

L'APPROCCIO DUAL-TARGET NELLA RILEVAZIONE E QUANTIFICAZIONE DELLA CARICA VIRALE DELL'HIV-1 RNA: ANALISI DEI DATI DI CARICA VIRALE E CONSEGUENZE NELLA GESTIONE CLINICA DELL'INFEZIONE DA HIV-1

A. Amendola¹, I. Abbate¹, F. Forbici¹, M. Bloisi¹, C. Brega¹, S. Di Filippo¹, M. Paterno¹, M. Pisciotta¹, M.R. Capobianchi¹

¹Laboratorio di Virologia, INMI L. Spallanzani IRCCS, Roma

INTRODUZIONE

La gestione dell'infezione da HIV e la ricerca di una cura hanno evidenziato la necessità di saggi sempre più sensibili e precisi per misurare la carica virale di HIV (CV). Recentemente, Hologic Inc. ha introdotto il saggio Aptima HIV-1 Quant Dx (AQ), un test basato sull'approccio a doppio target delle regioni pol e 5'LTR di HIV per rilevare e quantificare la CV nel plasma. Sebbene i segnali di entrambi i target siano generati, misurati, analizzati ed utilizzati per la determinazione della viremia, la maggior parte dei risultati finali quantitativi deriva dalla regione pol. In alcuni casi, tuttavia, solo il segnale relativo al target 5'LTR risponde ai criteri stabiliti per fornire il dato di viremia.

Lo scopo dello studio è: 1) Raccogliere e analizzare dati viro-immunologici dei pazienti HIV+ in cui le CV sono ottenute mediante amplificazione della singola regione 5'LTR con AQ per confrontarli con pazienti HIV+ quantificati mediante il target pol. 2) Confrontare i valori di CV ottenuti con AQ con quelli prodotti da altri sistemi diagnostici. 3) Misurare il carico di HIV-DNA provirale in PBMC di pazienti HIV+ i cui dati di CV sono ottenuti mediante la singola regione 5'LTR. 4) Analizzare la sequenza della regione pol presente in PBMC di pazienti HIV+ quantificati mediante 5'LTR.

METODI

Per lo studio sono utilizzate aliquote di plasma residuo e PBMC ottenuti dallo stesso campione su cui viene eseguito il dosaggio della CV. I saggi AQ, Abbott Realtime HIV-1 (AR) e Roche Cobas Ampliprep/Taqman HIV-1 (RC) sono utilizzati secondo le istruzioni delle ditte produttrici. Il carico provirale (HIV-DNA) nei PBMC è misurato con un metodo di real-time PCR in-house, specifico per la regione LTR. L'analisi di sequenza della regione pol nei reservoir circolanti viene effettuata nell'ambito del test di resistenza ai farmaci antiretrovirali.

RISULTATI

Sono stati eseguiti in totale 4423 dosaggi della CV in individui HIV+ con il saggio AQ. Sebbene AQ utilizzi l'approccio a doppio bersaglio per rilevare e quantificare l'HIV RNA nel plasma di individui HIV+, nel 5% (219/4423) dei pazienti la CV viene misurata mediante il singolo segnale 5'LTR. Di questi, l'83,5% mostra <30 copie/ml di viremia mentre il 16,4% è stato accuratamente quantificato (CV media: 942 copie/ml; valori min-max di CV: 31-9182 copie/ml). Prelievi multipli di 3 pazienti rilevati e quantificati tramite 5'LTR con AQ sono risultati <40 copie/ml o non-rilevati con il test AR (basato sul target singolo pol) o debolmente quantificati o non-rilevati con il saggio RC (basato sul doppio target gag e 5'LTR). Il dosaggio del carico provirale eseguito su sei campioni ha dimostrato la presenza di livelli significativamente elevati di genoma integrato.

CONCLUSIONI

L'implementazione di strumenti diagnostici avanzati per il monitoraggio dei parametri di HIV può migliorare la gestione clinica della malattia grazie al riconoscimento precoce dei pazienti a rischio di rebound virologico, all'adattamento dei protocolli terapeutici e al riconoscimento di mutazioni che possono compromettere l'efficacia della ART. L'introduzione di AQ, il sistema diagnostico basato su segnale a doppio bersaglio per la quantificazione della CV, se da un lato aggiunge valore al dato di viremia, dall'altro apre nuove domande sui dati viremici ottenuti con il singolo e doppio target e loro implicazioni nel management clinico.