Lab.com

LabRede®

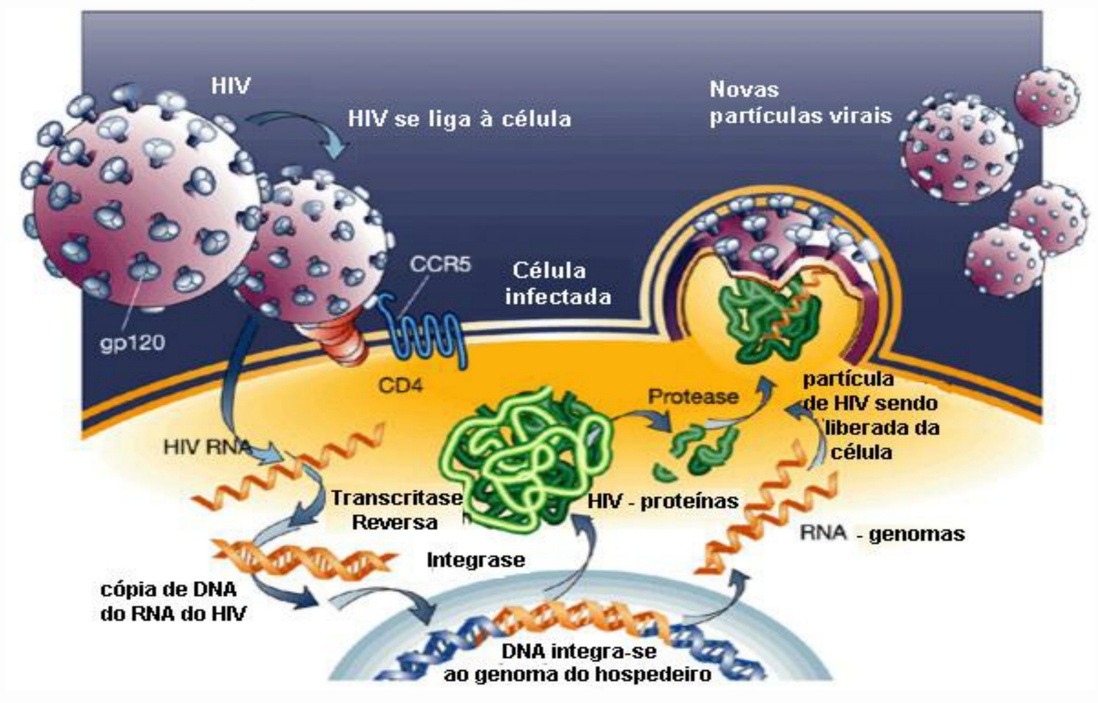
Informativo Digital . Nº 2. Fevereiro / 2016

HIV - CARGA VIRAL

O monitoramento da carga viral para o HIV é obtido através da técnica de PCR-RT (tempo real) quantitativa e representa a base do controle terapêutico das pessoas infectadas.

O vírus HIV é um retrovírus e infecta as células que apresentam a molécula CD4 na superfície, linfócitos T helper e monócitos. A infecção pelo vírus HIV possui um curso crônico e associado às diversas manifestações da imunodeficiência, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Nos últimos anos, a utilização de PCR em tempo real melhorou substancialmente o desempenho de detecção quantitativa de ácido nucléico. As principais vantagens da PCR em tempo real sobre os ensaios com detecção de ponto final são o aumento da faixa de linearidade, a redução da variabilidade e automação do teste.

Desde meados da década de 1990, através do estudo multicêntrico AIDS Cohort Study (MACS) ficou demonstrado que a quantificação do RNA do HIV-1 (Carga Viral) é considerada o marcador laboratorial mais adequado para o estabelecimento do prognóstico de indivíduos infectados, para o monitoramento da resposta terapêutica aos anti-retrovirais (ARV) e avaliação da progressão da doença. A carga viral plasmática, detectada na forma de RNA do HIV, reflete a dinâmica desse vírus nos indivíduos infectados, quantificando as partículas que estão sendo produzidas e lançadas na circulação sanguínea. Com base nessas quantificações, sabe-se que níveis altos de RNA plasmáticos estão associados à queda rápida na população de linfócitos CD4 e à progressão mais rápida para AIDS. A figura abaixo, mostra como ocorre a replicação do HIV no organismo humano.

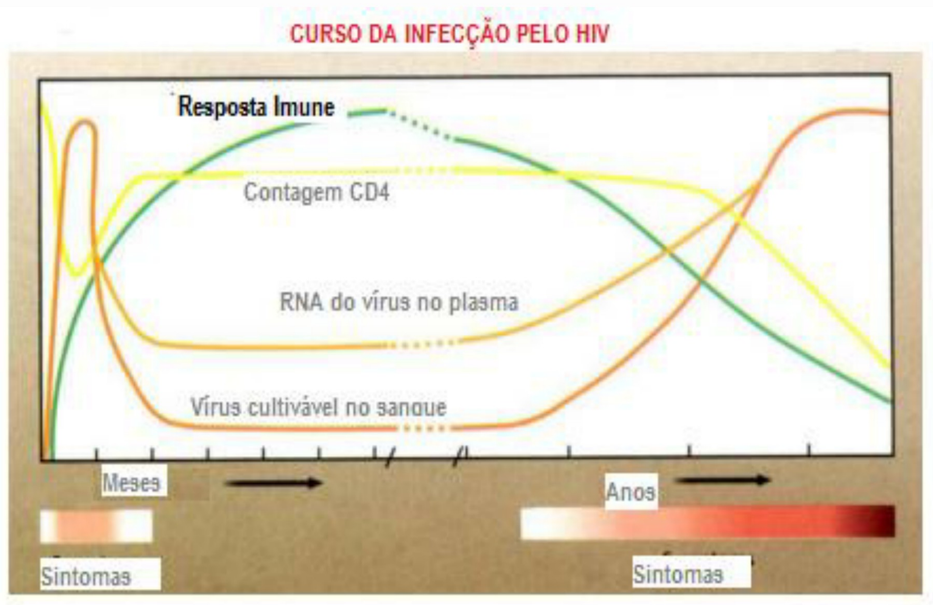


O principal receptor para a entrada do HIV-1 na célula do hospedeiro é o linfócito TCD4+. Embora as células TCD4+ pareçam ser o principal alvo para o HIV, outras células do sistema imune com moléculas CD4 em suas superfícies também são infectadas. Entre elas estão os monócitos e macrófagos, que podem hospedar grandes quantidades de vírus sem serem mortos, desse modo atuam como reservatórios. Por ação da transcriptase reversa do vírus, no citoplasma da célula, a fita de RNA serve de molde para a transcrição reversa de duas fitas complementares de DNA viral (cDNA). O cDNA viral (de fita dupla) é transportado para o núcleo, é incorporado ao genoma da célula hospedeira pela ação da integrase e passa a ser denominado provírus. Para que o DNA proviral produza novos vírus, cópias de RNA devem ser feitas.

As técnicas preconizadas pelos algoritmos de investigação da infecção pelo vírus HIV são os métodos sorológicos e de biologia molecular do tipo PCR Qualitativa (Reação em Cadeia da Polimerase). A técnica de PCR **qualitativa** é empregada para detectar o HIV-1 antes da soroconversão (no período de janela; 3 a 8 semanas após o contagio); fazer a confirmação de um teste de triagem reagente ou um Western Blot indeterminado; avaliar a presença da infecção em crianças de mães portadoras do vírus HIV.

A determinação da carga viral para o HIV é obtida através da técnica de **PCR-RT (tempo real) quantitativa** e se destina a monitorar a infecção pelo HIV, orientar o tratamento e prever a evolução futura da doença.

A rápida elevação da viremia na fase aguda da infecção pelo HIV-1 ultrapassa os limites de detecção dos testes usados para avaliar a carga viral.



O objetivo do tratamento ARV é a manutenção de um limiar inferior a 1000 copias/mL, baseando-se em duas cargas virais, em um período de 12 meses.

Devido à importância deste acompanhamento, houve evolução nas diferentes plataformas do método para atender à necessidade de redução de falsos-negativos que foram descritos inicialmente, causando discrepâncias entre ensaios nas cargas virais mais baixas, e, impacto na decisão clínica. Os vários ensaiosde PCR, especialmente Abbott Real Time HIV-1 (AbbottRT,

Abbott Diagnostics, Wiesbaden Germany) e COBAS Ampliprep/COBAS TaqMan HIV-1 assay (TaqMan, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) são ultrassensíveis para a quantificação do RNA do vírus HIV-1, mas diferem quanto a componentes do método (sistema de extração, primer e design de probe).

O monitoramento da carga viral de um indivíduo deve ser na mesma plataforma de testes para assegurar uma interpretação adequada de qualquer oscilação significativa na carga viral.

Considerando-se que podem ocorrer variações do número de cópias/mL que não são significativas, é fundamental que o clínico saiba quais são as variações significativas da carga viral de um indivíduo e o que são variações intrínsecas das técnicas. Para se determinar se uma variação é significativa ou não, o primeiro passo é converter o valor absoluto de número de cópias/ml para logaritmo de base 10 (log10). Feita a conversão, um valor de logaritmo pode ser comparado com outro valor de logaritmo de um exame anterior do mesmo indivíduo.

As oscilações entre dois resultados de exame de carga viral menor do que 0,5 log10 (ou 3 vezes em relação ao valor anterior) não são consideradas significativas do ponto de vista clínico.

Relação entre Linfócitos CD4 e Carga Viral

O objetivo do tratamento anti-retroviral é ter uma carga viral muito baixa (indetectável) e uma contagem de células CD4 alta. Como os valores elevados de carga viral parecem estar relacionados com um maior risco de progressão da doença, independentemente da contagem de células TCD4+, é recomendado que os dois exames sejam realizados simultaneamente. Existe uma grande variabilidade inter e intra-individual, portanto, a decisão de tratamento se baseia em dados clínicos e laboratoriais. No Brasil, tem sido indicado o tratamento para pacientes com contagens de células TCD4+ abaixo de 500/mm^3 e/ou com carga viral acima de 10.000-30.000 cópias de RNA/ml.

Manifestações clínicas

O exame físico costuma ser normal na fase de latência clínica, exceto pela linfadenopatia. Enquanto a contagem de linfócitos TCD4+ permanece acima de 350 células/mm^3, os episódios infecciosos mais frequentes são geralmente bacterianos. Com a progressão da infecção, apresentações atípicas das infecções, resposta tardia à antibioticoterapia e/ou reativação de infecções antigas começam a ser observadas. O aparecimento de infecções oportunistas e neoplasias marca a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida. A contagem de T CD4+ está, na maioria das vezes, abaixo de 200 células/mm^3.

Embora a carga viral plasmática apresente uma redução significativa após a fase de infecção aguda, a ativação imune persiste no estágio crônico da doença.

Quando solicitar a avaliação da carga viral e interferentes

- Em períodos sem intercorrências clínicas.
- Pelo menos 1 mês após uma infecção oportunística ou vacinação.
- A cada 3-4 meses para avaliar resposta ao tratamento. Se ocorreu uma mudança na terapia ARV pode ser feita em período mais curto, de 1 a 2 meses.
- Está descrita a associação entre fumo e álcool com menor CD4, maior carga viral.
- Mutações no vírus são causa de falso-negativo nas cargas virais mais baixas.

Carga viral e transmissão

Uma grande variedade de fatores comportamentais e biológicos está associada com o risco de transmissão, incluindo a freqüência e o tipo de contato sexual, o uso ou não de preservativos, o estado imunológico e a presença ou ausência de doenças sexualmente transmissíveis associadas. Vários estudos têm mostrado uma boa correlação entre carga viral no sangue periférico e carga viral em secreções cervicais e seminais.

A carga viral é o principal preditor do risco de transmissão heterossexual do HIV-1, e a transmissão é rara entre as pessoas com níveis de menos de 1500 cópias de RNA do HIV-1 por mililitro.

Após o tratamento, a carga viral nas secreções genitais cai em correspondência com o declínio da carga viral no sangue periférico. O risco residual não pode ser excluído cientificamente, mas é muito reduzido.

Assessoria Científica – Lab Rede

Referências

1. Technical and operational considerations for implementing HIV viral load testing Interim technical update http://www.who.int/hiv/pub/arv/viral-load-testing-technical-update/en/
2. Hammer S, Eron J, Reiss P *et al*.: Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *JAMA*300,555-570 (2008).
3. Carmen de Mendoza; Vincent Soriano Update on HIV Viral-load Assays: New Technologies and Testing in Resource-limited Settings Future Virology. 2009;4(5):423-430
4. Mellors J, Rinaldo C, Gupta P *et al*.: Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma.*Science*272,1167-1170 (1996).
5. Contagem de Células T CD4+ e Testes de Carga Viral: Principais Marcadores Laboratoriais para Indicação e Monitorização do Tratamento Anti-Retroviral em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/16contagem_celulasTCDA.pdf
6. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para o Manejo da Infecção pelo HIV em adultos, em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_clinico_manejo_hiv_adultos.pdf
7. Viral Load and Heterosexual Transmition of human Immunodeficiency Virus Type1 -N. Engl J Med 2000; 342 : 921-9