



TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**Aplicabilidade de “Dry Blood Spots” como estratégia de amostragem de
sangue para as análises clínicas e pesquisa**

Aluno: Maria Luisa Gomes de Carvalho

Orientador: Jarlei Fiamoncini

São Paulo, 2024

AGRADECIMENTOS

A jornada acadêmica é repleta de desafios e, felizmente, não a percorremos sozinhos. Por isso, gostaria de expressar minha mais profunda gratidão àqueles que estiveram ao meu lado durante este caminho.

Primeiramente, agradeço ao meu orientador, Jarlei Fiamoncini, pela orientação valiosa, paciência e incentivo durante todo o meu processo. A sua expertise e apoio foram fundamentais para a realização deste trabalho.

À minha amiga Stephany Gonçalves Duarte, que esteve sempre presente durante o processo de escrita, oferecendo ajuda, motivação e me encorajando quando mais precisei. Sua amizade e companheirismo fizeram toda a diferença.

À minha irmã Mariana Gomes de Carvalho, a mulher que sempre foi meu maior exemplo de dedicação e paixão pelo conhecimento. Seu incentivo constante e sua presença me inspiraram a nunca desistir dos meus sonhos, você quem sempre brilhou os meus olhos para a importância dos estudos, e por isso, sou eternamente grata.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. RESUMO | 3 |
| 2. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA | 4 |
| 3. OBJETIVOS | 4 |
| 4. METODOLOGIA | 5 |
| 5. RESULTADOS | 5 |
| 5.1 DRY BLOOD SPOT | 5 |
| 5.2 APLICAÇÕES DA TÉCNICA DE AMOSTRAGEM DE SANGUE NA FORMA DE DBS | 7 |
| 5.2.1 TRIAGEM NEONATAL | 8 |
| 5.2.2 ANÁLISES GENÔMICAS | 10 |
| 5.2.3 METABOLÔMICA | 11 |
| 5.2.4 PROTEÔMICA | 14 |
| 5.2.5 LIPIDÔMICA | 16 |
| 5.2.6 TOXICOLOGIA | 20 |
| 5.2.7 DOENÇAS INFECCIOSAS | 21 |
| 5.2.7.1 HIV | 22 |
| 5.2.7.2 HEPATITES | 22 |
| 5.2.7.3 SÍFILIS | 23 |
| 5.2.7.4 MALÁRIA | 24 |
| 5.2.7.5 DOENÇA DE CHAGAS | 24 |
| 5.2.7.6 CITOMEGALOVÍRUS | 25 |
| 5.2.7.7 DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA | 25 |
| 5.2.7.8 SARS-CoV-2 | 26 |
| 5.3 VANTAGENS E DESVANTAGENS DO USO DBS | 26 |
| 5.3.1 VANTAGENS | 27 |
| 5.3.2 DESVANTAGENS | 28 |
| 6. PERSPECTIVAS FUTURAS | 29 |
| 7. CONCLUSÃO | 30 |
| 8. BIBLIOGRAFIA | 33 |

1. RESUMO

Os Dry Blood Spots (DBS) surgiram como uma estratégia inovadora para a amostragem de sangue, oferecendo uma alternativa prática e acessível para a coleta e análise de biofluidos. Essa técnica tem amplo leque de aplicações, como triagem neonatal, monitoramento terapêutico de medicamentos, diagnóstico de doenças infecciosas, estudos toxicológicos e epidemiológicos, além de pesquisas em metabolômica, lipidômica, proteômica, e análise de drogas de abuso, doping, poluentes ambientais, imunologia e estudos genômicos. A principal vantagem dos DBS é a simplicidade na coleta, o armazenamento em temperatura ambiente e o transporte facilitado, fatores que reduzem significativamente os custos e ampliam o acesso a testes laboratoriais, especialmente em regiões remotas ou com infraestrutura limitada. Contudo, o método também apresenta limitações que podem impactar a precisão e confiabilidade dos resultados, como a variabilidade no volume de sangue coletado, a quantidade reduzida de amostra disponível e a influência do hematócrito na absorção do sangue no papel filtro. Apesar dessas restrições, o uso dos DBS apresenta perspectivas promissoras. Há potencial para expandir sua aplicação em áreas como as ômicas e a medicina personalizada, contribuindo para a democratização do acesso à saúde e o avanço da pesquisa científica.

Palavras-chaves: Dry Blood Spot; manchas secas de sangue; Triagem neonatal,

2. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A realização de pesquisas e rastreamentos populacionais ao longo dos anos têm encontrado alguns obstáculos logísticos, especialmente em relação à coleta e análise de amostras biológicas coletadas em áreas mais remotas com baixa infraestrutura. No entanto, avanços tecnológicos e metodológicos recentes têm mitigado muitas dessas limitações, permitindo o desenvolvimento de métodos alternativos para coleta de amostras e análises de biomarcadores em pesquisas populacionais. Como exemplo, o uso de *Dry Blood Spot* (DBS) tem se destacado devido a sua praticidade, boa estabilidade e facilidade de armazenamento e transporte. A técnica apresenta uma maneira menos invasiva de coleta de sangue através de um único furo, normalmente no dedo ou calcanhar do paciente, e amostragem de uma ou mais gotas de sangue em um papel de filtro específico que possui propriedades absorventes. Esse papel, após a secagem, é capaz de preservar os analitos presentes no sangue por períodos prolongados, mesmo sem refrigeração, o que reduz significativamente os custos e a complexidade logística envolvida. Ademais, a técnica apresenta uma maior aceitabilidade e conforto para o paciente, uma vez que é um método menos invasivo e indolor, sendo preferível para alguns grupos, especialmente para crianças e populações vulneráveis. Essas características tornam o DBS uma ferramenta valiosa tanto para análises clínicas quanto para pesquisas científicas, incluindo o monitoramento terapêutico de fármacos, triagem neonatal, estudos epidemiológicos, dentre outros.

3. OBJETIVOS

A pesquisa proposta tem por objetivo investigar a aplicação do método de coleta de amostras de sangue denominado *Dry Blood Spot* (DBS) em diferentes áreas como toxicologia forense, monitoramento terapêutico, estudos clínicos, entre outras. A pesquisa irá apresentar o estado da arte sobre a aplicação do DBS, bem como os desafios relacionados a quantificação e identificação de marcadores biológicos a partir dessa técnica e o que podemos esperar da sua aplicação no futuro.

4. METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada a partir da revisão de artigos científicos publicados em revistas indexadas nas bases de dados PubMed, ScienceDirect, Web of Knowledge e livros acadêmicos. Além do mais, definiu-se uma estratégia de busca a partir da combinação das palavras chaves: “Dry Blood Spot” e “DBS” com “Clinical Application” e “Advances”. Após a leitura do material, foram elaborados fichamentos analíticos que orientaram na elaboração do manuscrito com resultados qualitativos.

5. RESULTADOS

5.1 DRY BLOOD SPOT

A técnica de coleta de sangue na forma de manchas secas de sangue ou *Dry Blood Spots* (DBS) foi descrita pela primeira vez por Ivan Bang, como método alternativo para a coleta de sangue para determinação da glicemia (Bang I., 1913). Contudo, a técnica se tornou mais relevante após 1963, quando Robert Guthrie propôs a aplicação desta técnica de coleta para o rastreamento da fenilcetonúria em recém-nascidos (Guthrie R., 1996). A fenilcetonúria é uma doença genética causada pela ausência, ou diminuição, da atividade da enzima hepática fenilalanina hidroxilase que, por sua vez, causa anomalias no cérebro em desenvolvimento. Caso detectada precocemente, a doença pode ser efetivamente tratada, impedindo o aparecimento das manifestações clínicas. A partir das descobertas de Guthrie, a triagem neonatal começou a se expandir pelo mundo, sendo implementada no Brasil em 1992, pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Atualmente, o Teste do Pezinho oferecido pelo SUS é capaz de rastrear 6 diferentes tipos de doenças, sendo elas crônicas, genéticas, metabólicas, endócrinas e infecciosas (Brasil, 2021, p.1).

O DBS é um método não invasivo para coleta de amostra de sangue capilar. Esta técnica de microamostragem envolve a coleta do sangue através de um furo na pele (de um dedo ou calcanhar, no caso dos recém-nascidos), com auxílio de uma lanceta

descartável. A gota de sangue formada é depositada em um substrato, normalmente celulose/papel de filtro ou à base de polímeros sintéticos. Por capilaridade, a gota de sangue é absorvida pelo substrato e forma um círculo com cerca de 1 cm de diâmetro (Figura 1). Em seguida, a amostra passa por uma etapa de secagem à temperatura ambiente que dura em torno de 2 a 3 horas, podendo variar de acordo com o papel de filtro utilizado, temperatura e umidade do ambiente (Denniff, 2010). As amostras são, por fim, armazenadas em embalagens opacas e seláveis contendo sachês dessecantes e cartões indicadores de umidade, a fim de garantir que as amostras estejam protegidas contra a luz e umidade.

Figura 1. Amostragem de sangue em DBS

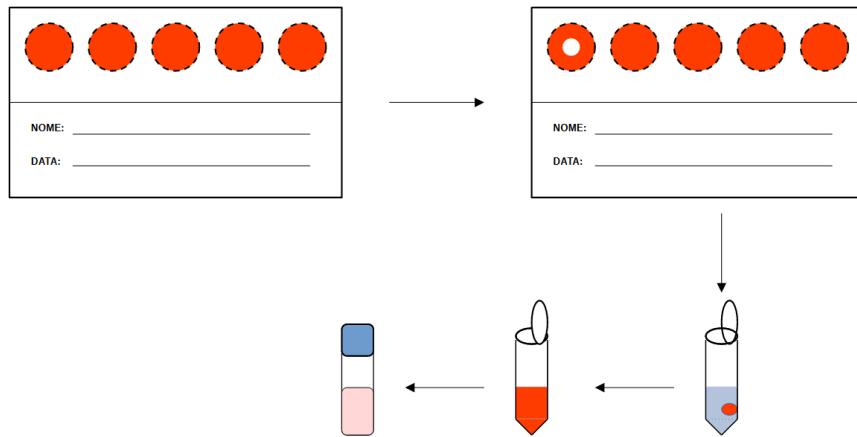


As amostras de DBS, após secas, apresentam boa estabilidade para a maioria dos marcadores biológicos, contudo, a taxa de degradação de cada analito é variável, tornando-se necessário o conhecimento da estabilidade de cada um deles para que as amostras sejam devidamente armazenadas e conservadas. Dependendo do tipo de molécula biológica, a conservação pode variar de 1 semana para algumas proteínas, até um ano para os ácidos nucleicos (Lehmann, 2013). No caso de amostras com biomarcadores instáveis, estas devem ser mantidas congeladas durante o armazenamento, mantendo-se viável por vários anos (Li K, 2020).

O preparo da amostra para a análise envolve a perfuração de um disco de diâmetro fixo (3 mm, por exemplo), na mancha de sangue seco utilizando um perfurador padrão, podendo ser coletado um único disco da mancha de sangue ou vários discos (Figura 2). Como o diâmetro é definido, pode-se estimar o volume de sangue na amostra com uma certa precisão. Após essa etapa, um ou mais discos são adicionados a um

tampão/solvente de eluição durante um determinado tempo e a uma certa temperatura. Assim, os metabólitos de interesse da amostra são extraídos e podem ser analisados de acordo com o interesse (Mcdade T., 2007).

Figura 2. Processamento das amostras de DBS



Diferentes técnicas podem ser usadas para a quantificação de analitos: imunoensaios, cromatografia gasosa (GC), cromatografia líquida (LC) acoplada a detectores ultravioleta (UV) ou de fluorescência, ou espectrometria de massa (MS) ou espectrometria de massa tandem (MS/MS) (Ververi C., 2022). Atualmente, a LC acoplada à MS/MS representa o método instrumental com mais sensibilidade, precisão e exatidão, além de apresentar uma alta velocidade de análise (Ververi C., 2022).

5.2 APLICAÇÕES DA TÉCNICA DE AMOSTRAGEM DE SANGUE NA FORMA DE DBS

Devido às suas inúmeras vantagens, a tecnologia DBS tem sido amplamente estudada e aplicada como método de coleta alternativo para a identificação e quantificação de uma gama de analitos em pacientes e participantes de pesquisas. Além da triagem neonatal, os cartões DBS têm sido utilizados para a detecção de vírus e análise de ácidos nucleicos por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) ou reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR) (Londhe V., 2020). Ademais, os DBS também podem ser utilizados para estudos clínicos e epidemiológicos, controle

de qualidade laboratorial, testes de drogas e detecção de patógenos. Nos últimos anos, os DBS também têm sido cada vez mais utilizados em outros campos, como monitoramento terapêutico de drogas e substâncias de abuso, farmacocinética (Martial L., 2018), proteômica (Bjorkesten J., 2017), lipídica (Gao F., 2017) e metabolômica (Petrick L., 2017). Em 2021, o uso do DBS também se mostrou bem-sucedido para estudos com a COVID-19 e pesquisa epidemiológica usando ensaios baseados em ELISA (Fontaine & Saez, 2021).

5.2.1 TRIAGEM NEONATAL

A triagem neonatal com o uso de DBS é uma técnica que revolucionou a detecção precoce de doenças congênitas e metabólicas em recém-nascidos. Introduzido inicialmente na década de 1960 por Guthrie, o DBS permitiu a coleta de pequenas quantidades de sangue de maneira minimamente invasiva, facilitando a realização de testes laboratoriais em larga escala. A utilização do DBS na triagem neonatal é crucial, uma vez que permite a identificação precoce de doenças que, se não diagnosticadas e tratadas precocemente, podem levar a deficiências graves ou até à morte (Guthrie, 1996). A detecção precoce possibilita intervenções imediatas, que podem incluir mudanças na dieta, administração de medicamentos ou outras terapias específicas, melhorando significativamente a qualidade de vida das crianças afetadas.

Ao longo dos anos, expandiu-se o número de analitos que podem ser dosados em DBS, permitindo a triagem de uma gama crescente de doenças. Inicialmente restrita a poucas condições, como a fenilcetonúria e o hipotireoidismo congênito, a triagem neonatal com DBS atualmente abrange diversas doenças crônicas, genéticas, metabólicas, endócrinas e infecciosas. A expansão do painel de triagem foi impulsionada pelos avanços nas tecnologias de detecção, como espectrometria de massa em tandem e técnicas de biologia molecular.

No Brasil, a triagem neonatal é regulamentada pelo Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), implementado pelo Ministério da Saúde. O programa, conhecido como "Teste do Pezinho", é obrigatório e gratuito, abrangendo todas as maternidades e unidades de saúde do país. O painel básico inclui a triagem de doenças como

fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, anemia falciforme, fibrose cística, hiperplasia adrenal congênita e deficiência de biotinidase (Brasil, 2021, p. 1) (Tabela 1). A Lei nº 14.154, sancionada em 2021, estabeleceu a ampliação do exame para englobar 14 grupos de doenças, que podem identificar até 50 tipos diferentes de enfermidades e condições especiais de saúde (Anvisa, 2021). No entanto, essa expansão ainda está em processo de implementação no SUS, sendo oferecido somente em laboratórios privados até o presente momento.

Tabela 1: Doenças diagnosticadas através Teste do Pezinho

| Doença | Descrição | Consequências | Refs * |
|--|--|--|--------|
| Hipotireoidismo Congênito (HC) | Condição em que a glândula tireóide do recém-nascido não produz quantidades suficientes de hormônios tireoidianos. | Deficiência mental, nanismo, problemas no desenvolvimento cognitivo e motor. | 1 |
| Fenilcetonúria (PKU) | Doença genética que causa a incapacidade de metabolizar a fenilalanina. | Deficiência intelectual, comprometimento emocional e complicações neurológicas. | 2 |
| Fibrose Cística (FC) | Doença genética que afeta os pulmões, pâncreas e outros órgãos, causando acúmulo de muco espesso e viscoso. | Insuficiência pancreática, má absorção de nutrientes, doença pulmonar crônica progressiva, risco aumentado de desidratação e distúrbios metabólicos. | 3 |
| Anemia Falciforme e outras Hemoglobinopatias | Doenças hereditárias que afetam a estrutura da hemoglobina. A anemia falciforme produz glóbulos vermelhos em forma de foice. | Crises dolorosas, anemia hemolítica crônica, lesões isquêmicas teciduais e danos nos órgãos. | 4 |
| Hiperplasia Adrenal Congênita (HAC) | Grupo de doenças genéticas que afetam as glândulas suprarrenais, resultando em desequilíbrios hormonais. | Problemas graves com eletrólitos, desidratação, choque, desenvolvimento sexual anormal. | 5 |
| Deficiência de Biotinidase (DB) | Doença genética que impede o corpo de reciclar a biotina endógena ou usar a biotina ligada às proteínas da dieta. | Manifestações neurológicas, anormalidades respiratórias, <i>rash</i> cutâneo e alopecia | 6 |

(*) 1. Léger J. et al., 2014; 2. Kalkanoglu H. S. et al., 2005; 3. Ratjen F. et al., 2015; 4. ANVISA, 2002; 5. Merke DP. et al., 2002; 6. Baumgartner ER. et al., 1989.

5.2.2 ANÁLISES GENÔMICAS

Além da triagem neonatal, DBS têm sido amplamente utilizados em testes genéticos, permitindo a coleta de amostras de DNA para análises como a identificação de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs), sequenciamento de DNA e detecção de mutações genéticas. Essa técnica é fundamental para pesquisas genômicas em larga escala, como estudos de associação de genoma completo e estudos epidemiológicos (Sok, P. et al., 2020).

Na área da farmacogenômica, os DBS desempenham um papel crucial ao permitir a coleta de amostras de sangue para análise genética de pacientes. Um estudo conduzido por Castrichini et al. (2023) ilustrou a eficácia do DBS na análise de variantes genéticas relevantes para a metabolização de medicamentos, como o gene CYP2C19 em pacientes tratados com clopidogrel. Os resultados demonstraram uma concordância substancial entre os perfis genéticos obtidos de amostras de DBS e de sangue venoso, destacando a precisão e a viabilidade do DBS para análises farmacogenômicas (Castrichini M., et al., 2023). Essa abordagem permite prever de forma mais precisa a resposta individual aos medicamentos e potenciais efeitos adversos, promovendo assim uma medicina personalizada baseada nas características genéticas dos pacientes.

Ademais, os DBS são valiosos em estudos clínicos de terapia genética, permitindo o monitoramento dos níveis de expressão gênica e a eficácia da terapia ao longo do tempo. Um estudo realizado por Koster et al. (2019), demonstrou a viabilidade de usar amostras de DBS para monitorar os níveis de RNA mensageiro em pacientes submetidos a terapia genética para doenças metabólicas. Os pesquisadores encontraram uma correlação significativa entre os níveis de RNA mensageiro detectados em DBS e através de métodos tradicionais de coleta de sangue (Koster, J., et al., 2019).

5.2.3 METABOLÔMICA

A metabolômica é um campo emergente e é definida como a medição abrangente de todos os metabólitos e moléculas de baixo peso molecular em uma amostra biológica

(Fiehn O., 2002). Os conceitos iniciais da técnica foram introduzidos por Roger Williams e seus associados, em meados de 1940, com a ideia de um “perfil metabólico”, sugerindo a existência de padrões metabólicos característicos em fluidos biológicos que poderiam estar associados a doenças, como a esquizofrenia (Gates S. et al., 1978). Com os avanços tecnológicos na década de 1960 e com o surgimento de técnicas como a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS), a medição de metabólitos se tornou mais viável e precisa, contribuindo para o avanço de uma série de estudos. O termo “metabolômica” foi oficialmente mencionado em 1998 por Stephen Oliver, em um artigo de revisão sobre genômica funcional de leveduras (Oliver et al., 1998). Desde então, a metabolômica cresceu significativamente, resultando no estabelecimento de diversas pesquisas e bancos de dados, como o Projeto do Metaboloma Humano, iniciado em 2004, o qual teve como objetivo catalogar todos os metabólitos humanos, solidificando a metabolômica como uma área essencial de pesquisa (Clish C., 2015).

Um estudo metabolômico foi realizado com crianças obesas a fim de investigar a relação entre as mudanças no metabolismo de aminoácidos e a resistência à insulina no estado de jejum e após um teste de tolerância à glicose oral (OGTT). O principal achado foi que a tirosina está positivamente correlacionada com o resultado do Modelo de Avaliação da Homeostase (HOMA), sugerindo que esse aminoácido está associado à resistência a insulina (Hellmuth et al., 2015).

Uma das grandes vantagens da metabolômica está na sua capacidade de fornecer uma visão integrada do fenótipo molecular de um organismo, complementando informações obtidas através de outras disciplinas “ômicas”, como a proteômica e a lipídica, tornando possível a identificação de biomarcadores de doenças. Nesse contexto, os DBS se destacam como uma ferramenta promissora para facilitar a execução de estudos que envolvam análise metabolômica, de forma que diversos estudos demonstraram o uso do papel de coleta na detecção precoce de doenças metabólicas congênitas, monitoramento de terapias e identificação de biomarcadores para doenças complexas, como diabetes e doenças cardiovasculares (Tabela 2).

Tabela 2. Estudos que utilizaram DBS como forma de amostragem baseados em metabolômica

| Métodos* | Marcadores** | Aplicações | Referências*** |
|---|---|---|----------------|
| UHPLC-MS/MS | Colina, Betaína, TMAO, Creatinina, L-carnitina, Hcy, Ile, Leu, Val, Phe, Try, Trp | Síndrome metabólica e doenças cardiovasculares | 1 |
| qPCR | Ácidos nucléicos (RNA/DNA) | Doenças virais, citomegalovírus. Vírus herpes, hepatite B e C, HIV. | 2 |
| Espectrometria de massas | Metabólitos | Distúrbios metabólicos congênitos | 3 |
| LC-MS/MS | Glicose | Diabetes tipo 2 | 4 |
| UHPLC-MS/MS | Metabólitos | Monitoramento do tratamento antirretroviral | 5 |
| Imunoensaços fluorescentes de lantanídeos | Tireoglobulina | Função da tireoide | 6 |
| UHPLC-MS/MS | Substâncias narcóticas (opiáceos, metadona, fentanil e análogos, cocaína, anfetaminas, cetamina, LSD) | Controle de doping e monitoramento de terapia | 7 |
| LC-MS/MS | Cocaína, benzoilecgonina, éster metílico de ecgonina e cocaetileno. | Amostras de sangue post-mortem | 8 |
| Espectrometria de massas | Triagem neonatal | Doenças congênitas metabólicas, endócrinas, hematológicas em recém-nascidos | 9 |
| Cromatografia de afinidade | Níveis de hemoglobina A1c (HbA1c), lipídeos | Diabetes | 10 |
| LC-TOF MS | Metabólitos | Diabetes Mellitus | 11 |

| Métodos* | Marcadores** | Aplicações | Referências*** |
|--------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|----------------|
| Espectrometria de massas | Poluentes orgânicos persistentes | Diabetes tipo 2, obesidade infantil | 12 |
| LC-ESI-MS/MS | Metabólitos | Síndrome MELAS | 13 |

* UHPLC-MS/MS = Cromatografia líquida de ultra-performance acoplada à espectrometria de massas em tandem; qPCR-Reação em cadeia da polimerase quantitativa; LC-MS/MS = Cromatografia líquida seguida de espectrometria de massas; LC-TOF MS = Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas com analisador de Tempo de Voo; LC-ESI-MS/MS = Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas por ionização por eletrospray.

** Hcy-Homocisteína; Ile-Isoleucina; Leu-Leucina; Val-Valina; Phe-Fenilalina; Try-Tirosina; Trp-Triptofano

*** ¹(LIU et al., 2020); ²(GÖHRING et al., 2010; KENMOE et al., 2018; VILLAR et al., 2019); ³(DE SAIN-VAN DER VELDEN et al., 2017); ⁴(COELHO et al., 2016); ⁵(TOBIN N. et al., 2021); ⁶(ZIMMERMANN et al., 2003); ⁷(ODOARDI; ANZILLOTTI; STRANO-ROSSI, 2014); ⁸(MORETTI et al., 2018); ⁹(MAK et al., 2013); ¹⁰(AFFAN et al., 2014); ¹¹(CHIU et al., 2024); ¹²(BREIVIK et al., 2006; LIGNELL et al., 2013; VALVI et al., 2012); ¹³(LI K. et al., 2020).

Um estudo de Liu et al. (2020), avaliou o perfil metabolômico de 526 pacientes com doenças cardiovasculares e 200 voluntários saudáveis utilizando DBS como método de coleta, identificando padrões metabólicos que diferenciam grupos saudáveis dos doentes, observando que os principais biomarcadores de risco para doenças cardiovasculares incluem lipídios séricos, proteína C-reativa e homocisteína (Liu L. et al., 2020). Outro estudo comparativo investigou o uso de amostras de plasma e DBS para a análise metabolômica em paciente com diabetes mellitus (DM) e não diabéticos, demonstrando que, dentre os 300 metabólitos quantificados, o ácido 2-hidroxibutírico e hexoses, presentes em ambas as amostras, mostraram alta correlação e permitiram a distinção eficaz entre os pacientes com DM dos não diabéticos (Chiu et al., 2024).

Além disso, um outro estudo comparativo, realizado com mulheres grávidas vivendo com HIV sob tratamento com antirretrovirais, avaliou a eficácia da técnica DBS em relação ao plasma em uma análise metabolômica não direcionada e, utilizando técnicas DBS em relação ao plasma em uma análise metabolômica não direcionada e, utilizando técnicas de cromatografia líquida de ultra-performance-espectrometria de massa em tandem (UPLC-MS/MS) para quantificação, os autores observaram que dos 984 compostos identificados nas amostras, 627 (63,7%), 260 (26,4%) e 97 (9,9%) foram detectados em ambas as amostras, apenas no plasma e apenas no DBS, respectivamente, corroborando com a ideia de que o DBS é uma matriz promissora de

amostragem em estudos metabolômicos (Tobin N. et al., 2021). Outro estudo, realizado com 12 pacientes pediátricos com síndrome MELAS (do inglês, *Mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes*) e 12 pacientes controle, demonstrou a capacidade de detectar, de forma confiável, cerca de 430 metabólitos de diversas classes químicas em uma única injeção e analisada por LC-ESI-MS/MS, obtendo uma excelente correlação do metaboloma obtido a partir de DBS com outros tipos de amostras de sangue, confirmado sua eficácia como ferramenta analítica. Além disso, esse mesmo estudo avaliou a estabilidade das amostras de DBS em três condições diferentes e observou que as amostras mostraram ser mais estáveis quando armazenadas a -80 °C com dessecantes e sem um sequestrante de oxigênio (Li K. et al., 2020).

5.2.4 PROTEÔMICA

A proteômica é o estudo em grande escala das proteínas, a qual desempenha um importante papel na compreensão dos mecanismos biológicos e no desenvolvimento de novos diagnósticos e tratamentos para várias doenças. A escolha do cartão de coleta da amostra é essencial para este tipo de análise, uma vez que impacta de forma significativa a precisão analítica. A maioria dos estudos proteômicos utilizam cartões de celulose pura, enquanto alguns cartões contêm substâncias caotrópicas que desnaturam proteínas e destroem células (Lim, 2018).

Embora o uso de DBS já esteja bem consolidado em diversas áreas de quantificação para pequenas moléculas, sua aplicação em análises de proteínas e peptídeos ainda é relativamente pouco explorada (Thomas & Thevis, 2018). Entretanto, essa técnica tem ganhado maior popularidade em estudos de *doping* devido à sua relação custo-eficácia e invasividade mínima, podendo funcionar como uma ferramenta complementar para aumentar a capacidade de processamento de amostras (Tabela 3).

Tabela 3. Estudos que utilizaram DBS como forma de amostragem baseados em proteômica

| Métodos* | Marcadores** | Aplicações | Referências*** |
|--|--|---|----------------|
| Análise imunoturbidimétrica da hemoglobina glicada | Proteínas e peptídeos | Vírus Epstein-Barr | 1 |
| Ensaio imunoenzimático | Proteínas e peptídeos | Vírus da rubéola, vírus da dengue, vírus da hepatite C, vírus HIV | 2 |
| HPLC/MS | Peptídeo C | Monitoramento da função das células beta | 3 |
| HPLC/MS | Proteínas e peptídeos | Doença de Wilson | 4 |
| HiRIEF / LC-MS/MS | Proteínas virais (S e N), proteínas de resposta imune (IL-6, PCR) e outras proteínas | Diagnóstico clínico de COVID-19 | 5 |
| LC-HRMS | Peptídeos de baixa massa molecular | Controle de Doping | 6 |
| Espectrometria de massas | Bradicinina, HK, C1-INH e outras proteínas | Diagnóstico de angioedema hereditário | 7 |

* HPLC/MS- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas; HiRIEF / LC-MS/MS- Isofocalização Eletromagnética de Alta Resolução acoplada à Cromatografia Líquida e Espectrometria de Massas em Tandem; LC-HRMS- Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução.

** S- proteína Spike; N-proteína nucleocapsídica; IL-6 - Interleucina 6; PCR- proteína C reativa; HK - Cininogênio de Alto Peso Molecular; C1-INH - Inibidor de C1.

*** ¹(BASSI et al., 2020); ²(BALMASEDA et al., 2008; HELFAND et al., 2007; TUAILLON et al., 2010; VÁZQUEZ-MORÓN et al., 2018); ³(TUAILLON et al., 2010); ⁴(TUAILLON et al., 2010); ⁵(FREDOLINI et al., 2024); ⁶(LANGE et al., 2020); ⁷(IURASHCU MI. et al., 2023).

Um estudo conduzido por Andreas et al. (2011) concluiu que amostras de sangue coletadas por DBS oferecem um potencial para determinar a concentração atual de substâncias circulantes antes ou após a competição, essencial para substâncias proibidas em esportes. Outro estudo foi capaz de quantificar 46 analitos peptídicos ou

não peptídicos de menor massa molecular (<2 kDa) de diferentes categorias de agonistas de receptores, sendo que mais de 60% dos analitos detectados estavam abaixo do limite mínimo de desempenho exigido pela Agência Mundial Antidoping (WADA) de 2 ng/mL para urina, validando a sensibilidade do DBS para identificar a presença de substâncias ilícitas mesmo que estejam em concentrações muito baixas (Lange et al., 2020).

Além disso, outra pesquisa investigou o perfil proteômico de amostras de DBS coletadas durante a pandemia da COVID- 19 por voluntários em casa. A análise revelou a presença de diversas proteínas virais e proteínas do hospedeiro que estão correlacionadas com a infecção, sugerindo que o DBS pode ser uma ferramenta eficaz para monitorar a resposta do corpo à infecção por SARS-CoV-2 (Fredolini et al., 2024). Adicionalmente, um estudo recente demonstrou a utilidade do DBS para diagnóstico e monitoramento de condições relacionadas à deficiência do Inibidor de C1 Esterase (C1-INH), como angioedema hereditário (HAE). O estudo confirmou que os níveis patológicos de C1-INH em DBS permitiram a triagem inicial de pacientes, e a combinação com testes genéticos subsequentes, ajudou a confirmar o diagnóstico e reduzir os casos negativos. Além disso, o uso de DBS mostrou similar precisão em comparação com os métodos clássicos de imunossensores, demonstrando a versatilidade e escalabilidade desta abordagem para o diagnóstico de doenças (Iurașcu MI. et al., 2023).

5.2.5 LIPIDÔMICA

Os lipídios são um grupo amplo de biomoléculas envolvidas em diversas funções biológicas críticas, como estrutura da membrana celular, armazenamento de energia, sinalização celular e homeostase. A lipidômica é a ciência que busca a caracterização abrangente dos lipídios presentes em uma amostra biológica (Lam et al., 2013). A manutenção da concentração apropriada de lipídios envolvidos em estruturas ou vias de sinalização é regulada pelo metabolismo para garantir o controle homeostático. Portanto, não é surpreendente que defeitos ou alterações no metabolismo dos lipídios estejam relacionados a uma série de condições patológicas, incluindo doenças

cardiovasculares (Lusis, 2000), metabólicas (Unghe, 2002) e neurodegenerativas (Silva et al., 2023).

O uso de DBS, tem se mostrado uma abordagem promissora na análise lipidômica devido a facilidade de coleta e transporte e a estabilidade de grande número de metabólitos, incluindo os lipídios (Tabela 4). Com a avanço das tecnologias analíticas como espectrometria de massas (MS), espectroscopia por ressonância magnética nuclear (RMN) e cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS), o estudo do lipidoma vêm se aprimorando, sendo possível detectar milhares de compostos lipídicos de forma qualitativa e quantitativa (HU; ZHANG, 2018). Um estudo mostrou a existência de uma forte correlação entre o perfil lipidômico de amostras de plasma e de DBS, com uma correlação linear $r = 0,97$ e coeficiente de correlação intraclasse de 0,96 (Quraishi et al., 2006). Além disso, a pesquisa mostrou que os triglicerídeos permanecem estáveis em DBS por até 30 dias em temperatura ambiente e por 90 dias a 4°C, com uma recuperação média de 99.6%, reforçando a viabilidade do uso de DBS para estudos de longo prazo e análises em diferentes condições ambientais (Quraishi et al., 2006).

Tabela 4. Estudos que utilizaram DBS como forma de amostragem baseados em lipidômica

| Métodos* | Marcadores** | Aplicações | Referências*** |
|--------------------------|--|---|----------------|
| GC-MS | Ácidos graxos livres | Distúrbios de oxidação de ácidos graxos em crianças | 1 |
| LC-MS | Espécies polares de lipídios, especialmente liso-SM e SM | Diagnóstico para doença de Niemann-Pick tipo B | 2 |
| LC-MS/MS | Ésteres etílicos de ácidos graxos | Confirmação de ingestão de etanol | 3 |
| Espectrometria de massas | Lipídios | Alzheimer, câncer, reação inflamatória. Doenças neurodegenerativas e cardiovasculares | 4 |

| Métodos* | Marcadores** | Aplicações | Referências*** |
|--------------------------------|--|--|----------------|
| Teste colorimétrico enzimático | Lipídios | Quantificação de LDL, HDL e triglicerídeos | 5 |
| Espectrometria de massas | Lipídios | Homeostase lipídica | 6 |
| Espectrometria de massas | Lipídios | Metabolismo lipídico em bebês | 7 |
| DIHRMS | Lipídios | Diagnóstico de encefalopatia hipóxico-isquêmica em recém-nascidos | 8 |
| ESI-MS/MS | Carnitina e γ -butirobetaína | Diagnóstico de acidúrias orgânicas e distúrbios da oxidação de ácidos graxos | 9 |
| GC-MS | Glicerofosfolipídios | Avaliação de ácidos graxos em jejum e alimentado | 10 |
| HPLC-MS/MS | Ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 e ômega-6 | Pesquisa em Inflamação e Doenças Crônicas | 11 |
| SFC-HRMS | Lipídios | Perfil lipidômico | 12 |
| GC-FID | Ácidos graxos | Estabilidade e comparação entre DBS, sangue total e eritrócitos | 13 |
| HPLC-MS/MS | PL, Colesterol, CE, TG | Eficiência de extração, supressão de íons e efeitos de ionização da matriz. | 14 |

* GC-MS = Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas; DIHRMS = Espectrometria de Massas de Alta Resolução por Infusão Direta; ESI-MS/MS = Espectrometria de Massas em Tandem por Ionização por Espalhamento; SFC-HRMS = Cromatografia Supercrítica Acoplada à Espectrometria de Massas de Alta Resolução; GC-FID = Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização em Chama; HPLC-MS/MS = Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massa em Tandem.

** Liso-SM- Lisoesfingomielina; SM- Esfingomielina; PL-fosfolipídeos; CE- colesterol esterificado; TG-triglicerídeos.

*** ¹(KIMURA M., et al. 2002); ²(CHUANG WL., et al. 2014); ³(LUGINBUHL M., et al. 2016); ⁴(WU B., 2021); ⁵(SNOWDEN, S., et al. 2020); ⁶(GAO, F., et al. 2017b); ⁷(KOULMAN, A., et al. 2014b); ⁸(NIXON, R. et al., 2021); ⁹(PRIMASSIN, S.; SPIEKERKOETTER, U., 2010); ¹⁰(DRZYMAŁA-CZYŻ, S. et al., 2017); ¹¹(HEWAWASAM, E. et al., 2017); ¹²(LE FAOUDER, P. et al., 2021); ¹³(LIU; MÜHLHÄUSLER; GIBSON, 2014); ¹⁴(ISMAIEL; JENKINS; THOMAS KARNES, 2013).

Um estudo comparativo entre DBS e soro identificou 336 lipídios, dos quais 194 foram encontrados em DBS e 280 em soro, com 140 espécies lipídicas em comum. Os fosfolipídios foram os lipídios mais frequentemente identificados em ambos os tipos de amostras, destacando-se as fosfatidilcolinas, esfingomielinas e lisofosfatidilcolinas. No entanto, monoacilglicerois e fosfatidilserinas foram identificados apenas em DBS, enquanto ácido fosfático e vitamina E não foram observados em DBS (Snowden et al., 2020).

Utilizando aprendizado de máquina para prever a concentração de lipídios de relevância clínica a partir dos dados de perfil lipídico em amostras de DBS e plasma, foram identificadas 118 espécies lipídicas de 11 classes em DBS, sendo que com 71% dos lipídios também foram quantificados em amostras de plasma. A correlação observada entre a abundância individual dos lipídios e a concentração de lipoproteínas foi alta ($r=0,92$) tanto em DBS quanto em plasma (Kyle et al., 2017).

Além disso, outro estudo demonstrou o grande potencial na análise de lipídios alimentares e na pesquisa de nutrição lipídica dentro da “foodômica” baseada na espectrometria de massa, fornecendo informações compostionais e estruturais sobre os componentes lipídicos em uma matriz alimentar ou sobre a alteração do metabolismo lipídico em organismos após intervenções dietéticas, sendo essencial para detecção de fraudes alimentares, avaliação de problemas de segurança alimentar relacionados a moléculas lipídicas e investigação aprofundada dos papéis funcionais dos lipídios dietéticos (Wu B., 2021).

Em um estudo realizado por Drzymała-Czyż e colaboradores (2017), foram analisados glicerofosfolipídios como marcadores para o status de ácidos graxos, comparando amostras de sangue venoso com amostras de DBS. Os pesquisadores observaram que, embora houvesse diferenças nas quantidades relativas de espécies lipídicas específicas (como fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e triglycerídeos), os perfis qualitativos permaneceram consistentes entre os dois tipos de amostras, validando o

sistema de coleta DBS como um método confiável para avaliação do status de ômega-3 em humanos (Drzymała-Czyż et al., 2017).

Um outro estudo realizado por Hewawasam e seus colaboradores (2017), foram analisados ácidos graxos livres poli-insaturados (PUFAs) comparando amostras de sangue venoso com amostras de DBS, obtendo respostas lineares para cada PUFA–FFA longo de uma faixa de concentrações esperadas em amostras clínicas, oferecendo uma alternativa de determinar com precisão PUFAs biologicamente importantes em um pequeno volume de sangue, sendo facilmente aplicável a grandes ensaios clínicos.

Nixon e sua equipe (2021) avaliaram as mudanças lipídicas em recém-nascidos, diagnosticados com encefalopatia hipóxico-isquêmica e submetidos a hipotermia terapêutica, identificando 29 espécies lipídicas em quatro classes lipídicas (fosfatidilcolina, lisofosfatidilcolina, triglicerídeos e esfingomielinas) significativamente alteradas em comparação com aquele com encefalopatia hipóxico-isquêmica leve. Ademais, concluíram que as três espécies lipídicas mais discriminantes foram TG 50:3, TG 54:5 e PC 36:5, as quais podem servir como biomarcadores para diferenciar entre HIE leve e moderada-severa (Nixon R. et al., 2021).

5.2.6 TOXICOLOGIA

Dry blood spots têm ganhado destaque em pesquisas epidemiológicas de saúde ambiental e em diversos campos da toxicologia devido a sua praticidade e eficiência. Recentemente, o uso de DBS para estimar exposição a toxinas químicas tem aumentado, impulsionado por publicações de novos ensaios de biomarcadores ambientais validados. Além disso, o monitoramento de drogas utilizando amostras de DBS vem avançando nos últimos anos, sendo uma técnica promissora na área da saúde, especialmente para terapia medicamentosa personalizada e monitoramento de resposta a medicamentos.

Odoardi et al. (2014) aplicaram a técnica de DBS para simplificar a preparação de amostras de sangue para análise de drogas de abuso, incluindo exames após a morte. Além disso, Moretti et al. (2018) desenvolveram um método de LC-MS/MS para a

determinação de cocaína e seus metabólitos em amostras de DBS coletadas após a morte. Ambos os estudos demonstraram bons resultados, corroborando o fato de que o DBS simplifica significativamente a análise de drogas de abuso, melhorando a eficiência das investigações forenses.

Estudos têm demonstrado uma boa correlação entre as concentrações de drogas quantificadas em DBS e em amostras plasmáticas, permitindo ajustes precisos de dosagem e monitoramento contínuo das concentrações terapêuticas ao longo do tempo. Essa metodologia é particularmente útil em contextos clínicos onde a monitorização frequente é necessária, como no tratamento de doenças crônicas ou terapias com margens terapêuticas estreitas. Um estudo recente realizado por Dilo et al. (2020) revelou uma correlação significativa entre as medidas de busulfano em DBS e em amostras de plasma seco, reforçando a confiabilidade do DBS como uma ferramenta precisa e acessível para o monitoramento terapêutico (Dilo et al., 2020). Lignell et al. (2013) e Valvi et al. (2012) tiveram como enfoque de seus estudos a exposição pré-natal a Bifenilos Policlorados (PCBs) e Diclorodifeniltricloroetano (DDT), respectivamente, utilizando a técnica de DBS para tal quantificação. Eles correlacionaram esses poluentes ambientais com o peso ao nascer e o desenvolvimento de sobrepeso em crianças. Esses estudos demonstraram que o DBS é uma ferramenta valiosa para monitorar a exposição a poluentes ambientais desde a fase pré-natal, fornecendo resultados importantes sobre os potenciais impactos dessas substâncias na saúde infantil e no desenvolvimento a longo prazo.

5.2.7 DOENÇAS INFECCIOSAS

As doenças infecciosas representam um desafio significativo para a saúde pública global. Muitas dessas doenças têm uma alta taxa de transmissão e podem levar a complicações graves e podendo levar a óbito se não diagnosticadas e tratadas adequadamente. Entre as doenças infecciosas mais prevalentes e preocupantes podemos destacar o HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana), hepatite B, C e D, sífilis, malária, doença de Chagas, citomegalovírus, dengue, chikungunya, Zika e SARS-CoV-2.

O uso de DBS para o diagnóstico dessas doenças infecciosas tem sido explorado amplamente, especialmente como método de coleta alternativo para regiões com recursos limitados e alta prevalência de doenças. Diversos estudos demonstraram a eficácia do DBS como uma ferramenta para diagnóstico valiosa, proporcionando uma alternativa prática e acessível para a detecção de infecções.

5.2.7.1 HIV

O HIV é o agente causador da AIDS, uma doença que compromete o sistema imunológico do indivíduo, tornando-o vulnerável a várias infecções oportunistas. O diagnóstico e o monitoramento da carga viral são essenciais para o tratamento eficaz da doença e diversos estudos encontraram boa correlação entre as cargas virais do HIV-1 em amostras de DBS e plasma (Vojnov et al., 2022). Além disso, um estudo realizado na Índia mostrou forte correlação entre os níveis de RNA do HIV-1 em amostras de plasma e DBS, onde a amostra com a carga viral mais baixa testada foi de 3,47 log cópias/ml, e a carga viral de DBS estimada foi de 4,17 log cópias/ml, demonstrando que o DBS pode amplificar com precisão uma carga viral de >3000 cópias de RNA. O estudo não encontrou resultados falsos positivos ou negativos com DBS, destacando a viabilidade dessa estratégia para monitoramento da carga viral (David S. et al., 2012).

5.2.7.2 HEPATITES

A hepatite viral é considerada um problema de saúde pública, com estimativas globais indicando 254 milhões de pessoas com hepatite B crônica (HBV) e 50 milhões com hepatite C crônica (HCV) (WHO, 2024). Anualmente, ocorrem 1,5 milhão de novas infecções por HBV e HCV. Estas infecções estão associadas a complicações tardias, como cirrose e carcinoma hepatocelular (HCC), e a maioria dos infectados não está ciente de seu status até o desenvolvimento dessas complicações avançadas (Mane et al., 2024).

Um estudo conduzido no Brasil investigou a viabilidade do uso de DBS para o

diagnóstico da hepatite C. O estudo revelou que, de um total de 194 indivíduos com RNA do HCV detectado no soro, houve uma concordância de 98,4% na detecção de anti-HCV em amostras de DBS. Esses resultados demonstram a eficácia do método, sugerindo que ele pode melhorar o acesso ao diagnóstico em populações estudadas (Villar et al., 2022). Outro estudo demonstrou excelente sensibilidade e especificidade na detecção de HBsAg usando DBS, corroborando a robustez e boa performance do uso de DBS no rastreamento de HBV. Para o teste de anti-HCV, houve 100% de especificidade, mas sensibilidades variáveis devido a resultados falso-negativos em diferentes laboratórios (Mane et al., 2024).

A hepatite delta (HDV) é uma infecção viral que ocorre em coinfecção com o vírus da hepatite B (HBV), podendo levar a formas mais graves da doença hepática. Os DBS foram considerados uma metodologia eficaz para sorologia e testes de ácido nucleico para hepatite B e D, demonstrou sua viabilidade para o diagnóstico e monitoramento dos vírus da hepatite B (HBV) e hepatite D (HDV), especialmente em áreas remotas com limitações de acesso ao diagnóstico convencional. Os resultados deste estudo indicam que os DBS corroboram para a detecção com precisão de抗ígenos e anticorpos virais, além de quantificar cargas virais de HBV e HDV comparáveis às amostras de soro (Jackson et al., 2022).

5.2.7.3 SÍFILIS

A sífilis é uma infecção bacteriana causada pelo *Treponema pallidum*, transmitida principalmente por contato sexual desprotegido com uma pessoa infectada. A infecção continua a ser um problema de saúde pública global, com uma incidência significativa em várias partes do mundo, especialmente em populações vulneráveis e em países com sistemas de saúde limitados. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que mais de 12 milhões de novos casos de sífilis ocorrem anualmente em todo o mundo (WHO, 2016).

O diagnóstico precoce é crucial para o tratamento eficaz da sífilis e para evitar complicações graves. Testes sorológicos realizados em DBS para HIV, hepatite B (HBV)

e sífilis demonstraram alta sensibilidade (>90%) e especificidade (>99%). Em particular, a sensibilidade foi de 100% para HIV, 90% para HBV (HBsAg) e 93% para sífilis (van Loo et al., 2017), demonstrando que o DBS é uma alternativa viável à coleta de sangue por punção venosa.

5.2.7.4 MALÁRIA

A malária é uma doença parasitária transmitida pelo mosquito *Anopheles*, prevalente em áreas tropicais e subtropicais. O DBS desempenha um papel essencial em estudos moleculares e epidemiologias das hemoglobinopatias relacionadas à malária, anemia falciforme, anemia, talassemia, anemia e deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) e desnutrição (McGann et al., 2018). Essas condições influenciam a suscetibilidade à malária, a gravidade da doença e a resposta aos tratamentos, destacando a importância de monitorar sua prevalência na população como parte da vigilância contínua da malária. Por exemplo, no rastreamento neonatal de anemia falciforme na África subsaariana, a utilização de DBS resultou em aumento do atendimento e taxa de sobrevivência. DBS são também utilizados para monitorar deficiência de G6PD para evitar hemólise manifesta induzida por primaquina no tratamento radical do *P. falciparum*. Além disso, DBS é eficaz no diagnóstico de talassemia em áreas de baixa transmissão, facilitando estudos genotípicos e aprimorando o controle e manejo da malária (Chindima et al., 2018).

5.2.7.5 DOENÇA DE CHAGAS

A doença de Chagas, causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi* e transmitida principalmente por insetos vetores conhecidos como triatomíneos, é endêmica em várias áreas da América Latina. Estima-se que cerca de 6 a 7 milhões de pessoas estejam infectadas globalmente, sendo uma das principais causas de cardiomiopatia e morte súbita na região (WHO, 2024). A globalização e os movimentos populacionais têm expandido o alcance da doença para outras regiões, como Estados Unidos, Canadá, e Europa, através de migrações de pessoas infectadas.

Rodrigues et al. (2017), avaliaram o uso de DBS e um teste diagnóstico rápido (Trypanosoma Detect®) para detecção de anticorpos contra *T. cruzi*. Os resultados mostraram que o DBS analisado por imunoensaio de eletroquimiluminescência (E-CLIA) teve sensibilidade de 97%, superior aos 77% do ELISA, com especificidade de 100% para ambos os métodos. O teste Trypanosoma Detect® apresentou sensibilidade de 89,6% e especificidade de 100%. Conclui-se que o uso do E-CLIA com DBS pode ser uma estratégia eficaz para programas de triagem de doença de Chagas comunitários.

5.2.7.6 CITOMEGALOVÍRUS

O citomegalovírus (CMV) é um herpesvírus que pode causar infecções graves em recém-nascidos e imunocomprometidos, sendo o diagnóstico precoce de infecções congênitas crucial para o manejo adequado.

Um estudo observacional de 15 anos realizado em Portugal investigou a eficácia do uso de DBS arquivados para o diagnóstico de infecções congênitas por citomegalovírus. Os achados indicaram que a detecção do DNA do CMV em DBS foi viável e eficaz para o diagnóstico tardio de infecção congênita por CMV em crianças (Almeida et al., 2023). Isso destaca o impacto positivo dos DBS como uma ferramenta para diagnóstico fora da janela de três semanas após o nascimento, especialmente em casos sintomáticos e onde o diagnóstico inicial foi perdido.

5.2.7.7 DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA

O diagnóstico das causas de doenças febris agudas em áreas tropicais é desafiador não apenas pela diversidade de patógenos endêmicos que provocam sintomas sobrepostos, mas também devido às limitações em recursos e instalações. É crucial ressaltar que a detecção de muitos desses patógenos, especialmente vírus de RNA, requer uma cadeia de frio apropriada para preservar a qualidade das amostras até o processamento. No entanto, áreas remotas frequentemente carecem de acesso a equipamentos e instalações necessárias para a preservação e transporte adequado das amostras.

Diversos estudos destacam o potencial dos DBS como uma alternativa para a detecção e monitoramento de arbovírus emergentes, como Zika, Dengue e Chikungunya. Um estudo conduzido por Magalhães et al. (2023) validou o uso de DBS em ensaios sorológicos para a detecção de anticorpos IgG contra o vírus Chikungunya, evidenciando a praticidade na coleta, transporte facilitado e estabilidade das amostras. Por outro lado, outro estudo demonstrou que as amostras de DBS são capazes de manter a integridade do RNA viral por períodos prolongados, permitindo uma detecção molecular sensível e estável dos vírus Dengue, Chikungunya e Zika (Cardona et al., 2022).

5.2.7.8 SARS-CoV-2

Durante a pandemia da COVID-19, a pesquisa se voltou para métodos inovadores de diagnóstico que pudesse ser facilmente implementados em larga escala. Uma abordagem promissora surgiu com o uso de DBS para detectar anticorpos específicos contra o SARS-CoV-2. Um estudo conduzido por Morley et al (2020), concluiu que as amostras de sangue seco (DBS) podem ser usadas para detectar anticorpos contra a proteína spike do coronavírus da SARS-CoV-2. Como resultado, os pesquisadores concluíram que a coleta de sangue na forma de DBS é comparável à de amostras de soro, com sensibilidade de 98,11% e especificidade de 100% na detecção de anticorpos. Essa abordagem não apenas facilitou a monitoração da resposta imunológica da população, mas também contribuiu significativamente para o entendimento global da disseminação do vírus e para a formulação de estratégias de saúde pública eficazes.

5.3 VANTAGENS E DESVANTAGENS DO USO DBS

5.3.1 VANTAGENS

O uso de DBS como estratégia para coleta de sangue oferece diversas vantagens:

5.3.1.1 Capacidade de obter amostras de sangue fora do ambiente hospitalar. Uma

vez que a venipunção não é utilizada, pessoas treinadas podem realizar as coletas de sangue, independente da assistência de profissionais de enfermagem.

5.3.1.2 Pequeno volume de amostra. Os DBS permitem a coleta de uma pequena quantidade de amostra de sangue em comparação com a coleta venosa convencional, sendo necessário cerca de 50 microlitros por círculo preenchido (Lehmann S. et al, 2013). Essa redução do volume de amostra é muito útil em situações em que um paciente requer exames frequentes.

5.3.1.3 Maior aceitabilidade e conforto para o paciente. A coleta de DBS é menos invasiva e menos dolorosa, sendo preferível para estudos em bebês, crianças e idosos. Utilizam-se lancetas com calibres diversos, a depender da quantidade de sangue que se deseja obter, que normalmente oferecem pouco desconforto aos pacientes.

5.3.1.4. Simplificação do armazenamento e transporte de amostras. A depender do analito de interesse, não há necessidade de estrutura para centrifugação, separação ou refrigeração após a coleta nas amostras de sangue de DBS, diminuindo os custos de transporte e simplificando a logística. Como resultado, o DBS é uma ferramenta extremamente valiosa para a coleta de amostras de pessoas em comunidades remotas ou áreas de difícil acesso ou que não disponham de energia elétrica. Essas características são favoráveis à realização de diversos tipos de estudos epidemiológicos e rastreios em uma ampla variedade de populações, sendo especialmente útil em países em desenvolvimento, onde os desafios logísticos e econômicos são os principais obstáculos para a melhoria do sistema de saúde (Lehmann S. et al, 2013).

5.3.1.5. Alta estabilidade das amostras, se adequadamente conservadas. As amostras de DBS podem ser armazenadas por períodos prolongados sem a necessidade de congelamento a temperaturas ultra baixas, possibilitando análises retrospectivas e realizações de estudos epidemiológicos a longo prazo. Muitos estudos demonstram que a maioria dos biomarcadores presentes no sangue se apresentam estáveis quando conservados em temperatura ambiente por até 7 dias, embora em alguns casos, como no monitoramento dos opiáceos, a estabilidade dos biomarcadores em amostras de DBS aumente. No caso dos ácidos nucleicos, essas se apresentam como biomoléculas muito estáveis, podendo se manter preservados por muitos anos se

mantidos a -20°C (Garcia R., 2008; Hollegaard M., 2009). Ademais, do ponto de vista econômico, os DBS fornecem uma significante redução de custo devido à menor necessidade de material, pessoal treinado e logística, o que os torna uma ferramenta valiosa para superar obstáculos logísticos e financeiros.

5.3.2 DESVANTAGENS

Apesar das vantagens discutidas acima, o uso de DBS como estratégia de amostragem de sangue para análises clínicas e pesquisa apresenta algumas limitações que podem afetar a precisão e a confiabilidade dos resultados:

5.3.2.1 Imprecisão na quantidade de sangue coletado. Como o hematócrito e outros fatores que influenciam a viscosidade do sangue afetam a absorção da amostra de sangue no papel, torna-se difícil controlar a quantidade exata de sangue aplicada ao papel de amostragem. Esse artefato resulta em variações no tamanho das manchas entre os pacientes. Estudos como o de Lawson et al. (2016) demonstram que variações significativas no volume de sangue ($>20 \mu\text{l}$) podem levar a concentrações diferentes dos analitos, mesmo quando um tamanho fixo de mancha é perfurado para análise.

5.3.2.2 Pequeno volume de amostra. Apesar do reduzido volume de sangue que pode ser obtido ser considerado uma vantagem, este também pode ser considerado uma limitação para alguns analitos que requerem grandes volumes de sangue, o que pode limitar a detecção dos compostos de interesse, especialmente aqueles presentes em baixas concentrações, comprometendo a sensibilidade e a precisão dos testes (Mcdade, 2007).

5.3.2.3 Influência do hematócrito. Variações na quantidade e no volume dos glóbulos vermelhos no sangue podem introduzir diferentes tipos de vieses na análise de DBS. Um estudo realizado por Abu-Rabie et al. (2015) demonstrou que amostras de sangue com hematócrito (Hct) baixo (por exemplo, 30%) facilitam a dispersão da gota de sangue no papel filtro devido à menor viscosidade, resultando em variações significativas na área preenchida pela gota de sangue, como manchas maiores, variações na quantidade de amostra coletada e inconsistência na distribuição de analitos, o que pode afetar a precisão e a reproduzibilidade das análises. Além disso,

sabe-se que o efeito do Hct pode apresentar impacto na recuperação de analitos e na matriz utilizada. O viés de recuperação dos metabólitos inserido pelo Hct ocorre porque, na extração convencional de DBS, o padrão interno é geralmente adicionado apenas na etapa de extração, não corrigindo variações na recuperação do sangue seco. Spooner et al. (2015) avaliaram como o Hct afeta a recuperação de analitos em amostras de DBS, encontrando variações significativas na recuperação dos analitos com diferentes níveis de Hct. Este estudo destacou que as amostras com Hct mais elevado apresentavam menor recuperação, influenciando diretamente a precisão e a consistência dos resultados analíticos. O viés do efeito de matriz baseado em Hct ocorre porque uma amostra de DBS com um Hct diferente pode ser considerada uma matriz diferente, impactando os resultados quantitativos de procedimentos que utilizam LC-MS/MS (Demirev et al. 2013). A variabilidade na composição da matriz devido ao Hct pode alterar a ionização dos analitos (supressão iônica), levando a discrepâncias nos resultados obtidos.

Considerando esses aspectos, os métodos que utilizam DBS devem ser desenvolvidos buscando padronizar o volume de sangue aplicado (De Kesel et al., 2013), adicionar padrões internos antes da secagem do sangue (Liao et al., 2016), utilizar análise de imagem para medir o volume de sangue (Rufail, M. et al., 2017) e aplicar técnicas de espectroscopia ou métodos baseados na cor para medir ou estimar o Hct (Capiau, S. et al., 2016). A inclusão de amostras de sangue com uma ampla faixa de Hct é crucial para avaliar adequadamente os efeitos de recuperação e de matriz, assegurando a confiabilidade dos resultados analíticos.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

O futuro do DBS oferece muitas perspectivas, com potencial de revolucionar o rastreamento e monitoramento de doenças, bem como o desenvolvimento de novos fármacos. Embora o uso de DBS tenha se tornado comum no rastreamento neonatal e em populações com risco clínico ou epidemiológico de doenças genéticas, seu uso em outras áreas é substancialmente limitado. No entanto, avanços contínuos na tecnologia estão mudando este cenário.

O desenvolvimento e a evolução de métodos de análise mais sensíveis, como a espectrometria de massas, possibilitaram a implementação de rastreamentos mais amplos. Com o tempo, espera-se que os custos associados a esses processos sejam ainda mais reduzidos, graças à mecanização do processo de punção dos cartões de DBS e automatização das análises. Atualmente, é possível determinar mais de 120 marcadores bioquímicos utilizando DBS, incluindo metabolitos endógenos (como aminoácidos, acil-carnitinas, variantes da hemoglobina, hormônio de crescimento e vitamina D), fármacos, drogas ilícitas e substâncias de doping esportivo (Zakaria R. et al., 2016).

Avanços recentes na biotecnologia e nanotecnologia estão promovendo o desenvolvimento de novos microssistemas para a separação e análise de biopartículas que substituirão os sistemas de análise clássicos. Numerosos aparelhos com *microchips*, ultrassensíveis e capazes de analisar matrizes biológicas complexas como o sangue são conhecidos hoje. Tais novas tecnologias, denominadas microfluídica digital, são utilizadas em uma ampla gama de áreas, como estudos enzimáticos, imunológicos e estudos moleculares, e possuem uma relação benéfica entre custos e confiabilidade. É esperado que as novas tecnologias microfluídicas digitais possam ser integradas em tarefas de triagem neonatal para doenças lisossomais, peroxissomais, hematológicas e imunológicas em breve. (Millington. DS et al., 2010).

7. CONCLUSÃO

A aplicabilidade do *Dry Blood Spots (DBS)* como estratégia de amostragem de sangue para análises clínicas e pesquisa representa um avanço significativo no campo da saúde pública e da investigação científica. O DBS oferece uma alternativa minimamente invasiva e econômica para a coleta, armazenamento e transporte de amostras biológicas, superando desafios logísticos que tradicionalmente limitam a realização de estudos em larga escala. A simplicidade do procedimento, aliada à possibilidade de coleta por parte dos próprios pacientes e à redução dos riscos de contaminação,

aumenta a adesão dos participantes e amplia o alcance das pesquisas para o diagnóstico de uma variedade de condições clínicas.

Entretanto, para que o DBS seja amplamente adotado, é necessário primeiro comprovar sua confiabilidade e comparabilidade com os métodos analíticos tradicionais. Estudos que correlacionam amostras de DBS com sangue total e plasma serão essenciais, mas também exigirão investimento de tempo e recursos financeiros. Esse fator pode gerar hesitação entre os pesquisadores, que podem preferir métodos já estabelecidos e comprovadamente confiáveis. A criação de uma base de dados biológicos utilizando o DBS representaria um avanço significativo na saúde pública, mas requer a adaptação de laboratórios, que atualmente estão otimizados para métodos clássicos. Além disso, novos biomarcadores que forem descobertos provavelmente terão sua aplicação inicial em soro e plasma, com as correlações com DBS sendo estabelecidas posteriormente, o que pode atrasar a adoção do método.

Em conclusão, há uma demanda crescente por ferramentas de pesquisa que enfoquem a saúde em nível populacional, e métodos minimamente invasivos, como o DBS, expandem as oportunidades para um entendimento mais profundo da biologia humana e da saúde. Os DBS já estão sendo utilizados em um número crescente de estudos devido às suas vantagens já ditas anteriormente, e, à medida que mais biomarcadores se tornem quantificáveis por esse método, é provável que ele se torne uma das principais ferramentas de investigação científica.

8. BIBLIOGRAFIA

- ABU-RABIE, P. et al. Investigation of different approaches to incorporating internal standard in DBS quantitative bioanalytical workflows and their effect on nullifying hematocrit-based assay bias. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 9, p. 4996-5003, 2015.
- AFFAN, E. T. et al. Comparability of HbA1c and lipids measured with dried blood spot versus venous samples: a systematic review and meta-analysis. **BMC clinical pathology**, v. 14, p. 1-9, 2014.
- ALMEIDA, S. et al. Diagnosing congenital cytomegalovirus infections using archived dried blood spots: A 15-year observational study, Portugal. **Journal of Clinical Virology**, v. 165, p. 105516, 2023.
- ANDREAS, T. et al. Dried blood spots (DBS) for doping control analysis. Drug testing and analysis, v. 3, n. 11-12, p. 806-813, 2011.
- ANVISA.** Teste do Pezinho será ampliado e detectará até 50 novas doenças. Disponível em:<<https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2021/05/teste-do-pezinho-sera-ampliado-e-detectara-ate-50-novas-doencas>>. Acesso em 29 de ago. 2024.
- BALMASEDA, A. et al. Evaluation of immunological markers in serum , filter-paper blood spots , and saliva for dengue diagnosis and epidemiological studies. v. 43, p. 287–291, 2008.
- BANG, Ivan. A method for the micro-determination of blood components. **Biochem Ztschr** , v. 49, p. 19-39, 1913.
- BASSI, M. A.; LOPEZ, M. A.; CONFALONE, L.; GAUDIO, R. M.; LOMBARDO, L.; LAURITANO, D. **Nature**, v. 388, p. 539-547, 2020.
- BJÖRKESTEN, J. et al. Stability of proteins in dried blood spot biobanks. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 16, n. 7, p. 1286-1296, 2017.
- BOY, R. et al. Determination of morphine and 6-acetylmorphine in blood with use of dried blood spots. **Therapeutic drug monitoring**, v. 30, n. 6, p. 733-739, 2008.
- BRASIL. Lei de nº 14.154 de 26 de maio de 2021. Institui o Código Civil. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, ano 161, n. 99, p. 1, 27 fev. 2024.
- BREIVIK, K. et al. Atmospheric emissions of some POPs in Europe: a discussion of existing inventories and data needs. **Environmental Science & Policy**, v. 9, n. 7-8, p. 663-674, 2006.
- CAPIAU, S. et al. A novel, nondestructive, dried blood spot-based hematocrit prediction method using noncontact diffuse reflectance spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 88,

n. 12, p. 6538-6546, 2016.

CASTRICHINI, Matteo; LUZUM, Jasmine A.; PEREIRA, Naveen. Pharmacogenetics of antiplatelet therapy. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 63, n. 1, p. 211-229, 2023.

CARDONA-OSPINA, Jaime A. et al. Sensitive and stable molecular detection of dengue, chikungunya, and Zika viruses from dried blood spots. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 107, n. 2, p. 296, 2022.

CHINDIMA, Nanjela et al. The use of dried blood spots: a potential tool for the introduction of a neonatal screening program for sickle cell anemia in Zambia. **International Journal of Applied and Basic Medical Research**, v. 8, n. 1, p. 30-32, 2018.

CHIU, Huai-Hsuan et al. A comparative study of plasma and dried blood spot metabolomics and its application to diabetes mellitus. **Clinica Chimica Acta**, v. 552, p. 117655, 2024.

CHUANG, W. L.; PACHECO, J.; COOPER, S.; MCGOVERN, M. M.; COX, G. F.; KEUTZER, J.; ZHANG, X. K. Lyso-sphingomyelin is elevated in dried blood spots of Niemann-Pick B patients. **Molecular Genetics and Metabolism**, v. 111, n. 2, p. 209–211, 2014.

COELHO, Margarida et al. Direct analysis of [6, 6-2H₂] glucose and [U-13C₆] glucose dry blood spot enrichments by LC-MS/MS. **Journal of chromatography B**, v. 1022, p. 242-248, 2016.

CLISH, Clary B. Metabolomics: an emerging but powerful tool for precision medicine. **Molecular Case Studies**, v. 1, n. 1, p. a000588, 2015.

DA SILVA, Eduardo Valdemar et al. Aplicação da lipidômica na doença de Alzheimer. **Revista Foco**, 2023.

DAVID, S. et al. Comparison of HIV-1 RNA level estimated with plasma and DBS samples: a pilot study from India (South). **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 30, n. 4, p. 403-406, 2012.

DE KESEL, Pieter MM et al. Hemato-critical issues in quantitative analysis of dried blood spots: challenges and solutions. **Bioanalysis**, v. 5, n. 16, p. 2023-2041, 2013.

DEMIREV, Plamen A. Dried blood spots: analysis and applications. **Analytical chemistry**, v. 85, n. 2, p. 779-789, 2013.

DENNIFF, Philip; SPOONER, Neil. The effect of hematocrit on assay bias when using DBS samples for the quantitative bioanalysis of drugs. **Bioanalysis**, v. 2, n. 8, p. 1385-1395, 2010.

DILO, Ana et al. Comparing dried blood spots and plasma concentrations for busulfan therapeutic drug monitoring in children. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 42, n. 1, p. 111-117, 2020.

DRZYMAŁA-CZYŻ, S. et al. Whole blood glycerophospholipids in dried blood spots— a reliable marker for the fatty acid status. **Chemistry and physics of lipids**, v. 207, p. 1-9, 2017.

FREDOLINI, Claudia et al. Proteome profiling of home-sampled dried blood spots reveals proteins of SARS-CoV-2 infections. **Communications Medicine**, v. 4, n. 1, p. 55, 2024.

FIEHN, Oliver. Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes. **Functional genomics**, p. 155-171, 2002.

FIAMONCINI, Jarlei et al. Plasma metabolome analysis identifies distinct human metabotypes in the postprandial state with different susceptibility to weight loss-mediated metabolic improvements. **FASEB Journal**, v. 32, n. 10, p. 5447-5458, 2018.

FONTAINE, Elizabeth; SAEZ, Cristian. Analysis of SARS-CoV-2 antibodies from dried blood spot samples with the Roche Elecsys Immunochemistry method. **Practical Laboratory Medicine**, v. 25, p. e00234, 2021.

GAO, Fei et al. Dynamic and temporal assessment of human dried blood spot MS/MS ALL shotgun lipidomics analysis. **Nutrition & metabolism**, v. 14, p. 1-12, 2017.

GATES, Stephen C.; SWEELY, Charles C. Quantitative metabolic profiling based on gas chromatography. **Clinical chemistry**, v. 24, n. 10, p. 1663-1673, 1978.

GÖHRING, Katharina et al. Influence of different extraction methods and PCR techniques on the sensitivity of HCMV-DNA detection in dried blood spot (DBS) filter cards. **Journal of Clinical Virology**, v. 48, n. 4, p. 278-281, 2010.

GUTHRIE, R.; BICKEL, H. The introduction of newborn screening for phenylketonuria: A personal history. **European journal of pediatrics**, v. 155, p. S4-S5, 1996.

HELPAND, R. F. et al. Dried Blood Spots versus Sera for Detection of Rubella Virus-Specific Immunoglobulin M (IgM) and IgG in Samples Collected during a Rubella Outbreak in Peru, v. 14, n. 11, p. 1522–1525, 2007.

HELLMUTH, Christian et al. Tyrosine is associated with insulin resistance in longitudinal metabolomic profiling of obese children. **Journal of diabetes research**, v. 2016, n. 1, p. 2108909, 2016.

HEWAWASAM, E. et al. A validated method for analyzing polyunsaturated free fatty acids from dried blood spots using LC-MS/MS. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 125, p. 1-7, 2017.

HOLLEGAARD, Mads V. et al. Genome-wide scans using archived neonatal dried blood spot samples. **BMC genomics**, v. 10, p. 1-6, 2009.

ISMAIEL, O. A.; JENKINS, R. G.; THOMAS KARNES, H. Investigation of endogenous blood lipids components that contribute to matrix effects in dried blood spot samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Drug Testing and Analysis**, v. 5, n. 8, p. 710-715, 2013.

IURAŞCU, Marius-Ionuț et al. Application of a dried blood spot based proteomic and genetic assay for diagnosing hereditary angioedema. **Clinical and Translational Allergy**, v. 13, n. 11, p. e12317, 2023.

JACKSON, K. et al. Evaluation of dried blood spots for hepatitis B and D serology and nucleic acid testing. **Journal of Medical Virology**, v. 94, n. 2, p. 642-648, 2022.

KENMOE, S. et al. Using dried blood spot for the detection of HBsAg and anti-HCV antibodies in Cameroon. **BMC Research Notes**, v. 11, p. 1-4, 2018.

KOULMAN, A.; PRENTICE, P.; WONG, M. C. Y.; MATTHEWS, L.; BOND, N. J.; EIDEN, M.; GRIFFIN, J. L.; DUNGER, D. B. The development and validation of a fast and robust dried blood spot based lipid profiling method to study infant metabolism. **Metabolomics**, v. 10, n. 5, p. 1018–1025, 11 out. 2014b.

KIMURA, M. et al. A sensitive and simplified method to analyze free fatty acids in children with mitochondrial beta oxidation disorders using gas chromatography/mass spectrometry and dried blood spots. **Clinica chimica acta**, v. 316, n. 1-2, p. 117-121, 2002.

KYLE, E. et al. Comparing identified and statistically significant lipids and polar metabolites in 15-year old serum and dried blood spot samples for longitudinal studies. **Rapid communications in mass spectrometry**, v. 31, n. 5, p. 447-456, 2017.

LAM, Sin Man; SHUI, Guanghou. Lipidomics as a principal tool for advancing biomedical research. **Journal of Genetics and Genomics**, v. 40, n. 8, p. 375-390, 2013.

LANGE, T. et al. Fully automated dried blood spot sample preparation enables the detection of lower molecular mass peptide and non-peptide doping agents by means of LC-HRMS. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 412, p. 3765-3777, 2020.

LAWSON, A. J.; BERNSTONE, L.; HALL, S. K. Newborn screening blood spot analysis in the UK: influence of spot size, punch location and haematocrit. **Journal of Medical**

screening, v. 23, n. 1, p. 7-16, 2016.

LE FAOUDER, P. et al. Untargeted lipidomic profiling of dry blood spots using SFC-HRMS. **Metabolites**, v. 11, n. 5, p. 305, 2021.

LEHMANN, Sylvain. et al. Current and future use of “dried blood spot” analyses in clinical chemistry. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 51, p. 1-13, 2013.

LI, K. et al. Improved dried blood spot-based metabolomics: a targeted, broad-spectrum, single-injection method. **Metabolites**, v. 10, n. 3, p. 82, 2020.

LIAO, Hsiao-Wei et al. Estimation and correction of the blood volume variations of dried blood spots using a postcolumn infused-internal standard strategy with LC-electrospray ionization-MS. **Analytical chemistry**, v. 88, n. 12, p. 6457-6464, 2016.

LIGNELL, Sanna et al. Prenatal exposure to polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) may influence birth weight among infants in a Swedish cohort with background exposure: a cross-sectional study. **Environmental Health**, v. 12, p. 1-9, 2013.

LIM, Mark D. Dried blood spots for global health diagnostics and surveillance: opportunities and challenges. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 99, n. 2, p. 256, 2018.

LIU, Linsheng et al. A Novel Dried Blood Spot Detection Strategy for Characterizing Cardiovascular Diseases. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 7, p. 542519, 2020.

LIU, G.; MÜHLHÄUSLER, B. S.; GIBSON, R. A. A method for long term stabilisation of long chain polyunsaturated fatty acids in dried blood spots and its clinical application. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 91, n. 6, p. 251–260, 2014.

LONDHE, Vaishali; RAJADHYAKSHA, Madhura. Opportunities and obstacles for microsampling techniques in bioanalysis: special focus on DBS and VAMS. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 182, p. 113102, 2020.

LUGINBÜHL, Marc et al. Determination of fatty acid ethyl esters in dried blood spots by LC-MS/MS as markers for ethanol intake: application in a drinking study. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 408, p. 3503-3509, 2016.

LUSIS, Aldons J. Atherosclerosis. **Nature**, v. 407, p. 233–241, 2000.

MAGALHAES, Tereza et al. Validation of the use of dried blood spots in a chikungunya virus IgG serological assay. **Journal of Immunological Methods**, v. 522, p. 113571, 2023.

MANE, Arati et al. Validation of dried blood spot for serological diagnosis of Hepatitis B and C: a multicentric study. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 108,

n. 2, p. 116108, 2024.

MARTIAL, Lisa C. et al. Evaluation of dried blood spot sampling for pharmacokinetic research and therapeutic drug monitoring of anti-tuberculosis drugs in children. **International journal of antimicrobial agents**, v. 52, n. 1, p. 109-113, 2018.

MAK, Chloe Miu et al. Inborn errors of metabolism and expanded newborn screening: review and update. **Critical reviews in clinical laboratory sciences**, v. 50, n. 6, p. 142-162, 2013.

MCDADE, Thomas W.; WILLIAMS, Sharon; SNODGRASS, J. Josh. What a drop can do: dried blood spots as a minimally invasive method for integrating biomarkers into population-based research. **Demography**, v. 44, n. 4, p. 899-925, 2007.

MCGANN, Patrick T. et al. Prevalence of inherited blood disorders and associations with malaria and anemia in Malawian children. **Blood advances**, v. 2, n. 21, p. 3035-3044, 2018.

MILLINGTON, David S. et al. Digital microfluidics: a future technology in the newborn screening laboratory?. **Seminars in perinatology**. WB Saunders, 2010. p. 163-169.

MORETTI, Matteo et al. A liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of cocaine and metabolites in blood and in dried blood spots collected from postmortem samples and evaluation of the stability over a 3-month period. **Drug Testing and Analysis**, v. 10, n. 9, p. 1430-1437, 2018.

NIXON, R. et al. Lipid profiles from dried blood spots reveal lipidomic signatures of newborns undergoing mild therapeutic hypothermia after hypoxic-ischemic encephalopathy. **Nutrients**, v. 13, n. 12, p. 4301, 2021.

ODOARDI, Sara; ANZILLOTTI, Luca; STRANO-ROSSI, Sabina. Simplifying sample pretreatment: Application of dried blood spot (DBS) method to blood samples, including postmortem, for UHPLC–MS/MS analysis of drugs of abuse. **Forensic science international**, v. 243, p. 61-67, 2014.

OLIVER, Stephen G. et al. Systematic functional analysis of the yeast genome. **Trends in biotechnology**, v. 16, n. 9, p. 373-378, 1998.

PETRICK, Lauren et al. An untargeted metabolomics method for archived newborn dried blood spots in epidemiologic studies. **Metabolomics**, v. 13, p. 1-11, 2017.

PRIMASSIN, S.; SPIEKERKOETTER, U. ESI-MS/MS measurement of free carnitine and its precursor γ-butyrobetaine in plasma and dried blood spots from patients with organic acidurias and fatty acid oxidation disorders. **Molecular genetics and metabolism**, v. 101, n. 2-3, p. 141-145, 2010.

QURAISHI, Rizwana et al. Use of filter paper stored dried blood for measurement of

triglycerides. **Lipids in health and disease**, v. 5, p. 1-3, 2006.

RUFAIL, Miguel L.; MCCLOSKEY, Laura J.; STICKLE, Douglas F. Estimation of hematocrit in filter paper dried bloodspots by potassium measurement: advantage of use of perimeter ring samples over circular center sub-punch samples. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 55, n. 1, p. 53-57, 2017.

SOK, Pagna et al. Utilization of archived neonatal dried blood spots for genome-wide genotyping. **PLoS One**, 2020.

SNOWDEN, Stuart G. et al. Combining lipidomics and machine learning to measure clinical lipids in dried blood spots. **Metabolomics**, v. 16, p. 1-10, 2020.

SPOONER, Neil et al. A device for dried blood microsampling in quantitative bioanalysis: overcoming the issues associated blood hematocrit. **Bioanalysis**, v. 7, n. 6, p. 653-659, 2015.

TOBIN, Nicole H. et al. Comparison of dried blood spot and plasma sampling for untargeted metabolomics. **Metabolomics**, v. 17, n. 7, p. 62, 2021.

THOMAS, Andreas; THEVIS, Mario. Analysis of insulin and insulin analogs from dried blood spots by means of liquid chromatography–high resolution mass spectrometry. **Drug testing and analysis**, v. 10, n. 11-12, p. 1761-1768, 2018.

THOMAS, Andreas et al. Dried blood spots (DBS) for doping control analysis. **Drug testing and analysis**, v. 3, n. 11-12, p. 806-813, 2011.

TUAILLON, E. et al. Dried Blood Spot for Hepatitis C Virus. **Serology and Molecular Testing**. 2010.

UNGER, Roger H. Lipotoxic diseases. **Annual review of medicine**, v. 53, n. 1, p. 319-336, 2002.

VALVI, D. et al. Prenatal exposure to DDT and overweight in the first four years of life in the CHAMACOS cohort. **Environmental Health Perspectives**, 2012.

VAN DER HAM, Maria et al. Quantification of metabolites in dried blood spots by direct infusion high resolution mass spectrometry. **Analytica chimica acta**, v. 979, p. 45-50, 2017.

VAN LOO, Inge HM et al. Screening for HIV, hepatitis B and syphilis on dried blood spots: a promising method to better reach hidden high-risk populations with self-collected sampling. **PloS one**, v. 12, n. 10, p. e0186722, 2017.

VÁZQUEZ-MORÓN, S. et al. Evaluation of dried blood spot samples for screening of hepatitis C and human immunodeficiency virus in a real-world setting. n. November 2017, p. 1-6, 2018.

VERVERI, C.; VINCENTI, M.; SALOMONE, A. Recent advances in the detection of drugs of abuse by dried blood spots. **Biomedical Chromatography**, 2022.

VILLAR, Livia Melo et al. Feasibility of dried blood spot for hepatitis C diagnosis in vulnerable subjects and people living in remote areas from Brazil. **BMC Infectious Diseases**, v. 22, n. 1, p. 804, 2022.

VILLAR, Livia Melo et al. Usefulness of automated assays for detecting hepatitis B and C markers in dried blood spot samples. **BMC Research Notes**, v. 12, p. 1-4, 2019.

VOJNOV, Lara et al. The performance of using dried blood spot specimens for HIV-1 viral load testing: a systematic review and meta-analysis. **PLoS Medicine**, 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for the treatment of *Treponema pallidum* (syphilis). Geneva, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chagas disease (American trypanosomiasis). Disponível em: <[<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)>](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))>. Acesso em 20 de jul. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global hepatitis report 2024: action for access in low- and middle-income countries. Geneva, 2024.

WU, B.; WEI, F.; XU, S.; XIE, Y.; LV, X.; CHEN, H.; HUANG, F. Mass spectrometry-based lipidomics as a powerful platform in foodomics research. **Trends in Food Science and Technology**, v. 107, n. January 2020, p. 358–376, 2021.

ZAKARIA, Rosita et al. Advantages and challenges of dried blood spot analysis by mass spectrometry across the total testing process. **Ejifcc**, v. 27, n. 4, p. 288, 2016.

HU, T.; ZHANG, J. L. Mass-spectrometry-based lipidomics. **Journal of Separation Science**, v. 41, n. 1, p. 351–372, 2018.

ZIMMERMANN, Michael B. et al. Development of a dried whole-blood spot thyroglobulin assay and its evaluation as an indicator of thyroid status in goitrous children receiving iodized salt. **The American journal of clinical nutrition**, v. 77, n. 6, p. 1453-1458, 2003.