clínica como en investigación es el de la marca Focus Diagnostics (HerpeSelect® HSV-2), y el que presenta más concordancia con la prueba de oro para VHS-2, el Western Blot, desarrollada por la Universidad de Washington.^{14,16} Si bien los EIA para detectar VHS-2 han demostrado ser altamente eficientes para detectar anticuerpos contra el VHS-2 tanto en pacientes que presentan infección reciente o de larga data, no existen estudios en los cuales se analicen los cambios a través del tiempo del valor de la densidad óptica (DO) de los EIA en un mismo paciente, y tampoco se ha estudiado cómo este valor podría ser influenciado por otros factores como el sexo del individuo, la edad, la conducta sexual, el tratamiento con antirretrovirales o su coinfección con el VIH-1 o sífilis, pudiendo su variación ser importante. Por todo lo mencionado es necesario realizar un análisis del comportamiento de la DO en cohortes de sujetos infectados.

El Virus de Herpes Simple tipo 2 (VHS-2) es el agente causal primario del herpes genital.¹ Asimismo la infección por herpes, es una de las infecciones de transmisión sexual más prevalentes a nivel mundial, y su presencia ha sido considerada como un marcador de las conductas sexuales de riesgo.¹⁻³ La historia natural de la enfermedad no es del todo clara, ya que por un lado la aparición de las primeras lesiones varía de persona a

persona,^{9, 13} y por otro, no se conoce hasta el momento la concentración mínima de virus para transmitir la infección.¹⁴ En todo caso se sabe que el virus se contrae a través de las relaciones sexuales no protegidas con sujetos infectados con el virus, incluso en ausencia de lesiones o síntomas.^{14, 13,30}

El VHS-2 pertenece a la familia de los herpesviridae, junto con el Virus de Herpes Simple tipo 1 (VHS-1), con quien comparte una homología del 70%, y el Virus de Herpes Zóster (VHZ).³¹ Su material genético consta de dos moléculas de ADN y su cápside de forma icosapentahedral está conformada por 162 capsómeros. La cápside se encuentra envuelta por un material amorfo que consta de aminas, lípidos y glucoproteínas, siendo estas últimas las que le confieren las propiedades antigénicas distintivas con el VHS-1.¹⁵ La infección con el VHS-2 se da a través de las mucosas de un sujeto infectado con otro, incluso en ausencia de lesiones.^{1,9} Se sabe que dos terceras partes de las personas con VHS-2 presentan el virus en las mucosas sin mostrar signos ni síntomas.¹¹ Una vez que el virus ha ingresado, este se replica en el sitio de inoculación, produciendo las primeras lesiones entre el día 1 y 26 posterior a la infección. Esta etapa se denomina herpes primario, la cual puede venir acompañada por dolor localizado y de cabeza.³³ En ensayos realizados en ratones se determinó que aproximadamente 74 horas posteriores a la infección, el virus viaja a través de los axones neuronales hasta establecerse en la raíz de los ganglios sensoriales.³⁴ Ahí continuará replicándose produciendo en algunas neuronas daño celular, mientras que en otra se establecerá de forma latente y de por vida.³¹ Durante el primer año posterior a la infección, se producirán recurrencias, siendo estas más frecuentes en varones que en mujeres, sin embargo en ellas la duración y el dolor será mayor.^{35,36} El riesgo principal de la presencia de estas lesiones a nivel genital en las mujeres radica no solo en la transmisión durante el acto sexual, sino también durante el embarazo y el trabajo de parto, donde existe un alto riesgo de transmitir el virus al recién nacido, produciendo desde secuelas neurológicas graves hasta la muerte.³⁷

Los anticuerpos aparecerán en el suero entre las 4 y 6 semanas luego de la infección y persistirán en sujetos infectados.³⁸ A nivel de mucosas aparecen los primeros anticuerpos neutralizantes los cuales estarán dirigidos contra las glicoproteínas presentes en la cápside del virus y cuya acción de se mantendrá hasta 60 horas

posteriores a la infección.³⁴ A nivel sistémico la aparición de anticuerpos se da aproximadamente a partir de la primera semana, siendo estos de clase IgM e IgG, y su concentración de aumenta luego de 9 a 10 semanas posteriores a la infección.³⁹ Los anticuerpos de tipo IgM persisten dentro de las primeras 8 semanas posteriores a la infección mientras que los tipo IgG se mantienen y en infecciones de larga data su concentración variará posiblemente debido a las recurrencias o fenómenos de ocultamiento viral o también denominado “shedding”.

La distribución del VHS-2 varía significativamente a nivel mundial, siendo influenciada por factores tanto demográficos como epidemiológicos. Dentro de los factores demográficos se puede mencionar el nivel sociocultural, siendo los países desarrollados los que presentan las tasas más bajas de VHS-2, entre el 13 y el 18% en comparación con los países subdesarrollados o en vías de desarrollo. 6 A su vez el nivel sociocultural está muy relacionado con la región geográfica, siendo los países de África los que presentan las tasas más altas de VHS-2, con una prevalencia entre el 10 a 80% en población general, ^{4,5} mientras que en países europeos es mucho menor la frecuencia de casos de herpes genital producido por VHS-2, pero se ha observado un aumento de los casos de herpes genital producido por VHS-1, a consecuencia de la tendencia de conductas sexuales de tipo oro-genital.^{34, 40} En lo que respecta a los aspectos biológicos, la mayoría de estudios concluyen que el sexo es un factor influyente en la prevalencia e incidencia de VHS-2, siendo las mujeres las más afectadas, independientemente de su nivel sociocultural ^{6,8} y solo superadas por hombres que tienen sexo con otros hombres (HSH), cuya prevalencia alcanzaría el 70%.^{9,10} En cuanto a la raza, algunos estudios concluyeron que la raza negra es otro factor de riesgo,¹² aunque dichos resultados no han sido del todo concluyentes. Finalmente la prevalencia e incidencia aumenta con la edad, a partir del inicio de la vida sexual.^{6,7}

La relación del Virus del Herpes Simple tipo 2 y el VIH ha sido estudiada a través de los años, dada la cercanía en modalidad de infección y sinergia presente entre estas dos infecciones,¹⁻³ mientras que las úlceras genitales producidas por la infección con VHS-2 facilitan la entrada del VIH, los sujetos VIH-positivos que desarrollan úlceras aumentan la tasa de trasmisión de ambos virus.^{2, 22, 30, 41} Otros investigadores concluyeron que los individuos coinfectados presentan tasas más altas de recurrencia e incidencia de

lesiones, siendo estas más persistentes que en individuos VIH-negativos.¹³ A pesar de los grandes avances realizados en conocer la relación entre ambas infecciones y los estudios prometedores en los cuales se quería comprobar la efectividad de controlar la transmisión del VIH mediante la terapia con Aciclovir como tratamiento de la infección por VHS-2, los resultados concluyen que la terapia antirretroviral contra el VHS-2 no variaba la progresión del VIH y tampoco disminuía la tasa de infección por él mismo.³⁰ Posteriormente se supo que a nivel de mucosa genital se desarrolla una respuesta inflamatoria persistente incluso recibiendo tratamiento antirretroviral y hasta 20 semanas posterior a la aparición de lesiones.³³

En la actualidad se cuenta con una gama de pruebas diagnósticas para la detección de VHS-2, entre ellas se puede mencionar al cultivo viral y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), las cuales detectan la presencia del virus en la mucosa oro-genital, incluso en ausencia de lesiones.^{14,22} Si bien ambas pruebas detectan directamente la presencia del virus, su uso se encuentra limitado a investigaciones ya que su costo es elevado en comparación con las pruebas indirectas basadas en detección de anticuerpos. Respecto a estas últimas, se encuentran disponibles en el mercado y aprobadas por la Administración de Drogas y Alimentos de USA (FDA) las pruebas con el principio de enzimoimmunoensayo (EIA), detectando anticuerpos dirigidos contra la glicoproteína G, la cual es altamente específica para la detección del VHS-2 y permite diferenciar este virus del VHS-1.¹⁵ Si bien esta prueba ha demostrado contar con una sensibilidad y especificidad aceptable, algunos reportes mencionan que los valores de DO no permiten diferenciar entre una infección reciente o de larga data.¹⁶ Finalmente la prueba de oro es el Western Blot, siendo la Universidad de Washington la única sede a nivel mundial que la realiza dada su alta complejidad; sin embargo, esta prueba no ha sido aprobada por la FDA,¹⁴ y el tiempo entre la detección de anticuerpos y la aparición de síntomas es de 40 días aproximadamente, a diferencia del ELISA, cuyo tiempo de reactividad es de alrededor de 21 días.¹⁶

1.2. Objetivos:

1.2.1. General:

Analizar la variación a través del tiempo del valor de la DO de la prueba de EIA para anticuerpos anti proteína G del Virus Herpes Simple 2 y su posible relación con factores de riesgo en los participantes VHS-2 positivo del estudio Comunidades Positivas (C-POS) 2008.

1.2.2. Específicos:

- Determinar la prevalencia de VIH en la muestra de pacientes VHS-2 positivo del estudio Comunidades Positivas (C-POS) 2008.
- Determinar la prevalencia de Sífilis en la muestra de pacientes VHS-2 positivo del estudio Comunidades Positivas (C-POS) 2008.
- Estimar la prevalencia de conducta sexual en los participantes VHS-2 positivo del estudio Comunidades Positivas (C-POS) 2008.

2. MATERIALES Y MÉTODOS:

2.1. Tipo de investigación

Se realizó un estudio observacional, retrospectivo de corte longitudinal

2.2. Población

Se reclutó sujetos varones, mayores de 18 años, con riesgo alto de adquirir ITS e infectados con el Virus de Herpes Simple tipo 2 determinado por ELISA.

2.3. Muestra

Información serológica y de encuesta de Sujetos varones entre 18 y 40 años, con riesgo alto de adquirir ITS e infectados con el Virus de Herpes Simple tipo 2 residentes en Lima Metropolitana y provincias (Barranca, Hualal y Huacho) y que participaron del estudio "COMUNIDADES POSITIVAS Y MANEJO MEJORADO DE CONTACTOS EN EL PERU" (C-POS), realizado durante los años, 2006 al 2009.

2.4. TIPO DE MUESTREO:

Probabilístico aleatorio simple, ya que todos los individuos de la población tenían la misma probabilidad de formar parte de la muestra.

2.5. Variables

2.5.1. Independientes

- Coinfección con Sífilis
- Coinfección con VIH.
- Conducta sexual

2.5.2. Dependiente

- DO del EIA para la detección indirecta del Virus de Herpes Simple tipo 2.

2.6. Métodos

Si bien este estudio es retrospectivo y se realizó un análisis a partir de parte de los datos obtenidos del estudio “Comunidades Positivas y manejo mejorado de contactos en el Perú” (C-POS), se explicará a continuación de manera resumida el método de selección de participantes, encuesta y análisis de laboratorio, para comprender mejor la naturaleza de la información a analizarse, tanto de la encuesta como del análisis de laboratorio.

2.6.1. Estudio preliminar y elección de vecindarios

Antes de elegir los vecindarios, se visitaron varios de estos ubicados en diferentes distritos de Lima, tanto capital como provincias, con el objetivo de determinar la presencia de factores de riesgo asociados a las ITS. Para ello se contactó inicialmente con los presidentes de las asociaciones de vivienda, clubes de madres, entre otros, y se coordinó la realización de un cuestionario de 80 a 90 preguntas, las cuales fueron evaluadas en una muestra de 50 personas por vecindario. Aquellos barrios que cuyos factores de riesgo estaban presentes en la muestra fueron considerados para formar parte del estudio. Entre otros requisitos para ser elegidos fueron:

- Facilidad para realizar trámites relacionados con el desarrollo del estudio.

- Infraestructura adecuada para poder situar una base de trabajo, por ejemplo, un colegio, local comunal, centro de salud, etc.
- Presencia de grupos sociales.
- Al menos de 100 a 150 personas elegibles (potenciales) por barrio

Finalmente, por cada distrito fueron elegidos alrededor de 30 vecindarios para participar del estudio.

2.6.2. Elección de la muestra para el estudio basal:

La elección de la muestra fue elegida siguiendo el protocolo de elección de muestras del estudio C-POS, el cual consistía en la codificación de los domicilios e identificación de personas elegibles para el estudio (ser mayores de 30 años y haber vivido al menos 2 años en el distrito donde fueron reclutados) (anexo 8.1). Una vez identificados los individuos potenciales para participar en el estudio, se les consultó si deseaban participar en el mismo. En el caso de que la persona aceptara voluntariamente participar, se les citó en la oficina temporal situada dentro del vecindario

2.6.3. Colección de datos y toma de muestra basal.

Si un individuo aceptaba participar del estudio, se procedía a la explicación del estudio, firma de consentimiento informado (anexo 8.2) y extracción de muestra basal. A cada participante se le extrajo 3 muestras, repartidas en una muestra cada 12 meses a modo de seguimiento. Estas muestras fueron analizadas para anticuerpos anti proteína G del VHS-2 utilizando el método de ELISA de HerpeSelect® de la marca comercial Focus Diagnostics®, prueba autorizada por la FDA (Administración de Drogas y Alimentos de Estados Unidos) para el diagnóstico clínico de infección por HSV-2.

2.6.4. Criterios de inclusión y exclusión para la selección de datos

2.6.4.1. INCLUSIÓN

- Se incluyó datos de participantes cuya información necesaria para el estudio haya estado clara y completa: identidad sexual, infección con VIH y/o sífilis.
- Datos de participantes cuya Densidad Óptica para VHS-2 en la muestra basal haya sido clasificado como REACTIVO o INDETERMINADO.

2.6.4.2. EXCLUSIÓN

- Datos de participantes que no cuenten con autorización por consentimiento informado para usar las muestras y datos del participante

2.6.5. Análisis estadístico

Se procedió a realizar un análisis descriptivo univariado y bivariado de cada una de las variables. En el análisis univariado se realizó la prueba de Wilcoxon para dos muestras relacionadas. Para el análisis bivariado de las DO en el que se crearon subgrupos de acuerdo a su conducta sexual, serología para VIH y Sífilis, se realizó la prueba de ANOVA para la comparación entre subgrupos.

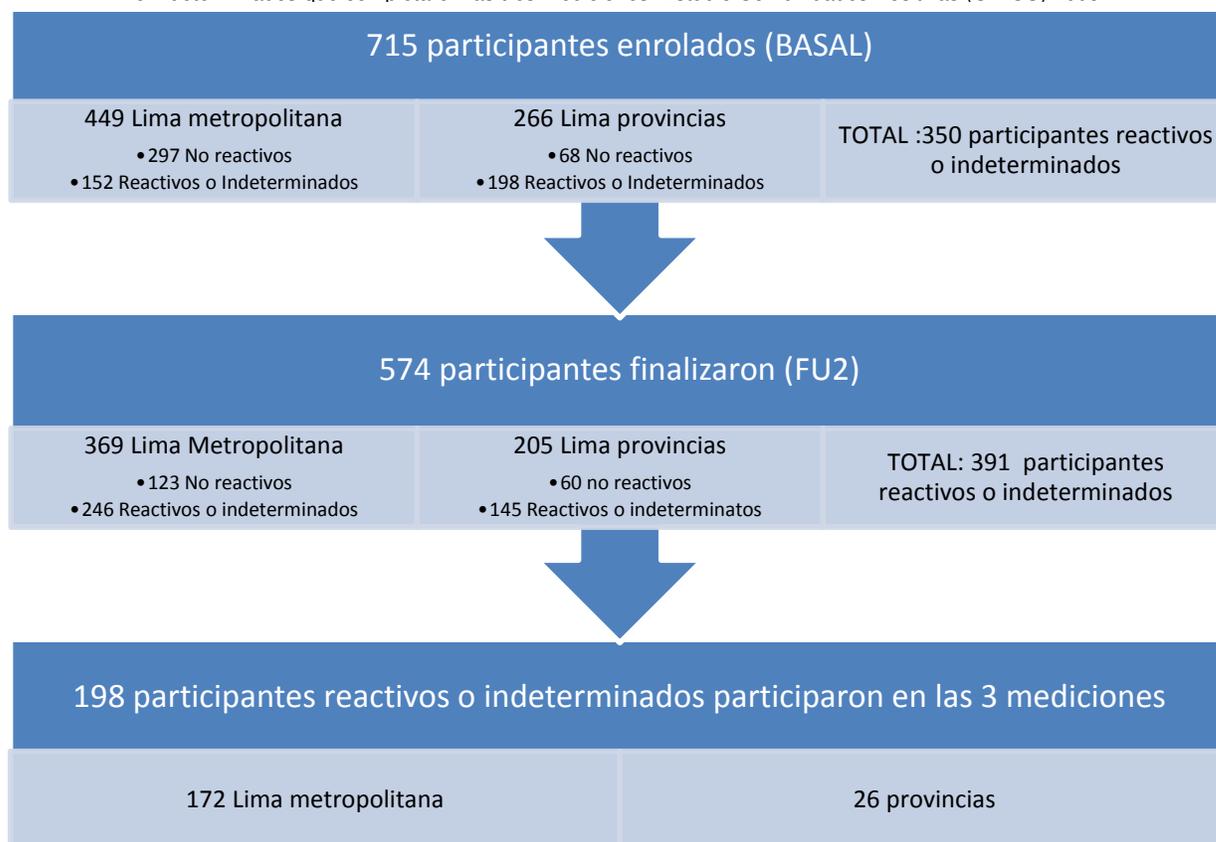
3. Resultados:

3.1. Descripción de la base de datos y elección de la muestra:

En el estudio C-POS se enrolaron 715 varones, cuya procedencia se distribuyó entre Lima metropolitana (LM) 449 y Lima provincias (LP) 266, de los cuales al inicio del estudio 127 (28.3 %) y 171 (64.3 %) respectivamente fueron reactivos al EIA del VHS-2. Entre los indeterminados hallados, 25 (5.6%) pertenecieron a LM y 27 (10.2%) a LP. Al término del estudio, solo 574 culminaron el seguimiento, de estos 369 eran de LM y 205 de LP, cuyos números de participantes reactivos fueron 246 (66.7 %) y 145(70.3 %) respectivamente. Al cruzar los datos de las tres mediciones (basal, seguimiento 1 y seguimiento 2), se observó que 198 participantes fueron no reactivos o indeterminados en cualquier momento del estudio y participaron en las

tres mediciones, con quienes finalmente se realizó todo el análisis estadístico. De estos participantes, 172(86.9%) pertenecieron a LM y 26 (13.1%) a LP. El gráfico 1 muestra la cantidad inicial y total de participantes que empezaron y culminaron las tres mediciones del estudio.

Gráfico 1. Clasificación de participantes al inicio del estudio (basal), y en los dos seguimientos posteriores; y número de pacientes reactivos o indeterminados que completaron las tres mediciones. Estudio Comunidades Positivas (C-POS) 2008



3.2. Análisis de los resultados inmunoserológicos en el grupo de estudio.

La tabla 1 muestra las características generales de la muestra. La DO promedio de la muestra basal fue 1.5 ± 0.81 . La edad promedio de los participantes al inicio del estudio fue 30.8 años (rango de 18 a 45). En cuanto a su estado serológico, 49 participantes fueron reportados como VIH positivo (24.75%), 59 Sífilis positivo (29.8%) y 18 (9.09%) tuvieron coinfección VIH/Sífilis. De todos, 139 participantes manifestaron tener práctica sexual receptiva (70.20%), 50 reportaron ser modernos (25.25%) y solo 9 participantes manifestaron tener conducta sexual penetrativa (4.55%).

Tabla 1. Características generales de la muestra. Estudio Comunidades positivas- 2008.

Variables cuantitativas	Media	Desviación estándar	Valor Mínimo	Valor máximo
Densidad óptica hsv-2 basal	1.500	0.810	0	3.172
edad	30.82	7.08	18	45
Variables cualitativas			n	%
VIH	Reactivo		49	24.75
	No reactivo		149	75.25
Sífilis	Reactivo		59	29.8
	No reactivo		139	70.2
Coinfección	Reactivo para VIH y sífilis		18	9.09
	Solo VIH		31	15.66
	Solo sífilis		41	20.71
	No reactivo		108	54.55
Conducta sexual	Penetrativo		9	4.55
	Receptivo		139	70.20
	Moderno		50	25.25

3.3. Análisis de los valores de DO obtenidos en la prueba de Elisa para VHS-2.

La tabla 2 muestra los valores de DO del EIA para VHS-2 clasificados de acuerdo a la medición basal, seguimiento 1 y 2. Se puede observar que los valores de las

medianas de las DO, a pesar de ser diferentes, pertenecen a un rango intercuartil similar de las DO de la medición basal, seguimiento 1 y 2, cuando no han sido clasificados por la presencia de VIH, sífilis o conducta sexual. En el seguimiento 1, se observa un aumento discreto de la mediana y valores intercuartiles (0.984 y 2.722) y estos valores vuelven a caer en el seguimiento 2, aunque en el último seguimiento aumenta el rango intercuartil. Al realizar el Test de Wilcoxon, no se observó diferencias significativas al comparar las mediciones del basal 1 versus el seguimiento 2, pero sí al comparar el seguimiento 1 versus las otras dos mediciones (tabla 2).

Tabla 2. Medidas estadísticas descriptivas de los valores de DO del EIA para VHS-2.
Estudio C-POS 2008

	Mediana	Percentil 25	Percentil 75	p-value (95% IC)	
Basal	1.522	0.833	2.163	Basal vs. S1	>0.001
Seguimiento 1	1.791	0.984	2.722	Basal vs. S2	0.694
Seguimiento 2	1.338	0.684	2.238	S1 vs. S2	0.004

3.4. Análisis bivariado:

El gráfico 3 y la tabla 3 muestran el análisis general de los valores de DO al ser clasificados de acuerdo a su estado serológico (VIH o Sífilis) y conducta sexual. Al subclasificar las DO de acuerdo a las tres categorías analizadas, se observó un comportamiento y diferencias significativas similares entre los tres grupos. La mediana de DO más alto fue encontrada en el seguimiento 1 de los participantes reactivos a Sífilis y el valor promedio de DO más bajo fue en la medición basal de los participantes con conducta sexual definida como “moderna”. En todos los casos no se observó diferencias significativas (valores p desde 0.0461 hasta 0.7215). (Tabla

3). El gráfico 3 muestra todos los valores plasmados que se obtuvieron realizando la prueba de ANOVA a las DO subclasificándolas como se muestra en la tala 4.

Tabla 3 Análisis general de las DO obtenidas a través de la prueba HerpeSelect 2 para la detección de VHS-2 y clasificadas por su estado serológico (VIH y Sífilis) y conducta sexual. Estudio C-POS 2008

			Mediana \pm Desv. St	Valor p (95% IC)	
VIH	basal	No reactivo	1.49 \pm 0.815	0.722	
		Reactivo	1.53 \pm 0.801		
		total	1.50 \pm 0.809		
	Seguimiento 1	No reactivo	1.73 \pm 1.022	0.187	
		Reactivo	1.95 \pm 1.094		
		total	1.79 \pm 1.045		
	Seguimiento 2	No reactivo	1.46 \pm 1.008	0.368	
		Reactivo	1.60 \pm 0.968		
		total	1.50 \pm 0.996		
SIFILIS	basal	no reactivo	1.42 \pm 0.826	0.047	
		reactivo	1.66 \pm 0.752		
		total	1.51 \pm 0.806		
	Seguimiento 1	no reactivo	1.73 \pm 1.088	0.160	
		reactivo	1.95 \pm 0.942		
		total	1.81 \pm 1.039		
			no reactivo	1.42 \pm 0.966	0.103

	Seguimiento 2	reactivo	1.66 ± 1.035	
		total	1.51 ± 0.996	
CONDUCTA SEXUAL	basal	activo	1.63 ± 0.576	0.276
		pasivo	1.55 ± 0.825	
		moderno	1.34 ± 0.793	
		total	1.50 ± 0.809	
	Seguimiento 1	activo	1.80 ± 0.796	0.720
		pasivo	1.83 ± 1.055	
		moderno	1.69 ± 1.068	
		total	1.79 ± 1.045	
	Seguimiento 2	activo	1.76 ± 1.133	0.486
		pasivo	1.45 ± 0.97	
		moderno	1.60 ± 1.048	
		total	1.50 ± 0.996	

Gráfico 2. Dispersión de los valores de DO obtenidos mediante la prueba HerpeSelect 2 para la detección de VHS-2, según su estado serológico de VIH, sífilis y conducta sexual. Estudio C-POS 2008

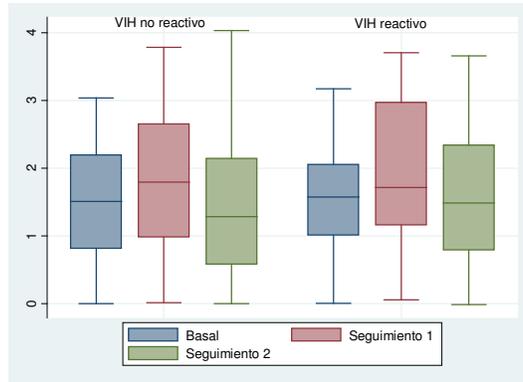


Gráfico 2A. dispersión de los valores de DO clasificados de acuerdo al estado serológico de VIH de los participantes

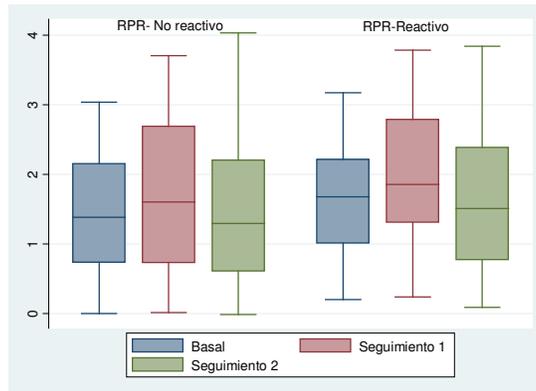


Gráfico 2B. dispersión de los valores de DO clasificados de acuerdo al estado serológico de sífilis de los participantes

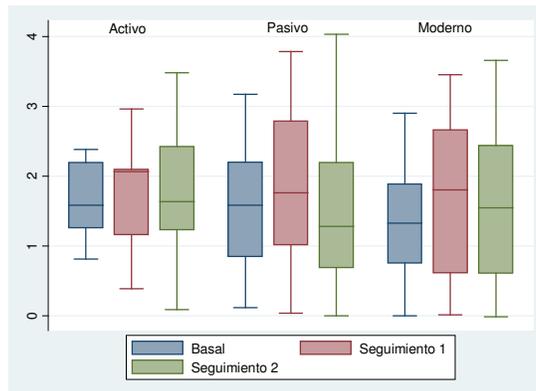


Gráfico 2C. dispersión de los valores de DO clasificados de acuerdo a la conducta sexual de los participantes

4. Discusión:

El presente trabajo evaluó los valores de densidad óptica en sueros almacenados de varones que participaron en un estudio denominado “comunidades positivas”, cuyo objetivo fue comparar diferentes estrategias de intervención en comunidades de alto riesgo de contraer ITS para evaluar cual de ellas obtenía mejores resultados. Gracias a los esfuerzos de este estudio se pudo obtener una muestra inicial de 715 varones con conductas de riesgo.¹⁹ Asimismo, la prevalencia fue mayor que otras poblaciones, incluidas las de hombres que tienen sexo con otros hombres.^{17,18}

El valor promedio de DO para la prueba de EIA para HSV2 utilizando el método de ELISA de HerpeSelect® de la marca comercial Focus Diagnostics® obtenido fue 1.501, el cual aproximando a su valor índice sería 9.74. De acuerdo a lo mencionado en los valores de EIA, existe controversias en ciertas poblaciones respecto al punto de corte. Por ejemplo, en un estudio realizado en siete países de África,²⁰ y otro estudio realizado solo en Uganda,²¹ se observó que los valores de sensibilidad y especificidad mejoraban si se aumentaba el punto de corte de 1.1 a 2.1. Un resultado similar se obtuvo en un estudio realizado en una clínica de VIH en Alabama.²²

Al comparar los valores medios entre mediciones, no se encontró diferencias significativas. Este comportamiento de las DO ha sido reportado como una incapacidad de la prueba de diferenciar un caso de infección reciente de otro de larga data.³⁴ Esta tendencia se repite al hacer la comparación de acuerdo a su conducta sexual y a su serología para VIH y sífilis.

Cuando se procedió a hacer la prueba de ANOVA al subclasificar la muestra, tampoco se encontraron diferencias significativas. En el caso de Herpes vs VIH, un estudio menciona que el primero no influencia marcadores inflamatorios en pacientes VIH positivo.²³ Otro estudio en Uganda reveló que la presencia del VIH no afectaba las tasas de úlceras genitales ni el fenómeno shedding,²⁴ mientras que otro estudio encontró una mayor asociación entre el shedding y la infección por VIH.²⁵

En el análisis VHS2 versus Sífilis, es importante mencionar que al ser la sífilis una enfermedad curable, se tuvo que clasificar como “positivo” a todo aquel participante con

al menos un resultado reactivo para sífilis. La prevalencia de sífilis en el estudio fue 29.8%, en personas entre 18 y 45 años, lo cual coincide con otros estudios de prevalencia.²⁶ A diferencia del VIH, existen reportes en los que no se encuentra una relación entre lesiones y HSV-2 en hombres que tienen sexo con hombres condigno de sífilis.²⁷

Finalmente, se menciona reportes en los cuales se observa una fuerte relación entre las ITS, entre ellas VHS-2, y el grupo de hombres que tienen sexo con hombres.²⁸ Aunque biológicamente no hay diferencias entre ellos y los hombres heterosexuales, se ha reportado diferencias en la supresión del VIH en presencia de tratamiento anti-retroviral.²⁹ En el análisis de regresión lineal realizado, la mayor y menor pendiente se encontraron en el grupo de conducta sexual activa; lo más probable es debido al pequeño tamaño de muestra.⁹ Sin considerar al grupo de activos, en general el grupo de participantes clasificado como moderno presentaba diferencias mayores respecto al pasivo, lo cual podría relacionar la relativa variabilidad de sus valores de DO con su conducta sexual.

5. Conclusiones y recomendaciones:

La variabilidad de la Densidad Óptica de las DO del EIA HerpeSelect® para la detección de anticuerpos HSV-2 no sería afectada por factores biológicos (co infección con otras ITS) o antropológicos (conducta sexual). En el primer caso las otras ITS influyen biológicamente tanto en el ocultamiento viral como en la aparición de lesiones, pero no es reflejado en los resultados de las DO. Respecto a la conducta sexual moderna, en donde se encontró la mayor variabilidad de las DO, podría deberse a la doble vía de infección y transmisión (anal-genital) en este tipo de personas.

De acuerdo a los resultados del estudio, se sugiere realizar mayores estudios relacionados a DO de VHS-2, el cual podría enfocarse a analizar variación de DO versus aparición de lesiones genitales, shedding o tiempo de infección con el virus. Otros análisis sugeridos podría ser comparar las variaciones de DO en población masculina versus femenina, carga viral de VIH, entre otros.

6. Bibliografía

1. World Health Organization. Herpes Simplex Virus Type 2: Programmatic and Research Priorities in Developing Countries. Report of a WHO/UNAIDS/LSHTM Workshop. WHO/HIV_AIDS/2001.01. Geneva: WHO, 2001
2. Sudenga S.L., Kempf M.C., McGwin G., Jr, Wilson C.M., Hook E.W., III, Shrestha S. Incidence, prevalence, and epidemiology of herpes simplex virus-2 in HIV-1-positive and hiv-1-negative adolescents. *Sex. Transm. Dis.* 2012;39:300–305
3. Laith J. Abu-Raddad, PH. HSV-2 serology can be predictive of HIV epidemic potential and hidden sexual-risk behavior in the Middle East and North Africa. *Epidemics.* 2010 December; 2(4): 173–182
4. WEISS, Helen. (2004). Epidemiology of herpes simplex virus type 2 infection in the developing world. *Herpes* 11(1):24-35
5. Weiss, H. A., Buve, A., Robinson, N. J., Van Dyck, E., Kahindo, M., Anagonou, S. & Study Group on Heterogeneity of HIV Epidemics in African Cities. (2001). The epidemiology of HSV-2 infection and its association with HIV infection in four urban African populations. *Aids*, 15, S97-S108.
6. Looker, K. J., Garnett, G. P., & Schmid, G. P. (2008). An estimate of the global prevalence and incidence of herpes simplex virus type 2 infection. *Bulletin of the WHO* 86(10): 805-812.
7. Hoots, B. E., Hudgens, M. G., Cole, S. R., King, C. C., Klein, R. S., Mayer, K. H., Smith, J. S. (2011). Lack of association of herpes simplex virus type 2 seropositivity with the Progression of HIV Infection in the HERS Cohort. *American Journal of Epidemiology*, 173(7).
8. Auslander B.A., Biro F.M., Rosenthal S.L. (2005). Genital Herpes in Adolescents. *Seminars Pediat Infect Dis*, 16: 24-30.
9. Perez-Brumer, A. G., Konda, K. A., Salvatierra, H. J., Segura, E. R., Hall, E. R., Montano, S. M., Clark, J. L. (2013). Prevalence of HIV, STIs, and risk behaviors in a cross-sectional community-and clinic-based sample of men who have sex with men (MSM) in Lima, Peru. *PloSone*, 8(4), e59072
10. Clark, J. L., Konda, K. A., Segura, E. R., Salvatierra, H. J., Leon, S. R., Hall, E. R., Coates, T. J. (2008). Risk factors for the spread of HIV and other sexually

transmitted infections among men who have sex with men infected with HIV in Lima, Peru. *Sex transm infect*, 84(6), 449-454.

11. Wald A, Zeh J, Selke S et al. Reactivation of genital herpes simplex virus type 2 infection in asymptomatic seropositive persons. *N Engl J Med*. 2000;342844-850
12. Bernstein DI, Bellamy AR, Hook EW 3rd, Levin MJ, Wald A, Ewell MG, Wolff PA, Deal CD, Heineman TC, Dubin G, Belshe RB. Epidemiology, clinical presentation, and antibody response to primary infection with herpes simplex virus type 1 and type 2 in young women. *Clin Infect Dis*. 2013;11:344–351
13. Tronstein E, Johnston C, Huang ML, Selke S, Margaret A, Warren T, et al. Genital shedding of herpes simplex virus among symptomatic and asymptomatic persons with HSV-2 infection. *JAMA*. 2011 Apr 13;305(14):1441-9
14. LeGoff J, Pere H, Belec L. Diagnosis of genital herpes simplex virus infection in the clinical laboratory. *VirJourn*, 2014; 11(1): 1-30
15. Whittington W.I., Celum C.I., Cent A., Ashley R.L. (2001). Use of a Glycoprotein G-Based Type-Specific Assay to Detect Antibodies to Herpes Simplex Virus Type 2 Among Persons Attending Sexually Transmitted Disease Clinics. *Sex Transm Dis*, 28: 99-104
16. Morrow R, Krantz E, Wald A. (2003). Time course of seroconversion by HerpeSelect ELISA after acquisition of genital herpes simplex virus type 1 (HSV-1) or HSV-2. *Sex Transm Dis* 30(4):310-314
17. Hallfors D, Cho H, Mbai I, Millimo B, Atieno C, Okumu D, Luseno W, Hartman S, Halpern C, Hobbs M. Disclosure of HSV-2 serological test results in the context of an adolescent HIV prevention trial in Kenya. *Sex Transm Infect* 2015;91:6
18. Ashley-Morrow, R. et al. Performance of Focus ELISA tests for herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and HSV-2 antibodies among women in ten diverse geographical locations. *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 10, Issue 6, 530 – 536
19. Castillo R, Konda KA, Leon SR, Silva-Santisteban A, Salazar X, Klausner JD, Coates TJ, Cáceres CF. HIV and Sexually Transmitted Infection Incidence and Associated Risk Factors Among High-Risk MSM and Male-to-Female

- Transgender Women in Lima, Peru. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2015 Aug 15;69(5):567-75.
20. Mujugira A, Morrow RA, Celum C, et al. Performance of the Focus HerpeSelect-2 EIA for the detection of herpes simplex virus type 2 antibodies in seven African countries. *Sexually transmitted infections*. 2011;87(3):238-241.
 21. Lingappa J, Nakku-Joloba E, Magaret A, et al. Sensitivity and Specificity of HSV-2 Serologic Assays Among HIV-infected and uninfected Urban Ugandans. *International journal of STD & AIDS*. 2010;21(9):611-616.
 22. Van Wagoner NJ, Morrow R, Lee J, Dixon P, Hook EW. Serologic screening for herpes simplex virus type 2 in persons with Human Immunodeficiency Virus. *The American journal of the medical sciences*. 2013;346(2):108-112
 23. Tan Darrell H.S., Raboud Janet M., Szadkowski Leah, Yi Tae Joon, Shannon Brett, Kaul Rupert, Liles W. Conrad, and Walmsley Sharon L.. *AIDS Research and Human Retroviruses*. November 2014, 31(3): 276-281
 24. Phipps W, Nakku-Joloba E, Krantz EM, Selke S, Huang ML, Kambugu F, Orem J, Casper C, Corey L, Wald A .Genital Herpes Simplex Virus Type 2 Shedding Among Adults With and Without HIV Infection in Uganda. *The Journal of Infectious Disease* 2016 213: 439-447.
 25. Schiffer JT, Swan DA, Magaret A, Schacker TW, Wald A, Corey L (2016) Mathematical Modeling Predicts that Increased HSV-2 Shedding in HIV-1 Infected Persons Is Due to Poor Immunologic Control in Ganglia and Genital Mucosa. *PLoS ONE* 11(6): e0155124
 26. Kenyon CR, Tsoumanis A, Osbak K. Strong Country Level Correlation between Syphilis and HSV-2 Prevalence. *Journal of Sexually Transmitted Diseases*. 2016;2016:5959032. doi:10.1155/2016/5959032.
 27. Towns JM, Leslie DE, Denham I, Azzato F, Fairley CK, Chen M. Painful and multiple anogenital lesions are common in men with *Treponema pallidum* PCR-positive primary syphilis without herpes simplex virus coinfection: a cross-sectional clinic-based study *Sex Transm Infect Sex Transm Infect* 2016;92:2 110-115
 28. Chow EPF, Tucker JD, Wong FY, et al. Disparities and Risks of Sexually Transmissible Infections among Men Who Have Sex with Men in China: A Meta-

- Analysis and Data Synthesis. Tang JW, ed. PLoS ONE. 2014;9(2):e89959. doi:10.1371/journal.pone.0089959.
29. Politch JA, Mayer KH, Welles SL, et al. Highly active antiretroviral therapy does not completely suppress HIV in semen of sexually active HIV-infected men who have sex with men. *AIDS (London, England)*. 2012;26(12):1535-1543.
 30. Reynolds SJ. Role of HSV-2 suppressive therapy for HIV prevention. *Future Medicine*, 2009; 4 (9):1095-1097
 31. Steiner I. (2008). Herpes virus infection of the peripheral nervous system. *HandbClinNeurol* 115:543-558
 32. Azwa A., Barton S.E. (2009). Aspects of herpes simplex virus: a clinical review. *J FamPlannReprod Health Care*, 35 (4): 237-242.
 33. Zhu, J., Hladik, F., Woodward, A., Klock, A., Peng, T., Johnston, Corey, L. (2009). Persistence of HIV-1 receptor-positive cells after HSV-2 reactivation is a potential mechanism for increased HIV-1 acquisition. *Nat med*,15(8), 886-892.
 34. Morrow R., Krantz E., Friedrich D., Wald A. (2006) Clinical correlates of index values in the Focus HerpeSelect ELISA for antibodies to herpes simplex virus type 2 (HSV-2). *Journ of ClinVirolog* 36, 141–14
 35. Corey L., Wald A. (1999) .Genital herpes. *SexTransm Dis*; 3ra edición: 285-312
 36. Benedetti J., Corey L., Ashley R. (1994). Recurrence rates in genital herpes aftersymptomatic first-episode infection. *Ann Intern Med*, 121: 847-854
 37. Brown Z. A., Selke S., Zeh J., Kopelman J., Maslow A., Rhoda L.A., Watts H., Berry S., Herd M., Corey L. (1997). The acquisition of herpes simplex virus during pregnancy. *New EngJourn Med* 337(8): 509-516.
 38. Beauman JG. (2005).Genital herpes: a review. *Am Fam Physician*; 72: 1527–1534.
 39. Kurtz, J.B (1974). Specific IgG and IgM antibody responses in herpes-simplex-virus infections. *J. med. Microbiol* 7: 333
 40. Pebody, R. G., Andrews, N., Brown, D., Gopal, R., De Melker, H., François, G., ...&Vranckx, R. (2004). The seroepidemiology of herpes simplex virus type 1 and 2 in Europe. *Sexually transmitted infections*, 80(3), 185-191.
 41. Risser W.L., Bortot A.T., Benjamins L.J., Feldmann J.M., Barratt M.S., Eissa M.A., Risser J.M. (2005). The Epidemiology of Sexually Transmitted Infections in Adolescents. *Seminars Pediat Infect Dis*, 16: 160-167

7. Anexos

7.1. Formato de tamizaje y contacto, estudio C-POS

7.2. Consentimiento informado

7.3. Fragmento de Encuesta C-POS

7.4. Inserto de Focus Diagnostic VHS-2

7.5. Inserto de reactivo VIH Kit ELISA BIOMERIEUX

7.6. Hoja de acumulado de datos

7.1. Formato de tamizaje y contacto

Colocar etiqueta de
identificación aquí

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

ESTUDIO: “COMUNIDADES POSITIVAS Y MANEJO

MEJORADO DE CONTACTOS EN EL PERU”

FORMATO DE TAMIZAJE Y CONTACTO – SEGUNDO SEGUIMIENTO

NOMBRE DE LA ZONA:

CODIGO DE LA ZONA: |__|__|__|

INICIALES O SEUDONIMO DEL/LA PARTICIPANTE: _____

FECHA DE NACIMIENTO AL INICIO DEL ESTUDIO: |__|__|__|

La información anterior debe ser completada antes de ir al campo.

SECCION A. REGISTRO DE ACCIONES

FECHA	DIA	HORA	RECLUTADOR [Nombre/Certificación No.]	COMENTARIOS	CODIGO FINAL

SECCION B. INFORMACION DE LOCALIZACION

1. ¿Localizaste al participante?

SI 1 → CONTINUAR

NO 2 → FINALIZAR Y ASIGNAR EL CODIGO #43 O #44 EN LA SECCION D (DESPUES DE HASTA 8 INTENTOS FALLIDOS DE LOCALIZAR A LA PERSONA Y SOLAMENTE CON APROBACION DEL SUPERVISOR)

2. ¿El/la participante vive aún en la misma zona (barrio) en el cual fue contactado hace nueve meses?

SI 1 → SALTAR A LA SECCION C

NO 2 → CONTINUAR

3. ¿El/la participante vive actualmente en alguno de las zonas (barrios) incluidos en la evaluación basal?

Si 1 → CONTINUAR

NO 2 → SALTAR A LA PREGUNTA 5

4. ¿Cuál es el nombre y número de la zona (barrio) donde reside actualmente el/la participante?

NOMBRE DE LA ZONA: _____

NUMERO DE LA ZONA: |__|__| 1 → SALTAR A LA SECCION C

5. ¿Está el participante viviendo en la misma ciudad en que vivía hace nueve meses y lo has contactado?

SI 1 → IR A LA SECCION C

NO 2 → CONTINUAR FINALIZAR Y ASIGNAR EL CODIGO 42 EN LA SECCION D, CON APROBACION DEL SUPERVISOR

SECCION C. IDENTIFICACIÓN Y ACEPTACIÓN DE PARTICIPAR EN EL ESTUDIO (RECLUTAMIENTO)

Hola, yo soy (NOMBRE DEL RECLUTADOR) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

1. Tú eres (NOMBRE DEL/LA PARTICIPANTE)? → CONTINUAR

2. Estoy poniéndome en contacto contigo porque tú participaste en una investigación hace aproximadamente nueve meses atrás. Aquella vez, nosotros hablamos contigo, y tú completaste una entrevista usando una computadora. Tú también recibiste consejería para VIH e ITS, proporcionaste muestras de sangre, además de muestras de orina, de secreción faríngea y secreción anal. También recibiste una compensación equivalente a S/. 40 nuevos soles distribuidos en dos partes por tu participación. ¿Recuerdas tu participación en el estudio?

SI 1 → CONTINUAR

NO..... 2 → PROPORCIONAR MAS INFORMACION LEER ITEM 4

3. Me gustaría confirmar tu edad. ¿Cuál es tu edad actual?

|__|__| → VERIFICAR QUE LA EDAD PROPORCIONADA SEA LA MISMA QUE EL PARTICIPANTE DIO ANTERIORMENTE O UN AÑO MAYOR.

4. Déjame hablarte más sobre el Estudio para ver si estás interesada/o en volver a participar

- Primero, te hablaremos con más detalle sobre el estudio junto con el documento que firmaste la primera vez que participaste con nosotros, llamado “Consentimiento Informado”, contestaremos cualquier pregunta que tengas.
- Te pediremos que nos proporciones los nombres de algunas personas que podrían ubicarte en caso nosotros no podamos contactarte.
- Luego, te pediremos contestes algunas preguntas. El entrevistador te hará algunas preguntas y registrará tus respuestas en la computadora. La entrevista tomará aproximadamente 45 minutos en ser completada.
- Después, un(a) consejero(a) te informará sobre las infecciones que se transmiten sexualmente (ITS), incluyendo el VIH/SIDA, además te orientará sobre los riesgos de contraerlas y sobre cómo prevenirlas. También te pedirá que contestes preguntas sobre algunos síntomas de ITS que tengas o que hayas tenido. Esto durará aproximadamente 20 minutos.
- Finalmente, un tomador de muestras entrenado te pedirá que nos permitas tomarte una muestra de sangre (la cantidad que entra en un tubito de muestra) para realizar la prueba del VIH (el virus que causa el SIDA), y de sífilis y herpes, que también son ITS. Además de una muestra de orina, secreción faríngea y secreción anal (autoaplicable) para el análisis de gonorrea y clamidia.
- Además, como participante, recibirás tratamiento y medicamentos gratuitos de ser necesario, es decir si tienes alguna ITS a excepción del VIH, para este caso se te referirá a un centro de salud u hospital local. También recibirás una compensación en víveres equivalente a 40.00 soles, distribuidos en dos partes; uno al tomarte las muestras de sangre, orina, hisopado faríngeo e hisopado anal, y el segundo reembolso será al recibir tus resultados. Este reembolso es por el tiempo que te tomes en ayudarnos en este proyecto.
- Tú puedes dejar de participar en alguna parte del estudio hasta que tus preguntas hayan sido contestadas satisfactoriamente. Tus derechos para el cuidado de tu salud no serán afectados si decides participar o no en este estudio. La información que nos proporciones es confidencial. Los resultados del estudio serán reportados sólo como un grupo. Tu nombre no será asociado a tus respuestas.
- Tienes algunas preguntas?

2. Estás tú de acuerdo con participar?

SI 1 → **CONTINUAR, (ENTREGAR A ENTREVISTADOR)**

NO 2 → **FINALIZAR Y ASIGNAR EL CODIGO #41 EN LA SECCION D**

PARA SER LLENADO POR EL ENTREVISTADOR

**INFORMACIÓN DE CONTACTO (SOLO PARA AQUELLOS QUE HAN DADO SU
CONSENTIMIENTO DE VOLVER A PARTICIPAR EN EL ESTUDIO)**

3. En el caso que nosotros necesitemos ponernos en contacto contigo, cuáles son las dos personas que saben donde encontrarte? Ellas deben ser personas que no se encuentren viviendo contigo ahora, pero que se mantengan en contacto siempre contigo, como son tus padres, abuelos, hermanos, hermanas, primos, primas, tíos, tías o un amigo o amiga cercanos.

Nombre: _____ Parentesco:

Dirección: _____ Teléfono:

Nombre: _____ Parentesco:

Dirección: _____ Teléfono:

4.Cuál es tu número de teléfono?

5. En el caso que necesitemos encontrarte, ¿A dónde debemos ir?

Muchas gracias por acceder a participar en este importante estudio.

SECCION D. CODIGOS FINALES DE COLECCION DE DATOS

CODIGOS FINALES:

40 COLECCION DE DATOS COMPLETADA → **COMPLETE EL CASILLERO INFERIOR Y LA SECCION E**

41 SE REHUSÓ → **COMPLETAR EL CASILLERO INFERIOR Y LA SECCION E**

42 NO VIVE MAS EN LAS CIUDADES DEL ESTUDIO BASAL Y NO SE REALIZÓ CONTACTO → **COMPLETAR EL CASILLERO INFERIOR Y LA SECCION E**

43 HICIERON 8 O MAS VISITAS, Y NINGUN CONTACTO → **COMPLETAR EL CASILLERO INFERIOR Y LA SECCION E**

44 OTROS → **COMPLETE EL CASILLERO INFERIOR Y LA SECCION E**

SECCION E. RAZONES PARA LA NO PARTICIPACIÓN

1. EXPLICAR LA RAZON PARA LA NO PARTICIPACIÓN.

SECCION F. DOCUMENTACION DE LAS ACTIVIDADES DE COLECCION DE DATOS

CODIGO FINAL DE LA COLECCION DE DATOS	_ _ _ _
FECHA ASIGNADA:	_ _ _ _ - _ _ _ _ - _ _ _ _ DIA MES AÑO
# DE CERTIFICACION DEL COLECTOR DE DATOS: _____	

<u>ACTIVIDAD</u>	<u>SI</u>	<u>NO</u>	<u>NA</u>	<u>. FECHA</u>			<u>c. QUIEN</u>
				<u>COMPLETADA?</u>			<u>COMPLETO?</u>
				Día	Mes	Año	[No. Certificación]
Usaste la misma fecha y el mismo No. Cert. Para todos los items?	1	2					
Consentimiento para la entrevista	1	2					
Consentimiento para toma de muestras	1	2					
Entrevista de evaluación	1	2					
Consejería Pre Test	1	2					
Consejería Post Test	1	2					
Tratamiento de ITS para participante	1	2					

Referencia para VIH/ITS1	1	2
Muestra de sangre colectada	1	2
Muestra de Secreción Faríngeo	1	2
Muestra de Secreción Anal	1	2
Formato de Eventos Adversos	1	2
Entrega de Resultados	1	2

7.2. Consentimiento informado

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA, LIMA, PERU
ESTUDIO DE COMUNIDADES POSITIVAS Y TERAPIA MEJORADA A PAREJAS EN PERU
CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA SER PARTICIPANTE EN EL ESTUDIO

PROPÓSITO

El Dr. Carlos Cáceres, investigador de la Universidad Peruana Cayetano Heredia está realizando un estudio para conocer la información, las actitudes y las experiencias de los hombres que tienen sexo con otros hombres, respecto a las infecciones transmitidas sexualmente (llamadas también ITS o venéreas), el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), así como para probar la eficacia de distintas estrategias de prevención. Se te está solicitando que participes en este estudio porque tú eres un hombre que tiene sexo con otros hombres, y vives, trabajas o frecuentas esta zona.

Esta investigación es auspiciada por el Instituto Nacional de Salud de los EE.UU. Esperamos enrolar hasta 700 personas en este estudio.

Tu participación en este estudio es VOLUNTARIA, nadie puede obligarte a participar si no lo deseas. Tu decisión de participar o no, no va a afectar tus posibilidades de acceder a servicios de atención para la salud. Debes también saber que toda la información que tú des será guardada CONFIDENCIALMENTE, o sea, sólo será conocida por las personas que trabajan en este estudio y por nadie más.

PROCEDIMIENTOS

Si aceptas participar en el estudio y firmas este consentimiento, en esta “visita” de nuestro equipo, sucederá lo siguiente:

- 1. Encuesta:** Primero, un(a) entrevistador(a) te preguntará sobre tu salud y tu comunidad; tus respuestas serán registradas, por el entrevistador o por ti mismo, en una computadora o en un cuestionario escrito. Las preguntas están referidas a actividad sexual, problemas de salud, uso de alcohol y drogas, enfermedades transmitidas sexualmente, VIH/SIDA, uso de servicios de salud, así como actitudes hacia las personas que viven con VIH o con SIDA. Esta entrevista durará alrededor de 45 minutos.
- 2. Consejería:** Luego, un(a) consejero(a) te informará sobre las infecciones que se transmiten sexualmente (ITS), incluyendo el VIH/SIDA, además te orientará sobre los riesgos de contraerlas y sobre cómo prevenirlas. También te pedirá que contestes preguntas sobre algunos síntomas de enfermedades de transmisión sexual que tengas o que hayas tenido. Esto durará aproximadamente 30 minutos.
- 3. Toma de Muestras:** Finalmente, un tomador de muestras entrenado te tomará, si tú lo autorizas, una muestra de sangre (la cantidad que entra en un tubito de muestra) para realizar la prueba del VIH (el virus que causa el SIDA), y de sífilis y herpes, que también son ITS.

Luego, te pediremos una muestra de orina, para análisis de otras ITS, como son gonorrea y clamidia.

Adicionalmente se te pedirá nos permitas coleccionar una muestra de hisopado faríngeo. El tomador de muestras te pedirá que abras tu boca y con ayuda de un baja-lenguas de madera y usando un hisopo estéril tomará una muestra sobando tus amígdalas y parte posterior de tu faringe; esta muestra será utilizada para la búsqueda de gonorrea y clamidia.

Se te instruirá además en como auto-colectar una muestra de hisopado anal. Se te mostrará un rotafolio con figuras de cómo coleccionar este tipo de muestra, además se te proporcionará un hisopo estéril y un tubo de colección para guardar el hisopo; luego en un ambiente privado podrás proceder a auto-colectar una muestra de hisopado anal, la cual una vez coleccionada colocarás en el tubo tal y como se te indicará, y entregarás al colector de muestras para su posterior etiquetado.

Tus muestras serán almacenadas en una congeladora con llave en el Laboratorio de Salud Sexual de la Facultad de Ciencias de la Universidad Peruana Cayetano Heredia en Lima, mientras dure este estudio y se identificarán sólo por un código numérico asignado por el estudio. Cualquier dato que pudiera utilizarse para identificarte, será retirado de la muestra.

Estas pruebas son confidenciales, tu nombre no aparecerá en ninguno de los resultados, y todas tus muestras se identificarán sólo por un código. Solamente el (la) consejero(a) podría relacionar el nombre que has dado con tus pruebas al momento de entregarte los resultados de las mismas.

El proceso completo en esta “visita” demorará aproximadamente 90 minutos.

4. Resultados de las pruebas de laboratorio:

Se te pedirá regresar al mismo lugar para que recojas tus resultados aproximadamente dos semanas más tarde. Si por algún motivo no hubieras podido recoger tus resultados, puedes contactarnos al teléfono 241-6929 en Lima (desde Trujillo y Chiclayo puedes llamar por cobrar a este número) para saber cuándo y dónde recogerlos. La visita para recoger tus resultados y conversar con un consejero(a) durará aproximadamente 30 minutos.

5. Carné del Estudio:

Al final de la primera “visita”, se te dará un carné el cual contiene un código personal que te asignaremos, pero no tendrá tu nombre. Tú utilizarás este carné cuando regreses para otras visitas del estudio y para recoger los resultados de tus pruebas de laboratorio. Además del código, este carné tendrá las fechas para futuras reuniones que el estudio realizará.

6. Información para Contactarte:

También en la primera visita, se te preguntará si deseas darnos tu nombre o un apodo o seudónimo, un lugar donde ubicarte y, si tuvieras, un número de teléfono o correo electrónico, en caso de que nosotros necesitemos hacerte recordar de alguna reunión del estudio.

Nosotros también te preguntaremos por los nombres de dos parientes o amigos y sus direcciones, en caso de que te mudes y no podamos encontrarte. Sólo intentaremos contactar a tus parientes o amigos si tú te has mudado fuera del lugar donde vives actualmente. El personal sólo le dejará a la persona que nos atienda su nombre y un número telefónico para que tú te contactes con nosotros. Tú puedes negarte a dar tu dirección o cualquier otra información y aún así participar del estudio.

7. Resultados de las pruebas de laboratorio:

Resultados Positivos

Si estás infectado con el VIH se te referirá a un centro de salud especializado (CERITS) u hospital con un servicio especializado en ITS y VIH para que recibas atención médica especializada.

Si tu resultado fuera positivo a clamidia o gonorrea, un consejero (a) con experiencia te ofrecerá tratamiento gratuito. Además, según el diseño del presente estudio, si tu zona ha sido seleccionada para probar la efectividad del tratamiento dirigido a parejas, tú serás beneficiado con la entrega de paquetes de tratamiento rápido para que los puedas entregar a tu(s) pareja(s) de los últimos tres meses hasta un máximo de diez.

Si el resultado de tu prueba para sífilis es positivo, se te ofrecerá también tratamiento gratuito. Además recibirás paquetes de tratamiento para tu(s) pareja(s) junto con tarjetas de referencia para que asistan al establecimiento de salud de su preferencia de un listado que les ofrecemos.

8. Sigüentes Visitas: Te pediremos que regreses después de seis, doce y dieciocho meses para responder un cuestionario similar, recibir consejería y dar nuevamente muestras de sangre, orina y/o secreciones faríngea y anal para pruebas de VIH e ITS, tal como se está haciendo en esta visita. En estas tres visitas semestrales, también te pediremos que contestes unas pocas preguntas sobre si fuiste diagnosticado previamente con alguna ITS como parte de este estudio, y si le contaste a tu(s) pareja(s) sobre ese diagnóstico, además te preguntaremos si tus parejas recibieron tratamiento y/o acudieron a buscar atención a los centros de salud.

RIESGOS E INCOMODIDADES POTENCIALES

Riesgos a la Privacidad y Confidencialidad

Participar en una investigación puede involucrar pérdida de privacidad. Si bien tus respuestas van a ser conocidas por el(la) entrevistador(a), te aseguramos que la información que proporcionas se guardará con la mayor confidencialidad posible. Tu nombre no va a ser utilizado en ningún reporte o publicación que resulte de este estudio. Los cuestionarios con tus respuestas a las preguntas de la entrevista se mantendrán en un archivo electrónico con clave de acceso. Tu código de participante será guardado en un archivo con llave en nuestra oficina también con llave. Sólo el personal del estudio tendrá acceso a tu código de participante. Tu nombre y dirección estarán separados de los resultados de tus pruebas.

Encuesta

Algunas preguntas podrían hacerte sentir incómodo, pero puedes no contestarlas y puedes también interrumpir la entrevista en cualquier momento.

Prueba del VIH

Hacerte los análisis del VIH puede causarte preocupación o intranquilidad sin importar cual sea el resultado de la prueba, por eso antes de hacerte los análisis y cuando recojas los resultados, un(a) consejero(a) te informará sobre el significado de los resultados de esas pruebas y sobre cómo prevenir el VIH/SIDA. Un resultado positivo significa que estás infectado (a) con el virus del VIH. Si no sabías que eras positivo un(a) consejero(a) con experiencia te orientará y te referirá a un centro de salud especializado (CERITS) u hospital local para que recibas atención médica especializada.

Recibir un resultado positivo al VIH puede hacerte sentir angustiado. Si te sientes angustiado o molesto por tu resultado, sea en el momento que lo recibas o tiempo después, puedes llamar a la persona y teléfono que se te dará cuando se te entreguen los resultados. Si otra gente se entera de tu resultado positivo, podrías tener problemas para obtener seguro médico o un empleo. Si estás infectado con VIH, también conversaremos sobre la importancia de que tu(s) pareja(s) reciban consejería y se hagan la prueba para saber si tienen o no el VIH.

Los resultados positivos al VIH deben ser reportados al Ministerio de Salud para que lleve el control del número de casos diagnosticados, pero no daremos nombres sino sólo el código formado con las iniciales de nombre y apellidos y la fecha de nacimiento. El tomador de muestras será el encargado de pedirte esta información.

Análisis para ITS

Hacerte los análisis de ITS puede causarte preocupación o intranquilidad, independientemente de los resultados de las pruebas, por eso antes y después de hacerte los análisis un(a) consejero(a) te informará sobre el significado de los resultados de esas pruebas y sobre cómo prevenir esas enfermedades. Un resultado positivo significa que estás infectado (a) con alguna ITS. Recibir un resultado positivo te puede causar preocupación.

Si estás infectado con una ITS, distinta al VIH, también conversaremos sobre la importancia de que tu(s) pareja(s) reciban consejería y se hagan la prueba para esa misma ITS. Si tú y tu(s) pareja(s) están infectados con una ITS curable, te ofreceremos tratamiento gratuito tanto a ti como a tu(s) pareja(s). El tratamiento será realizado por personal capacitado con experiencia en brindar tal tratamiento.

Toma de muestra sanguínea

Los riesgos de la extracción de sangre pueden incluir molestia temporal en el lugar del hincón, moretones y, muy raramente, infección.

Hisopado faríngeo e hisopado anal

Los riesgos de la extracción de hisopado faríngeo y/o anal pueden incluir molestia temporal en el lugar del hisopado. El auto-colectar una muestra de hisopado anal puede ser una experiencia nueva para ti y además generarte incomodidad, pero nos ayudará a conocer mejor tu estado de salud.

BENEFICIOS QUE SE ANTICIPAN PARA LOS PARTICIPANTES

No habrá ningún beneficio directo para ti por participar en este estudio. Sin embargo, recibirás información sobre ITS, incluyendo el VIH/SIDA, y cómo prevenirlas. La información que tú proveas podría ayudarte a ti o a otras personas en la comunidad para protegerse de ITS o del VIH.

Si recoges los resultados de tus análisis, te podrías beneficiar sabiendo si estás infectado(a) o no con el VIH u otra ITS. Si tuvieras el virus del VIH/SIDA serás referido a un establecimiento de salud para que recibas atención médica especializada Si tú y tu(s) pareja(s) están infectados con una ITS curable, te ofreceremos tratamiento gratuito tanto a ti como a tu(s) pareja(s), a cargo de personal capacitado.

BENEFICIOS QUE SE ANTICIPAN PARA LA SOCIEDAD

Este estudio podría ayudar en el futuro a diseñar mejores programas de prevención para el VIH y las ITS.

ALTERNATIVAS A TU PARTICIPACION

Tú puedes decidir no participar en este estudio. Tienes también la opción de hacer por tu cuenta la prueba del VIH o análisis para otras enfermedades transmitidas sexualmente en un laboratorio particular o en un centro de salud, en vez de participar en este estudio.

COMPENSACIÓN POR TU PARTICIPACION

Recibirás un obsequio equivalente a veinte nuevos soles (S/.20) si respondes el cuestionario, recibes la consejería y das muestras de sangre, orina, secreción faríngea y anal. Recibirás otro obsequio equivalente a veinte nuevos soles (S/.20) cuando regreses a recoger los resultados de tus pruebas aproximadamente dos semanas después. Recibirás obsequios similares por participar en actividades similares luego de seis, doce y dieciocho meses.

POSIBLES PRODUCTOS COMERCIALES

Todos los tejidos y muestras de secreciones son importantes en esta investigación, sin embargo no vamos a elaborar producto comercial alguno a partir de ellas.

MUESTRAS RESTANTES AL FINAL DEL ESTUDIO

Al final de este consentimiento informado, se te pedirá que indiques si permites que parte de tus muestras sean compartidas con otros investigadores. Si aceptas que se compartan tus muestras y luego decides no hacerlo, posiblemente no estemos en capacidad de recuperar algo o todas

tus muestras de otros investigadores. No se exige al investigador almacenar tus muestras indefinidamente.

INFORMACIÓN GENÉTICA EN TUS MUESTRAS: LÍMITES POSIBLES A LA CONFIDENCIALIDAD INDIVIDUAL

Cada tejido o muestra de secreciones contiene información genética que podría permitir identificar a las personas; sin embargo nunca haremos estudios genéticos a las muestras y haremos todos los esfuerzos para mantener la privacidad de tu información genética.

INFORMACIÓN FUTURA SOBRE EL ESTUDIO

Obtener información de un estudio como éste puede demorar años, ya que investigar es un proceso largo y complejo. Al final de este consentimiento se te preguntará si deseas recibir información sobre los resultados del estudio.

OBLIGACIÓN FINANCIERA

No habrá ningún costo para ti por participar en este estudio.

PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

Las únicas personas que sabrán que estás participando son los integrantes del equipo de investigación. Tu código de participante será guardado en un archivo con llave en nuestra oficina también cerrada con llave. No se le dará información tuya o información provista por ti durante el estudio a nadie, sin tu permiso por escrito, a menos que fuera necesario por ley.

LA ELECCION DE PARTICIPAR

LA PARTICIPACION EN EL ESTUDIO ES VOLUNTARIA. Tú eres libre de decidir no participar o de retirarte en cualquier momento.

RESULTADOS NUEVOS

Durante el curso del estudio, se te informará de cualquier hallazgo significativo o nuevas alternativas a tu participación que podrían hacer que cambiaras de idea sobre continuar participando en el estudio. Si algo en el estudio cambia, quizás se te pida que firmes otro formato de consentimiento.

CONTACTO CON LOS INVESTIGADORES

En el caso de cualquier daño causado por dar tus muestras para este estudio o si tienes alguna pregunta o comentario sobre tu participación en este estudio, puedes llamar al Dr. Carlos Cáceres por cobrar al teléfono 1-241 6929 en Lima.

DERECHOS DE LOS PARTICIPANTES EN LA INVESTIGACIÓN

Al participar en este estudio, no estás renunciando a ninguno de tus derechos. Si tienes preguntas sobre tus derechos como participante en la investigación, puedes contactarte con el

Comité Institucional de Ética, que se encarga de la protección de las personas en los estudios de investigación; allí puedes contactar con el Dr. Humberto Guerra Allison, Presidente del Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia al teléfono (01) 319-0000 anexo 2271, o escribirle a la siguiente dirección: Biblioteca Central, 3er. Piso, Av. Honorio Delgado 430, San Martín de Porres, Lima 31, Lima.

FIRMA DEL PARTICIPANTE

He leído (o alguien me ha leído) la información provista arriba. He tenido la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas satisfactoriamente. He recibido una copia de este consentimiento, además de una copia de los Derechos de los Participantes en la Investigación.

AL FIRMAR ESTE FORMATO, ESTOY DE ACUERDO EN PARTICIPAR EN FORMA VOLUNTARIA EN LA INVESTIGACIÓN QUE AQUÍ SE DESCRIBE.

Nombre del Participante

Firma del Participante

Fecha

INFORMACION SOBRE USOS FUTUROS DE TUS MUESTRAS CONSERVADAS

Si estas de acuerdo, parte de tus muestras biológicas serán almacenadas para fines de Investigación; pero dado que quitaremos cualquier dato de identificación de las muestras, no vamos a tener la posibilidad de avisarte de los resultados de futuros estudios en muestras almacenadas. Sin embargo, puedes contactarte en cualquier momento con los investigadores para solicitarles que descarten tus muestras para uso en investigación, y cualquier muestra no utilizada identificable en nuestro poder será desechada. La información de contacto está en este formato de consentimiento informado bajo el acápite “Contacto con los Investigadores”

Por favor, indica escribiendo tus iniciales sobre la línea punteada al costado de la alternativa de tu elección

_____ No quiero que mi sangre, orina, secreciones faríngea o anal sea usada para ninguna otra investigación o análisis que no se necesite para este estudio principal.

_____ Los investigadores pueden conservar mi sangre, orina o secreciones faríngea o anal para futuras investigaciones.

INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL ESTUDIO

Por favor, indica marcando y escribiendo tus iniciales abajo si quieres recibir información general. Es tu responsabilidad hacer saber a los investigadores si tu dirección y/o teléfono han cambiado. La forma de contactar a los investigadores está bajo el rubro “CONTACTO CON LOS INVESTIGADORES”.

_____ Sí quiero recibir información general sobre lo que se averiguó con el estudio

_____ No quiero recibir ninguna información.

FIRMA DEL INVESTIGADOR

Le he explicado este estudio al participante y contestado todas sus preguntas. Creo que él/ella comprende la información descrita en este documento y accede a participar en forma voluntaria.

Nombre del Investigador/a

Firma del Investigador/a
(participante)

Fecha (tiene que ser el mismo día cuando firma el

CONTACTO FUTURO

Nos gustaría invitarte a participar de futuros estudios sobre ITS y VIH. Si estás de acuerdo en permitirnos contactar contigo en el futuro, los investigadores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia de Lima, Perú mantendrán un registro con tu nombre, número de teléfono y dirección con la finalidad de contactarte en el caso de que hubiera un estudio futuro que podría interesarte y seas elegible.

Al aceptar ser contactado por un estudio futuro, no estarás obligado a participar en el mismo y puedes solicitar que tu nombre sea retirado de la lista en cualquier momento sin que tus derechos a recibir cualquier servicio se vean afectados.

Por favor, escribe tus iniciales al lado de “Sí” o “No”:

_____ SI – Deseo ser contactado para futuros estudios de investigación en VIH/SIDA, aunque entiendo que este consentimiento no significa que necesariamente participaré en los mismos.

_____ NO – Por favor, no me contacten para futuros estudios de investigación.

7.3. Fragmento de la encuesta del estudio C-POS

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y ADMINISTRACIÓN

UNIDAD DE SALUD, SEXUALIDAD Y DESARROLLO HUMANO

ESTUDIO “COMUNIDADES POSITIVAS Y MANEJO MEJORADO DE CONTACTOS EN EL PERÚ”

ENCUESTA DEL COMPONENTE DE EVALUACIÓN

Participante # _____

Entrevistador ID # _____

Distrito (Conglomerado en Lima, Trujillo, Chiclayo) _____

Preguntas socio-demográficas

1) ¿Cuántos años tienes? _____

Filtro: debe ser entre 18 y 45

Intro 1: Si el participante está fuera del rango de edad, decir: Mil disculpas, nosotros estamos entrevistando solamente a personas entre las edades de 18 y 45 años. Muchas gracias por tu tiempo e interés en nuestro estudio.

Participantes dentro del rango adecuado: Me gustaría contarte más sobre la encuesta. Cualquier respuesta que me des, será mantenida en absoluta reserva, no le contaré a nadie lo que tú me has dicho. Se te ha asignado un número de participante y ese número será usado en este estudio para que tu nombre nunca sea asociado con alguna de tus respuestas (ejemplo: P01 23456 78). Cuando las respuestas de las personas de esta comunidad sean revisadas, éstas serán reportadas en grupo, así, nadie podrá reconocer tus respuestas.

¿Tienes alguna pregunta sobre lo que te he informado hasta el momento?

Durante la entrevista, te preguntaré varias cosas acerca de tu vida. Algunas de las preguntas pueden ser muy personales, otras serán muy detalladas y podrían requerir que tomes tiempo para pensarlas. No hay respuestas correctas o incorrectas. Lo más importante es que me respondas con sinceridad y precisión para que este estudio sea útil a tu comunidad.

La entrevista incluye diferentes tipos de preguntas. Algunas veces te preguntaré por cosas que te han sucedido y otras veces te preguntaré cuántas veces te han pasado algunas cosas. Algunas veces te pediré que me des una respuesta a partir de una tarjeta impresa como ésta [mostrar la tarjeta]. Tómame el tiempo que necesites para responder cualquier pregunta. Si no entiendes alguna de las preguntas o algo que está escrito en una de las tarjetas que te voy a mostrar, por favor, házmelo saber para explicártelo.

CALENDARIO

Varias de las preguntas que iré haciéndote, son acerca de cosas que has hecho o te han pasado en los últimos [6 meses]. He traído este calendario para ayudarte a recordar cosas que podrían haberte pasado en ese período [Mostrar el calendario]. Tómate un par de minutos para mirar el calendario y pensar en lo que ha pasado en tu vida durante los últimos tres meses. Piensa dónde has estado, qué has hecho y cualquier cosa especial que haya pasado, por ejemplo, días feriados, cambios importantes en tu vida y otras cosas que podrían ayudarte a recordar lo que has hecho durante ese tiempo.

(...)

Intro 7:

En esta parte de la entrevista, te preguntaré algunas cosas sobre tus relaciones con los hombres.. Nuevamente, tu sinceridad es importante. Recuerda que todas tus respuestas son confidenciales.

84) ¿Qué rol prefieres desarrollar en las relaciones sexuales con otros hombres?

- a. 0 = Penetrativo (Activo)
- b. 1 = Receptivo (Pasivo)
- c. 2 = Moderno (activo y pasivo)
- d. 888 = No Sé
- e. 999 = No responde

(...)

La encuesta ha finalizado, te agradecemos por tu tiempo y tus respuestas

Fin de la encuesta

7.4. Inserto de Focus Diagnostic VHS-2

HSV2 Focus Technologies USA

Elaborado por:

- Antonio Flores Tumba
- Jorge Maguiña Quispe

I. PRINCIPIOS DE LA PRUEBA:

En este Ensayo de ELISA Ig G para Herpes el antígeno gG-2 esta adherido en el micropocillo de la placa. Las muestras de suero diluidas y los controles son incubados en los pocillos para atrapar al anticuerpo específico de la muestra por reaccionar con el antígeno. Los anticuerpos no específicos son removidos por lavado, y luego es agregada la Ig G antihumana conjugada con peroxidasa que va a reaccionar con la Ig G específica. El exceso de conjugado es removido también por lavado. El sustrato de la enzima y el cromógeno es agregado y el color empieza a desarrollarse. Luego se adiciona el reactivo de parada, resultando en un cambio de color que es cuantificado por una lectura espectrofotométrica de Densidad Óptica (DO). Las lecturas de DO de las muestras son comparadas con DO de corte de referencia para determinar los resultados.

II. MUESTRAS:

a. Preparación del paciente: De preferencia en ayunas.

b. Tipo de muestras: Se usara suero.

No se ha podido determinar el uso de otro tipo de muestra, los sueros hiperlipémicos, hemolizados o suero contaminados pueden causar resultados erróneos, por tanto debe evitarse su uso. Se debe de separar el suero dentro de las primeras 8 horas de tomada la muestra a temperatura ambiente. Se puede refrigerar el suero de 2-8° C dentro d las primeras 48 horas, o congelar a -20° para su uso posterior.

c. Condiciones de manejo:

Obtenga las muestras sanguíneas asépticamente, usando técnicas de venopunción aprobadas por personal calificado. Permita que las muestras se coagulen a temperatura ambiente antes de centrifugarlas. Transfiera el suero asépticamente a un recipiente estéril, bien sellado, para el almacenaje en 2 a 8°C. El suero ya separado no debe permanecer a 22°C durante más de ocho horas. En caso de que el ensayo no se vaya a realizar en un plazo de ocho horas, refrigere la muestra a 2 – 8°C. En caso de que el ensayo no se vaya a realizar en un plazo de 48 horas o sea necesario transportar la muestra, congele a una temperatura igual o inferior a –20°C. Descongele y mezcle bien antes de usar.

III. EQUIPOS Y MATERIALES:

a. Materiales suministrados: El Kit contiene materiales para 96 pruebas. Los materiales para el uso deben estar a temperatura ambiente, y cuando no se usen deben estar en refrigeración hasta la fecha de vencimiento.

- Antígeno en pocillos, 96 pocillos. 12x8
- Conjugado de Ig G
- Control positivo alto Ig G
- Control positivo bajo Ig G
- Control negativo
- Calibrador Ig G Cut-off
- Diluyente de muestras
- Buffer de lavado 10X
- Reactivo sustrato
- Reactivo de parade

b. Materiales requeridos:

- Agua destilada
- Lavador de ELISA
- Pipetas para 10 μ L y 100 μ L
- Reloj
- Papel absorbente o papel toalla
- Lavadero
- Vortex
- Lector de ELISA longitud de onda = 450 nm

c. Preparación del espécimen, los controles y el calibrador: Diluya cada espécimen, control y calibrador 1:101 de la forma siguiente: marque los tubos y dispense 1 mL de Diluyente de Muestra en cada tubo marcado. Añada 10 μ L de espécimen, control o calibrador a cada tubo apropiado que contenga 1 mL de Diluyente de Muestra de IgG y mezcle bien con vortex.

VI. CONTROL DE CALIDAD:

Los siguientes sueros controles deben de usarse en las corridas:

Control Negativo, Control Positivo Alto, Control Positivo Bajo y un calibrador de valor de corte.

- Incluir por lo menos un blanco que contiene el diluyente solo con el propósito de calibración del equipo.
- Si se usan placas múltiples, incluir el calibrador y los tres controles en cada placa. Se recomienda que el personal este familiarizado con el Kit, todos los especimenes, controles , y calibrador deban ser corridos en duplicado con el calibrador corrido dos veces para un total de cuatro pozos. Si se utilizan solo los pozos, el calibrador debe ser corrido en triplicado.
- Calcular la media de las lecturas de calibrador.

- El calibrador Cut off ha sido diseñado para dar una diferenciación óptima entre un suero positivo y uno negativo.
- Aunque los valores de DO pueden variar entre cada corrida, y entre laboratorios, el valor medio de los pozos de calibrador deberán estar entre 0.100 a 0.700 DO. Todos los valores del calibrador deberán estar dentro de 0.10 OD de su valor medio.
- Reporte de resultados como valor de Índice Relativo para el Calibrador Cut-off.
- Para calcular los valores de índice, divida el DO del espécimen entre la media de los valores de absorbancia del calibrador.
 1. Los valores de índice del Control positivos Alto deben ser mayores que 3.5.
 2. Los valores de índice de Control positivo Bajo deben estar entre 1.5 y 3.5.
 3. Los valores de índice de Control negativo debe ser menor que 0.8.

Nota: Si no se cumple con lo mencionado arriba, la prueba debe ser considerada inválida y debe ser repetida.

Los controles positivos y negativos son usados para monitorear si fallasen los Reactivos usados. El control positivo no deberá ser usado como un indicador para precisar el valor de corte, y solo asegura la funcionalidad del reactivo.

VII. PROCEDIMIENTO:

Preparación de la muestra:

- Diluir cada muestra, Controles y Calibrador en 1:101, 1ml de diluyente con 10 μ L de muestra mezclar con Vortex.
- Llevar todos los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso. Remover las placas con el antígeno del refrigerador.
- Empapar la placa de prueba durante 5 minutos con buffer de lavado y decante para quitar vigorosamente el exceso del búfer de lavado. Seque la placa bien.
- Agregue 100 μ L de diluyente de muestra al pocillo del blanco de reactivo. Agrega 100 μ L de cada Muestra diluida, el control o calibrador.
- Cubrir bien e incube la placa a temperatura ambiente (20–25°C) por 60 +/- 1 minuto. Lave las tiras de la microplaca con el búfer de lavado 1X. Sacuda vigorosamente el líquido. Llene cada bien con búfer de lavado. Asegúrese que no queden atrapadas burbujas de aire en los pocillos.
- Repetir unas 2 veces más el lavado
- Secar bien las placas invirtiéndolo sobre un papel toalla para sacudirlo. Asegurarse que no queden residuos de la solución de lavado.
- Agregar 100 μ L de Conjugado a los pocillos, usando una pipeta de 100 μ L de 8 o 12 canales.
- Cubrir las placas e incubar por 30 +/- 1 minuto a temperatura ambiente (20 – 25°C).
- Repetir la fase de lavado.
- Pipetear 100 μ L del Reactivo Sustrato en los pocillos, tomar el tiempo a partir del primer pocillo al que se le ha agregado el reactivo. (Evitar la contaminación de los reactivos Sustrato con el conjugado, tratando de no usar una misma punta para esto).
- Incubar por 10 +/- 1 minuto a temperatura ambiente (20-25 °C).
- Parar la reacción agregando 100 μ L de la Solución de Parada a todos los pocillos, agregar la solución de parada en la misma secuencia en que fue agregada el reactivo Sustrato.

En los pocillos con Anticuerpos positivos se observara un cambio de color de azul a amarillo.

- Secar con papel toalla sin rayar el fondo externo de cada pocillo ya que podría interferir en la lectura del espectrofotómetro (las burbujas en la superficie también pueden interferir con las lecturas)
- Medir la absorbancia de cada pocillo dentro de 1 hora de haber hecho la parada de la reacción. Hacer la lectura en el espectrofotómetro a 450 nm. Llevar a cero el instrumento con el pocillo marcado como Blanco, o corregir todas las OD manualmente sustrayendo la OD del blanco.

VIII. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

Se calculara el valor del índice como en el cálculo anterior usado en los calibradores. Para calcular los valores de índice, divida el DO del espécimen entre la media de los valores de absorbancia del calibrador.

Valor de índice	Interpretación
<input type="checkbox"/> 0.90	No reactivo
0.91–1.09	Ambiguo
<input type="checkbox"/> 1.10	Reactivo

IX. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO:

- Todo resultado de esta y otras pruebas de laboratorio deben ser correlacionado con la historia clínica, los datos epidemiológicos, y los otros datos asequibles al médico a cargo para hacer un diagnostico de la infección por HSV.
- Los Pacientes con infección HSV temprana podrían dar negativo a la búsqueda de anticuerpos IgG, ya que la respuesta de IgG para el antígeno podría ser no detectable para el post inicio hasta por 6 meses.
- En el caso de un resultado ambiguo, se deberá retestear la muestra, si continua ese resultado aun después de la retesteada, se deberá obtener una segunda muestra dentro de 4 - 6 semanas y repetir. O el espécimen puede ser testeado usando otro método como Western Blot.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Aurelian, L. Herpes Simplex Viruses. 473-497. In Specter, S & G Lancz (eds.). Clinical Virology Manual. 2nd Ed. Elsevier, New York. (1992).
2. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2002. MMWR 2002:5 1 (No. RR-6).
3. Arvin, A, C Prober. Herpes Simplex Viruses. 876-883. In Murray, P, E Baron, M Pfaller, F Tenover, and R Yolkenet (eds.). Manual of Clinical Microbiology. 6th Ed. ASM, Washington, D.C. (1995).
4. Whitley, R. Herpes Simplex Viruses. 2297-223 1. In Fields, B, D Knipe, P Howley, et al. (eds.). Fields Virology 3rd Ed. Lippincott-Raven, Philadelphia. (1996).

5. Whitley, R, A Nahmias, A Visintine, C Fleming, C Alford. Natural history of herpes simplex virus infection of mother and newborn. *Pediatrics* 66:489-494 (1980).
6. Whitley, R. Herpes simplex, in J Klein & J Remington (ed.), *Infectious diseases of the fetus and newborn infants*, 3rd ed., p.282-305.
7. Prober, C, W Sullender, L Yasukawa, D Au, A Yaeger, A Arvin. Low risk of herpes simplex virus infections in neonates exposed to the virus at the time of vaginal delivery to mothers with recurrent herpes simplex virus infections. *N Engl J Med* 316:240-244 (1987).
8. Brown, Z, S Sleke, J Zeh, J Kopelman, A Maslow, R Ashley, D Watts, S Berry, M Herd, L Correy. The acquisition of herpes simplex virus during pregnancy. *N Engl J Med* 337:509-515 (1997).
9. Prober CG, Corey L, Brown ZA et al. 1992. The management of pregnancies complicated by genital infections with herpes simplex virus. *Clin Infect Dis*. 15:1031-1038.
10. Brown ZA, Benedetti J, Ashley R et al. 1991. Neonatal herpes simplex virus infection in relation to asymptomatic maternal infection at the time of labor. *N Engl J Med*. 324:1247-1252.
11. Stewart, J. Herpes Simplex Virus. 554-559. In Rose, N, E deMacario, J Fahey, H Friedman, G Penn (eds.). *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 4th Ed. ASM Press, Washington, D.C. (1992).
12. NCCLS H18-A2. *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline*. 2nd Ed. (1999).
13. Corey, L., A. Wald, *New Developments in the Biology of Genital Herpes*, in *Clinical Management of Herpes Viruses*, p.46.
14. Ashley RL. Performance and use of HSV type-specific serology test kits. *Herpes* 2002 Jul;9(2):38-45.
15. Ashley-Morrow R, Krantz E, Wald A. Time Course of Seroconversion by HerpeSelect ELISA After Acquisition of Genital Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV-1) or HSV-2. *Sex Transm Dis*. 2003 Apr;30(4):310-314.
16. Chernes TL, Ashley RL, Meyn LA, Hillier SL. Longitudinal reliability of focus glycoprotein G-based type-specific enzyme immunoassays for detection of herpes simplex virus types 1 and 2 in women. *J Clin Microbiol* 2003 Feb;41(2):671-4.
17. Liljeqvist et al. Typing of Clinical Herpes Simplex Virus Type 1 and Type 2 Isolates with Monoclonal Antibodies. *J Clin Micro* 37:2727-2718 (1999).
18. CDC-NIH Manual. (1999) *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 4th ed. And National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). *Protection of Laboratory Workers from Instruments, Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids and Tissue (NCCLS M29-A)*.

7.5. Inserto de reactivo VIH Kit ELISA BIOMERIEUX

Sistema MicroELISA HIV – 1 BIOMERIEUX USA

Elaborado por

- Jorge Maguiña Quispe
- Antonio Flores Tumba

I. PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO:

El antígeno de HIV - 1 es obtenido del virus HIV - 1 producido en cultivos de Linfocitos T. Después de que el virus es purificado por ultracentrifugación e inactivado, es usado para cubrir los pozos de microELISA contenidos en el sistema de microELISA de HIV - 1 de Vironostika. Con la adición de una muestra diluida conteniendo anticuerpos de HIV - 1 los complejos inmunes estarán constituidos por la interacción de anticuerpos de HIV - 1 en la muestra y los antígenos de HIV - 1 en la fase sólida de la placa. Luego de la incubación, la muestra es aspirada y el pozo es lavado con el Buffer. Posteriormente es añadida el anticuerpo antiinmunoglobulina humana (de cabra) conjugada con peroxidasa (HRP), que une el complejo anticuerpo - antígeno durante una segunda incubación. Se continua con un lavado e incubación con ABTS (2,2'-azino-di [3-etilbenziasolina-6-sulfonato]) substrato y se producirá un color verde. La reacción de la enzima es parada por la adición de una solución de fluoruro. La cantidad de anticuerpo de HIV - 1 encontrado en la placa es proporcional a la intensidad de color.

II. MUESTRA:

a) Preparación de los Participantes:

No son necesarios Ningún preparativo especial o ayuno del participante. Puede ser usado El suero o plasma derivado usando anticoagulantes de heparina, citrato, o etilendiaminotetraacetato (EDTA).

b) Tipo de muestra: Suero o plasma.

c) Condiciones de manejo

Las muestras de suero o plasma deben ser almacenados entre 2-8 C de °. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben ser congeladas a -20°C.

III. EQUIPOS Y MATERIALES:

a) Equipo

- Incubadora, 37 °C
- Lector de microELISA con capacidad de longitud de onda para 405nm
- Lavadora de microELISA, capaz de distribuir y aspirar un mínimo de 300µL por pozo

- Pipeta multicanal 12 canales volumen (50 a 300 μL) y Tips
- Tips de micropipetas descartables de 3 μL , 5 μL y 500 μL
- Recipientes graduados de 50 mL o equivalente
- Reloj automático

b) Materiales

- Papel absorbente
- Agua purificada, USP o equivalente
- Stripholder (Recipiente de tiras) con tira de pozos descubiertos
- Reservorios descartables para reactivo
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5 %) o lejía líquida
- Recipientes de desperdicio de Bioseguridad para materiales potencialmente contaminados con agentes infecciosos

c) Preparación de reactivos

Preparar todos reactivos antes de empezar el ensayo. Los reactivos y las muestras deben estar en temperatura ambiente (de 15 - 30°C) antes de empezar la prueba y pueden quedarse a temperatura ambiente durante la prueba. Después del uso regresar los reactivos a 2 y 8 °C.

i) Controles Positivos y Negativos

- Pipetas 500 μL de diluyente dentro de cada ampolla de suero de Control positivo y negativa para ser reconstituido. Mezcle el contenido totalmente.
- Usar hasta 28 días de la fecha de reconstitución y escriba los datos sobre la etiqueta de la ampolla.

ii) Solución de Lavado

- Diluir el Concentrado de lavado a 1:50 con agua destilada o deionizada en un recipiente limpio. Prepare al menos 5 ml de solución de lavado diluida para cada tira de micro Elisa de HIV - 1.
- Usar hasta 28 días de la fecha de reconstitución y escriba los datos sobre la etiqueta del recipiente.

iii) Enzabody

- Pipetear 50 ml de diluyente para 1 ampolla de Enzabody. Mezcle invirtiéndolo varias veces. Evite formar espuma. Permitir que el Enzabody se rehidrate por un mínimo de 30 minutos. Mezcle otra vez antes de usar para asegurar una solución homogénea.
- Añada 28 días a partir de la fecha de reconstitución sobre la ampolla.

iv) Sustrato ABTS

- Añada el diluyente de ABTS (1 botella) para 1 botella de Sustrato ABTS. Mezcle invirtiéndolo varias veces.
- Añada 14 días a partir de la fecha de reconstitución sobre la ampolla.
- Nota: no reconstituya la segunda botella de Sustrato de ABTS hasta que la primera botella haya sido agotada.

VI) PROCEDIMIENTO:

Aliste el portatiras con la cantidad requerida de tiras de micro Elisa de HIV - 1. Si son necesitadas menos de 8 tiras, usar las tiras vacías para llenar la placa esto cuando se use un lavador de 96 pozos.

- Prepare una dilución de 1:76 de cada muestra de prueba y control. Incluya tres controles negativos y un control positivo en cada placa.
- Método manual directo: usando una pipeta multicanal, añada 125 μL de Dilsim II a cada pocillo de la placa micro Elisa. Pipetee 3 μL de muestra o control en los pozos designados. Usando una pipeta multicanal y puntas limpias, añada 100 μL de Dilsim II para cada pocillo y aspirar y dispense repetidamente para mezclar.
- Cubra la placa de micro Elisa con un sellador adhesivo de placas o equivalente. Dentro de 60 minutos de añadida la muestra / controles, incube la placa de micro Elisa a 37°C durante 90 a 100 minutos.
- Lave cada pocillo cuatro veces con solución de lavado diluida.
- Pipetear 150 μL de la solución de Enzabody reconstituida en cada uno de los pocillos.
- Cubra la placa de micro Elisa con un sellador adhesivo de placas. Incube a 37°C durante 30 a 35 minutos.
- Lave cada pocillo cuatro veces con solución de lavado diluida.
- Pipetee 150 μL Substrato ABTS preparado en cada uno de los pocillos. No mezcle o agite. Las tiras no deben ser cubiertas.
- Incube en temperatura ambiente (15 - 30°C) durante 10 a 13 minutos.

- Pare la reacción añadiendo 150µL de Solución de parada a cada uno de los pocillos (mantener la misma secuencia y los intervalos de tiempo usados para la solución de Substrato). Los platos deben ser leídos dentro de 2 horas.
- Anular la lectura de aire y lea el absorbancia en cada uno de los pocillos a 405 nm.

VII) CÁLCULOS:

Los cálculos deben ser hechos por separado para cada strip holder. Los resultados son calculados y analizados de igual forma para sangre seca como especímenes venosos (suero o plasma).

a) Cálculos de muestra:

i) Absorbancia: x Ej.

CN = 0.175, 0.195, 0.225

CNX = 0.198

CP 1.469

ii) Criterios de aceptación

Elimine cualquier valor de absorbancia del control que no sigan los siguientes criterios:

$0.10 \leq CN \leq 0.400$

$CN \leq 1.5 (CNX) \text{ or } 0.297$

$CN \geq 0.5 (CNX) \text{ or } 0.099$

$CP \geq 0.700$

Asegurar que lo siguiente esté también dentro de los criterios de aceptación especificados:

$PC - NCX \geq 0.500$

$1.469 - 0.198 = 1.271$

Por lo tanto la corrida de la muestra es válida.

iii) Cálculo Del cut off:

$\text{Cut-off} = NCX + 0.270$

$= 0.198 + 0.270$

$= 0.468$

b) Validación de Test. Son aceptables las corridas de las pruebas si los valores de control positivo y negativo son aceptables y $CP - CNX = 0.500$

Si los resultados no cubren este criterio, la técnica podría ser dudosa y la corrida deberá ser REPETIDA.

c) Valor de Cut off: si la corrida es calificada calcular el valor de Cut off como sigue:

$CNX + 0.270$

- Una Muestra es NO REACTIVA si la absorbancia de la muestra es menor que el valor límite o valor de corte (Cut off).
- Una muestra de prueba es REACTIVA si su absorbancia es igual o superior al valor de límite.

VIII) PROCEDIMIENTOS PARA LOS RESULTADOS ANORMALES:

Primero deberá ser retestada la muestra al haber resultados discordantes. Si aun siguiesen los resultados discordantes, la muestra deberá ser evaluado con el Bio - Rad Novapath Immunoblot HIV – 1 o alguna otra prueba confirmatoria para HIV.

c. Forma de reporte:

- Una Muestra es NO REACTIVA si la absorbancia de la muestra es menor que el valor límite o valor de corte (Cut off).
- Una muestra de prueba es REACTIVA si su absorbancia es igual o superior al valor de límite.

d. Interpretación de los resultados:

- Las muestras con valores de absorbancia por menos del valor de límite son consideradas NO REACTIVO por los criterios del sistema de micro Elisa de HIV - 1 de Vironostika y pueden ser considerados negativos para el anticuerpo. Si la segunda prueba de micro Elisa para el mismo espécimen es no reactiva la prueba adicional no es requerida.
- Las muestras con valores de absorbancia igual o superiores al valor de límite son consideradas inicialmente REACTIVO por los criterios del sistema de micro Elisa de HIV - 1 de Vironostika. El espécimen debe ser evaluado con una segunda prueba de micro Elisa. Si la muestra es reactiva en la repetición, sería apropiado investigar la muestra reactiva con el Bio - Rad Novapath Immunoblot de HIV – 1 o alguna otra prueba confirmatoria para HIV.

XI) REFRENECIAS BIBLIOGRAFIAS:

1. Hardy AM, Allen JR, Morgan WM, et al: The Incidence Rate of Acquired Immunodeficiency Syndrome in Selected Populations. JAMA 1985; 253(2):215-20.

2. Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, et al: Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at Risk for AIDS. *Science* 1984; 224:500-503.
3. Weiss SH, Goedert JJ, Sarngadharan MG, et al: Screening test for HTLV-III (AIDS agent) Antibodies: specificity, sensitivity, and Applications. *JAMA* 1985; 253(2):221-5.
4. Kuhnl P, Seidl S, Holzberger G: HLA DR4 Antibodies Cause positive HTLV-III Antibody ELISA Results. *Lancet* 1985; 1222-1223.
5. Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, et al: Detection, Isolation, and Continuous production of Cytopathic Retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and Pre-AIDS. *Science* 1984; 224:497-500.
6. Barlett ML: Substrate Evaluation for the Horseradish Peroxidase Enzyme Immunoassay. *Am Soc Micro* 79th Annual meeting 1979; Abstract C25.
7. National Committee for clinical Laboratory Standards: Blood Collection on Filter Paper for Neonatal Screening Programs. Villanova, PA, NCCLS, 1988; LA4-A.
8. National Committee for clinical Laboratory Standards: Procedures for the collection of Diagnostic Blood Specimens by Skin puncture. Villanova, PA, NCCLS, 1986; H4-A2.
9. Curran JW, Morgan WM, Hard AM, et al: the Epidemiology of AIDS: Current Status and Future Prospects. *Science* 1985; 229:1352-1357.
10. Alter HJ, Litman SF, Klein HG, et al: Clinical Significance of HIV-1 antibody Antibodies in Asymptomatic Blood Donors: A Prospective Study. III International AIDS Conference, Washington D.C (abstract) 1987.
11. Centers for Disease Control: Revision of the Case Definition of Acquired Immunodeficiency Syndrome for National reporting-United States. *Ann Inter Med* 1985; 103:402-403.
12. Hunter D, De Gruttola V: Estimation of Risk of Outcomes of HTLV-III Infection. *Lancet* 1986; 677-680.
13. Carlson JR, Bryant ML, Hinrichs SH, et al: AIDS Serology testing in Low-and High Risk Groups. *JAMA* 1985; 253(23) :3405-3408.

