

 Centro de Análisis Molecular	INSTRUCCIONES PARA TOMA DE MUESTRAS	Página 1 de 2
		16/05/17
	Proceso: Registro y toma de muestras	Cod. RRM11
		Versión 1

Exámenes

Genotipificación de resistencia del VIH a inhibidores de la transcriptasa reversa e inhibidores de proteasa, Genotipificación de resistencia del VIH a inhibidores de Integrasa, Prueba de Tropismo del VIH CCR5 / CXCR4 (R-5/X4)

Condición del paciente

El ideal es en ayuno. Es aceptable después de 2 horas de la última ingestión de alimentos.

Tipo de muestras

Plasma anticoagulado con EDTA recolectado en tubos PPT o en tubo tapa lila.

Cantidad de muestra ideal

Dos (2) tubos o si la carga viral es baja (menor que 5.000 copias / ml) o desconocida tres (3) tubos.

Material requerido

Tubo PPT (Plasma Preparation Tube) Tapa Perla: Es un tubo al vacío que contiene anticoagulante EDTA, libre de DNAsas y RNAsas especial para la toma y transporte de muestras de plasma para biología molecular a temperatura ambiente.

Procedimiento

- Identificar correctamente el tubo con los datos del paciente o la muestra
- Tomar la muestra de sangre por punción venosa mediante adaptador de Vacutainer directamente en el tubo (el tubo viene al vacío).
- Mezclar por inversión suavemente 10 veces
- Lo más pronto posible y necesariamente **ANTES DE 1 HORA** centrifugar el tubo durante **20 minutos a 2500 RPM** a temperatura ambiente.
- Verificar la separación correcta: Glóbulos rojos abajo, gel intermedio y plasma libre de glóbulos rojos en la fase superior. Centrifugar tiempo adicional si el plasma contiene glóbulos rojos.
- Una vez centrifugadas las muestras, los tubos están listos para ser empacados y transportados inmediatamente. Deben llegar al CAM dentro de las 24 horas siguientes a su obtención.
- Los tubos se pueden mantener a **TEMPERATURA AMBIENTE** y no se deben abrir.
- Tener en cuenta todas las medidas de bioseguridad y aplicar las normas de precaución universal para la toma y transporte de muestras de sangre.

Alternativa: tubo tapa lila (EDTA)

- Tomar dos o tres tubos tapa lila EDTA
- Mezclar suavemente por inversión
- Centrifugar durante 20 minutos a 2500 R.P.M.

 Centro de Análisis Molecular	INSTRUCCIONES PARA TOMA DE MUESTRAS	Página 2 de 2
		16/05/17
		Cod. RRM11
	Proceso: Registro y toma de muestras	Versión 1

- Transferir 1,5 – 2 ml de plasma a un tubo tapa rosca, estéril, libre de DNAsas y RNAsas y el doble si la carga viral es muy baja.

Condiciones de las muestras

1. Se debe enviar con la muestra el informe o dato con fecha de la última carga viral del paciente, está debe ser superior de 2,000 copias / ml e idealmente debe ser de actual fecha.
2. En casos con carga viral baja, dudosa o informe desactualizado es conveniente aumentar la cantidad de la muestra que se remite (3 Tubos PPT). Es importante enviar la suficiente cantidad de muestra de acuerdo con la carga viral del paciente ya que esto permite concentrar el virus y obtener resultados en casos difíciles.
3. Todos los datos que puedan enviar son importantes incluyendo si el paciente se encuentra en tratamiento actualmente o éste le fue suspendido para realizar el examen.
4. Las pruebas de Genotipificación son unas pruebas complejas y de manejo delicado en las cuales la calidad de la muestra y la rigurosidad de la ejecución son factores preponderantes para la obtención de un buen resultado; sin embargo, a pesar del cuidado que se ponga en estos factores, por razones no determinadas, aún en presencia de condiciones optimas, puede llegarse a casos en los cuales el virus analizado resulta “No Tipificable”
5. En caso de requerir la prueba de Tropicismo en muestras con carga viral inferior a 2000 copias /mL se debe incluir para DNA proviral un tubo de sangre total tomada en EDTA (tapa lila) o en ACD.

Estabilidad de la muestra

1. Un tubo PPT centrifugado y sin destapar es estable por 48 horas a temperatura ambiente. (Ver recomendaciones del fabricante)
2. Un tubo PPT centrifugado y sin destapar congelado a -20°C es estable por 15 días y se debe transportar congelado con hielo seco. Se deben evitar procesos de congelación / descongelación ya que estos deterioran la calidad de las muestras.
3. Si la muestra se va a transferir a otro tubo o vial se debe garantizar que este sea un criovial estéril y libre de RNAsas. En estas condiciones es estable:
 - 4 días a 4°C -8°C
 - 1 mes a -20°C
 - Indefinidamente a -70°C

Formatos adicionales

Para las pruebas de Genotipificación de resistencia del VIH a inhibidores de la transcriptasa reversa e inhibidores de proteasa, Genotipificación de resistencia del VIH a inhibidores de Integrasa, Prueba de Tropicismo del VIH se recomienda solicitar al CAM el formato RRM7 el cual debe ser diligenciado en su totalidad.