

INTRODUCCION

Las guías internacionales recomiendan estudio de resistencia antirretroviral por genotipificación en pacientes embarazadas VIH positivas para la adecuación del tratamiento antirretroviral (ARV) y la prevención de la transmisión vertical madre-hijo. La secuenciación de última generación (NGS) se ha posicionado como una alternativa superadora a la secuenciación Sanger debido a su alta sensibilidad y su mayor capacidad productiva. El empleo de esta nueva metodología aplicada a la genotipificación del VIH permitiría diseñar con facilidad estudios de grandes poblaciones de pacientes (ej. para farmacovigilancia de VIH) con un costo similar a la secuenciación Sanger pero en un menor tiempo, con el valor agregado que implicaría la identificación de mutaciones de resistencia con una sensibilidad mayor que la presentada por la actual metodología.

OBJETIVO

Estandarizar y evaluar el uso de NGS para resistencia antirretroviral a partir del estudio de pacientes embarazadas naive VIH positivas previamente estudiadas por secuenciación Sanger.

MATERIALES Y METODOS



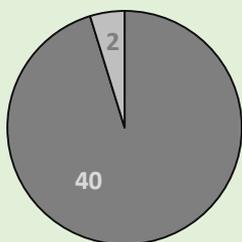
1) Protocolo provisto por la OPS en conjunto con la Agencia de Salud de Canadá



2) Comparación de resultados previos vs resultados obtenidos con NGS

- 1A- Extracción de ácidos nucleicos y amplificación por RT-PCR y NESTED de 42 muestras de embarazadas naive previamente estudiadas con el sistema Trugene HIV-1 Genotyping Kit (Siemens).
 - 1B- Secuenciación con secuenciador MiSeq Illumina
 - 1C- Análisis bioinformático con Software HyDRA y base de datos Stanford (filtro de 20% de sensibilidad).
- Se compararon los perfiles de mutaciones primarias encontrados por ambas metodologías.

RESULTADOS



Se amplificaron y secuenciaron 40 muestras sobre 42 muestras estudiadas.

Perfiles de mutaciones hallados	n
V82A, L90M; Y181I	1
G190A	1
K103N	3
K103N, P225H	1
M41L	1
Sin mutaciones primarias	33

Se observó un **100% de concordancia** entre los resultados obtenidos por NGS y los resultados previos obtenidos por Trugene HIV-1 genotyping kit. En la tabla se presentan los perfiles de mutaciones primarias hallados en las 40 secuenciadas.

CONCLUSION

La secuenciación de última generación y el protocolo provisto por OPS podrían ser utilizados como alternativa a la secuenciación Sanger en la genotipificación del VIH para análisis de la resistencia antirretroviral en pacientes embarazadas naive.

CONTACTO

Solicitá una copia del artículo, bibliografía relacionada o consultá tus dudas escaneando el siguiente código qr:



SEGUIMOS TRABAJANDO...

Se encuentra en proceso, el análisis de los datos obtenidos por NGS, mediante la aplicación de filtros de mayor sensibilidad, para identificar variantes presentes por debajo del 20% de sensibilidad y evaluar su impacto en el desarrollo de resistencia en las pacientes del presente estudio.