



# Utilidad de la cuantificación de carga viral de VIH en líquido cefalorraquídeo, a propósito de un caso

Catalina Gutiérrez<sup>1</sup>, Leonardo Chanqueo<sup>1,2</sup>, Fernando Bernal<sup>1</sup>,  
Alejandro Ramírez<sup>2</sup>, Oscar Loureiro<sup>3</sup> y Patricia Vásquez<sup>1</sup>

## Clinical utility of HIV viral load assessment in cerebral spinal fluid, a case report

Detection of virus in cerebrospinal fluid (CSF) in HIV-infected patients with HIV viral load (VL) undetectable in plasma has been termed viral escape. These leaks may be asymptomatic from a neurological point of view, similar to plasma blips, or associated with neurological disease, with discordant VL between plasma and CSF, and may be evidence of a compartmentalization of the virus and the possibility of identifying quasispecies with mutations that confer resistance to ART. We present the case of a man with AIDS and disseminated tuberculosis who presented neurological symptomatology evidenced by headache and convulsive syndrome, who presented a discordance between plasma and CSF HIV VL; the genotypic test of the virus, obtained by lumbar puncture, identified new mutations that determined a change in ART with subsequent satisfactory evolution.

**Keywords:** HIV; HIV viral load; cerebrospinal fluid; viral escape.

**Palabras clave:** VIH; carga viral VIH; líquido cefalorraquídeo; escape viral.

<sup>1</sup>Servicio de Medicina Interna, Unidad de Infectología.  
<sup>2</sup>Laboratorio Clínico.  
<sup>3</sup>Servicio de Neurología.  
Hospital San Juan de Dios.

Recibido: 5 de marzo de 2018  
Aceptado: 12 de julio de 2018

**Correspondencia a:**  
Catalina Gutiérrez  
catalina.gutierrez@redsalud.gov.cl

## Introducción

El virus de inmunodeficiencia humana (VIH) se considera un virus neurotrópico que afecta el sistema nervioso central (SNC) en etapas tempranas de la infección<sup>1</sup>. La terapia anti-retroviral (TARV) ha demostrado un gran impacto, reduciendo la carga viral (CV) tanto en plasma como en líquido cefalorraquídeo (LCR), logrando niveles indetectables.

La detección de material genético (ARN viral) en LCR en pacientes en TARV con CV de VIH en plasma indetectable se ha denominado escape (*blips*) viral. Estos escapes pueden ser asintomáticos, similares a los *blips* plasmáticos, o asociados a sintomatología neurológica<sup>2</sup>.

Presentamos el caso clínico de un paciente con infección por VIH con TARV que desarrolló un compromiso del SNC, evidenciando una discordancia entre la CV de LCR y plasma.

## Caso clínico

Varón de 36 años de edad, sin antecedentes mórbidos de relevancia. Dentro de sus hábitos destacaba un tabaquismo suspendido, sin consumo de alcohol y drogas. Había sido diagnosticado con una infección por VIH en etapa SIDA por un cuadro de tres meses de evolución de fiebre asociada a tos, sudoración nocturna, compromiso del estado general, baja de peso y diarrea. Al momento del diagnóstico tenía un recuento de linfocitos CD4 132 céls/

mm<sup>3</sup> y una CV de 3.523.602 copias/ml log 6,55 (rango intervalo cuantitativo lineal: 40 a 10.000.000 copias/ml de plasma, método ABBOTT Real Time HIV-1).

El antígeno HLA-B \*5701 y el estudio de co-infecciones (HBsAg, serología para VHC y toxoplasmosis) fue negativo y VDRL no reactivo. Los hemocultivos automatizados y las baciloscopias de expectoración también resultaron negativos; la radiografía de tórax y fondo de ojo fueron normales. La tomografía computarizada (TC) de tórax, abdomen y pelvis evidenció un extenso conglomerado de adenopatías retroperitoneales y mesentéricas, algunas de ellas con centro hipodenso. Se realizó una biopsia por cirugía laparoscópica, obteniendo baciloscopias de líquido peritoneal positivas para bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR); el cultivo de Koch fue positivo para *Mycobacterium tuberculosis complex*, no siendo posible realizar el estudio de susceptibilidad.

La histopatología de un linfonodo retroperitoneal, tejido hepático y médula ósea fueron compatibles con una tuberculosis, con la tinción de Ziehl Neelsen de todas las muestras positivas para BAAR.

Con el resultado de las baciloscopias positivas se inició terapia anti-tuberculosa diaria con isoniazida, rifampicina, etambutol y moxifloxacina, ajustada por insuficiencia renal. Estando en fase trisemanal del tratamiento anti-tuberculoso, inició TARV con tenofovir/emtricitabina y raltegravir (Score CPE - *Central Nervous System Penetration-effectiveness* o efectividad de penetración en el SNC de anti-retrovirales = 7 puntos).

Durante su seguimiento, al mes de inicio de TARV,



destacó un recuento de linfocitos CD4 78 céls/mm<sup>3</sup> y CV 305.702 copias/ml log 5,49. Se sospechó una falla virológica por lo que se solicitó una genotipificación estándar (Gag-Pol por método ViroSeq® VIH-1), genotipo de integrasa y tropismo viral (por RPC y secuenciación) (Tabla 1). Con este resultado y estando con rifampicina, como parte de la terapia anti-tuberculosa, se cambió TARV a tenofovir, maraviroc y etravirina (*Score CPE* = 6 puntos).

Se hospitalizó por persistir con fiebre, cefalea y baja de peso; se controló una TC tórax, abdomen y pelvis que no demostró cambios en las adenopatías mediastínicas, retroperitoneales y perihiliares. Estando internado presentó una convulsión tónico-clónica generalizada. Se realizó una TC cerebral que informó un edema vasogénico y calcificaciones que podrían ser lesiones antiguas o tuberculomas. Se realizó una punción lumbar que dio salida a LCR turbio, con 1.280 leucocitos/mm<sup>3</sup>, 67% de PMN, proteínas 12,4 g/l, glucosa 52 mg/dl y ADA (adenosin deaminasa) 18,6 U/l (valor normal: 7 U/l). La tinción de Gram, cultivo corriente, baciloscopias y RPC TBC GeneXpert de LCR fueron negativos. El cultivo de Koch fue negativo a los 60 días.

Por sospecha de una tuberculosis meníngea se reinició fase diaria de tratamiento, agregándose estreptomina. Al alta hospitalaria completó 50 dosis diarias de isoniazida, rifampicina, etambutol, estreptomina y moxifloxacina. Posteriormente, estando en fase trisemana de terapia

antituberculosa, por alteración de pruebas hepáticas, se suspendió rifampicina, manteniéndose con isoniazida, etambutol y moxifloxacina.

Se realizó una RM cerebral que evidenció múltiples focos de realce leptomeníngeo, nodulares y lineales, de distribución aleatoria fronto-parieto-temporal, sin efecto de masa, de tipo inflamatorio-infeccioso granulomatoso.

Clinicamente el paciente persistió con crisis convulsivas y cefalea. A los cinco meses del inicio de la TARV ajustada según el genotipo, se realizó un nuevo estudio de LCR, destacando una hipoglucorraquia 29 mg/dl, tinta china y látex *Cryptococcus* negativos. Cultivo corriente, cultivo de hongos, baciloscopias, GeneXpert MTB, RPC VEB y JC fueron negativos. Se cuantificó la CV de VIH en LCR que resultó en 983.580 copias/ml log 5,99 (método ABBOTT Real Time HIV-1, 600 µL LCR) y se estudió el genotipo del virus en LCR (Laboratorio de Biología Molecular de Hospital Lucio Córdova, por método ViroSeq® VIH-1). Este demostró nuevas mutaciones comparado con el estudio plasmático previo (Tabla 2). Se modificó la TARV a tenofovir, zidovudina y darunavir/ritonavir (*Score CPE* = 8 puntos).

En el seguimiento el paciente completó terapia antituberculosa. La CV plasmática descendió de forma progresiva (Tabla 3) hasta ser indetectable, asociado a un aumento del recuento de linfocitos CD4 a 325 céls/mm<sup>3</sup>. Presentó mejoría del punto de vista neurológico, con ausencia de cefalea y convulsiones. Se controló un

**Tabla 1. Resultado genotipo estándar, genotipo integrasa y tropismo plasmático**

Genotipo plasmático	Mutaciones	Interpretación
Inhibidores de la transcriptasa reversa análogos de nucleósidos (NRTI)	M184V	Resistencia emtricitabina y lamivudina
Inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa reversa (NNRTI)	Sin mutaciones	Sin resistencia
Inhibidores de proteasa	L10I, A71TI	Sin resistencia
Genotipo integrasa	Y143R, V31I, S17N, D256DE	Resistencia a raltegravir Potencial resistencia a elvitegravir
Tropismo viral	R5	El virus utiliza el co-receptor CCR5, es aceptable usar antagonistas del receptor CCR5 (maraviroc)

**Tabla 2. Comparación de mutaciones en plasma y líquido cefalorraquídeo**

Mutaciones a anti-retrovirales	Plasma	LCR
Inhibidores de la transcriptasa reversa análogos de nucleósidos (NRTI)	M184V	Ninguna
Inhibidores de transcriptasa reversa no análogos de nucleósidos (NNRTI)	Ninguna	K101Q, E138K, Y181C
Inhibidores de proteasa	L10I, A71TI	L10I, A71TI
Integrasa	Y143R, V31I, S17N, D256DE	No realizado
Tropismo viral	R5	No realizado



Tabla 3. Cargas virales VIH y logaritmos en plasma

Fecha	Carga viral plasmática copias/ml	Logaritmo copias /ml	Genotipo plasmático	Genotipo LCR
Pre-TARV	3.523.602	6.55	No	No
1 mes post TARV	305.702	5.49	Si	No
Post cambio TARV según genotipo plasmático	180.734	5.26	No	Si
Post cambio TARV según genotipo LCR	1336	3.13	No	No
Seguimiento	LDL	LDL	No	No

nueva muestra de LCR que mostró una mejoría en los parámetros citoquímicos: glucosa 45 mg/dl, proteínas 1,62 g/L, ADA 3,2 U/L y CV indetectable.

## Discusión

La prevalencia del compromiso neurológico en pacientes con infección por VIH se ha estimado entre 39 y 70%, siendo su manifestación inicial en 10% de los casos<sup>1</sup>.

El VIH ingresa al SNC por vía hematogena a través de monocitos y linfocitos<sup>3</sup>; estos monocitos-macrófagos expresan moléculas neurotóxicas y citocinas pro-inflamatorias, que a su vez activan astrocitos y otras células. Esta activación celular y el proceso inflamatorio asociado, aumenta la permeabilidad de la membrana hemato-encefálica, con el consiguiente aumento en la llegada de monocitos y linfocitos infectados. Asimismo, existe una infección de células progenitoras neuronales, las cuales tendrían un rol importante como reservorio viral y en la formación de un compartimento separado en el SNC<sup>4,5</sup>.

Dentro de las manifestaciones clínicas de la afectación del SNC, existen complicaciones primarias, como trastornos neuroconductuales y deterioro neurocognitivo asociado a VIH (HAND, por su sigla en inglés) y complicaciones secundarias asociados al inmunocompromiso, principalmente infecciones oportunistas y neoplasias<sup>1</sup>.

El SNC, al actuar como reservorio del VIH, permite su replicación a pesar de la supresión viral plasmática, escapando al control anti-retroviral y facilitando el desarrollo de resistencia<sup>6</sup>.

La presencia de ARN viral de VIH en el LCR podría provenir desde el espacio perivascular o de las células infectadas en las meninges (por la baja penetración de los anti-retrovirales, por ejemplo) o bien originarse en el plasma y atravesar el plexo coroideo durante la producción de LCR<sup>7</sup>.

Se ha denominado discordancia entre plasma y LCR cuando existen diferencias entre los niveles de ARN viral

de VIH entre estos compartimentos; cuando es mayor en LCR, puede resultar en la detección de variantes VIH resistentes a fármacos<sup>8</sup>. En la mayoría de los estudios se considera que existe una discordancia en los niveles de CV si es 0,5 log mayor en el LCR que en el plasma<sup>8,9</sup>.

La cuantificación del ARN de VIH en líquido LCR se ha realizado en el contexto de pacientes asintomáticos en TARV con CV plasmática indetectable, para determinar si existen escapes o *blips* en el SNC<sup>8,10-12</sup>; en pacientes con viremia de bajo nivel, en los cuales es complejo amplificar y genotipicar el virus<sup>9</sup>, y en pacientes con manifestaciones neurológicas<sup>13</sup>.

En pacientes en TARV sin síntomas neurológicos, Edén y cols. demostraron que 10% de los pacientes presentó ARN de VIH detectable en LCR (7 de 69 pacientes) con una CV media de 121 copias/ml (rango: 54-213)<sup>8</sup>. Otro estudio del mismo autor, también en pacientes asintomáticos en TARV, detectó ARN viral en LCR en 36% de ellos, con una media de 50 copias/ml; cuando se estudió ARN viral plasmático, 42 pacientes (52%) tuvieron  $\geq 1$  *blips* viral con una media de 44 copias/ml, seis tuvieron un *blips* plasmático y en LCR simultáneo y uno tuvo dos *blips* simultáneos<sup>10</sup>. Anderson y cols. demostraron en 220 pacientes asintomáticos, 12,7% de discordancia entre CV en plasma y LCR<sup>12</sup>, utilizando detección de CV tan baja como una copia/ml.

Estos hallazgos demuestran que no es infrecuente encontrar CV detectables en rangos bajos en LCR en pacientes asintomáticos, con CV suprimida en plasma.

En pacientes con ARN de VIH detectable en LCR, existiría una inmunoadactivación local, evidenciada por niveles de neopterina, marcador de activación macrófagica, elevados<sup>11</sup>.

Un estudio, en pacientes con viremia de bajo nivel y asintomáticos del punto de vista neurológico, comparó la CV de LCR de 40 pacientes con controles. Se encontró discordancia entre el LCR y plasma en 18% de pacientes (7 de 40). En el grupo control, de los que tenían CV en plasma suprimida, ninguno tuvo discordancia (0 de 43 pacientes)<sup>9</sup>. Al realizar la genotipificación viral, se



demonstraron mutaciones que conferían resistencia a la TARV, llevando a un cambio de la TARV en cinco pacientes.

Por último, en un estudio de 11 pacientes con síntomas neurológicos (que consideró discordancia a CV en LCR > 1 log que en plasma o CV en LCR > 200 y CV plasmática < 50 copias/ml), en ocho se logró realizar genotipificación en LCR, de los cuales siete tenían mutaciones. La TARV fue modificada en 10 pacientes; todos con mejoría clínica a las cuatro semanas<sup>13</sup>.

En una revisión sistemática de pacientes con medición de CV en plasma y LCR, en la cual se consideró discordante una diferencia de 0,5 log, se demostró que el SNC actuaría como un compartimento separado, ya que se evidenció discordancia en la CV, en la presencia de mutaciones y en uso de co-receptores<sup>14</sup>.

En nuestro paciente, la medición de la CV de VIH en plasma fue 7 días previos a la CV de VIH en LCR. Pese a que no fueron simultáneas, hubo discordancia entre la CV plasmática (180.000 copias/ml, log 5,26) y la del LCR (983.000 copias/ml, log 5,99) con una diferencia de 0,73 log. Por este motivo, se realizó una genotipificación viral en el LCR que reveló nuevas mutaciones, lo que, sumado a la suspensión de rifampicina -por toxicidad- permitió optimizar el esquema anti-retroviral con una terapia más robusta que incluyó inhibidores de proteasa con potenciador.

El desarrollo de resistencia evidenciada en el estudio ulterior en LCR, podría haberse desarrollado en plasma -el paciente tenía el antecedente de mutaciones como la M184V y otras- o bien, ser atribuidas a una replicación autónoma con una evolución de resistencia independiente en el LCR. También pudiese ser explicado por la pobre penetración de los fármacos anti-retrovirales en el LCR, resultando en bajas concentraciones de las mismas.

Según el *score* de efectividad de penetración de los fármacos en el SNC<sup>15</sup>, estableciendo como punto de corte para definir alta penetración  $\geq 6$  puntos, los esquemas anti-retrovirales de nuestro paciente siempre estuvieron sobre ese límite. Sin embargo, existen otros estudios que no han encontrado la misma correlación de penetración de los anti-retrovirales con la CV en LCR<sup>13,16</sup>.

La evolución posterior de nuestro paciente fue favorable, presentando CVs tanto en plasma como en LCR indetectables; el nuevo régimen de terapia anti-retroviral, que proporciona un CPE en el SNC de 8 puntos, pudiese haber jugado un rol en lograr una supresión de la CV en

LCR; sin embargo, no se contó con la genotipificación simultánea en plasma para corroborar esta hipótesis.

El compromiso neurológico del paciente también pudo corresponder a una manifestación del síndrome inflamatorio de reconstitución inmune (SIRI)<sup>17</sup> posterior al inicio de la TARV, apoyado por una ADA alta que hizo sospechar una TBC del SNC. Por este motivo se utilizaron corticoesteroides y se optimizó el esquema anti-tuberculoso; sin embargo, debido a la persistencia de los síntomas neurológicos y al LCR alterado, se decidió cuantificar la CV en LCR.

Si bien la técnica utilizada para la medición de CV (Abbott RealTime HIV-1) está validada sólo para el plasma, se ha reportado su uso en LCR en otros estudios publicados<sup>8,18</sup>.

A propósito del caso clínico expuesto, nos parece que la determinación de CV en LCR es una herramienta útil para confirmar el compromiso neurológico por VIH, en pacientes en TARV con respuesta adecuada de CV en plasma, habiendo descartado la co-infección por otros agentes; también podría ser considerada en pacientes con terapias de rescate por falla virológica con supresión parcial, pese a la TARV optimizada según el genotipo y adherencia adecuada.

*Agradecimientos:* Laboratorio Biología Molecular Hospital Lucio Córdova.

## Resumen

La detección de virus en el líquido cefalorraquídeo (LCR) en pacientes infectados por VIH con carga viral (CV) indetectable en el plasma se ha denominado escape viral. Estas fugas pueden ser asintomáticas o asociadas con enfermedad neurológica. La discordancia de la carga viral de VIH entre plasma y LCR evidenciaría la presencia de distintos compartimentos del virus, con la posibilidad de identificar quasiespecies con mutaciones específicas que confieran resistencia a la TARV. Presentamos el caso clínico de un paciente con infección por VIH en etapa SIDA y una tuberculosis diseminada que presentó un cuadro neurológico manifestado por cefalea y un síndrome convulsivo, en que se encontró una discordancia entre la CV para VIH en plasma y LCR. El estudio genotípico del virus obtenido del LCR identificó nuevas mutaciones que determinaron un cambio de la TARV, con evolución posterior satisfactoria.



## Referencias bibliográficas

- 1.- Skiest D J. Focal neurological disease in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 103-15.
- 2.- Ferretti F, Gisslen M, Cinque P, Price R W. Cerebrospinal fluid HIV escape from antiretroviral therapy. *Curr HIV/AIDS Rep* 2015; 12: 280-8. doi: 10.1007/s11904-015-0267-7.
- 3.- Miller F, Afonso P V, Gessain A, Ceccaldi P E. Blood-brain barrier and retroviral infection. *Virulence* 2012; 3:222-9. doi: 10.4161/viru.19697.
- 4.- Letendre S. Central nervous system complications in HIV disease: HIV-associated neurocognitive disorder. *Top Antivir Med* 2011; 19: 137-42.
- 5.- Ganau M, Prisco L, Pescador D, Ganau L. Challenging new targets for CNS-HIV infection. *Front Neurol* 2012; 3: 43. doi: 10.3389/fneur.2012.00043.
- 6.- Almeida S M. Cerebrospinal fluid analysis in the HIV infection and compartmentalization of HIV in the central nervous system. *Arq Neuropsiquiatr* 2015; 73: 624-9. doi: 10.1590/0004-282X20150071.
- 7.- Rosadas C, Puccioni-Sohler M. Relevance of retrovirus quantification in cerebrospinal fluid for neurologic diagnosis. *J Biomed Sci* 2015; 22: 66. doi: 10.1186/s12929-015-0170-y.
- 8.- Edén A, Fuchs D, Hagberg L, Nilsson S, Spudich S, Svennerholm B, et al. HIV-1 Viral escape in cerebrospinal fluid of subjects on suppressive antiretroviral treatment. *J Infect Dis* 2010; 202: 1819-25. doi: 10.1086/657342.
- 9.- Nightingale S, Geretti A, Beloukas A, Fisher M, Winston A, Else L, et al. Discordant CSF/plasma HIV-1 RNA in patients with unexplained low-level viraemia. *J Neurovirol* 2016; 22: 852-60.
- 10.- Edén A, Nilsson S, Hagberg L, Fuchs D, Zetterberg H, Svennerholm B, et al. Asymptomatic cerebrospinal fluid HIV-1 viral blips and viral escape during antiretroviral therapy: a longitudinal study. *J Infect Dis* 2016; 214: 1822-5.
- 11.- Dahl V, Peterson J, Fuchs D, Gisslen M, Palmer S, Price R W. Low levels of HIV-1 RNA detected in the cerebrospinal fluid after up to 10 years of suppressive therapy are associated with local immune activation. *AIDS* 2014; 28: 2251-8. doi: 10.1097/QAD.0000000000000400.
- 12.- Anderson A M, Muñoz-Moreno J A, McClernon D R, Ellis R J, Cookson D, Clifford D B, et al. Prevalence and correlates of persistent HIV-1 RNA in cerebrospinal fluid during antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2017; 215: 105-13. doi: 10.1093/infdis/jiw505.
- 13.- Canestri A, Lescure F, Jaureguiberry S, Moulignier A, Amiel C, Marcelin A, et al. Discordance between cerebral spinal fluid and plasma HIV replication in patients with neurological symptoms who are receiving suppressive antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 773-8. doi: 10.1086/650538.
- 14.- Stam A J, Nijhuis M, van den Bergh W M, Wensing A M. Differential genotypic evolution of HIV-1 quasispecies in cerebrospinal fluid and plasma: a systematic review. *AIDS Rev* 2013; 15: 152-61.
- 15.- Letendre S, Marquie-Beck J, Capparelli E, Best B, Clifford D, Collier A C, et al. Validation of the CNS penetration-effectiveness rank for quantifying antiretroviral penetration into the central nervous system. *Arch Neurol* 2008; 65: 65-70. doi: 10.1001/archneurol.2007.31.
- 16.- Rawson T, Muir D, Mackie N E, Garvey L J, Everitt A, Winston A. Factors associated with cerebrospinal fluid HIV RNA in HIV infected subjects undergoing lumbar puncture examination in a clinical setting. *J Infect* 2012; 65: 239-45. doi: 10.1016/j.jinf.2012.04.007.
- 17.- Bell L C, Breen R, Miller R F, Noursadeghi M, Lipman M. Paradoxical reactions and immune reconstitution inflammatory syndrome in tuberculosis. *Int J Infect Dis* 2015; 32: 39-45. doi: 10.1016/j.ijid.2014.12.030.
- 18.- Peluso M J, Ferreti F, Peterson J, Lee E, Fuchs D, Boschini A, et al. Cerebrospinal fluid HIV escape associated with progressive neurologic dysfunction in patients on antiretroviral therapy with well controlled plasma viral load. *AIDS* 2012; 26: 1765-74. doi: 10.1097/QAD.0b013e328355e6b2.