

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

Diagnóstico serológico del VIH-1 en muestras de sangre seca en papel de filtro por el sistema DAVIH Dot VIH-1

Lic. René Grana Sánchez,¹ Lic. María Teresa Pérez Guevara,¹ Dra. Ana Luisa Lubián Caballero,² Dr. Héctor Díaz Torres³ y Téc. Lucy Montano Tamayo⁴

RESUMEN

Se evaluaron muestras de sangre seca en papel de filtro por el sistema DAVIH Dot VIH-1 de Laboratorios DAVIH (La Habana, Cuba). Las muestras utilizadas, 103 positivas y 105 negativas, estaban confirmadas de forma previa por DAVIH Blot de Laboratorios DAVIH. Para utilizar la sangre seca en papel de filtro, se realizaron modificaciones al procedimiento original en cuanto a los tiempos de incubación de las muestras y conjugado, y la agitación en ambas etapas. Se obtuvieron resultados de sensibilidad y especificidad relativas de 100 y 99,05 %, respectivamente.

Descriptor DeCS: SERODIAGNOSTICO DEL SIDA/métodos.

El diagnóstico de la infección por VIH-1 lleva implícito la realización de varios sistemas de pesquaje en la red de diagnóstico nacional, así como la confirmación en el caso de las muestras que resulten reactivas, para lo cual se hace necesario el envío de éstas a un laboratorio de referencia. En ocasiones se dificulta el traslado de dichas muestras, sobre todo si no se garantizan una temperatura adecuada y la seguridad biológica.¹ En el caso de lugares aislados o laboratorios rurales donde en ocasiones no se cuenta con fluido eléctrico para mantener las muestras a la temperatura establecida, es factible el empleo de la sangre seca en papel de filtro, que no está condicionada a estos parámetros.²

El empleo de sangre seca en papel de filtro se ha extendido rápidamente en el diagnóstico serológico de varias enfermedades³⁻⁵ dadas las facilidades que posee en cuanto a traslado, conservación y manipulación de las

muestras.⁶ Este método tiene más aceptación que las extracciones convencionales de sangre.

La colecta de sangre total en papel de filtro para los ensayos de anticuerpos, tiene sólo ventajas sobre el uso de muestras de suero: los requerimientos de equipos son mínimos, las lancetas estériles son baratas y el papel de filtro sustituye a las jeringas, tubos, centrífugas y refrigeradores que se necesitan para las muestras de suero.⁷

La posibilidad de contar con ensayos rápidos y simples como el DAVIH Dot VIH-1 (Laboratorios DAVIH, La Habana, Cuba), es una ventaja en estos sitios apartados,⁸ por lo que resulta práctico modificar el procedimiento de esta técnica con el objetivo de introducir esta forma de procesamiento de las muestras.

Nuestro trabajo describe la evaluación del DAVIH Dot VIH-1 con la utilización de muestras de sangre seca en papel de filtro.

¹ Licenciado en Bioquímica. Investigador Agregado.

² Especialista de I Grado en Epidemiología. Investigadora Agregada.

³ Especialista de I Grado en Medicina Interna. Investigador Agregado.

⁴ Técnica Química Analista.

MUESTRAS

La evaluación se realizó con 208 muestras, 103 de las cuales fueron previamente confirmadas como positivas por Western blot (DAVIH Blot, Laboratorios DAVIH, La Habana, Cuba) y clasificadas en los grupos II a IV, según el Centro para el Control de las Enfermedades (CDC) de Atlanta, en los Estados Unidos.⁹ Las otras 105 muestras resultaron ser negativas al VIH-1 por el mismo sistema confirmatorio.

MODIFICACIONES AL PROCEDIMIENTO ORIGINAL

Para este estudio se utilizó el estuche de pesquisaje DAVIH Dot VIH-1 para la detección de anticuerpos al VIH-1. Se poncharon 5 discos de 5 mm de diámetro de cada muestra en papel de filtro (Whatman 3), equivalentes a 100 mL de suero o plasma¹⁰ del procedimiento original, se colocaron directamente en una canal de la bandeja suministrada por el estuche, junto a la tira de nitrocelulosa en diluyente de la muestra.

A diferencia de los 30 min de incubación sin agitación del procedimiento original, las muestras y las tiras se incubaron por 1 h a temperatura ambiente y con agitación. Esta misma modificación se aplicó a la etapa del conjugado. Se prosiguió con el procedimiento descrito por los fabricantes.¹¹

Las 103 muestras positivas por Western blot fueron reactivas por el sistema DAVIH Dot VIH-1 mientras que de las 105 muestras negativas estudiadas, 104 fueron identificadas de forma correcta, lo que significa que hubo 1 falso positivo, por lo que los valores de sensibilidad y especificidad relativos¹² fueron del 100 y 99,05 %, respectivamente. Resultados similares fueron reportados por otros autores.²

Durante la evaluación, el DAVIH Dot VIH-1 presentó mejor sensibilidad que especificidad, como era de esperar en un sistema de pesquisaje donde es preferible una mayor sensibilidad con el fin de evitar falsos negativos. Por el contrario, los sistemas confirmatorios deben tener mejor especificidad con el fin de evitar falsos positivos.¹³

SUMMARY

Dried blood specimens spotted on filter paper were evaluated by the HIV-1 DAVIH Dot system from DAVIH Laboratories (Havana, Cuba). The samples used, 103 positive and 105 negative, were previously confirmed by DAVIH Blot from DAVIH Laboratories. In order to use the dried blood on filter paper some modifications were made to the original procedure regarding the times of

incubation of the samples and conjugate, and the agitation in both stages. Relative sensitivity and specificity of 100 and 99.05 %, respectively, were attained.

Subject headings: AIDS SERODIAGNOSIS/methods.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cassal S, Salas T, Arella M, Neumann P, Schechter MT, Shaughnessy MO. Use of dried blood spot specimens in the detection of human immunodeficiency virus type 1 by the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991;29(4):667-71.
2. Beebe JL, Briggs LC. 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.
3. Garrick MD, Dembure BS, Guthrie R. Sicklecell anemia and other hemoglobinopathies: procedures and strategy for screening employing spots of blood on filter paper as specimens. *N Engl J Med* 1973;288:1256-68.
4. Maeda M, Ito K, Arakawa H, Tsuija A. An enzyme-linked immunosorbent assay for thyroxine in dried blood spotted on filter paper. *J Immunol Methods* 1985;82:83-9.
5. Rubin EM, Andrews KA, Kan KW. Newborn screening by DNA analysis of dried blood spots. *Hum Genet* 1989; 82:134-6.
6. Constantine NT, Callahan JD, Watts DM. Pruebas para la detección del VIH y control de calidad. Guía para el personal de laboratorio. Durham, Carolina del Norte: AIDSTECH/Family Health International, 1991:147-8.
7. Lillo L, Varnier OE, Mantia E, Terragna A, Groen G van der, Kerckhoven JV, et al. Detection of HIV-1 antibodies in blood specimens spotted on filter-paper. *Bull World Health Organ* 1992;70(3):323-6.
8. Spielberg F, Kabeya CM, Quinn TC, Ryder RW, Kifuani NK, Harris J. Performance and cost-effectiveness of a dual rapid assay system for screening and confirmation of human immunodeficiency virus type 1 seropositivity. *J Clin Microbiol* 1990;28(2):303-6.
9. Center for Disease Control. Classification system for human T lymphotropic virus type III lymphadenopathy associated virus infection. *MMWR* 1986;35(20):334-9.
10. Schochetman G, George RJ. AIDS testing a comprehensive guide to technical, medical, social, legal and management issues. 2 ed. New York: Springer-Verlag 1994:80-1.
11. DAVIH LAB. DAVIH Dot VIH-1. Dot blot para la detección de anticuerpos al virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) en suero, plasma o sangre seca en papel de filtro. Instrucciones de uso. La Habana. Laboratorios DAVIH, 1994:1-8.
12. Argote E, López G. Pautas para evaluar la calidad de los juegos diagnósticos basados en la técnica ELISA. *Rev Cubana Cienc Vet* 1995;24(2):16-9.
13. Spielberg F, Kabeya CM, Ryder RW, Kifuani NK, J Harris J, Bender TR. Field testing and comparative evaluation of rapid, visually read screening assays for antibody to human immunodeficiency virus. *Lancet* 1989;1:580-4.

Recibido: 28 de marzo de 1997. Aprobado: 17 de octubre de 1997. Lic. *René Grana Sánchez*. Centro de Investigaciones Científicas de la Defensa Civil. Carretera de Tapaste y Ocho Vías, San José de Las Lajas, provincia de La Habana, Cuba. Apartado 23031.