

FALSOS RESULTADOS EN EL DIAGNÓSTICO SEROLOGICO DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA

Raúl Ortiz de Lejarazu Leonardo, M. Ortega Lafont y José M. Eiros Bouza

**Servicio de Microbiología, Hospital Clínico Universitario, Facultad de Medicina,
Universidad de Valladolid**

Los problemas que se presentan en el diagnóstico de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) son similares a los de otras pruebas de diagnóstico serológico. Sin embargo, en la infección VIH, adquieren una importancia mayor por las posibles consecuencias y la trascendencia clínica de la infección. Es importante conocer la evolución serológica de la infección y disponer tanto de protocolos diagnósticos, como de experiencia con ellos. Así, una práctica infrecuente en la mayoría de los hospitales, y sin embargo imprescindible, es el hecho de acompañar las solicitudes de diagnóstico de una anamnesis detallada enfocada a determinar no sólo los factores de riesgo de transmisión sino también las posibles causas que condicionan los resultados, tanto falsos positivos como falsos negativos. Al mismo tiempo, debe mantenerse una actitud vigilante respecto a los resultados obtenidos mediante las distintas técnicas diagnósticas.

El primer peldaño para la ejecución correcta del diagnóstico de la infección por el VIH son las condiciones y precauciones observadas de forma habitual en la obtención de la muestra. Algunos hospitales realizan la extracción de sangre en el mismo laboratorio disponiendo para ello personal entrenado; otros confían dicha tarea a equipos de extracción comunes, y en casi todos los hospitales se recibe un número importante de muestras que han sido obtenidas en lugares en los que el laboratorio diagnóstico carece de capacidad de supervisar los métodos y pautas de extracción, conservación o tratamiento previo de los sueros. La relación médico-enfermo está basada en la confianza mutua y esta peculiaridad se extiende al resto del personal sanitario; ello hace que, en algunos puntos de extracción, no se verifique de forma fehaciente la identidad de la persona que acude a realizarse el análisis. Este proceder, cuando se refiere a la prueba diagnóstica de VIH, basada en el consentimiento informado por parte del paciente, tiene gran trascendencia para evitar lo que denominamos errores en la extracción e identificación de sueros y pacientes. A este respecto, cabe señalar la importancia de una correcta y cuidadosa identificación de los pacientes y su correspondiente suero.

RESULTADOS FALSOS NEGATIVOS

Es necesario alertar sobre la posibilidad de falsos negativos en el diagnóstico y determinación de anticuerpos anti-VIH. La frecuencia de falsos negativos es menor que la de falsos positivos y ello es debido al principio, generalmente admitido, por el que los resultados negativos no son reconfirmados si no existe una indicación clínica precisa. Las causas de negatividad en esta determinación son también variadas (Tabla 1). Los falsos negativos pueden constituir sólo una rareza o excepción entre los infectados por el VIH y existen pacientes infectados por este virus, pero seronegativos, debido a causas orgánicas derivadas de una respuesta aberrante o anormal a la infección. En la actualidad, la evolución técnica de las pruebas diagnósticas ha reducido considerablemente la probabilidad de falsos negativos en este diagnóstico. Así, los métodos comerciales modernos permiten hacer frente a los problemas de detección planteados por la aparición de infecciones por subtipos o grupos marginales del VIH que producían una respuesta de anticuerpos subóptima. A pesar de las mejoras evidentes, no debe minusvalorarse esta posibilidad, especialmente en los laboratorios que trabajen o reciban muestras de pacientes

africanos, de individuos con permanencia prolongada en este continente o de comunidades de inmigrantes.

Determinadas circunstancias inherentes a la evolución serológica de la infección pueden condicionar la aparición de resultados erróneos. Este es el caso de los estadios iniciales y finales de la infección. En estos últimos, pueden desaparecer los anticuerpos contra algunas de las proteínas estructurales internas del virus (p24, p17, p55, etc.). En algunos individuos se ha comunicado la ausencia de criterios diagnósticos de positividad mediante *western blot* (WB) en los meses finales de la enfermedad, como consecuencia del intenso deterioro inmunitario. En el otro extremo, tras la primoinfección, se sucede un lapso de tiempo conocido como *periodo ventana* de dos a cuatro semanas de duración, caracterizado serológicamente por la ausencia de anticuerpos y la presencia de antígeno p24, proteína mayoritaria del *core* del VIH. Es necesario desarrollar protocolos que permitan el diagnóstico en el momento de la infección aguda, ya que este periodo se relaciona con la máxima infectividad y, además, la actitud terapéutica va a ser clave en la evolución de la enfermedad. Es muy apropiado la adopción de técnicas EIA/ELFA para detección simultánea de anticuerpos y antígeno p24 cuando se trabaje en situaciones clínicas con una alta probabilidad de detectar seroconversiones (clínicas de desintoxicación, centros de metadona), o en aquellos casos en los que exista riesgo de transfundir o donar un órgano de un paciente que pueda encontrarse en este período. Por otro lado, este tipo de técnicas permiten el diagnóstico de la infección con alrededor de una semana a semana y media de adelanto respecto a las que sólo detectan anticuerpos.

Tabla 1. Causas de falsos negativos en la detección de anticuerpos anti-VIH.

-
- Fallos en el principio técnico
 - Fallos en el proceso de fabricación del equipo diagnóstico
 - Infección por tipos de VIH no detectables
 - Inmunosupresión
 - Periodo “ventana”
 - Respuestas anómalas ante la infección VIH
 - Terapia inmunosupresora prolongada
 - Trasplante de médula ósea
 - Disfunciones de linfocitos B
 - Plasmaféresis, exanguinotransfusión
 - Neoplasias
 - Errores de extracción o identificación
-

RESULTADOS FALSOS POSITIVOS

En el laboratorio de virología tienden a preocupar más los resultados falsos positivos, tanto en las pruebas de cribado como en las de confirmación (menos frecuente), sobre todo cuando éstos se producen en personas sin ningún factor de riesgo. Las causas de falsos positivos son variadas y dependen básicamente de dos elementos: las condiciones derivadas del paciente y la técnica (antígenos y principio técnico empleado).

El número de peticiones analíticas para la detección de anticuerpos frente al VIH ha experimentado un importante aumento en la mayoría de los hospitales o laboratorios; este aumento se ha acompañado de un descenso en el porcentaje de resultados positivos. Las causas de ambos fenómenos son variadas y entre las mismas podemos señalar el aumento de la sensibilidad hacia la infección VIH por parte de los profesionales sanitarios, la existencia de protocolos específicos de detección de anticuerpos VIH (enfermos renales, hemodializados, accidentes con riesgos de exposición), su inclusión en los protocolos de embarazo e incluso en las determinaciones analíticas preoperatorias quirúrgicas. En este

contexto de incremento en la demanda y descenso de los porcentajes de positividad se eleva la posibilidad de resultados falsos positivos y, con ellos, surgen situaciones de difícil manejo clínico que obligan a una diversificación en las estrategias diagnósticas y en los métodos de cribado.

Las causas de falsos positivos relativas al suero se recogen en la Tabla 2. Con el fin de minimizarlas se debe realizar la recogida de los sueros evitando mantenerlos más de 24 h a temperatura ambiente. La utilización de tubos estériles reduce al mínimo las contaminaciones microbianas, así como la conservación a +4 °C no más allá de 72 h. En el caso de períodos de conservación más prolongados es aconsejable utilizar temperaturas de -20 °C y -70 °C, sobre todo si se prevé la necesidad de detectar antígeno p24 u otros componentes estructurales del VIH, ya que se desnaturalizan gradual y paulatinamente a temperaturas superiores a -70 °C.

Tabla 2. Causas de falsos positivos en las pruebas de detección de anticuerpos VIH relativas al suero.

-
- Errores de extracción o identificación
 - Aspecto lipídico o turbio del suero
 - Contaminación microbiana
 - Almacenamiento a temperatura subóptima
 - Sueros tratados con calor ($\geq 60^{\circ}\text{C}$)
 - Congelaciones y descongelaciones repetidas
-

En el momento actual de la demanda analítica de VIH pueden producirse situaciones clínicas que den lugar a la necesidad de seguimiento serológico del paciente, al menos durante dos o tres semanas y a la utilización de otros marcadores serológicos de infección VIH (antígeno y anticuerpos anti-p24) ante resultados positivos débiles. Aunque se disponga de técnicas sensibles de biología molecular (PCR) será necesario confirmar el *status* de infección de un paciente mediante WB u otras pruebas serológicas de confirmación. Una práctica recomendable que se sigue en pocos laboratorios es la repetición de la detección de anticuerpos en otro suero del mismo paciente recogido en distinto momento temporal. A veces los falsos positivos son temporales o pueden obedecer a la ingestión de determinadas sustancias.

Durante la primoinfección por el VIH se suceden cambios en la producción de anticuerpos que condicionan los resultados de las pruebas diagnósticas. Este período se asocia con resultados falsos negativos, como ya se ha apuntado antes anteriormente, pero también con positivos débiles o reactividades próximas al umbral, que requieren seguimiento y confirmación. Entre las causas de falsos positivos debidas a las condiciones del paciente se apunta repetidamente en la literatura las reactividades por autoanticuerpos (Tabla 3). La cubierta del VIH presenta antígenos del sistema HLA procedentes de la célula huésped que explican en parte las falsas reactividades observadas en sueros de individuos transplantados, multitransfundidos u otros con enfermedades autoinmunes.

Tabla 3. Causas de falsos positivos en la detección de anticuerpos VIH relativas a los autoanticuerpos.

-
- Personas con Ac anti HLA-DR4, DQw3
 - Enfermedades reumatoideas
 - Polimiositis
 - Lupus eritematoso
 - Multitransfundidos
 - Trasplantados renales
 - Múltiparas
-

VALOR PREDICTIVO DE LAS PRUEBAS

La sensibilidad y la especificidad son los parámetros más importantes para valorar una prueba y, en el caso de la aplicación clínica de las determinaciones del VIH, son cruciales los valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN). La sensibilidad de los equipos actuales se aproxima al 100%; sin embargo, es bien conocido que el incremento de la sensibilidad lleva aparejado un descenso de la especificidad (falsos positivos). Por otro lado, es conveniente señalar las dificultades de alcanzar una sensibilidad real del 100% en una infección en la que la seroconversión ocurre en un lapso de tiempo de 2 a 4 semanas en la mayoría de los casos y, a veces, puede alargarse hasta varios meses (*período ventana*). Hay que señalar, sin embargo, que los antígenos incluidos en las pruebas de detección de anticuerpos han ido variando a lo largo de los años y con ellos las técnicas han evolucionado incrementando la sensibilidad sin merma de la especificidad.

Como es conocido, la prevalencia de la infección VIH entre la población estudiada modifica los valores predictivos y, por lo tanto, la estrategia diagnóstica de cada laboratorio en función de las características de la población a la que atiende. A menor prevalencia de infección, menor VPP o, dicho de otra manera, mayor probabilidad de que se produzcan resultados positivos falsos entre los sueros de una población con tasas de infección VIH bajas. Por el contrario, una prevalencia elevada se asocia con un número más elevado de falsos negativos.

La Organización Mundial de la Salud determinó las estrategias diagnósticas a seguir en función del objetivo para el que se realizan las técnicas y la prevalencia de anticuerpos en una población dada. En este sentido, sería altamente recomendable que en los laboratorios de diagnóstico de nuestro país se dispusiera de dos o tres pruebas de diagnóstico basadas en principios técnicos diferentes que, utilizadas en combinación, garanticen el resultado obtenido. Parece obligado que figure entre aquéllas el WB u otra técnica que identifique de forma individual las distintas reactividades de los antígenos del VIH. Desde este punto de vista la utilización en algunos laboratorios sólo de una prueba de detección de anticuerpos (EIA o ELFA) y una segunda de confirmación (WB, LIA o IFI) puede conducir a situaciones problemáticas, sobre todo en pacientes. En el caso planteado en este Control de Calidad al menos una prueba de LIA y otra de WB dieron resultados positivo e indeterminado respectivamente, lo cual sería causa de ansiedad para el paciente y supondrían un trabajo adicional para el laboratorio. La colaboración entre laboratorios de un mismo hospital que realicen pruebas de anticuerpos VIH con distintos objetivos (Virología, Hematología, Banco de Sangre, Urgencias, etc) o, de una misma área sanitaria, puede reducir el coste de la aproximación diagnóstica apuntada y facilitar la implantación de estas recomendaciones, coordinando las técnicas de cada laboratorio y organizándose en protocolos de actuación concretos.

PRUEBAS DE CRIBADO Y PRUEBAS DE CONFIRMACIÓN

Entre las pruebas de cribado de anticuerpos anti-VIH, las denominadas *pruebas rápidas* han experimentado un desarrollo importante; los antígenos que emplean son similares a los EIA y ELFA y el tiempo en el que se puede obtener un resultado oscila entre 5 y 20 min. Aunque las características operacionales son inferiores a los EIA y ELFA deben tenerse en cuenta para situaciones de urgencia. Combinadas con otras técnicas de detección de anticuerpos constituyen una estrategia que mejora la especificidad de los resultados de forma asequible en términos de costes laborales y de tiempo. En los últimos años, han aparecido pruebas rápidas basadas en el principio de la inmunocromatografía capilar que han mejorado de forma importante la sensibilidad y la especificidad.

Existen diferentes pruebas de confirmación, entre ellas cabe citar las basadas en los principios de inmunolectrotransferencia o *western blot*, de IFI, de radioinmunoprecipitación

(RIPA), y de *immunoblot* con antígenos recombinantes (LIA). La técnica más ampliamente utilizada para la confirmación es el WB. Las técnicas de IFI y RIPA se relacionan con subjetividad en la lectura y requerimientos especiales de laboratorio, respectivamente y su uso es cada vez menor; por ello los resultados de confirmación obtenidos mediante WB son considerados el estándar de confirmación. Existen distintos criterios de positividad emitidos o recomendados por organismos o sociedades, de ellos el de la OMS es el más específico cuando se manejan sueros de muy variable procedencia poblacional. Además una ventaja adicional de algunos WB es la incorporación de péptido sintético específico del VIH-2 (gp36) que facilita la sospecha de infección por VIH-2 en WB indeterminados para el VIH-1. Debido a que las tiras de nitrocelulosa en las que se depositan los antígenos del VIH contienen, en mayor o menor cantidad, proteínas de la célula huésped en la que se ha cultivado el virus, a menudo se observan bandas de reactividad contra dichas proteínas, por lo que el talón de Aquiles de éste método es la necesidad de adiestramiento en la lectura e interpretación de las bandas de origen viral.

FALSOS POSITIVOS CON LAS PRUEBAS DE CONFIRMACIÓN

Los resultados indeterminados con el WB son la mayor fuente de ansiedad en los pacientes y desconcierto en los responsables del diagnóstico. Las causas de reactividades anormales en WB son muy variadas y aún no están totalmente esclarecidas. Se han descrito WB indeterminados en personas con factor reumatoide en suero, lupus eritematoso, hiperbilirrubinemias, infección por otros retrovirus, parasitosis y por otras causas. Si tenemos en cuenta que en la cubierta del VIH están presentes antígenos HLA podemos entender que hasta el 30% de los individuos multitransfundidos presenten reactividades en la prueba WB y se han descrito falsos positivos por dicha técnica. En la Tabla 4 se muestran algunas de las reactividades más frecuentemente observadas en las pruebas WB: la conducta a seguir irá encaminada siempre a limitar la ansiedad en el paciente sin perder de vista la posibilidad de descartar una seroconversión u otra infección por otros retrovirus, alertando al clínico sobre dicha eventualidad.

Con el fin de reducir al mínimo los resultados indeterminados se han desarrollado las técnicas LIA, *immunoblots* con péptidos recombinantes. La principal ventaja de esta técnica es la lectura más estructurada que puede hacerse mediante densitometría en algunos casos, con lo cual se obvian la subjetividad del WB. Su desventaja es que, al no poseer el LIA trazas de impurezas celulares y de otras proteínas que acompañan a los extractos purificados de VIH del WB, se pierde la posibilidad de observar bandas de reactividad que pudieran explicar reacciones aparecidas en las pruebas de cribado. Finalmente existen otras condiciones que se han señalado como causa de falsas positividades y han sido listadas en la Tabla 5; la peculiaridad y complejidad de las mismas ilustran sobre la necesidad de realizar una anamnesis para identificar la existencia de esas condiciones ante un caso de falsa positividad en la determinación de anticuerpos VIH.

En nuestra experiencia el empleo de dos técnicas de cribado de anticuerpos, una de cuarta generación y otra de tercera basada en otro principio técnico, permiten descartar razonablemente un falso positivo. Si a estas pruebas añadimos la realización de un WB se puede eliminar la posibilidad de falsos positivos casi en su totalidad. A lo largo de más de tres años de uso de una prueba de cuarta generación, los falsos positivos pueden llegar a suponer entre un 1 y 1,5% del total de las solicitudes. Sin embargo, en las condiciones actuales de los laboratorios españoles el porcentaje respecto a las muestras positivas puede alcanzar cifras cercanas al 10% (datos personales). Como ya se ha comentado, este hecho se debe al incremento de la demanda diagnóstica y a un descenso del número de muestras positivas. En este contexto, un falso positivo genera muchos más problemas que hace unos años, pues obliga a realizar confirmaciones con una mayor frecuencia, o a la cuantificación de la antigenemia p24, pruebas que habían sido abandonadas o sustituidas por otras como la PCR.

Tabla 4. Causas de reacciones indeterminadas en las pruebas WB.**Una glucoproteína aislada (gp160, gp120 o gp41)****Possible causa**

- Inicio de la seroconversión
- Infección por otros tipos de VIH
- Hijos de madres infectadas

Seguimiento

- En adultos: repetir WB en otro suero 7 d más tarde
- En niños: PCR y seguimiento
- Descartar VIH-2 u otros tipos VIH según procedencia geográfica

p24 aislada^a**Possible causa**

- Frecuente en indeterminados de embarazadas
- Multitransfundidos
- Pacientes africanos

Seguimiento

- Descartar VIH-2 u otros tipos de VIH
- Descartar otros retrovirus (HTLV-I/II)

p17 aislada

Causa desconocida

No es necesario el seguimiento

Otras bandas del core aisladas**Possible causa**

- Inespecificidades muy variadas

Seguimiento

- Anamnesis para posibles factores de WB indeterminado
- Anamnesis para posibles factores de riesgo. Seguimiento a los 7-15 días

Más de una banda del core o bandas no víricas**Possible causa**

- Multitransfundidos
- Enfermedades autoinmunes

Seguimiento

- Anamnesis para posibles factores de riesgo
- Seguimiento hasta 3-6 meses para ver evolución

^aPuede persistir años en pacientes seronegativos VIH**Tabla 5. Otras causas de falsos positivos con las pruebas de detección de anticuerpos anti-VIH.**

- Hemodializados
- Fracaso renal crónico
- Síndrome de Stevens-Johnson
- Administración previa de inmunoglobulinas
- Sueros postvacunales (gripe, hepatitis B)
- Infecciones agudas por virus DNA
- Enfermedad hepática alcohólica grave
- Cirrosis primaria biliar
- Colangitis esclerosante
- Pacientes con parasitosis
- Pacientes con discrasias sanguíneas congénitas
- Adicción a drogas por vía parenteral

COMENTARIOS SOBRE LOS RESULTADOS DEL CONTROL S-4/01

Otro aspecto a tener en cuenta sobre los resultados positivos es la ausencia de coincidencia en el “conjunto de falsos positivos” para cada marca o equipo comercial determinado. A menudo se lee en los artículos que una marca determinada acumula un número mayor de falsos positivos que otra. La única manera de obtener este dato es realizar estudios prospectivos aleatorios. La mayor parte de trabajos publicados sobre pruebas de cribado de anticuerpos anti-VIH comparan las distintas técnicas frente a paneles de sueros muy numerosos, en los que rara vez se cita la procedencia. La experiencia demuestra que si los falsos positivos VIH, sobre todo si se corresponden con reactividades cercanas al umbral de la prueba, son ensayados por otra prueba distinta, los resultados conflictivos rara vez coincidirán en más de un 10%. En el caso planteado en el Control de Calidad S-4/01, que motiva este comentario, el origen del falso positivo ha determinado probablemente que todos aquellos laboratorios que emplean una metodología basada en el principio MEIA dan positivo mientras que los que utilizan técnicas basados en el ELFA de cuarta generación y restantes no se produce dicho resultado en ningún caso. Siendo esto así, se debe reconocer que los resultados podrían haber sido a la inversa, si se hubiera escogido un suero que fuese positivo frente a pruebas basadas en el principio de ELFA u otras similares. En cualquier caso, la lección a aprender es que el laboratorio debe mantener siempre un cierto índice de sospecha sobre la aparición de resultados falsos positivos, y que estas situaciones pueden ser más frecuentes de cara al futuro.

Por último, conviene señalar que los pacientes rara vez entienden, como lo hacen los profesionales, expresiones tales como: “falso positivo”, “indeterminado”, “positivo dudoso”, “positivo débil”, etc. y extremar el cuidado al emitir los informes del laboratorio cuando el objetivo sea el diagnóstico de VIH, procurando establecer mensajes claros. No en vano, del conjunto de actuaciones realizadas deberá resultar un diagnóstico claro y concluyente, o recomendaciones precisas para el seguimiento y el diagnóstico definitivo.

BIBLIOGRAFÍA

- ANÓNIMO. CENTERS FOR DISEASES CONTROL. Interpretation and use of the western-blot assay for serodiagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infections. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1989; 38:1-7.
- ANÓNIMO. CENTERS FOR DISEASES CONTROL. US Public Health Service guidelines for testing and counselling blood donors and plasma donors for HIV type 1. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 1996; 45:3-8.
- ANÓNIMO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. AIDS. Proposed WHO criteria for interpreting results from western blot assays for HIV-1, HIV-2 and HTLV-I/HTLV-II. *Wkly Epidem Rec* 1990; 65:281-283.
- ANÓNIMO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Programme on AIDS. Recommendations for the selection and use of HIV antibody test. *Wkly Epidem Rec* 1992; 67:145-152.
- BRUST S, DUTTMANN H, FELDNER J, GURTLER L, THORSTENSSON R, SIMON F. Shortening of the diagnostic window with a new combined HIV p24 antigen and anti-HIV-1/2/0 screening tests. *J Virol Methods* 2000; 90:153-165.
- ELLENBERGER DL, SULLIVAN PS, DORN J *et al.* Viral and immunological examination of human immunodeficiency virus type 1-infected, persistently seronegative persons. *J Infect Dis* 1999; 180:1033-1042.
- HAMMER S, CRUMPACKER C, D'AQUILA R *et al.* Use of virological assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: recommendations of AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J Clin Microbiol* 1993; 31:2557-2564.

- HECHT FM, BUSCH MP, RAWAL B *et al.* Use of laboratory tests and clinical symptoms for identification of primary HIV infection. *AIDS* 2002; 16:1119-1129.
- JACKSON JB, BALFOUR HH. Practical diagnostic testing for human immunodeficiency virus. *Clin Microbiol Rev* 1988; 1:124-138.
- KENNY DF, GARSIA RJ, GATENBY PA *et al.* Identification of biological false positives in anti-HIV antibody tests. *AIDS* 1987; 1:63-64.
- KOWALSKI J, TU XM, JIA G, PAGANO M. A comparative meta-analysis on the variability in test performance among FDA-licensed enzyme immunosorbent assays for HIV antibody testing. *J Clin Epidemiol* 2001; 54:448-461.
- MYLONAKIS E, PALIOU M, GREEBOUGH TC *et al.* Report of a false-positive HIV test result and the potential use of additional test in establishing HIV serostatus. *Arch Intern Med* 2000; 160:2386-2388.
- MYLONAKIS E, PALIOU M, LALLY M, FLANINGAN TP, RICH JD. Laboratory testing for infection with the human immunodeficiency virus: established and novel approaches. *Am J Med* 2000; 109:586-576.
- ORTIZ DE LEJARAZU R, CISTERNA R, EIROS JM *et al.* Diagnóstico microbiológico de la infección por VIH. En: Picazo JJ (ed). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. Madrid: Sociedad Española de Microbiología Clínica, 1998.
- ORTIZ DE LEJARAZU R, ORTEGA M, HERNÁNDEZ B, EIROS JM, LABAYRU C, RODRÍGUEZ TORRES A. Detection of primary HIV infections with a fourth generation test. *AIDS* 2000; 14:108.
- PAREKH S, KENNEDY MS, DOBBS T *et al.* Quantitative detection of increasing HIV type 1 antibody after seroconversion: a simple assay for detecting recent HIV infection and estimating incidence. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2002; 18:295-307.
- PREISER W, BRINK NS, HAYMAN A *et al.* False-negative HIV antibody test results. *J Med Virol* 2000; 60:43-47.
- SULLIVAN PS, SCHABLE CH, KOCH W *et al.* Persistently negative HIV-1 antibody enzyme immunoassay screening results for patients with HIV-1 infection and AIDS: serologic, clinical, and virologic results. 1999; *AIDS* 1999; 13:89-96.
- VAN BINSBERGEN J, KEUR W, SIEBELINK A *et al.* Strongly enhanced sensitivity of a direct anti-HIV-1/2 assay in seroconversion by incorporation of HIVp24 Ag detection: a new generation Vironostika HIV Uni-Form II. *J Virol Methods* 1998; 76:59-71.
- WEBER B, MBARGANE FALL EH, BERGER A *et al.* Reduction of diagnostic window by new fourth-generation human immunodeficiency virus screening assays. *J Clin Microbiol* 1998; 36:2235-2239.
- ZAAIJER HL, VAN RIXEL GACM, KROMOSOETO JNR *et al.* Validation of a new immunoblot assay (LiaTek HIV III) for confirmation of Human Immunodeficiency Virus infection. *Transfusion* 1998; 38:776-781.