

Evaluación del desempeño clínico del ensayo SUMASIGNAL VHC para la detección del ARN del virus de la hepatitis C

Evaluation of the clinical performance of the SUMASIGNAL HCV assay for detection of hepatitis C virus RNA

María Caridad Montalvo Villalba^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-7496-023X>

Licel de los Ángeles Rodríguez-Lay¹ <https://orcid.org/0000-0002-7742-3146>

Dayesi López Hernández¹ <https://orcid.org/0000-0001-6930-7674>

Marité Bello Corredor¹ <https://orcid.org/0000-0002-7394-8690>

Yenisleidys Martínez Montesino¹ <https://orcid.org/0000-0001-8183-3685>

Bárbara Marrero Sánchez¹ <https://orcid.org/0000-0001-9267-2143>

Yaime Josefina González González² <https://orcid.org/0000-0002-7308-6197>

Aenny Armas Cayarga² <https://orcid.org/0000-0002-7642-6564>

¹Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (IPK). La Habana, Cuba.

²Centro de Inmunoensayo. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: mcary@ipk.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La detección y cuantificación del genoma del virus de la hepatitis C (ARN-VHC), mediante la transcripción inversa-PCR en tiempo real (RT-qPCR), es vital para el diagnóstico y seguimiento del tratamiento antiviral de los pacientes con hepatitis C.

Objetivo: Evaluar el desempeño clínico del ensayo SUMASIGNAL VHC para la cuantificación de la carga viral del VHC.

Métodos: Se empleó un panel conformado por 70 muestras de suero: 46 ARN-VHC positivas, 12 ARN-VHC negativas y 12 positivas a marcadores moleculares de otros virus. El coeficiente de correlación de Pearson (r) y la prueba de Bland-Altman, se utilizaron para comparar las cargas virales del VHC, obtenidas por las técnicas SUMASIGNAL VHC y la de referencia; las que fueron expresadas en logaritmo en base 10 (\log_{10}) UI/mL. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Resultados: La sensibilidad y especificidad clínica del SUMASIGNAL VHC fue 100 %; mientras que no se detectó reactividad cruzada con los otros virus evaluados. Se demostró que el ensayo en cuestión, tuvo una correlación buena ($r= 0,89$) y fuerte concordancia (media= $-0,01 \text{ Log}_{10} \text{ UI/mL}$) con la prueba de referencia ($p < 0,0001$). La reproducibilidad de la cuantificación del ARN-VHC en dos momentos diferentes, con la prueba SUMASIGNAL VHC mostró una correlación excelente ($r= 0,97$; $p < 0,0001$).

Conclusiones: El ensayo SUMASIGNAL VHC proporciona datos válidos, reproducibles y técnicamente confiables para realizar el diagnóstico específico del VHC, incluso constituye una herramienta útil para monitorear la carga viral de este agente en el Sistema Nacional de Salud Cubano.

Palabras clave: virus de la hepatitis C; carga viral; reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real; evaluación del desempeño.

ABSTRACT

Introduction: Detection and quantification of the hepatitis C virus genome (HCV RNA) by real time reverse transcription PCR (RT-qPCR) are vital for the diagnosis and antiviral treatment follow-up of hepatitis C patients.

Objective: Evaluate the clinical performance of the SUMASIGNAL HCV assay for quantification of HCV viral load.

Methods: A panel was formed with 70 serum samples: 46 HCV RNA positive, 12 HCV RNA negative and 12 positive for molecular markers of other viruses. Pearson's correlation coefficient (r) and the Bland-Altman plot were used to compare the HCV viral loads obtained by SUMASIGNAL HCV techniques with reference values, which were expressed as base 10 logarithm (\log_{10}) UI/ml. Values of $p < 0.05$ were considered statistically significant.

Results: The clinical sensitivity and specificity of SUMASIGNAL HVC were 100%, and no cross-reactivity was detected with the other viruses evaluated. The study assay exhibited a good correlation ($r= 0.89$) and strong concordance (mean= $-0.01 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$) with the reference test ($p < 0.0001$). Reproducibility of the HCV RNA quantification with the SUMASIGNAL HCV test at two different moments displayed an excellent correlation ($r= 0.97$; $p < 0.0001$).

Conclusions: The SUMASIGNAL HVC assay provides valid, reproducible and technically reliable data for specific HCV diagnosis. It is also a useful tool to monitor the viral load of this agent in the Cuban National Health System.

Keywords: hepatitis C virus; viral load; real time polymerase chain reaction; performance evaluation.

Recibido: 08/03/2021

Aprobado: 23/07/2021

Introducción

La hepatitis C constituye un serio problema de salud a escala mundial. Su agente causal es el virus de la hepatitis C (VHC). Se estima que 71 millones de personas están crónicamente infectadas con este virus. Los tratamientos antivirales de acción directa (AAD) detienen el curso de la enfermedad en el 95% de los pacientes que lo reciben. Sin embargo, en países de bajos ingresos la cobertura terapéutica es aún insuficiente.⁽¹⁾

El VHC pertenece a la familia *Flaviviridae*, género Hepacivirus, y según la secuencia nucleotídica y el análisis filogenético del virus, se han identificado siete genotipos (1-7) y 67 subtipos, que se designan con letras minúsculas (a-k). Los genotipos 1, 2 y 3 están distribuidos en todo el mundo, mientras que las variantes 4, 5, 6 y 7 están restringidos a determinadas regiones geográficas.⁽²⁾

Después de la infección aguda, hasta un 30 % de las personas se recuperan espontáneamente, y las restantes continúan infectadas, manteniéndose asintomáticas por un periodo de tiempo variable. De estos del 20 % al 30 % desarrollan cirrosis y del 1 % al 4 % de los pacientes con cirrosis, evolucionan al carcinoma hepatocelular.⁽³⁾ La enfermedad hepática crónica, cirrosis y carcinoma hepatocelular que produce el VHC, son las primeras causas de trasplante hepático a nivel global.

Las técnicas de cuantificación viral son de vital importancia para el diagnóstico, manejo y seguimiento del tratamiento antiviral en aras de identificar la respuesta virológica sostenida (RVS) al culminar la terapia. Incluso, esta técnica es recomendada como prueba confirmatoria en individuos inmunocomprometidos, que son negativos a los anticuerpos al VHC (anti-VHC) y durante el periodo de seroconversión. Por tanto, es necesario contar con ensayos moleculares, que posean una sensibilidad y especificidad elevada para la detección del ácido ribonucleico del VHC (ARN-VHC). La técnica de reverso transcripción reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-qPCR), constituye una herramienta útil y ampliamente empleada, que se aplica para la detección y cuantificación viral, por su elevada sensibilidad, especificidad, precisión y reproducibilidad. No obstante, existen investigadores, que sugieren que el ensayo de detección del antígeno de core del VHC, pudiera ser otra opción sensible y económica comparable con la RT-qPCR, para monitorear el tratamiento con AAD, sobre todo para evaluar la RVS a las 12 semanas de tratamiento.^(4,5)

Existen varios ensayos comercialmente disponibles para la cuantificación del VHC en suero y plasma tales como: los estuches de la Roche Cobas TaqMan HCV, Abbott m2000 real-time PCR y Artus® HCV RG rt-PCR.⁽⁶⁾ Sin embargo, es importante que nuestro sistema de salud cuente de forma estable y económica con un ensayo cuantitativo, para garantizar el diagnóstico y seguimiento terapéutico de los pacientes infectados por el VHC. En Cuba la prevalencia del VHC, estimada por la positividad al anti-VHC en donantes de sangre es 0,8 %, siendo esta más elevada en grupos de riesgo como pacientes hemodializados (95,6 %) e individuos seropositivos al virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (14,2 %). El genotipo que predomina es el 1b (82 %), aunque también se ha detectado el genotipo 1a (12%), pero en menor frecuencia.⁽⁷⁾

El objetivo del presente estudio fue evaluar el desempeño clínico del ensayo SUMASIGNAL VHC para la cuantificación de la carga viral del VHC.

Métodos

Muestras clínicas

Para la evaluación del desempeño clínico del SUMASIGNAL VHC se utilizó un panel de sueros obtenido de individuos cubanos colectados en el 2017 y caracterizados en el Laboratorio Nacional de Referencia de Hepatitis Virales (LNRHV). Estos especímenes se conservaron en dos alícuotas, con un volumen de 1 mL y en condiciones adecuadas (-80 °C) hasta su uso. El panel estuvo conformado por 70 muestras con las siguientes características: 46 muestras positivas al ARN-VHC con el ensayo COBAS® TaqMan® HCV Test v2.0 (Roche, Alemania), con cargas virales que oscilaban de 2 Log₁₀ UI/mL a 6,98 Log₁₀ UI/mL. Se utilizaron muestras que abarcaron el rango lineal de cuantificación del ensayo SUMASIGNAL VHC desde 5,0E+01 UI/mL a 1,0E+08 UI/mL.⁽⁸⁾ Además, 12 muestras negativas al VHC y 12 muestras positivas a otros agentes virales como: virus de la hepatitis A (VHA, gM anti-VHA+); virus de la hepatitis E (VHE, ARN-VHE+); citomegalovirus (CMV, ADN-CMV+); virus de la hepatitis B (VHB, ADN-VHB+); virus de inmunodeficiencia humana (VIH, ARN-VIH+) y virus dengue (VD, ARN-VD+), a razón de 2 muestras por cada uno. Estas 24 muestras fueron negativas al VHC, por métodos serológicos (anti-VHC, UMELISA anti-HCV 3rd Generation) y moleculares (ARN-VHC, UMELOSA HCV, CIE, Cuba).⁽⁹⁾ Todas fueron analizadas por duplicado, con la prueba a evaluar y el ensayo de referencia.

Consideraciones éticas

En la presente investigación se utilizaron remanentes de muestras de suero, que fueron enviadas al LNRHV, Cuba; para el diagnóstico molecular del VHC y otros virus clínicamente relacionados con la hepatitis C. Las muestras clínicas fueron enumeradas respetando la identidad de estas y no se utilizaron con otros fines, ya que los resultados obtenidos formaron parte de este estudio de validación.

Variables para la evaluación del desempeño

Especificidad clínica: se determinó con el análisis de muestras negativas al anti-VHC y al ARN-VHC, en este estudio se incluyó la reactividad cruzada con las muestras positivas a otros agentes infecciosos previamente descritas, que pueden co-infectar o constituyen diagnóstico diferencial con el VHC. El coeficiente de correlación de Pearson y la concordancia: se identificó comparando los resultados de cuantificación del ARN-VHC obtenidos con la prueba en cuestión y con el ensayo de referencia. Reproducibilidad: se evaluó midiendo los resultados de la cuantificación viral obtenidos en dos momentos diferentes con un lapso de tiempo de 15 días entre las determinaciones, con la prueba SUMASIGNAL VHC.

Ensayo SUMASIGNAL VHC

Es un ensayo *in vitro* de amplificación de ácidos nucleicos para la cuantificación del ARN-VHC en suero o plasma humano, a partir de 200 µL de muestra clínica. Está destinado al diagnóstico y seguimiento del tratamiento de la infección por el VHC. La extracción del ARN viral se realizó manualmente, con la tecnología de partículas magnéticas, las que fueron añadidas a la muestra de suero o plasma humano. A estas partículas queda unido el ARN de la muestra, y después de varios pasos de lavados, estas perlas son separadas de la solución por un separador magnético. Posteriormente, se le añade la mezcla de RT-qPCR, que incluye dos cebadores que flanquean una secuencia conservada del VHC en la región 5' no codificante y una sonda fluorescente específica (marcada con FAM); que permite la detección cuantitativa del genoma viral. En este ensayo se emplea un control interno para detectar posibles inhibiciones de la RT-qPCR (sonda marcada con HEX/VIC), evitando la aparición de resultados falsos negativos. Además, incluye 4 estándares de referencia con concentraciones del ARN-VHC que van desde 5,0E+03 UI/mL hasta 5,0E+06 UI/mL, un control positivo y un control negativo. El ensayo se configuró y se corrió en el termociclador Real SLAN 96P (Shanghai Hongshi Medical Technology Co., Ltd, Shanghai, China). Los resultados se procesaron de forma automatizada y se expresaron en unidades internacionales / mililitro (UI/mL). El límite de detección (LD) de la prueba es 25 UI/mL.⁽⁸⁾ Esta prueba fue desarrollada por Sansure Biotech Inc. (Sansure HCV Assay, China),⁽⁸⁾ bajo los estándares de calidad del Centro de InmunoEnsayo (CIE, Cuba) y es comercializado por Tecnosuma Internacional SA (Cuba).

Ensayo de referencia Artus® HCV RG RT-PCR Kit

Se empleó el estuche comercial Artus® HCV RG RT-PCR Kit (QIAGEN, Alemania) como prueba de referencia, para comparar los resultados de la cuantificación ARN-VHC, obtenidos con el SUMASIGNAL VHC. El programa de la RT-qPCR se corrió en el equipo de Tiempo Real Rotor Gene Q (QIAGEN, Alemania), según lo recomendado por el fabricante. Para esta técnica, se realizó la extracción del ARN con el QIAamp VIRAL RNA Mini Kit (QIAGEN, Alemania), siguiendo estrictamente las recomendaciones del productor. Los resultados se expresaron en UI/mL.

Análisis estadístico

Se realizó un estudio descriptivo donde se evaluó como variable cuantitativa la carga viral del VHC expresada como logaritmo en base 10 (Log10) UI/mL. La especificidad clínica se definió como la proporción o porcentaje de individuos sin la enfermedad, que tuvieron un resultado negativo [Especificidad= verdaderos negativos / (verdaderos negativos + falsos positivos) x 100]. Mientras que, la reactividad cruzada empleando la fórmula anterior, fue la proporción o porcentaje de individuos negativos a los marcadores del VHC, pero positivos a otros patógenos, que tuvieron un resultado negativo con la prueba en cuestión. La sensibilidad clínica se consideró como la capacidad de la prueba SUMASIGNAL VHC de detectar el ARN del VHC, en pacientes positivos a este marcador. La tabla de contingencia 2 x 2 se empleó para evaluar la sensibilidad y especificidad del

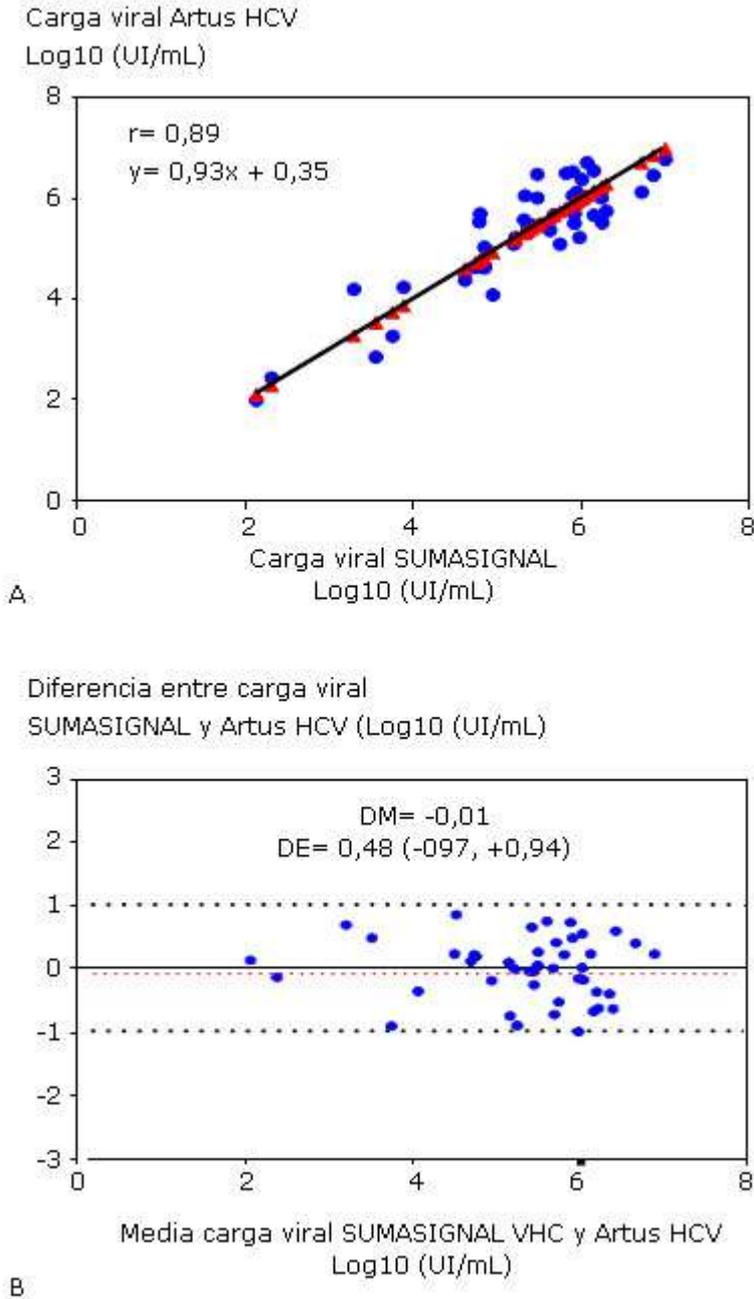
ensayo. Para analizar la correlación entre las técnicas de SUMASIGNAL VHC y Artus® HCV RG RT-PCR, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson (r). Este mismo estadígrafo se utilizó para evaluar la reproducibilidad, o sea la variabilidad interensayo en dos momentos diferentes con el 50 % (23) de las muestras, seleccionadas al azar, con genoma cuantificable del VHC. La concordancia se estimó con la prueba de Bland-Altman, donde se obtuvo la diferencia media (D.M) entre los Log10 UI/mL generadas con ambas pruebas, su desviación estándar (D.E) y su intervalo de concordancia al 95 % ($\pm 1,96$ DM). Se estimaron intervalos de confianza al 95% (IC 95%) y los valores de $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos. Para todos los análisis, se empleó el paquete estadístico GraphPad Prism 6 (San Diego, California, EE UU).

Resultados

Con el ensayo SUMASIGNAL VHC se obtuvo una especificidad clínica del 100 %, lo que significa que en los 12 sueros obtenidos de individuos negativos al anti-VHC y al ARN-VHC no se detectó amplificación del genoma viral por el método evaluado y el de referencia. Igualmente la reactividad cruzada fue 100%, No se detectó el ARN del VHC en ninguna de las muestras positivas a otros agentes virales., por ambas pruebas empleadas.

En cuanto a la sensibilidad clínica, todas las muestras (46/46,100 %) fueron positivas por la prueba de SUMASIGNAL VHC y la prueba de referencia. Ambas técnicas (Figura 1A), mostraron una correlación buena ($r = 0,89$, IC95%: 0,82-0,94) y estadísticamente significativa ($p < 0,0001$); en el rango cuantificable de la prueba en cuestión. La ecuación canónica de la recta que se obtuvo ($y = 0,93x + 0,35$), evidencia que la pendiente (m) se acerca a 1 y el intercepto tiende a 0; lo que sugiere que ambos ensayos generan resultados semejantes.

Al evaluar la concordancia del SUMASIGNAL VHC con el ensayo de referencia por la prueba de Bland-Altman (Fig. 1, B), se identificó una DM cercana a cero ($-0,01 \pm 0,48$ Log10 UI/mL), lo indica la que ambos ensayos generan resultados equivalentes. Además, se obtuvo que el 95 % de las diferencias entre los métodos se incluyeron en el intervalo de $-0,97$ a $+0,94$ Log10 UI/mL, lo que evidencia que existe una concordancia fuerte entre las pruebas empleadas.



En el Panel A, los círculos azules corresponden a las determinaciones con el ensayo de referencia, y los triángulos rojos son las muestras cuantificadas con el SUMASIGNAL VHC. En el panel B, los puntos muestran las diferencias entre los valores del ARN-VHC cuantificados con los dos ensayos, la diferencia media (DM) se representó con una línea discontinua (rojo) y las líneas discontinuas (negro) indican el límite superior (+0,94) e inferior (-0,97) del intervalo de concordancia al 95%. En esta figura se muestra el valor de la desviación estándar (DE).

Fig. 1 - Coeficiente de correlación de Pearson (Panel A) y análisis de la diferencia media entre la carga viral del VHC con el método de Bland-Altman de 46 muestras cuantificadas con el SUMASIGNAL VHC y Artus HCV RG RT-PCR.

Para evaluar la reproducibilidad o consistencia de los valores de cuantificación del ARN-VHC (Fig. 2), fueron comparados los resultados obtenidos con el ensayo evaluado en dos momentos diferentes (tiempo 1 y tiempo 2), empleando las mismas condiciones y el mismo operador. Al analizar el coeficiente de correlación

se identificó una correlación fuerte entre los valores de cuantificación viral realizados en ambos tiempos, obteniéndose una $r = 0,97$ (IC95%: 0,94-0,99; $p < 0,0001$).

Los cuadros rojos corresponden a las determinaciones realizadas en el tiempo 1 (T1) y los triángulos azules a las mismas muestras cuantificadas con el mismo ensayo e iguales condiciones en el tiempo 2 (T2).

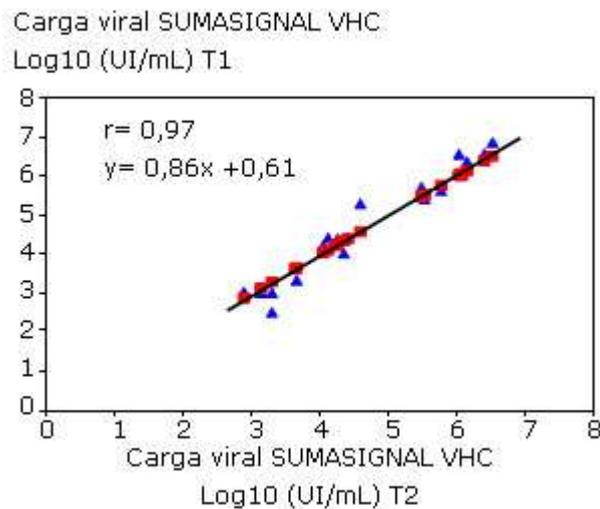


Fig. 2 - Reproducibilidad de los resultados de la carga viral del VHC con el ensayo SUMASIGNAL VHC, a partir de 23 muestras clínicas positivas al ARN-VHC, empleando el coeficiente de correlación de Pearson (r).

Discusión

Existen múltiples ensayos comerciales para la cuantificación del VHC, que se aplican para el diagnóstico de la infección activa y el seguimiento del tratamiento antiviral. Debido a que en la mayoría de los pacientes infectados la carga viral es fluctuante, se requiere que las pruebas basadas en la RTq-PCR en TR sean sensibles, específicas, robustas y reproducibles. Además, que garanticen la detección del virus en un rango amplio de cuantificación.

El ensayo SUMASIGNAL VHC mostró una especificidad clínica excelente. Esto lo confirma la capacidad de la prueba de descartar correctamente los individuos no infectados con el VHC. Incluso, no existe reactividad cruzada con otros virus clínicamente relacionados. Un resultado similar fue obtenido por *Huang* y otros al comparar este mismo ensayo con la prueba CAP/CTM HCV (Roche). Cabe destacar, que la sensibilidad clínica del SUMASIGNAL VHC al compararlo con el Artus® HCV RG RT-qPCR fue 100 %, lo que difiere del estudio anteriormente descrito.⁽⁸⁾ Los autores atribuyeron la disminución de la sensibilidad clínica, a la carga viral baja de las muestras que no fueron cuantificadas por la prueba en cuestión ($1,53E + 01$ UI/mL a $1,82E + 01$ UI/mL), dado que su LD es de 25 UI/mL. A diferencia del presente estudio, en el que se emplearon muestras que tenían

una concentración viral $\geq 2,00 \times 10^2$ UI/mL, por lo que es de esperar que fueran detectadas por el método de SUMASIGNAL VHC.

Con respecto al LD del SUMASIGNAL VHC, este es ligeramente inferior al ensayo Artus® HCV RG rt-PCR (25 UI/mL vs. 33,6 UI/mL). Sin embargo, existen otros ensayos que satisfacen lo recomendado por la Asociación Europea para Enfermedades del Hígado, que sugieren utilizar pruebas de cuantificación como Daan HCV RNA, GeneXpert HCV y COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV, con LD ≤ 15 UI/mL para detectar concentraciones bajas del VHC.⁽¹⁰⁾ Esto constituye una brecha del ensayo SUMASIGNAL VHC, en la que deben seguir trabajando los productores, por tanto se recomienda monitorear los resultados no detectables, en correspondencia con clínica y la función hepática.

Se demostró que existe una buena correlación ($r=0,89$) entre la cuantificación del VHC entre ambas técnicas (SUMASIGNAL VHC vs. Artus® HCV RG RT-PCR). Una correlación mayor se obtuvo en la evaluación del desempeño de este mismo ensayo con la prueba CAP/CTM HCV ($r=0,9439$). No obstante, los autores demostraron que esta correlación se redujo en las muestras que pertenecían al genotipo 2a ($r=0,6962$) y 3a ($r=0,8333$).⁽⁸⁾ Aunque en Cuba predomina el genotipo 1b, que tuvo una correlación excelente ($r=0,9362$) con el ensayo de referencia en el estudio citado, no podemos descartar que estén presentes otros genotipos del VHC o infecciones genotípicamente mixta, ya descritas en población cubana, que influya en la correlación del SUMASIGNAL VHC con el ensayo Artus HCV RG rt-PCR. Hay que destacar, que el ensayo SUMASIGNAL VHC posee cebadores y sonda dirigidos a la región 5' no codificante del VHC, conservada entre los genotipos virales; aunque la existencia de puntos polimórficos pueden comprometer su hibridación. *Chevaliez* y otros sugirieron que las pruebas para cuantificar el ARN del VHC pueden subestimar la carga viral según el genotipo infectante.⁽¹¹⁾

Se identificó una fuerte concordancia entre la prueba SUMASIGNAL VHC y la de referencia (DM= -0,01 Log₁₀ UI/mL), indicando el buen desempeño clínico de la prueba evaluada. *Huang et al.* al evaluar la concordancia del ensayo en cuestión con el CAP/CTM HCV, observó que la concordancia disminuye en las muestras clínicas que poseen baja carga viral, lo fue atribuido al volumen a partir del cual se realizaba la extracción del ARN-VHC (200 μ L vs. 500 μ L).⁽⁸⁾ Por el contrario, consideramos que esta variable no debe haber influido en nuestros hallazgos, ya que la diferencia entre el volumen de muestra clínica para extraer el ARN viral para realizar la prueba Artus HCV RG rt-PCR y la de SUMASIGNAL VHC (140 μ L vs. 200 μ L), fue 5 veces menor al referido por *Huang* y otros con la prueba de referencia CAP/CTM HCV. Además, el límite inferior de la carga viral de muestras clínicas evaluadas fue superior ($\geq 2,3$ log₁₀ UI/mL vs $\geq 1,1$ log₁₀ UI/mL), lo cual pudo haber influido en la concordancia elevada de nuestros resultados.

Con respecto a la reproducibilidad del ensayo SUMASIGNAL VHC, los resultados de la cuantificación de la carga viral del VHC en dos tiempos diferentes generaron resultados equivalentes, con una correlación excelente y significativa; lo que confirma lo demostrado por *Huang* y otros al comparar este ensayo con la prueba CAP/CTM HCV.⁽⁸⁾

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos con el SUMASIGNAL VHC, y que el límite de detección de esta prueba (25 UI/mL), está comprendido dentro de los ensayos altamente sensibles, se recomienda esta prueba para el diagnóstico y

seguimiento de la cuantificación del VHC. Además, como valor añadido, la extracción del ARN-VHC se realiza con reactivos propios del ensayo, por lo que no se necesita de un estuche de extracción adicional para realizar este proceder. La limitante del ensayo es que la extracción del ARN a partir de 200 µL de muestra se emplea completamente en el ensayo, por tanto para re-analizar la muestra o realizar otro ensayo molecular (genotipificación) se debe realizar nuevamente la extracción de ARN viral.

Actualmente, los investigadores abogan por el desarrollo de plataformas completamente automatizadas que reduzcan el riesgo de contaminaciones por arrastre, y que garanticen una obtención rápida de los resultados y con una sensibilidad elevada para detectar todas las variantes del VHC. Se concluye que el ensayo evaluado proporciona datos válidos y técnicamente confiables, por lo que constituye una alternativa para monitorear la carga viral del VHC.

Referencias bibliográficas

1. Organización Mundial de la Salud. Hepatitis C. 27 de julio de 2020. [acceso: 17/02/2020]. Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>
2. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT, et al. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatol*. 2014;59(1):318-27. Doi: <https://doi.org/10.1002/hep.26744>
3. Lee MH, Yang HI, Yuan Y, L'Italien G, Chen CJ. Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol*. 2014;20:9270 -80. Doi: <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i28.9270>
4. Maurine CO, Hasan I, Sulaiman AS, Gani RA. Evaluation of GeneXpert for Quantification Viral Load Hepatitis C Virus. *Ind J Gastroenterol Hepatol Dig Endos*. 2020;21(3):182-87. Doi: <https://doi.org/10.24871/2132020182-187>
5. Lin SF, Tung SY, Wei KL, Chen CH, Hu TH, Shen CH, et al. Clinical utility of hepatitis C virus core antigen assay in the monitoring of direct-acting antivirals for chronic hepatitis C. *PLoS One*. 2020;15(3). Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229994>
6. Schalasta G, Speicher A, Börner A, Enders M. Performance of the New Aptima HCV Quant Dx Assay in Comparison to the Cobas TaqMan HCV2 Test for Use with the High Pure System in Detection and Quantification of Hepatitis C Virus RNA in Plasma or Serum. *J Clin Microbiol*. 2016;54(4):1101-7. Doi: <https://doi.org/10.1128/JCM.03236-15>
7. Rodríguez L, Montalvo MC, Bello M, Sariego S, Marante J, Dueñas S, et al. HCV genotype determination in monoinfected and HIV co-infected patients in Cuba. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2012;106(12):711-7. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2012.08.001>

8. Huang X, Deng Z, Long L, Chen J, Tan D, Zhu L, et al. Traceability, reproducibility and clinical evaluation of Sansure Realtime HCV RNA assay. BMC Infect Dis. 2016;16:47. Doi: <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1390-9>
9. Perea Y, Armas A, Gonzalez Y, Figueredo JE, Laza CM, Acevedo BE. Mejoras al ensayo UMELOSA HCV cualitativo para la detección el ARN del virus de la hepatitis C. Biotecnol Apl. 2016;33(3):3301-7. [acceso: 17/12/2020]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-28522016000300005
10. European Association for the Study of the Liver. Electronic address eee. EASL recommendations on treatment of Hepatitis C 2016. J Hepatol. 2017;66:153-94. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.09.001>
11. Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Brillet R, Pawlotsky JM. Overestimation and underestimation of hepatitis C virus RNA levels in a widely used real-time polymerase chain reaction based method. Hepatol. 2007;46:22-31. Doi: <https://doi.org/10.1128/JCM.02219-16>

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

María Caridad Montalvo Villalba: Participó en la concepción y diseño de la investigación; análisis e interpretación de datos; escritura y aprobación de la versión final del manuscrito.

Licel de los Ángeles Rodríguez-Lay: Participó en la concepción de la investigación; recolección de los resultados, análisis e interpretación de los datos.

Dayesi López Hernández: Participó en la recolección de los resultados, análisis e interpretación de datos, escritura y aprobación de la versión final del manuscrito.

Marité Bello Corredor: Participó en el procesamiento de muestras, interpretación de datos y aprobación de la versión final.

Yenisleidys Martínez-Montesino: Participó en el procesamiento de las muestras, análisis de los resultados, revisión crítica del manuscrito y aprobación de la versión final.

Bárbara Marrero Sánchez: Participó en el procesamiento de las muestras, revisión crítica del manuscrito y aprobación de la versión final.

Yaime González González: Participó en el análisis e interpretación de datos.

Anny Armas Cayarga: Participó en el análisis e interpretación de datos.