



## Infectio

Print ISSN 0123-9392

Infect. vol.8 no.4 Bogotá Oct./Dec. 2004



# Comparación de los resultados de la prueba de anticuerpos al VIH por Western Blot en muestras de suero y muestras de sangre seca en papel de filtro

*Patricia Olaya García M.Sc, Martha Ramírez Chols\**

*\* Centro de Análisis Molecular, Bogotá D. & Colombia*

Correspondencia: Patricia Olaya García M.Sc. Avenida 13 N° 146- 14 Bogotá D.C. Colombia Tel. (571) 6153629 E-mail: [patolaya@etb.net.co](mailto:patolaya@etb.net.co)

## Resumen

Se realizaron pruebas de anticuerpos contra el VIH por Western Blot -VIH en muestras pareadas de suero y sangre seca en papel de filtro. Los resultados mostraron una coincidencia del 100% en la reactividad de las bandas entre los dos tipos de muestra, se comprobó su equivalencia y la posibilidad de utilizar muestras de sangre seca en papel de filtro para el diagnóstico confirmatorio de la infección por VIH.

**Palabras clave:** Western Blot -VIH, Anticuerpos, Papel de filtro.

## Abstract

HIV Western Blot antibody test was evaluated on paired samples of serum and filter paper dried whole blood spots. Test results showed a 100% coincidence on the reactive bands among the two types of samples. It was proved that filter paper dried whole blood spots were equivalent to the serum samples for the confirmatory diagnosis of HIV infection.

**Key words:** transmissible spongiform encephalopathies, prions.

## Introducción

La detección de anticuerpos contra los antígenos del VIH son la base del diagnóstico de esta infección y puede realizarse en el laboratorio, principalmente en muestras de sangre aunque también es posible hacerlo en muestras de mucosa oral e inclusive de orina.

A pesar de los grandes avances logrados en las pruebas de detección éstas, por razones aún no determinadas, pueden en ocasiones dar resultado falso positivo, lo que hace necesario verificar

el resultado y es así como métodos para la confirmación de la infección por VIH como el Western Blot, son parte fundamental de los algoritmos de diagnóstico (1).

El diagnóstico de la infección por VIH generalmente se realiza en muestras de suero; sin embargo, el empleo de muestras de sangre seca en papel de filtro es un procedimiento muy sencillo, el cual presenta algunas ventajas de importancia en especial para estudios epidemiológicos y trabajos de campo en zonas distantes.

La detección de anticuerpos al Virus de Inmunodeficiencia Humana VIH en muestras de sangre seca en papel de filtro, ha sido una técnica empleada desde hace varios años en estudios de seroprevalencia y en diversas pruebas de tamizaje. (2, 3, 4). La toma de la muestra es muy sencilla, no requiere de personal especializado y puede ser incluso tomada por el paciente; solo requiere una lanceta un algodón con alcohol y el papel de filtro no hay necesidad de usar jeringas centrifuga refrigerador ni congelador.

Las muestras de sangre en papel de filtro pesan poco, ocupan poco espacio, no se derraman, su transporte es fácil pues no requiere de cadena de frío, las muestras una vez secas pueden ser almacenadas a temperatura ambiente por varias semanas y la demora en el transporte o procesamiento no afecta su estabilidad (4).

El estuche para Western Blot Davih blot® (Davih Lab, San José, Cuba) incluye en su instructivo un *protocolo para el procesamiento de muestras de sangre seca en papel de filtro*, el cual se encuentra debidamente validado (5).

## **Objetivo**

Comprobar la equivalencia en el resultado de pruebas Western Blot del sistema Davih blot®, entre las pruebas realizadas con muestras de sangre seca tomadas en papel de filtro y muestras tomadas en suero del mismo paciente.

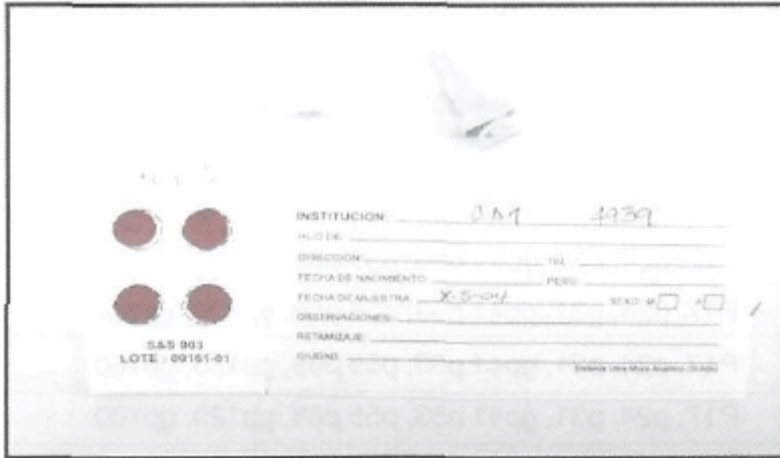
## **Materiales y métodos**

### **Procedimiento**

Se obtuvieron muestras de ocho personas, quienes previamente se habían analizado para anticuerpos al VIH por ELISA, con resultado reactivo. Se tomaron muestras de suero en tubo al vacío y muestras de sangre en papel de filtro. ([Figura 1](#)), se identificaron con un número del 1 al 8, seguidas por la sigla "pf" las muestras de sangre en papel de filtro y de "s" las muestras de suero.

FIGURA 1

Muestra de sangre en papel de filtro, elementos para la toma de la muestra.



Fotografía de los resultados con las bandas reactivas de la prueba de Western Blot VIH-1 en muestras pareadas de sangre seca en papel de filtro y muestras de suero.

Cp: Control Positivo, Cn: Control Negativo, pf: papel de filtro, s: suero.

Las tiras 1 y 2 corresponden a los controles positivo y negativo respectivamente.

Las muestras están identificadas del 1 al 8 por pares: papel de filtro seguido de suero de la misma muestra.

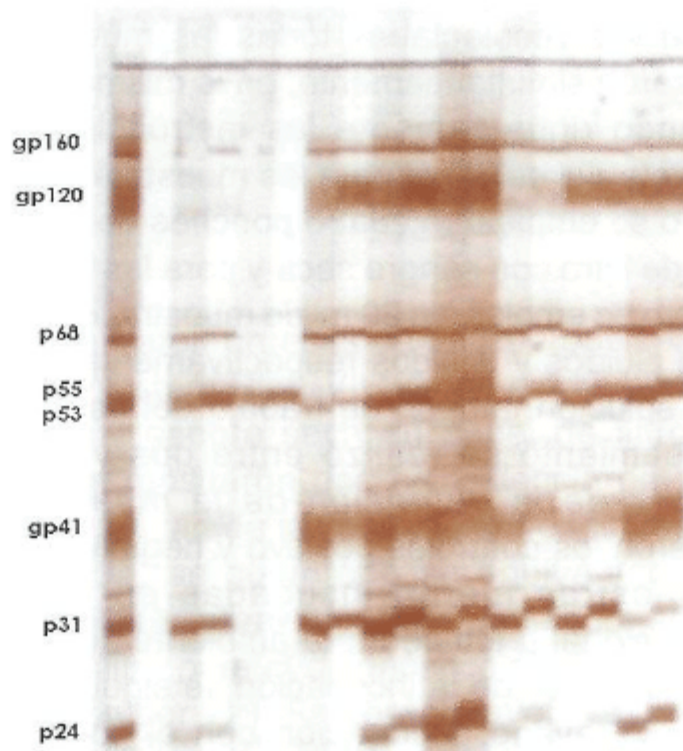
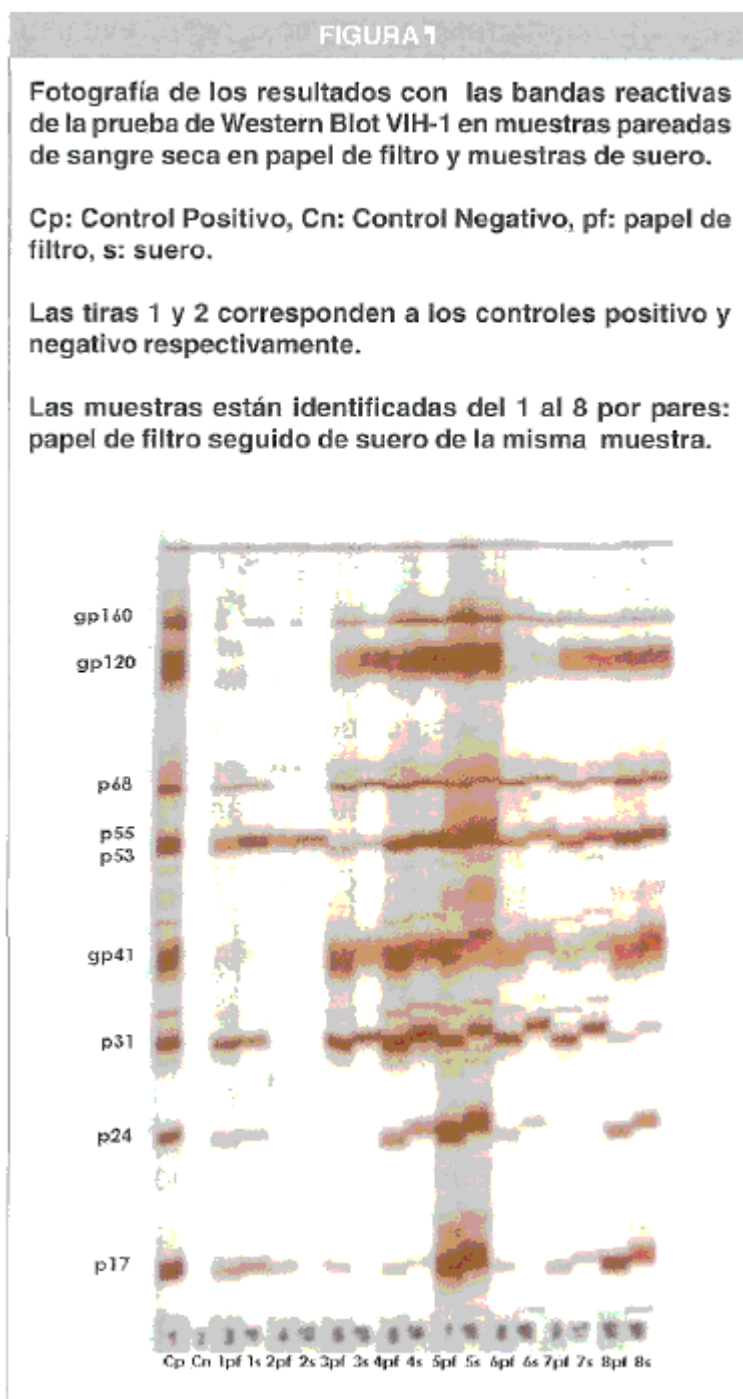


figura 2



Las muestras de sangre seca en papel de filtro fueron tomadas por punción capilar con lanceta estéril; se descartó la primera gota de sangre y la muestra se obtuvo tocando suavemente el papel de filtro con una gota grande de sangre para llenar cada círculo impreso en un solo paso, evitando raspar el papel de filtro. Las muestras se dejaron secar totalmente y se mantuvieron a temperatura ambiente (entre 15 y 26° C) hasta su procesamiento (2 a 12 días después de tomadas)

Las muestras de suero fueron tomadas en tubo *seco al vacío tapa roja*, se permitió su *coagulación* durante una hora a temperatura ambiente, fueron centrifugadas durante 10 minutos a 2.500 RPM y fueron almacenadas en viales estériles a 4° C durante tres días (o a -20° C durante más tiempo) hasta su procesamiento.

Una vez recolectadas todas las muestras se procesaron simultáneamente, en la misma corrida, *siguiendo rigurosamente las* instrucciones del fabricante del estuche; para las muestras en papel de filtro se emplearon cuatro ponches de 5 mm de papel de filtro con sanare seca y para las muestras de suero se emplearon 20 ml de muestra, los cuales fueron eluidos y diluidos respectivamente en 2 ml del la solución tampón de trabajo del estuche. El procesamiento se realizó entre dos y 12 días después de la obtención de *la* muestra. Se incluyeron los controles positivo y negativo. Todas las muestras fueron incubadas en agitador tridimensional a temperatura ambiente durante 18 horas; después de la incubación se siguió con los pasos de lavado, incubación con el conjugado, lavado y revelado con sustrato, de acuerdo con el instructivo del estuche.

## Resultados

Los criterios para la validación e interpretación de los resultados fueron los establecidos por la casa fabricante, según se hallan descritos en el instructivo y se interpretaron los resultados así:

Positivo con reactividad al menos a dos bandas de la envoltura (gen env) (gp41, gp120, gp160): muestras 1, 3, 4, 5, 6, 7 y 8.

Negativo solo p17 o ninguna banda estructural: ninguna muestra (control negativo).

Indeterminado con otros perfiles no considerados como positivo o negativo: muestra N° 2.

En la [figura 2](#) se muestra la fotografía tomada a las bandas reactivas en las pruebas pareadas con muestras en suero y sangre seca en papel de filtro.

En la [Tabla 1](#) se presentan los resultados de las bandas reactivas comparados según el tipo de muestra utilizado. Se encontró una coincidencia del 100% entre las muestras de papel de filtro y su correspondiente suero; las bandas reactivas en suero fueron también reactivas en papel de filtro inclusive en la muestra N° 2 con resultado indeterminado y no se observó diferencia relacionada con el tipo de muestra empleado en el resultado, en la reactividad de las bandas, ni en el resultado definitivo.

## Discusión

Con los resultados obtenidos se evidencia que es posible realizar la prueba confirmatoria VIH de Western Blot con el estuche Davih blot® VIH-1 en muestras de sangre seca en papel de filtro y se obtienen los mismos resultados que al utilizar las tradicionales muestras de suero.

Para la toma de muestras en laboratorio podríamos considerar que el trabajo requerido por los dos tipos de muestras utilizados es equivalente.

La conservación y manejo de las muestras de sangre seca en papel de filtro es mas fácil y esto puede representar una ventaja considerable para el caso de muestras tomadas en lugares distantes o fuera del laboratorio.

## Referencias

1. Constantine NT, Callahan J.D, Watts D.M. 1991. Pruebas para la detección del VIH y control de calidad. AIDSTECH. Durham, Carolina del Norte, EEUU; 24-40.
2. Lilo F, Varnier CKE, Mantia E, Terragna A, Van der Groen G, Van Kerckhoven I, Mortimer P.P, Parry J.V, Bayliss G, Tamashiro H. 1992. Detection of HIV-1 antibodies in blod specimens spotted on filter paper. Bull Wild Health Org. 70 (3): 323-326.
3. Tappin DM, Girwood R.W.A, Follett E.A.C, Kennedy R, Brown A.J, Cockburn F. 1991. Prevalence of Maternal HIV infection in Scotland based on unlinked anonymous testing of new babies. Lancet337: 1565-1567.

4. Behets F, Kasharnuka M, Pappaioanou M, Green T.A, Ryder R.W, Batter V, George J. R, Hannon W.H, Quinn T.C. 1992. Stability of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Antibodies in whoie blood dried on filter paper and stored under various tropical conditions in Kinshasa, Zaire. J. Clin. Microb; 30(5): 1179-1182.

5. Pérez M.T, Rolo F.G, Nibot C.S. 1998. Determinación de anticuerpos al virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 VIH-1 en muestras de sangre seca en papel de filtro. Rev Cubana Med Trop 50(2); 93-95.

Recibido para evaluación: 15/11/2004 - Aceptado para publicación: 23/12/2004

---

© **2011 Asociación Colombiana de Infectología.**

**Calle 118 No. 15-24 Oficina 503, Bogotá, D. C., Colombia**  
**Teléfono 215 3714 y 215 3517**

  
[acin@etb.net.co](mailto:acin@etb.net.co)