

Estudio comparativo de dos pruebas para determinar carga viral para VIH-1 y VHC

basadas en RT-PCR de tiempo real

Palabras clave: Carga viral, coeficiente de correlación, sondas de doble cadena parcial, faros moleculares, intervalo lineal de cuantificación.

Key words: Comparative study, viral load, human immunodeficiency virus I (HIV-I), hepatitis C virus (HCV), Real-Time RT-PCR.

Recibido: 01/10/2009
Aceptado: 23/10/2009

Gustavo Barriga Angulo,* Margarita Solís Trejo,* Alejandra Aceves Rosas*

* Laboratorio Clínico, Hospital de Infectología, Centro Médico Nacional «La Raza», Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correspondencia:
Dr. Gustavo Barriga Angulo.
Centro Médico Nacional «La Raza»
Hospital de Infectología
Laboratorio Clínico
Circuito Interior s/n y Seris.
Col. La Raza,
02900 México, D.F.
E-mail: gustavo.barriga@imss.gov.mx

247

Resumen

Se llevó a cabo un estudio comparativo entre dos pruebas para determinar carga viral al virus de la inmunodeficiencia humana I (VIH-I) y al virus de la hepatitis C (VHC) (COBAS AmpliPrep/COBAS. AMPLICOR: HIV-I Monitor Test y Abbott RealTime HIV-I y AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HCV Monitor Test V2.0, y Abbott RealTime HCV Test) en 78 pacientes con VIH-I y 61 con hepatitis viral tipo C sometidos a terapia antiviral. Se obtuvo una correlación de $R = 0.96$ para VIH y de $R = 0.87$ para VHC entre las dos pruebas. Estos coeficientes y el hecho de que la diferencia entre las cargas virales de una misma muestra nunca superó el 0.5 de logaritmo aseguran que los cambios de tecnología no impactarán el resultado de la evaluación de las terapias antivirales.

Abstract

It was performed a comparative study between two tests in order to determine the viral load to the human immunodeficiency virus I and to the hepatitis C virus (HCV) (COBAS AmpliPrep/COBAS. AMPLICOR: HIV-I Monitor Test and Abbott Real-Time HIV-I and AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HCV Monitor Test V2.0, and Abbott Real-Time HCV Test) in 78 patients suffering from HIV-I and 61 patients with viral hepatitis type C (HCV) subjected to antiviral therapy. It was obtained a correlation of $R = 0.96$ for HIV and of $R = 0.87$ for HCV between the two tests. These coefficients and the fact that the difference between the viral loads from a single sample never went over the 0.5 of the logarithm assure that the technological changes will not impact on the results of the evaluation of the antiviral therapies.

Introducción

Desde el inicio de su uso clínico, la medición de la carga viral plasmática ha venido a ser una de las piezas fundamentales en el manejo terapéutico de diversas infecciones virales, principalmente de los virus de la inmunodeficiencia humana¹ y de las hepatitis virales tipos C y B.² Actualmente se dispone comercialmente de una gran variedad de pruebas para este propósito, destacando entre ellas la de la Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (RCP-TP), que ofrece numerosas ventajas sobre los métodos moleculares tradicionales, entre ellos: Su automatización total, la disminución en el número de pasos y en el tiempo requerido para su realización y en la posibilidad de contaminación, una mayor sensibilidad por la utilización de fluorescencia en la detección, y un rango dinámico mayor y más amplio.^{3,4}

El objetivo de este estudio fue evaluar comparativamente el desempeño de dos pruebas de reacción en cadena de la polimerasa: Abbott Real Time HCV Test y Cobas AmpliCor HCV Test y Abbott RealTime HIV-1 y Cobas AmpliPrep/Cobas ampliCor HIV-1 Monitor Test V1.5, en 78 muestras de pacientes con HIV y 61 muestras de pacientes con VHC, sometidos a terapia antimicrobiana.

Material y métodos

Se evaluaron 78 muestras provenientes del mismo número de pacientes con diagnóstico clínico, serológico y virológico confirmado de infección con el virus de la inmunodeficiencia humana y de 61 con diagnóstico confirmado de hepatitis viral de tipo C. Todas las muestras se obtuvieron por punción venosa con sistema Vacutainer, y se colocaron en tubos con EDTA. El plasma fue separado del paquete celular y congelado a -70 °C hasta su procesamiento. A todas las muestras se les determinó su carga viral, utilizando para los de hepatitis C, los reactivos: AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HCV Monitor Test v2.0 con un rango dinámico de cuantificación de 600 a 700,000 UI/mL, y volumen de procesamiento de muestra de 0.1 mL y con Abbott RealTime HCV con un rango dinámico de cuantificación de 12 a 100,000,000 de UI/mL y un volumen de procesamiento de muestra de 0.5 mL. Para los de VIH se emplearon los reactivos: Cobas AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV.1 Monitor Test con un rango dinámico en su versión ultrasensible de 50 a 100,000 copias/mL y de 400 a 1,000,000 en su versión estándar, con un volumen de proce-

Cuadro I. Resultados de carga viral en muestras con títulos superiores a 5 Log (UI/mL)

Identificación de la muestra	COBAS AMPLICOR HCV Monitor Test v2.0		Abbott RealTime HCV Test		Diferencia Abbott/COBAS Log (UI/mL)
	UI/mL	Log(UI/mL)	UI/mL	Log (UI/mL)	
42	>700,000	5.85	366,891	5.56	0.28
43*	>700,000	5.85	1,299,874	6.11	0.27
51*	>700,000	5.85	2,155,991	6.33	0.49
62	>700,000	5.85	482,041	5.68	0.16
91	>700,000	5.85	298,472	5.47	0.37
93	>700,000	5.85	633,331	5.80	0.04
103	>700,000	5.85	646,108	5.81	0.03
108*	>700,000	5.85	1,361,887	6.13	-0.29

Con asterisco se denotan las muestras que presentaron carga viral superior a 700,000 UI/mL en ambas pruebas.

samiento de muestra de 250 a 700 mL y la prueba Abbott RealTime HCV con un rango dinámico de 12 a 100,000,000 de UI/mL y un volu-

men de procesamiento de muestra de 0.5 mL, cumpliendo con todos los requerimientos establecidos por los respectivos fabricantes.

Cuadro II. Resultados de cargas virales con títulos inferiores a 2.77 Log (UI/mL).

Identificación de la muestra	COBAS AMPLICOR HCV v2.0		Monitor Test Abbott RealTime HCV Test	
	UI/mL	Log(UI/mL)	UI/mL	Log (UI/mL)
21	No detectado <600	<2.77	No detectado	<1.08
30	No detectado <600	<2.77	No detectado	<1.08
53	No detectado <600	<2.77	No detectado	<1.08
54	No detectado <600	<2.77	No detectado	<1.08
59	No detectado <600	<2.77	No detectado	<1.08
72	No detectado <600	<2.77	No detectado	<1.08
81	No detectado <600	<2.77	No detectado	<1.08
96	No detectado <600	<2.77	Detectado <12	<1.08
126	No detectado <600	<2.77	No detectado	<1.08
161	No detectado <600	<2.77	Detectado <12	<1.08
163	No detectado <600	<2.77	20	1.30
168	No detectado <600	<2.77	13	1.11
170	No detectado <600	<2.77	12	1.08
183	No detectado <600	<2.77	Detectado <12	<1.08
101*	Detectado <600	<2.77	112	2.05

Con asterisco se denota la única muestra detectada en ambas metodologías con carga viral inferior a 2.77UI/mL.

Cuadro III. Detección de relapso para el virus de HCV en pacientes bajo tratamiento y post-tratamiento.

Identificación de la muestra	COBAS AMPLICOR HCV Test v2.0 Resultado	Abbott RealTime HCV Test Resultado
32	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado
33	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado
38	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado
48	Negativo (RNA no detectado)	RNA detectado < 12 UI/mL
60	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado
61	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado
97	Negativo (RNA no detectado)	RNA detectado < 12 UI/mL
102	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado
127	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado
128	Negativo (RNA no detectado)	RNA detectado < 12 UI/mL
64	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado
65	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado
68	Negativo (RNA no detectado)	RNA detectado < 12 UI/mL
69	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado
70	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado
73	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado
74	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado
32	Negativo (RNA no detectado)	RNA no detectado

Resultados

Los resultados obtenidos se muestran en los cuadros I a VI y en las figuras 1 a 4. Debido a la disparidad en los intervalos de cuantificación entre las pruebas COBAS AMPLICOR HCV v2.0 Monitor Test y Abbott RealTime HCV Test (figura 1), sólo se incluyeron 19 muestras para el estudio de comparación de métodos mediante el cálculo de coeficiente de correlación, ya que ocho de las 42 muestras se encontraban por arriba del intervalo de cuantificación de la prueba COBAS AMPLICOR HCV Monitor Test v2.0 y otras 15 se encontraban indetectables (14 muestras) o por debajo del intervalo de cuantificación de esta misma prueba (una muestra). De las ocho muestras que se encontraron por arriba de 700,000 UI/mL según la

prueba COBAS AMPLICOR HCV Monitor Test v2.0, sólo tres de ellas estaban por arriba de las 700,000 UI/mL mediante la prueba Abbott RealTime HCV Test (cuadro I). Así mismo, de las 14 muestras indetectables por la metodología COBAS AMPLICOR HCV Test v2.0, se encontró carga viral detectable en seis de ellas, e incluso tres de estas muestras dentro del intervalo de cuantificación, mediante la prueba Abbott RealTime HCV Test. Adicionalmente, la única muestra detectable, pero debajo del límite de cuantificación de la prueba COBAS AMPLICOR HCV Monitor Test V2.0 ($\text{Log} < 600 \text{ UI/mL}$), se logró cuantificar con la prueba Abbott RealTime HCV test (cuadro II). Finalmente, se encontró un coeficiente de correlación entre ambas pruebas de 0.8746, y una muestra muy discordante (muestra núme-

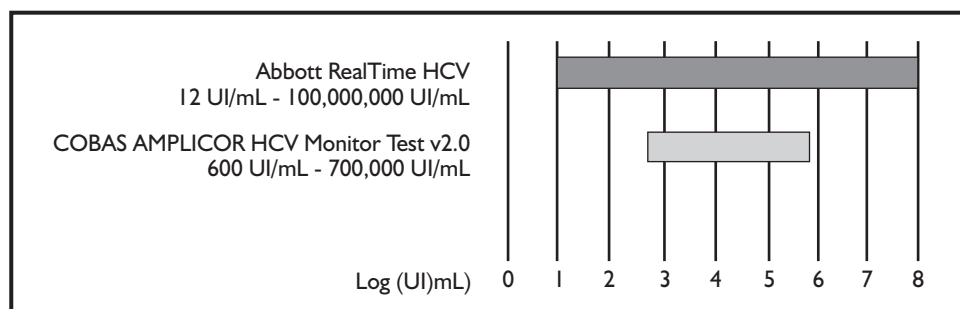


Figura 1. Intervalos de cuantificación para las pruebas Abbott RealTime HCV Test (Abbott

ro 13), la cual mostró una carga viral de 37,900 UI/mL [4.58 Log (UI/mL)], empleando la prueba COBAS AMPLICOR HCV Monitor Test 2.0, pero de 254,396 UI/mL [5.41 Log(UI/mL)] con la prueba Abbott RealTime HCV Test, al eliminar esta muestra del análisis comparativo, el coeficiente de correlación entre ambas pruebas es de 0.9383 (figura 2).

En este estudio se evaluó una población de 17 muestras con determinación previa de VHC negativa (ARN no detectado) mediante la prueba COBAS AMPLICOR HCV Test v2.0, con la prueba Abbott RealTime HCV Test. De las 17 muestras, en cuatro (23.53%) se encontró ARN detectable (cuadro III) y en las 13 restantes se registró una carga viral de VHC indetectable.

Con la finalidad de evaluar igualmente la plataforma Abbott RealTime HIV-I Test, se cuantificaron 58 muestras de plasma mediante las pruebas COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5 en su versión estándar, con un intervalo de cuantificación de 400-1,000,000 copias/mL, así como en la plataforma Abbott RealTime HIV-I Test con un intervalo de cuantificación de 40-10,000,000 copias/mL (figura 3). Se encontró un coeficiente de correlación entre ambas pruebas de 0.9686 (figura 4), con una media de 2.43 y 2.30 Log(copias/mL) para las muestras procesadas en la plataforma Abbott RealTime HIV-I Test y COBAS AmpliPrep/COBAS AmpliPrep Monitor Test v1.5, respectivamente. Se encontraron dos muestras que estaban por arriba del intervalo de cuanti-

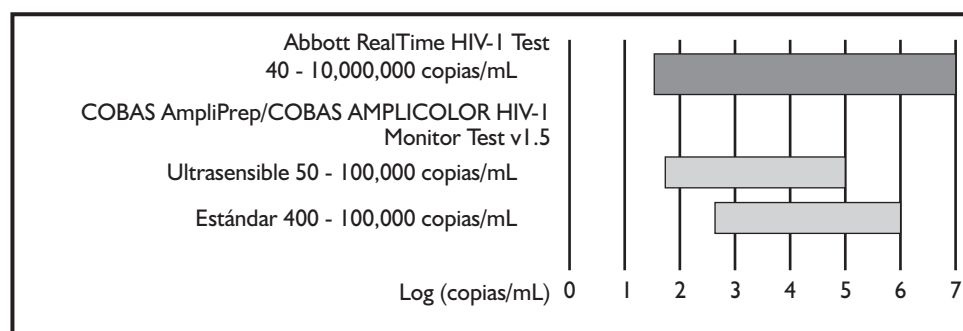


Figura 3. Intervalos de cuantificación para las pruebas Abbott RealTime HIV-I Test (Abbott Molecular Diagnostics, DesPlaines) y COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR Monitor Test v1.5 (Roche Molecular Systems, Branchburg NJ).

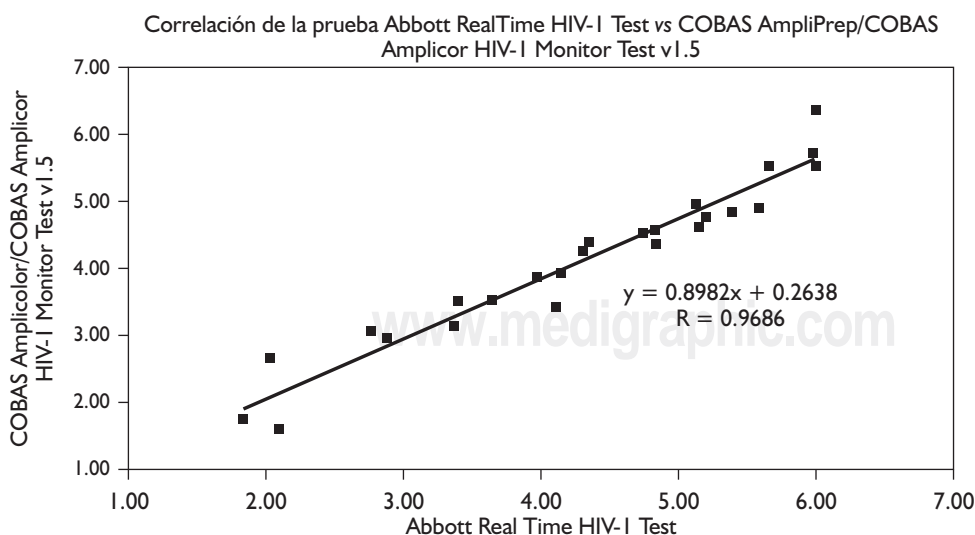


Figura 4. Análisis comparativo de correlación entre las pruebas Abbott RealTime HIV-I Test (Abbott Molecular Diagnostics, DesPlaines) y COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5 (Roche Molecular Systems, Branchburg NJ).

ficación de la prueba COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5 ($> 1,000,000$ copias/mL), una de ellas obtuvo un resultado de 355,685 copias/mL [5.55 Log (copias/mL)] y la otra 2,448,693 copias/mL [6.39 Log (copias/mL)] en la plataforma Abbott RealTime HIV-I Test. Se encontraron nueve muestras indetectables y dos detectables, pero debajo del intervalo de cuantificación de la prueba COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5; de las nueve muestras previamente indetectables, dos de ellas fueron cuantificadas con 55 y 70 copias/mL [1.74 y 1.85 Log (copias/mL)] y a otra más se le detectó HIV-I pero por debajo del límite de detección (< 40 copias/mL). De las dos muestras detectables, pero no cuantificables por la primera metodología, se cuantificó 219 y 85 copias/mL [2.94 y 1.93 Log (copias/mL)], al emplear la prueba Abbott RealTime HIV-I Test (cuadro IV).

Debido a que la valoración a largo plazo en la efectividad de la terapia antirretroviral se verifica

mediante una carga viral por debajo de las 50 copias/mL,⁸ se decidió incluir una población de 38 muestras de pacientes bajo tratamiento controlado, a los cuales se les realizó carga viral previa con la versión ultrasensible de la prueba COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5. Veintinueve de estas muestras tenían una carga viral indetectable mediante dicha prueba, pero sólo 24 cuando se empleó la prueba Abbott RealTime HIV-I Test; de las cinco muestras restantes, tres poseían una carga viral superior a las 50 copias/mL y dos por debajo de esta misma cantidad (cuadro V). Adicionalmente, tres muestras se encontraron detectables, pero por debajo del intervalo de cuantificación en ambas pruebas.

Finalmente, se determinó la reproducibilidad de la prueba Abbott RealTime HIV-I Test, comparando el coeficiente de correlación para dos repeticiones de corrida de 20 muestras efectuadas en días diferentes. Se encontró una diferencia máxima de 0.32 Log (copias/mL) con una media de 0.13 Log

Cuadro IV. Utilidad del intervalo lineal de cuantificación de la prueba Abbott RealTime HIV-I Monitor Test v1.5.

Identificación de la muestra	COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5		Abbott RealTime HIV-I Test	
	copias/mL	Log (copias/mL)	copias/mL	Log (copias/mL)
450	$> 1,000,000$	> 6.00	355,685	5.55
485	$> 1,000,000$	> 6.00	2,448,693	6.39
416	Result_lo < 400	< 2.60	219	2.34
461	Result_lo < 400	< 2.60	85	1.93
417	TargetOD_lo < 400	< 2.60	No detectado < 40	< 1.60
437	TargetOD_lo < 400	< 2.60	No detectado < 40	< 1.60
442	TargetOD_lo < 400	< 2.60	No detectado < 40	< 1.60
446*	TargetOD_lo < 400	< 2.60	55	
447*	TargetOD_lo < 400	< 2.60	70	
448	TargetOD_lo < 400	< 2.60	No detectado < 40	< 1.60
463**	TargetOD_lo < 400	< 2.60	Detectado < 40	< 1.60
476	TargetOD_lo < 400	< 2.60	No detectado < 40	< 1.60
484	TargetOD_lo < 400	< 2.60	No detectado < 40	< 1.60

* Se cuantificó RNA de HIV-I mediante la metodología Abbott RealTime HIV-I Test y no mediante la prueba COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5.

** Se detectó RNA de HIV-I mediante la metodología Abbott RealTime HIV-I Test y no mediante la prueba COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5.

(copias/mL) (cuadro VI), el coeficiente de correlación obtenido entre ambas repeticiones fue de 0.998.

Discusión

En el presente estudio se evaluó el desempeño de la prueba de carga viral del VHC basada en RT-PCR de tiempo real Abbott RealTime HCV Test (Abbott Molecular Diagnostics, DesPlaines), com-

parando los resultados previos de carga viral de una población al azar de pacientes VHC positivos obtenidos mediante la prueba que se emplea de rutina, COBAS AMPLICOR HCV Test v2.0, se encontró que el 50% (21) de las muestras tenían carga viral superior a 5 Log (UI/mL). Esto justifica sobremanera la necesidad de una prueba con intervalo de cuantificación superior que se expanda al menos hasta 8 Log (UI/mL), ya que se ha

Cuadro V. Cuantificación de muestras HIV positivas en pacientes bajo tratamiento por debajo del límite de cuantificación de la prueba COBAS AmpliPrep/ COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5.

Identificación de la muestra	COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5		Abbott RealTime HIV-I Test	
	copias/mL	Log (copias/mL)	copias/mL	Log (copias/mL)
421	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
422	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
424	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
425	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
426	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
429	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
432	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
434	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
435	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
436	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No Detectado < 40	< 1.60
439	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
440	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
444	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
451	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
454	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
455	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
456	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
458	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
460	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
469*	TargetOD_lo < 50	< 1.70	1713	3.23
470*	TargetOD_lo < 50	< 1.70	123	2.09
471*	TargetOD_lo < 50	< 1.70	58	1.76
477	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
478	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No Detectado < 40	< 1.60
479	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
483	TargetOD_lo < 50	< 1.70	No detectado < 40	< 1.60
486**	TargetOD_lo < 50	< 1.70	Detectado < 40	< 1.60
487**	TargetOD_lo < 50	< 1.70	48	1.68

* Se cuantificó RNA de HIV-I mediante la metodología Abbott RealTime HIV-I Test y no mediante la prueba COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5 por arriba de 50 copias/mL.

** Se detectó y cuantificó RNA de HIV-I mediante la metodología Abbott RealTime HIV-I Test y no mediante la prueba COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5.

reportado que los pacientes VHC positivos sin tratamiento, con cuadros clínicos de hepatitis crónica persistente o activa, presentan un intervalo de cargas virales para VHC desde 1.0×10^5 hasta 6.7×10^7 genomas ARN/mL, e incluso en pacientes VHC positivos sin tratamiento y sin evidencia de alteración hepática y con niveles normales de ALT, se encuentran cargas virales en el intervalo de 6.0×10^4 a 1.3×10^6 genomas ARN/mL.¹ También es importante resaltar que la variabilidad de las pruebas es un factor importante cuando se trabaja en los límites del intervalo de cuantificación. En este sentido, se encontraron ocho muestras que superaban el límite de cuantificación de la prueba COBAS AMPLICOR HCV Monitor Test v2.0; pero de estas mismas muestras, sólo tres mostraron una carga viral superior a 700,000 UI/mL en la prueba Abbott RealTime HCV Test. Estas diferencias en la cuantificación

parecen no ser clínicamente significativas, ya que en todos los casos la diferencia en Log (UI/mL) entre ambas determinaciones para la misma muestra es menor a 0.5 Log (UI/mL) (cuadro 1); sin embargo, esta variación pudiera explicarse en función del coeficiente de variación de ambas pruebas en el intervalo que se desea determinar, siendo éste de 22% (para el genotipo 1b) en la prueba COBAS AMPLICOR HCV Monitor Test v2.0,² para una muestra con 5.88 Log (UI/mL) en contraste con el coeficiente de variación de la prueba Abbott RealTime HCV Test, de 5.47% para una muestra del mismo genotipo a una concentración similar de 5.7 Log (UI/mL).³ Adicionalmente, la variación de las pruebas impacta sobre la utilidad clínica de la carga viral cuando se quiere evaluar de manera temprana la respuesta al tratamiento; en nuestro país se ha determinado que la disminución de tan sólo 1.64 ± 0.64 Log (UI/mL) a las

Cuadro VI. Reproducibilidad de la prueba Abbott RealTime HIV-I Test.

Identificación de la muestra	Abbott RealTime HIV-I Test (1ra. Corrida)		Abbott RealTime HIV-I Test (2da. Corrida)		Diferencia de cuantificación
	copias/mL	Log (copias/mL)	copias/mL	Log (copias/mL)	
416	219	2.34	125	2.10	0.24
417	No detectado < 40	< 1.60	No detectado < 40	< 1.60	N.D.
418	912	2.96	576	2.76	0.20
419	1,148	3.06	745	2.87	0.19
420	55	1.74	Detectado < 40	1.6	N.D.
421	No detectado < 40	< 1.60	No detectado < 40	< 1.60	N.D.
423	33,884	4.53	24,682	4.39	0.14
424	No detectado < 40	< 1.60	No detectado < 40	< 1.60	N.D.
425	No detectado < 40	< 1.60	No detectado < 40	< 1.60	N.D.
428	467	2.67	285	2.45	0.21
429	No detectado < 40	< 1.60	No detectado < 40	< 1.60	N.D.
430	93,696	4.97	44,761	4.65	0.32
432	No detectado < 40	< 1.60	No detectado < 40	< 1.60	N.D.
436	No detectado < 40	< 1.60	No detectado < 40	< 1.60	N.D.
438	374,14	4.57	43,808	4.64	-0.07
450	355,685	5.55	259,428	5.41	0.14
452	72,896	4.86	63,155	4.80	0.06
462	82,349	4.92	69,327	4.84	0.07
465	41,663	4.62	39,340	4.59	0.02
416	219	2.34	125	2.10	0.24

N.D. No determinado.

48 horas postratamiento con peginterferón α -2b y ribavirina, es un valor estadísticamente significativo que nos puede ayudar a predecir una respuesta positiva del paciente al tratamiento administrado.⁵ El uso de una prueba con un menor coeficiente de variación sería capaz de determinar con mayor precisión, pequeños cambios en la carga viral del paciente, debidos al tratamiento, e incluso poder predecir la respuesta al tratamiento en un periodo aún menor al establecido mediante el uso de pruebas con elevado coeficiente de variación.

También se analizó el impacto de la prueba Abbott RealTime HCV Test en los pacientes que presentaban una carga viral previa indetectable mediante la prueba COBAS AMPLICOR HCV Monitor Test v2.0; de 14 muestras previamente indetectables bajo un límite de cuantificación de 600 UI/mL, se detectó carga viral en seis de ellas (42.85%), siendo mayor a 12 UI/mL en tres de estas mismas muestras (*cuadro II*). El contar con información más precisa, con una metodología más sensible, representa una gran ventaja clínica, ya que el pronóstico de la efectividad del tratamiento, definido como la respuesta virológica temprana (EVR) al tratamiento, se define con una disminución de 2 Log (UI/mL) en la carga viral del paciente a las 12 semanas posteriores al inicio del tratamiento.⁴ En los resultados previamente descritos, el empleo de una técnica más sensible pone de manifiesto que en seis pacientes pudiera no haberse alcanzado una supresión virológica adecuada, con pronósticos de respuesta virológica sostenida que pudieran ser reconsiderados por el médico.

Hoy en día, uno de los pilares del tratamiento efectivo de la hepatitis C es la supresión virológica de la carga viral en el paciente,⁴ e incluso, previo conocimiento del genotipo infectante, la positividad o negatividad de la detección de ARN viral determinada en la respuesta virológica temprana (EVR) se emplea como una de las principales guías para decidir la duración o aun la suspensión del tratamiento.⁶ Comúnmente, debido al alcance de

las técnicas de biología molecular disponibles hasta ahora, basadas principalmente en reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de punto final, se había considerado aceptable un valor de límite de detección de 50 UI/mL para distinguir entre positividad y negatividad.⁷ En este estudio se demuestra que el empleo de la técnica Abbott RealTime HCV Test, basada en PCR de tiempo real con un límite de cuantificación de 12 UI/mL,³ fue capaz de detectar ARN viral en 23.53% de las muestras que previamente se habían registrado como negativas bajo una prueba con un corte de 50 UI/mL. Este tipo de tecnología redefine el concepto de negatividad, ya que prácticamente una cuarta parte de la población en nuestro estudio podría haber sido catalogada con un cuadro de respuesta virológica temprana diferente, al reconocer que aún existía carga viral residual en el plasma de los pacientes bajo tratamiento.

A mediados de los 90, el desarrollo de la biología molecular logró implementarse en el campo de la clínica del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), lográndose monitorear por primera vez, de manera precisa, la efectividad del tratamiento antirretroviral contra el VIH-I que se administraba al paciente. Las pruebas más sensibles hasta la fecha alcanzaban a detectar 400 copias/mL, siendo normal encontrar técnicas con límites de detección entre 500 y 10,000 copias o equivalentes ARN/mL.⁹ En el presente estudio se demostró, que el empleo de las nuevas metodologías de cuantificación de carga viral, específicamente Abbott RealTime HIV-I, con un intervalo de cuantificación (40-10,000,000 copias/mL) nos permitió cuantificar de manera exacta 12% más de muestras en comparación con la técnica previamente utilizada. Es importante mencionar que la falla terapéutica en el paciente VIH positivo se define con una carga viral que no es suprimida por debajo de las 50 copias/mL, por lo que, empleando exclusivamente la técnica previa, se puede ignorar la falla terapéutica en cierta proporción de la población.⁸

Debido a la similitud con el intervalo inferior de cuantificación de ambas pruebas, se decidió evaluar la prueba Abbott RealTime HIV-I contra la versión ultrasensible de la prueba COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5. Se hizo evidente que una tecnología con un límite de cuantificación más bajo y con una sensibilidad más alta fue capaz de detectar, en al menos dos muestras (*cuadro V*), carga viral inferior a 50 copias/mL, que previamente no había sido detectada. Adicionalmente, se encontró una posible subcuantificación en al menos tres muestras dentro del ensayo mediante la técnica COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5, ya que durante la cuantificación de estas mismas muestras con la técnica Abbott RealTime HIV-I, se encontraron cargas virales de HIV de 1,713, 123 y 58 copias/mL (*cuadro V*). Esto podría representar un cuadro de falla terapéutica que puede ser ignorado por el médico que administra el tratamiento antirretroviral.

256

En cuanto a la reproducibilidad de la prueba Abbott RealTime HIV-I, se encontró que en ningún momento la diferencia entre las cargas virales de una misma muestra, a lo largo de todo el intervalo de cuantificación ensayado, superó 0.5 Log (copias/mL), que en la práctica se emplea como el valor de corte para evaluar una diferencia clínicamente significativa. Esto puede otorgar mayor seguridad en que la variabilidad de la prueba no pueda ser confundida como un cambio real en la carga viral del paciente VIH positivo, proporcionando seguridad al diagnóstico.

Finalmente, se encontró un coeficiente de correlación igual a 0.9686 entre las pruebas Abbott RealTime HIV-I y COBAS AmpliPrep/COBAS AMPLICOR HIV-I Monitor Test v1.5, lo cual sugiere una gran similitud entre los resultados que ofrecen ambas pruebas para una misma muestra. Esto es de gran utilidad cuando se desea migrar la metodología mediante la cual se realizan las cargas virales de un paciente, garantizando que el

cambio de técnica no impactará en la magnitud del resultado que obtiene el médico que administra y/o evalúa la terapia antirretroviral.

Referencias

1. Manzin A, Solforosi L, Giostra F, Bianchi FB, Bruno S et al. Quantitative analysis of hepatitis C virus activity *in vivo* in different groups of untreated patients. *Arch Virol* 1997; 142: 465-472.
2. Gerken G, Rothaar T, Rumi M.G, Soffredini R, Trippler M et al. Performance of the COBAS AMPLICOR HCV MONITOR Test, Version 2.0, an Automated Reverse Transcription-PCR Quantitative System for Hepatitis C Virus Load Determination. *J Clin Microbiol* 2000; 38 (6): 2210-2214.
3. Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Pawlotsky JM. Performance of the Abbott Real-Time PCR Assay Using m2000sp and m2000rt for Hepatitis C Virus RNA Quantification. *J Clin Microbiol* 2009; 47 (6): 1726-1732.
4. Boyer JL, Judge TA, Chang EB, Muggia FM, Shapiro CL et al. NIH Consensus Statement on Management of Hepatitis C: 2002, NIH Consensus and State-of-the-Science Statements 2002. Vol 19 (3) June 10-12 2002. Bethesda MD, National Institutes of Health, 2002.
5. Gallegos-Orozco JF, Loaeza del Castillo A, Fuentes AP, García-Sandoval M, Kershenobich D. Early hepatitis C virus changes and sustained response in patients with chronic hepatitis C treated with peginterferon α -2b and ribavirin. *Liver International* 2005; 25: 91-95.
6. Slavenburg S, Lamers MH, Roomer R, de Knecht RJ, van Oijen MGH, Drenth JPH. Current clinical care compared with new Dutch guidelines for hepatitis C treatment. *Neth J Med* 2009; 67 (5): 177-181.
7. Nolte SF, Fried WM, Shiffman ML, Ferreira-Gonzalez A, Garrett CT et al. Prospective Multicenter Clinical Evaluation of AMPLICOR and COBAS AMPLICOR Hepatitis C Virus Tests. *J Clin Microbiol* 2001; 39 (11): 4005-4012.
8. SSA, CENSIDA. Guía de manejo antirretroviral de las personas con VIH. 4a ed. México: CONASIDA; 2008.
9. Best SJ, Dax EM. Assays for HIV with improved sensitivity and specificity. *Exp Opin Invest Drugs* 1997; 6(8): 965-983.
10. García-Díaz A, Clewley GS, Booth CL, Labett W, Mcallister N, Geretti AM. Comparative Evaluation of the performance of the Abbott Realtime Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Assay for Measurement of HIV-1 plasma Viral Load following Automated Specimen Preparation. *J Clin Microbiol* 2006; 44 (5): 1788-1791.
11. Sloma CR, Germer JJ, Gerais TM, Mandrekar JN, Shawn MP, Yao JDC. Comparison of the Abbott Realtime Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Assay to the Cobas AmpliPrep/Cobas Taqman HIV-1 test: Workflow, Reliability, and Direct Cost. *J Clin Microbiol* 2009; 47 (4): 889-895.
12. Damond F, Roquebert B, Bénard A, Collin G, Miceli M, Yéni P, Brun-Vezinet F. Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) plasma Load Discrepancies between the Roche COBAS AMPLICOR HIV-1 MONITOR Version 1.5. and the Roche COBAS AmpliPrep/COBAS Taqman HIV-1 Assays. *J Clin Microbiol* 2007; 45 (10): 3436-3438.