

CUANTIFICACION DE HIV 1 – CARGA VIRAL DE HIV1

Código interno: BM 58

Metodología: NASBA Real Time

Tipo de informe: Cuantitativo

Valores de referencia: Menores de 50 UI/ml - Log10 < 1.70

Para esta metodología, una UI de RNA de HIV es el equivalente de 1 copia RNA/ml

Rango analítico del método: 50 a 5.000.000 UI/ml - Log10 1.70 a 6.70

Sensibilidad: 25 UI/ml

Tiempo de entrega de resultado: 72-96 Horas.

Aplicación Clínica: Monitoreo de tratamiento y seguimiento de la infección por HIV.

Información general:

El Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida es producido por el Virus de Inmunodeficiencia Humana, del que se han descrito dos tipos, HIV 1 y HIV 2. Del HIV 1, a su vez se diferencian tres grupos M, N y O y dentro del grupo M existen reconocidos 11 subtipos de la A-K.

Gran parte de la pandemia es producida por HIV 1 grupo M y los subtipos varían en las diferentes regiones del mundo; en particular en América de Sur los subtipos más habituales son el B, F y C.

A pesar que entre el 50 a 90% de los pacientes poseen síntomas en la infección primaria por HIV, el diagnóstico de la infección se consigue, en más del 99% de los pacientes, a través de los estudios serológicos de detección de anticuerpos cuando la infección ya es crónica. Estos test de rastreo o tamizaje (ELISA) poseen una Sensibilidad y Especificidad mayor al 99% y valores predictivos negativo y positivo que dependen del momento de la infección y la población estudiada.

Todos los estudios efectuados con técnicas de ELISA que arrojen resultados REACTIVOS, deben ser confirmados por técnicas de inmunoblotting, como Western Blot, para informar la presencia de anticuerpos específicos y por consiguiente la infección por HIV.

Entre los estudios moleculares a efectuar se pueden mencionar el DNA proviral, la Cuantificación de RNA Plasmático (Carga Viral) y los Test de Resistencia a Antirretrovirales.

El DNA Proviral se encuentra asociado a situaciones donde el diagnóstico serológico no es sensible o específico, como es el caso de la primoinfección sintomática donde el nivel de anticuerpos es aún bajo o pueden estar ausentes hasta 2 meses o más, después de la infección, o en el caso del recién nacido de madre HIV positiva, donde la serología es poco específica por la transferencia pasiva de anticuerpos maternos a través de placenta. En estas situaciones la detección de DNA proviral en sangre entera presenta una sensibilidad y especificidad mayor al 98% y es la metodología recomendada.

La definición sobre el inicio del tratamiento y su posterior seguimiento requiere de dos estudios, uno que evalúe el aspecto inmunológico, recuento de CD4 y otro que determine el aspecto virológico y que se modifique sensiblemente con el tratamiento o falla de este, la Cuantificación de RNA en plasma o Carga Viral.

Existen recomendaciones internacionales acerca de cuándo es aconsejable comenzar tratamiento según estos dos parámetros y también cuando es necesario el cambio de un esquema antirretroviral frente al fallo terapéutico. Los estudios utilizados para definir un cambio de conducta terapéutica se basan en la búsqueda por secuenciación de cepas virales resistentes, las cuales expresan mutaciones asociadas a los antirretrovirales. Los test de Resistencia pueden ser genotípicos o fenotípicos y constituyen una herramienta indispensable para el uso clínico.

La medición de **RNA plasmático cuantitativo (Carga Viral)** se puede realizar por diferentes metodologías. Cada una presenta sus ventajas y desventajas, pero los trabajos retrospectivos y prospectivos indican que todas ellas son

similares para el objetivo final que es definir la cantidad de virus en sangre, y como éste se modifica a través del tiempo con o sin tratamiento. Los resultados deben ser expresados en UI/ml y \log_{10} , aunque aún se utiliza Copias de RNA/ml como unidad, junto al \log_{10} .

Existen principalmente tres metodologías: NASBA, RT-PCR y Branched DNA, todas ellas poseen diferentes características dadas por el método de aislamiento de ácidos nucleicos, fundamentos de la técnica, límite de detección, rango lineal, estructura, equipamiento necesario, complejidad, automatización, etc., y debido a esto, es importante tener en cuenta que, si bien existen numerosos estudios comparativos entre las mismas, efectuados para tratar de unificar el criterio de interpretación de los resultados, no son intercambiables entre ellas para el seguimiento de un mismo paciente y se recomienda que, al cambiar de metodología se realice en paralelo una o dos veces.

Es fundamental conocer que las técnicas moleculares de detección de RNA cuantitativo en plasma (Carga Viral) no se deben utilizar para diagnóstico ya que están exclusivamente validadas para utilizar en pacientes donde la infección está confirmada por serología (ELISA y WESTERN BLOT). A pesar de esto existen suficientes datos en la bibliografía que indican que la medición cuali-cuantitativa de RNA plasmático puede ser utilizada en las mismas situaciones en las que se utiliza la detección de DNA proviral, teniendo siempre el concepto que el diagnóstico final es serológico y que estos estudios sólo permiten predecir la posibilidad o no de infección en dichas situaciones.

ESPECIFICACIONES TECNICAS DE LA MUESTRA

| TIPO de MUESTRA | VOLUMEN MINIMO | ESTABILIDAD | | | OBSERVACIONES TRANSPORTE |
|---|-------------------|-------------|----------|----------|--|
| | | T° AMB | 4 – 8°C | -20°C | |
| Plasma c/ EDTA K2 | 3 ml | 2 Horas | 72 Horas | | Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar a -20°C. |
| Plasma c/ EDTA K2 (lavanda) | 3 ml | 2 Horas | 24 Horas | 1 Semana | Separar el plasma dentro de las 2 Hs de extraído. Colocar en tubo estéril de primer uso. Congelar dentro de las 4 hs de recolección. Transportar de acuerdo a la estabilidad |
| Sangre entera en tubos BD Vacutainer PPT | 5 ml | 5 Días | 5 días | - | Ver instructivo para utilización de tubos BD PPT |

INSTRUCCIONES PARA LA UTILIZACION DE TUBOS BD VACUTAINER PPT

- Los tubos PPT poseen una barrera de gel para la separación de plasma durante la centrifugación, que evita la manipulación de la muestra y facilita su envío a laboratorios de procesamiento.
- Los tubos deben conservarse hasta su uso a temperatura ambiente (18 a 25°C)
- Colocar 5 ml de la sangre extraída dentro de los tubos PPT.
- Invertir el tubo de 8 a 10 veces para homogeneizar la muestra.
- Dejar reposar el tubo con la muestra homogeneizada, en forma vertical sobre la mesada hasta la centrifugación.
- Las muestras deben ser centrifugadas dentro de las 2 horas de efectuada la extracción.
- Centrifugar los tubos PPT a temperatura ambiente, de 10 a 15 minutos a 1100 RCF.
- No congelar, mantener entre 4 y 10° C. Enviar sin remover el plasma en un lapso no mayor de 5 días.

IMPORTANTE: el Laboratorio entrega a quien lo solicite, los tubos Vacutainer PPT para una correcta conservación de la muestra en el caso de no ser posible la centrifugación y separación del plasma dentro de las 2 horas recomendadas, evitando así la degradación durante el transporte.

CONDICIONES DE RECHAZO

- Muestras derramadas
- Muestras extraídas con Heparina
- Muestras de sangre entera o médula ósea congeladas
- Muestras coaguladas
- Muestras colocadas en formol
- Muestras que han sido recolectadas y conservadas sin condiciones de esterilidad