

ARTÍCULOS ORIGINALES

CENTRO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS DE LA DEFENSA CIVIL
LABORATORIO DE INVESTIGACIONES DEL SIDA

Determinación de anticuerpos al virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) en muestras de sangre seca en papel de filtro

Lic. María Teresa Pérez Guevara,¹ Dr. Felipe M. Rolo Gómez,² Lic. Carmen Nibot Sánchez,³ Lic. Otto Cruz Sui⁴ y Dra. Orfelina Rodríguez²

RESUMEN

Se estudia la posibilidad de detectar anticuerpos al VIH-1 mediante un estuche de Immunoblotting, en un papel de 125 muestras conocidas de sangre seca colectadas en papel de filtro y su correspondiente muestra de suero. No se apreciaron diferencias en los patrones de bandas con ambos tipos de muestras, así como en la sensibilidad y especificidad, donde se alcanzaron cifras del 100 %, lo que permitió concluir que la muestra de sangre tomada en papel de filtro puede ser empleada para la detección de anticuerpos al VIH-1 por el sistema DAVIH-BLOT y puede ser conservada a 4 °C por 30 semanas.

Descriptor DeCS: ANTICUERPOS VIH/ sangre; IMMUNOGLOTTING/métodos.

La recolección de sangre total en papel de filtro (PF) ha sido utilizada en el diagnóstico serológico de diferentes entidades dada su factibilidad en cuanto al traslado, la conservación y la manipulación de las muestras.¹

En el diagnóstico de la infección por el virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), la detección de anticuerpos específicos mediante diferentes técnicas de pesquaje requiere de la confirmación de aquellas muestras reactivas, para lo cual se hace necesario su envío a un laboratorio de referencia. En ocasiones se dificulta el traslado de dichas muestras, sobre todo cuando no se pueden garantizar determinadas condiciones, como la temperatura adecuada y la seguridad biológica.²

Las investigaciones relacionadas con la epidemiología del VIH requieren de la realización de numerosos estudios que abarcan grandes poblaciones sometidas a vigilancia, lo cual es muchas veces difícil pues se cubren grandes distancias para llegar a regiones aisladas, donde no existen condiciones ni el equipamiento necesario para procesar muestras con el objetivo de obtener suero o plasma.³ Los expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomiendan que cuando se pretenda utilizar un estuche con estos fines, debe tomarse en consideración la posibilidad de su evaluación con un panel de muestras conocidas, y realizar en paralelo la muestra de suero o plasma y su correspondiente muestra en PF.⁴

En el presente artículo se describe un estudio realizado con el objetivo de evaluar la utilidad del estuche

¹ Licenciada en Bioquímica. Investigadora Agregada.

² Especialista de I Grado en Microbiología. Investigador Agregado.

³ Licenciada en Microbiología. Aspirante a Investigadora.

⁴ Licenciado en Biología. Investigador Agregado.

DAVIH-BLOT (Laboratorios DAVIH, Cuba) para su empleo con muestras colectadas por este método.

DESARROLLO

Para el estudio se escogió un grupo de 125 personas, 80 de las cuales habían sido diagnosticadas previamente como seropositivas al VIH-1 y estaban clasificadas entre los grupos II y IV según el Centro para el Control de las Enfermedades de Atlanta (CDC), en los Estados Unidos.⁵ Las 45 restantes fueron donantes voluntarios de sangre, seronegativas al VIH-1.

A todas se les tomó una muestra de sangre por venipuntura para la obtención del suero. La toma de muestra en PF se realizó previa desinfección del pulpejo del dedo pulgar, se puncionó esta área con una lanceta estéril, y con una ligera presión sobre el dedo, se depositó la sangre en 4 círculos de 1 cm de diámetro en papel de filtro de la firma Schleicher and Shuell 903, hasta lograr el llenado total de éste.⁶

Las muestras de sangre venosa fueron centrifugadas a 1 200 gravedades durante 10 min para la separación de los sueros, los cuales se llevaron a alícuotas y conservaron a -20 °C.

Las muestras de sangre en PF se mantuvieron a temperatura ambiente durante 2 h hasta su total secado, y se conservaron en sobres plásticos a 4 °C.

En el estudio comparativo de ambos tipos de muestras empleamos el estuche DAVIH-BLOT (Laboratorios DAVIH, Cuba) para la confirmación de anticuerpos al VIH-1 en muestras de suero o plasma.

Se poncharon 4 discos de 5 mm de diámetro, lo que equivale a 20 µL de suero y se colocaron en la canal de la bandeja suministrada por el estuche. Para facilitar la comparación entre los perfiles serológicos de las muestras, se aplicaron la muestra de sangre seca en PF y su correspondiente muestra de suero.

Para la interpretación de los resultados se siguieron los criterios recomendados por el fabricante, los que cumplen con las orientaciones de la OMS.⁷

Al analizar los resultados entre ambos tipos de muestras, tomadas de una misma persona, no se encontraron diferencias entre las muestras de suero y de sangre seca en PF, es decir, en el caso de los seropositivos presentaron el mismo patrón de bandas, sin que se afectara la intensidad de éstas.

En 2 de las muestras correspondientes a pacientes clasificados en el grupo IV, su reactividad al nivel de la p24 fue débil, y en una tercera muestra ausente, tanto en la muestra convencional (suero) como en la de PF.

Las muestras de PF conservadas a 4 °C por 30 semanas se mantuvieron estables.

Como se puede apreciar por los resultados expresados, la sensibilidad y la especificidad del estuche con las muestras de sangre seca en PF fue del 100 % si se compara con la muestra tradicional, lo que demuestra la utilidad de éste en la confirmación de anticuerpos al VIH-1 con este tipo de muestra alternativa.

Al evaluar el sistema DAVIH-BLOT con ambos tipos de muestras se amplían sus posibilidades de utilización, sobre todo en aquellos laboratorios con menos recursos y en lugares donde no existan la base técnica ni el equipamiento necesarios para la colección de muestras de suero o plasma y su adecuada conservación. Además, garantiza la posibilidad de realizar estudios seroepidemiológicos a gran escala con un mínimo de gastos en el procesamiento de las muestras.

En cuanto a los resultados por DAVIH-BLOT de los seropositivos, no se aprecian bandas discrepantes, las muestras en que no se evidenció reacción al nivel de la p24 o ésta se observó pero débilmente, corresponden a pacientes del grupo IV según la clasificación de CDC; es frecuente este hallazgo, pues es uno de los marcadores serológicos de la evaluación de la progresión de la infección, lo interesante en este caso fue que se mantuvieron los mismos resultados al ser comparadas ambas muestras.

La estabilidad de las muestras en PF ha sido también estudiada por otros autores⁸ y no existen discrepancias entre nuestro trabajo y lo reportado.

Los resultados alcanzados nos permiten concluir que el estuche diagnóstico DAVIH-BLOT puede ser empleado para la detección de anticuerpos al VIH-1, tanto con muestras de suero o plasma como con muestras de sangre seca en papel de filtro.

SUMMARY

The possibility of detecting HIV-1 antibodies by an immunoblotting kit is studied in a panel of 125 known specimens of dried blood spotted on filter paper and their corresponding serum samples. No differences were observed in the patterns of bands with both types of samples or in the sensitivity and specificity, where 100 % figures were attained, allowing to conclude that the blood specimen taken on filter paper may be used for the detection of HIV-1 antibodies by the DAVIH-BLOT system and may be kept at 4 °C during 30 weeks.

Subject headings: HIV ANTIBODIES/blood; IMMUNO-BLOTTING/methods.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Constantine NT, Callahan JD, Watts DM. Pruebas para la detección del VIH y control de calidad. Guía para el personal

- de laboratorio. Durham: AIDSTECH/Family Health International,1991:147-8.
2. Cassal S, Salas T, Arella M, Neumann P, Schechter MT, O'Shaughnessy M. Use of dried blood spot specimens in the detection of Human Immunodeficiency Virus type 1 by the polimerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991;29(4): 667-71.
 3. Beebe JL, Briggs CL. Evaluation of Enzyme Linked Immunoassay Systems for detection of Human Immunodeficiency Virus type 1 antibody from filter paper disks impregnated with whole blood. *J Clin Microbiol* 1990;28(4):808-10.
 4. Lillo F, Varnier OE, Mantia E, Terragna A, Groen G van der, Keeckhoven JV, et al. Detection of HIV-1 antibodies in blood specimens spotted on filter paper. *Bull Health World Organ* 1992;70(3):323-6.
 5. Centers for Disease Control. Classification system for Human T Lymphotropic Virus type III/Lymphadenopathy associated virus infection. *MMWR* 1986;35(20):334-9.
 6. National Committee of Clinical Laboratory Standards C. Blood collection on filter paper for neonatal screening programs. *NCCLS* 1990;8(9):163-80.
 7. World Health Organization. Proposed WHO criteria for interpreting results from western blot assays for HIV-1, HIV-2 and HTLV-I/II. *Wkly Epidemiol Rec* 1990;65(37): 283-8.
 8. Schochetman G, George RJ. Center for Disease Control and Prevention, AIDS testing. A comprehensive guide to technical, medical, social, legal and management issues. 2 ed. New York: Springer-Verlag,1994:80-1.

Recibido: 29 de noviembre de 1995. Aprobado: 16 de octubre de 1997.

Lic. *María Teresa Pérez Guevara*. Centro de Investigaciones Científicas de la Defensa Civil. Laboratorio de Investigaciones del Sida. Carretera de Tapaste y Ocho Vías, San José de Las Lajas, provincia de La Habana, Cuba. Apartado 23031.