



INFORME TÉCNICO

Contagem de Células T CD4+ e Testes de Carga Viral: principais marcadores laboratoriais para indicação e monitorização do tratamento anti-retroviral (*)

Atualmente, a presença de sinais clínicos de imunodeficiência (sintomas constitucionais e/ou processos oportunistas), a contagem de células T CD4+ e a quantificação de carga viral são os principais parâmetros utilizados pela maioria dos especialistas para se iniciar e monitorizar a terapia anti-retroviral em pacientes com infecção pelo HIV.

Desde os primeiros anos da epidemia, a monitorização das células T CD4+ vem sendo utilizada como um parâmetro laboratorial preditivo do prognóstico da doença causada pelo HIV e também como um excelente indicador da magnitude do risco para as principais infecções oportunistas, principalmente em pacientes com doença sintomática. Sua avaliação seriada vem sendo utilizada, tanto na indicação como na avaliação da necessidade de modificação dos esquemas anti-retrovirais, e apresenta uma boa correlação com a resposta ao tratamento. Além disso, a indicação de quimioprofilaxia, bem como a abordagem clínica dos principais processos oportunistas presentes no espectro da imunodeficiência crônica induzida pelo HIV é frequentemente avaliada e monitorizada pela contagem seriada dessas células. Alguns especialistas têm utilizado também a análise do percentual de células CD4+ ao invés de considerar somente a contagem absoluta em mm^3 pelo fato da primeira sofrer uma menor interferência nos seus valores.

Porém, a contagem de células T CD4+, mesmo considerado um clássico marcador de progressão, apresenta uma grande variabilidade intra e interindividual, principalmente quando os valores estão acima de 200 células/ mm^3 , dificultando a sua valorização em fases mais precoces da infecção. Assim, recomenda-se que esse exame seja realizado, preferencialmente, pelo mesmo laboratório e no mesmo período do dia para minimizar essa variabilidade. O exame deverá ser refeito quando ocorrerem contagens discrepantes e, principalmente, quando as decisões terapêuticas forem baseadas apenas nesses resultados. Os valores são considerados alterados quando as contagens seriadas estão abaixo de 500 células/ mm^3 (ou < 24-28%). Pacientes com contagens abaixo de 200 células/ mm^3 (ou < 14-16%) apresentam um risco bastante aumentado para processos oportunistas como a pneumocistose e a toxoplasmose. Já pacientes com contagens abaixo de 50-100 células/ mm^3 (ou < 5-10%) apresentam um quadro de imunodeficiência mais grave e um risco bastante elevado para infecções disseminadas, como as doenças por citomegalovírus e microbactérias atípicas.

Atualmente já estão disponíveis os exames que fazem a quantificação do RNA viral. Essas técnicas são denominadas de exames de carga viral. 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.

(*) Documento elaborado pela Unidades de Assistência e Laboratório da Coordenação Nacional de DST e Aids

As metodologias disponíveis para determinação da carga viral baseiam-se na amplificação direta ou indireta dos ácidos nucleicos

O nível de RNA do HIV no plasma é um marcador clínico importante. O número de partículas virais é mais elevado durante a infecção primária e mais baixo na fase crônica assintomática. Existe uma relação direta entre a quantidade de HIV detectada e a rapidez com que a infecção progride. Níveis elevados de replicação do vírus e o aumento da carga viral estão associados a deterioração acelerada do sistema imune. Portanto, a carga viral é muito útil para avaliar a progressão da doença, indicar o início de terapia e para determinar a eficácia dos anti-retrovirais.

As metodologias disponíveis para determinação da carga viral baseiam-se na amplificação direta ou indireta dos ácidos nucleicos. Das três metodologias disponíveis, duas fazem a amplificação direta e uma de forma indireta. No *Amplicor HIV Monitor Test*, cuja metodologia é baseada na técnica de reação de cadeia de polimerase - PCR) e no NASBA (*nucleic acid sequence based amplification* - amplificação baseada na seqüência do ácido nucleico) a amplificação do material genético viral é direta, ou seja, ocorre um aumento da quantidade de ácido nucleico e detecta-se o produto final amplificado. Mais recentemente, a técnica de NASBA vem sendo substituída pelo *Nuclisens*, que se apresenta com o mesmo princípio, porém com um limite de detecção menor que seu antecessor. No *branched-DNA* (DNA ramificado) a amplificação é indireta: ocorre primeiro uma hibridização com o RNA do vírus e depois a amplificação do sinal do produto hibridizado.

Todas as técnicas disponíveis atualmente para determinar a carga viral reproduzem resultados em número de cópias do RNA por ml de plasma. Entretanto, sabe-se que podem ocorrer variações desses valores, de 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 (\log_{10}). Feita a conversão, um valor de logaritmo pode ser comparado com outro valor de logaritmo de um exame anterior do mesmo indivíduo.

As três metodologias de quantificação do RNA viral apresentam eficácia semelhante e são muito

reprodutíveis. Em um recente estudo comparativo entre essas técnicas de quantificação viral, utilizando amostras de sangue coletadas no Brasil, foram encontrados modelos matemáticos que permitem em princípio, a correla-

ção dos valores dos logaritmos decimais do número de cópias/ml obtidos pelas diferentes técnicas (Tavares & cols., manuscrito em preparação). Do ponto de vista prático, se tomarmos como limite referencial um determinado valor encontrado pela técnica de PCR (ex: 20.000 cópias/ml), o valor equivalente convertido para a técnica de NASBA (ou Nuclisens) é aproximadamente igual a metade (no exemplo escolhido seria igual a 10.000 cópias/ml) e cerca de um quarto para a técnica de DNA ramificado (5.000 cópias/ml). Entretanto, como elas estão baseadas em princípios diferentes, sugere-se que os resultados sejam comparados preferencialmente usando o mesmo método durante a monitorização da carga viral do paciente.

Até o momento não existe nenhum valor específico de CD4+ ou carga viral considerado como ideal para iniciar o tratamento anti-retroviral para todos os pacientes, já que a taxa de progressão para doença pode apresentar uma grande variação interindividual. As decisões terapêuticas devem ser individualizadas de acordo com o grau de risco de progressão indicado pelos parâmetros laboratoriais. Assim, baseando-se nos estudos disponíveis até o momento, o tratamento anti-retroviral no Brasil tem sido indicado para pacientes com contagens de células T CD4+ abaixo de $5/\text{mm}^3$ e/ou com carga viral acima de 10.000-30.000 cópias de RNA/ml, sendo que a composição do esquema terapêutico vai depender da estabilidade e magnitude dos parâmetros clínicos e laboratoriais utilizados. Como os valores elevados de carga viral parecem estar relacionados com um maior risco de progressão da doença, independentemente da contagem de células T CD4+, é recomendado que os dois exames sejam realizados simultaneamente, no sentido de se melhor balizar as indicações de início e modificação do esquema terapêutico em uso. As variações dos resultados da carga viral freqüentemente são expressas em logaritmo, devido a sua variação. Reduções, aumentos ou oscilações entre dois resultados de exame de carga viral menores do que $0,5 \log_{10}$ (ou 3 vezes em relação ao valor anterior)

não são consideradas significativas do ponto de vista clínico.

A título de exemplo, imagine-mos que um indivíduo portador do HIV apresentou, na primeira determinação de carga viral um valor de 100.000 cópias/ml. Esse valor em logaritmo corresponde a $5 \log_{10}$. Alguns meses após o início do tratamento, um segundo exame mostrou um valor da carga viral de 1000 cópias/ml. Esse valor em logaritmo corresponde a $3 \log_{10}$. Comparando-se os dois resultados, observou-se uma redução de $2 \log_{10}$, o que é considerado uma variação significativa. Variações iguais ou maiores do que $0,5 \log_{10}$ são consideradas significativas, pois estão acima das variações intrínsecas das técnicas de carga viral utilizadas atualmente. Variações menores do que $0,5 \log_{10}$ são consideradas como decorrentes da própria técnica e não devem ser levadas em consideração para alteração da terapia.

A valorização que elas dão à família, principalmente, quando referem que a falta dos filhos é significativa entre uma parte das detentas

Da mesma forma que ocorre na contagem de células T CD4+, a avaliação da carga viral deve ser realizada em períodos de estabilidade clínica, utilizando-se sempre a mesma técnica e, preferencialmente, o mesmo laboratório.

Esses testes não devem ser realizados até passado pelo menos 4 semanas da ocorrência de uma infecção oportunista ou vacinação. Na avaliação da eficácia terapêutica, sugere-se a monitorização desses exames a cada 3-4 meses. Em caso de início ou mudança de terapia anti-retroviral, alguns autores recomendam a quantificação da carga viral e a contagem de células T CD4+ com aproximadamente 1-2 meses de tratamento, para permitir uma melhor avaliação da resposta terapêutica ao esquema instituído.

Alguns exemplos de interpretação clínica da variação dos resultados de exames de carga viral estão resumidas no quadro abaixo:

QUADRO 1 - Exemplos de variação entre exames de carga viral e sua interpretação clínica

Valor Basal da Carga Viral (n° cópias/ml)	Valor Final da Carga Viral (n° cópias/ml)	Varição entre os resultados (n° de vezes)	Varição entre os Resultados (\log_{10})	Interpretação Clínica
140.000	20.000	7	0,85	Significante
30.000	75.000	2,5	0,40	Não Significante
900.000	500.000	1,8	0,25	Não Significante
10.000	50.000	5	0,70	Significante
20.000	10.000	2	0,30	Não significativa
500	5.000	10	1,0	Significante