



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Revisión

Utilidad de los *dried blood spots* para monitorizar la infección por virus de la inmunodeficiencia humana en los programas de salud pública de países en desarrollo

Miguel De Mulder y África Holguín*

Laboratorio de Epidemiología Molecular del VIH-1, Servicio de Microbiología y Parasitología, Hospital Universitario Ramón y Cajal-Instituto Ramón y Cajal de Investigaciones Sanitarias (IRyCIS) y CIBER-ESP, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 4 de noviembre de 2011

Aceptado el 16 de marzo de 2012

On-line el 4 de mayo de 2012

Palabras clave:

Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)

Dried blood spots (DBS)

Países en desarrollo

Diagnóstico

Monitorización

Carga viral

Subtipos

R E S U M E N

A medida que el acceso a tratamiento antirretroviral avanza globalmente, son necesarios esfuerzos encaminados a simplificar la toma y el envío de muestras a laboratorios de referencia para realizar técnicas de diagnóstico serológico y genético, análisis de carga viral y resistencia a fármacos antirretrovirales en países con recursos limitados. Por tanto, es necesario implementar métodos más baratos y prácticos de obtención, almacenaje y transporte de muestras biológicas y/o sanguíneas. La recogida de muestras en papeles de filtro es una alternativa económica y práctica al plasma para la monitorización del tratamiento antirretroviral, principalmente en laboratorios con equipamientos mínimos y sin acceso a cadenas de frío y/o refrigeración. En esta revisión abordaremos algunas de las aplicaciones clínicas del uso de sangre total seca recogida en papeles de filtro (DBS, *dried blood spots*). Nos centraremos en su aplicabilidad en la monitorización de la infección por VIH para su posible aplicación por los programas nacionales de salud de los países en vías de desarrollo. Haremos un repaso a los distintos estudios que han empleado DBS en la cuantificación de la carga viral, en la monitorización de mutaciones de resistencias a antirretrovirales, en el diagnóstico perinatal temprano, en el diagnóstico serológico en adultos, en la detección de antígeno p24 viral e incluso en la identificación de variantes virales para estudios de epidemiología molecular del VIH. Hablaremos de las variables que afectan a las determinaciones hechas con DBS en el campo del VIH y explicaremos cómo se pueden optimizar los procedimientos usando DBS para aumentar su sensibilidad. El objetivo final será dar a conocer las aplicaciones y ventajas del uso de los DBS en el campo del VIH, sobre todo en países de recursos limitados.

© 2011 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Dried blood spots for monitoring HIV infection in Public Health Programs in developing countries

A B S T R A C T

As access to antiretroviral treatment increases in the developing countries, efforts towards making it easier and less costly to collect, store, and deliver the biological samples to reference laboratories, where the serological and genetic diagnosis techniques are performed, have become a high priority. Blood sampling on filter papers is an inexpensive and practical alternative to plasma for antiretroviral treatment monitoring in countries with limited resources and no access to cold chains or refrigeration. The main clinical applications and uses of blood-sampling onto filter papers (*dried blood spots* [DBS]) are reviewed, focusing on how these can be applied in monitoring HIV infection, particularly for use in National Health Programs in developing countries, or in resource-limited settings. A review is presented of studies that have used the DBS technique for quantifying viral load, analysis of antiretroviral drug-resistance mutations, early infant diagnosis, adult serological diagnosis, detection of viral p24 antigen, and molecular epidemiology of HIV-1, in different geographical locations. Those variables that could affect the use of DBS, particularly in the HIV field, as well as explaining how these procedures can be optimised to increase their sensitivity are also reviewed. The aim of this study was to review the advantages of implementing the DBS technique in the HIV field, especially in resource-constrained regions.

© 2011 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Human immunodeficiency virus (HIV)

Dried blood spots (DBS)

Developing countries

Diagnosis

Monitoring

Viral load

Sub-types

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: aholguin.hciiii@salud.madrid.org (Á. Holguín).

Introducción a los *dried blood spots* (DBS)

De los más de 34 millones de infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) en el mundo, el 93% viven en países de bajos recursos¹. A medida que el acceso al tratamiento antirretroviral (TAR) avanza globalmente, también son necesarios esfuerzos encaminados a monitorizar correctamente la terapia reduciendo costes y simplificando procedimientos. La recogida de muestras en papeles de filtro está considerada una alternativa barata y práctica al plasma para la monitorización del TAR, principalmente en laboratorios con equipamientos mínimos y sin acceso a cadenas de frío y/o refrigeración². Los tipos de tarjetas existentes para la recogida de muestras biológicas se detallan en la *tabla 1*. Las muestras secas, ya sean de sangre total (DBS), plasma (DPS), suero (DSS) o incluso leche materna³ de pacientes infectados y recogidas en papeles de filtro Whatman 903⁴ son un método accesible de toma, almacenaje y envío de muestras a laboratorios de referencia. Pueden emplearse para la cuantificación de la viremia o carga viral (CV)^{5–19}, monitorización de mutaciones de resistencias a antirretrovirales^{18–29}, diagnóstico perinatal^{7,11,30–32}, diagnóstico serológico en adultos³³, detección de p24 viral³⁴ e identificación de variantes del VIH^{18,22–25,29}. La experiencia de cribado en neonatos empleando DBS ha mostrado ser eficaz y sencilla³⁵. Los DBS también han sido empleados para el diagnóstico de diversas enfermedades genéticas, metabólicas e infecciosas^{35,36}. Actualmente no está aprobado el uso de los DBS para cuantificar linfocitos CD4+ por inmunoensayo, por la poca correlación con los valores obtenidos mediante citometría de flujo. Algunas aplicaciones de los DBS se resumen en la *tabla 2*.

El uso de los DBS en lugar de sangre tiene la ventaja de emplear un menor volumen de sangre total (50–100 µl) recogido mediante

un pequeño pinchazo en el talón o en el dedo, evitando manejar jeringuillas y reduciendo el gasto en infraestructuras y material de laboratorio. Además, las muestras sanguíneas recogidas en papel de filtro no son infecciosas. Por ello el empleo de los DBS podría simplificar la monitorización de la infección por VIH en los programas de salud pública de países en desarrollo. El objetivo de esta revisión es detallar las posibles aplicaciones de los DBS en el diagnóstico y la monitorización de enfermedades, profundizando en su uso para el diagnóstico y la monitorización de la infección por el VIH.

Extracciones de ácidos nucleicos a partir de *dried blood spots* para la amplificación viral

Métodos de extracción de ácidos nucleicos (ARN, ADN) a partir de dried blood spots

La mayoría de las técnicas de cuantificación de CV, detección de resistencias, diagnóstico genético temprano perinatal y detección de variantes empleando DBS se basan en la amplificación de ácidos nucleicos, principalmente por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El ARN viral (de virus circulantes) y/o el ADN proviral (de virus integrados en células sanguíneas infectadas) extraído del DBS también se puede usar para otros estudios que requieran secuenciación viral o clonaje molecular del VIH, incluso ensayos de resistencia fenotípica o detección molecular de otros virus del paciente. Sin embargo, todos ellos requieren un paso previo de extracción de material genético del DBS.

No todas las técnicas de extracción (comerciales y no comerciales) disponibles tienen la misma eficacia³⁷. De hecho, los fallos en la extracción del ARN viral son la causa más frecuente de obtener valores de CV infraestimados, viremias negativas o fallos de

Tabla 1
Tipos de tarjetas para la recogida de muestras biológicas

Tarjetas	Fabricante	Indicaciones	Muestras empleadas	Información
Whatman 903	Whatman (GE Healthcare)	ARN ADN Anticuerpos Proteínas Otros	Sangre Otros fluidos corporales	www.whatman.com/903ProteinSaverCards.aspx
FTA	Whatman (GE Healthcare)	Solo ADN	Sangre Células Tejidos animales Tejidos vegetales Cultivos celulares Microorganismos	www.whatman.com/FTANucleicAcidCollectionStorageandPurification.aspx
IsoCode Stix	Schleicher & Schuell Bioscience	Solo ADN	Sangre Otros fluidos corporales	https://es.vwr.com/app/catalog/Catalog?parent.class_id=9&parent.class_cd=60949&frmls=x

Los tres dispositivos consisten en una pequeña «tarjeta» portadora que presenta un recorte de papel de algodón o nitrocelulosa adherido a un formulario para recoger la información identificativa del paciente. Las tarjetas 903 están especialmente diseñadas para la recogida y el almacenamiento de sangre para los programas de cribado neonatal. Las proteínas, ARN y otras biomoléculas se pueden archivar en papel 903 y almacenar entre 4 °C y –80 °C. Las tarjetas FTA están tratadas con formulaciones químicas que desnaturalizan proteínas, protegen de la degradación de ácidos nucleicos por las nucleasas y facilitan la unión de ADN. Los FTA se emplean para archivar ADN a temperatura ambiente de manera indefinida. Las tarjetas IsoCode son tarjetas 903 modificadas que permiten la elución y amplificación del ADN por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), al tener impregnados inactivadores de muchos de los inhibidores de la PCR presentes en la sangre.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3401061>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3401061>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)