

DEDICATION

To my
Parents,
Wife,
Son,
and Friends,
with love and appreciation

Acknowledgement.

I would like to express my sincere gratitudes to Dr Shamsoun Khamis Kafi for his keen supervision, valuable advices and encouragement through out the research period.

Iam indepted to Mr. Mohammed Ibrahim, Khartoum State Directorate of laboratories, for his advices and technical assistance. I would like to extend my thanks to Dr Maki Elazhari and his Co-operative staff for their great help in collection of the samples.

My appreciation to Dr. Shogi, Dr. Karsani, Dr. Mohammed and my brother Elniel for their great help in supplying of the reagents for testing.

Last but not least thanks to Dr. Khalid, AIDS Department and Mr. Haroun for their support.

Abstract

This study was conducted during the period between November, 2003 to March; 2004 to study the use of dried blood spot on filter paper for detection of HIV antibodies in venous blood samples using ELISA technique. The study was conducted in Khartoum Teaching Hospital AIDS unit.

A total of 100 specimens from known AIDS patients randomly selected and 50 specimens from healthy control were collected on filter paper, and air dried. The collected specimens were subjected to various atmospheric conditions (temperature, etc...) and the effect of time, temperature and humidity, on the stability of antibodies was evaluated.

Phosphate buffer saline eluates from dried spot on filter paper were tested for HIV antibodies. The results were then recorded and compared for the different conditions.

The result showed that the the detection of HIV antibodies in eluate of whole blood impregnated filter paper strips continued to be stable for two months for all specimens stored in refrigerator, incubator at 37°C, and at room temperature. The specimens there after started to deteriorate and by 3 months all specimens revert negative.

The result also showed that dried blood spot on filter paper remained stable for longer time at refrigerator than at room temperature and incubator. The result concluded that collection of blood on filter paper is simple to do, cheap and associated with lower risk of infection and loss or spoiling of specimen compared to the ordinary method of serum collection. Dried blood spot on filter paper are also easier to store and transport with minimum risk and cost.

الكلمات الدالة

المراجع

أجريت هذه الدراسة في الفترة بين نوفمبر 2003 - مارس 2004 لدراسة إستعمال بقعة الدم المُجَفَّة على ورق الترشيح لكشف الأجسام المضادة لفيروس عوز المناعة الانساني في عينات مرضى مصابون بالأيدز بإستعمال تقنية الاليزا. أجرت الدراسة في مستشفى الخرطوم التعليمي وحدة الأيدز.

جمعت 100 عينة من مرضى مؤكد اصابتهم بالأيدز تم اختيارهم بشكل عشوائي و 50 عينة من اصحابه غير مصابين بالأيدز على ورق الترشيح وجفت. العينات المجمعة حفظت في درجات حرارة مختلفة ولدراسة تأثيرها وتاثير الزمن على إستقرار الأجسام المضادة للفيروس.

استخلص الدم من ورق الترشيح عن طريق محلول منظم فوسفاتي لاختبار الأجسام المضادة للأيدز كما هو موضح في طريقة الفحص. ثم قورنت النتائج مع بعضها.

اظهرت النتائج بان كشف الأجسام المضادة للأيدز من الدم المستخلص من ورق الترشيح المشبع صالحه للكشف لمدة شهرين با لنسبة لكل العينات التي حفظت في الثلاجه (درجة حرارة 4 مئويه- 8 مئويه) والحضانه في درجة حرارة 37 مئويه وفى درجة حرارة الغرفة . بعد ذك بذات العينات تدهور تدريجيا في كمية الأجسام المضادة وبمرور ثلاثة اشهر اصبحت كل العينات سالبه لل أجسام المضادة لفيروس عوز المناعة الانساني.

أوضحت نتائج الدراسة ايضا ان الأجسام المضادة للأيدز في الدم المجفف على ورق الترشيح الموضوعة في الثلاجه اكثر استقرارا من الموضوعه في درجة حرارة الغرفة وفى درجة حرارة 37 مئويه.

أوضحت الدراسة ايضا ان استعمال ورق الترشيح في جمع العينات اكثرا سهولة واقل تكلفه و بسيط، ورخيص بالإضافة الى انه اقل خطورة من حيث تعرض العاملين

للدوى وتقلل من الفا قد فى العينات مقارنة بالطريقه العاديه لفحص مصل الدم (السيروم) وايضا ورقه الترشيح اسهل تخزينها وترحيلها وبها قليل خطورة.

Table of contents

	Page
Dedication	I
Acknowledgements	II
Abstract (English)	III
Abstract (Arabic)	V
Table of contents	VI
List of tables	VIII
List of Figures	VIII
Chapter One: Introduction	
1.1 Introduction	1
1.2. Epidemiology	3
1.3. Etiology	6
1.4. Classification of HIV	6
1.5. HIV virion	7
1.6. HIV genome	9
1.7. Human cells susceptible to HIV infection	10
1.8. Body fluids containing HIV virus	11
1.9. Mode of transmission	11
1.10. Life cycle of HIV	14
1.11. Clinical features	16
1.12. Heterogeneity of HIV strains	18
1.13. Long-Term Non progressive HIV Infection	19
1.14. Cancer Development in HIV Infection	20
1.15. Laboratory diagnosis	21
1.15.1. Antigen Detection	22
1.15.2. Virus Isolation	22
1.15.3. Antibody detection	23
1.15.4. Serological tests for HIV	24
1.16. Techniques for Blood Collection on Filter Paper	27
1.17. Rationale	27
1.18. Objectives	28
1.18.1. General objective	28
1.18.2. Specific objective	28
Chapter Two: Literature Review	
2.1 Literature Review	29
Chapter Three: Materials and Method	
3.1 Materials and Method	54
Chapter Four: Results	
4- Results	59
Chapter Five: Discussion	

5-	Discussion	68
	Conclusion & Recommendation	71
	References	72
	Appendices	

list of tables and figures

Table (1) Result of samples kept at room temperature	61
Table (2) Result of strips stored in incubator at 37°C.	62
Table (3) Result of strips kept at refrigerator...	63
Table (4) comparison between the results of dried blood spot tested for HIV antibodies under different storage condition.....	64
Table (5): Comparison between the cost of collection of specimen by the conventional venipuncture and dried blood spot.....	66
Table (6) Comparison between conventional method and dried blood spot.....	67
Fig (1) Schematic representation of the structure of HIV	(8)