

LA VIREMIA MINIMA RESIDUA DI HCV E I TEST DI MONITORAGGIO

Dott. Davide Campagnolo

Gruppo di Epatologia Molecolare,
Prof. A. Alberti

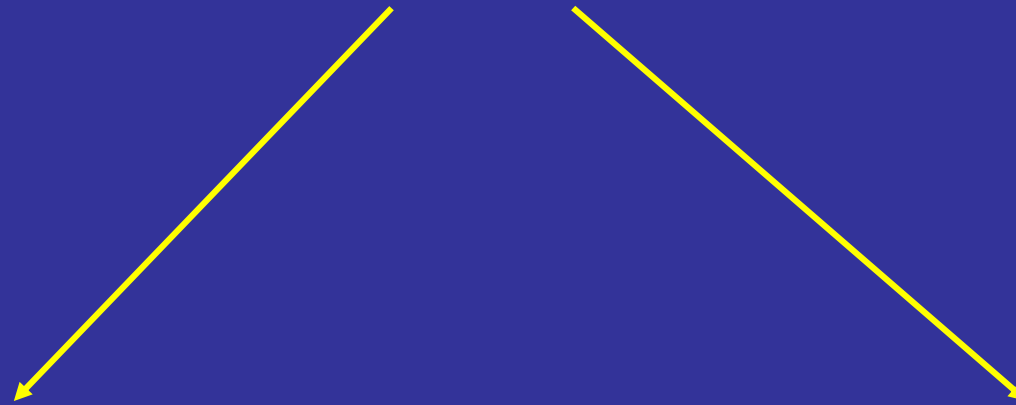


Istituto Veneto di Medicina
Molecolare (VIMM), Padova

1° Congresso NewMicro, Trento 21 Gennaio 2011

PERCHE' E' IMPORTANTE RILEVARE E MONITORARE L' HCV-RNA

E' dimostrato che l'HCV-RNA è il parametro con il più alto valore predittivo di risposta alla terapia antivirale



High viral Load vs. Low viral Load

Rapid, Early e Sustained Virological Response

... ma il clinico deve tener conto anche di altri parametri (ALT/AST, genotipo virale, profilo metabolico, genetica ospite, fumo, alcol...)

UN PO' DI DEFINIZIONI...

- **High Viral Load:** carica virale al basale > 800.000 UI/mL
- **Low Viral Load :** carica virale al basale < 800.000 UI/mL

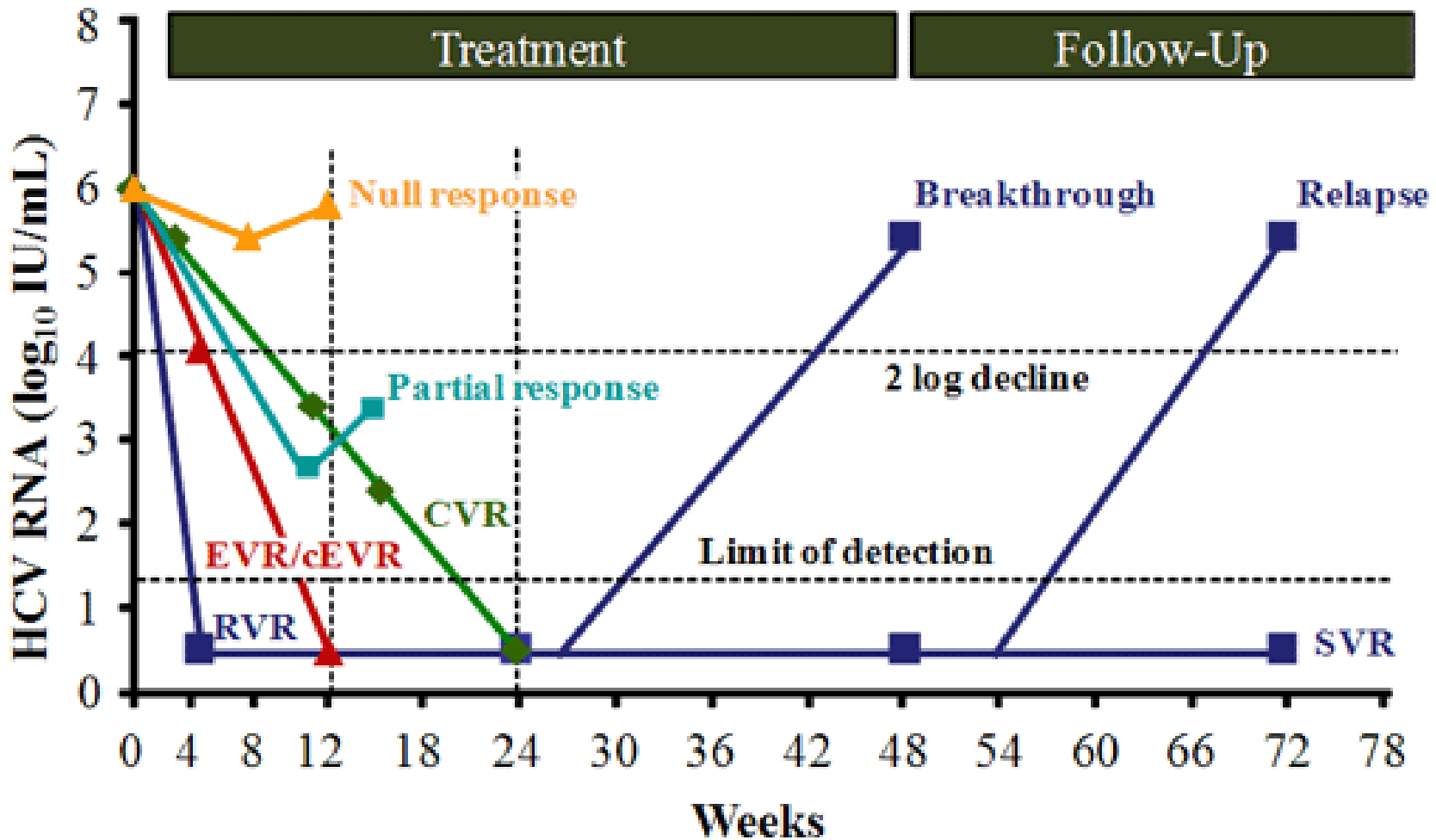


I pazienti con Low Viral Load hanno una probabilità di risposta al trattamento di 15%-39% superiore ai soggetti con High Viral Load (nel genotipo HCV-1)

- **Rapid Virological Response:** HCV-RNA negativo dopo 4w di trattamento
- **Early Virological Response:** decremento almeno di 2 log di HCV-RNA a 12w
- complete **Early Virological Response:** HCV-RNA negativo dopo 12w di trattamento
- **Non Responder:** soggetti con un decremento $< 2\log$ di HCV-RNA alla 12w
- **Sustained Virological Response:** HCV-RNA negativo a 24w post-terapia



RVR hanno una probabilità del 75% di essere SVR contro i EVR che hanno una probabilità del 67%



Rilevazione HCV-RNA per fini terapeutici



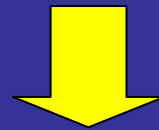
In passato metodi con alta soglia di rilevazione o particolarmente laboriosi e in grado di fornire solo un dato qualitativo

- PCR classica (LOD = 50-100 UI/mL)
- TMA



In seguito sono stati sviluppati sistemi in grado di fornire anche una dato quantitativo mediante tecnologia PCR classica (**Cobas Amplicor**)

Negli ultimi anni

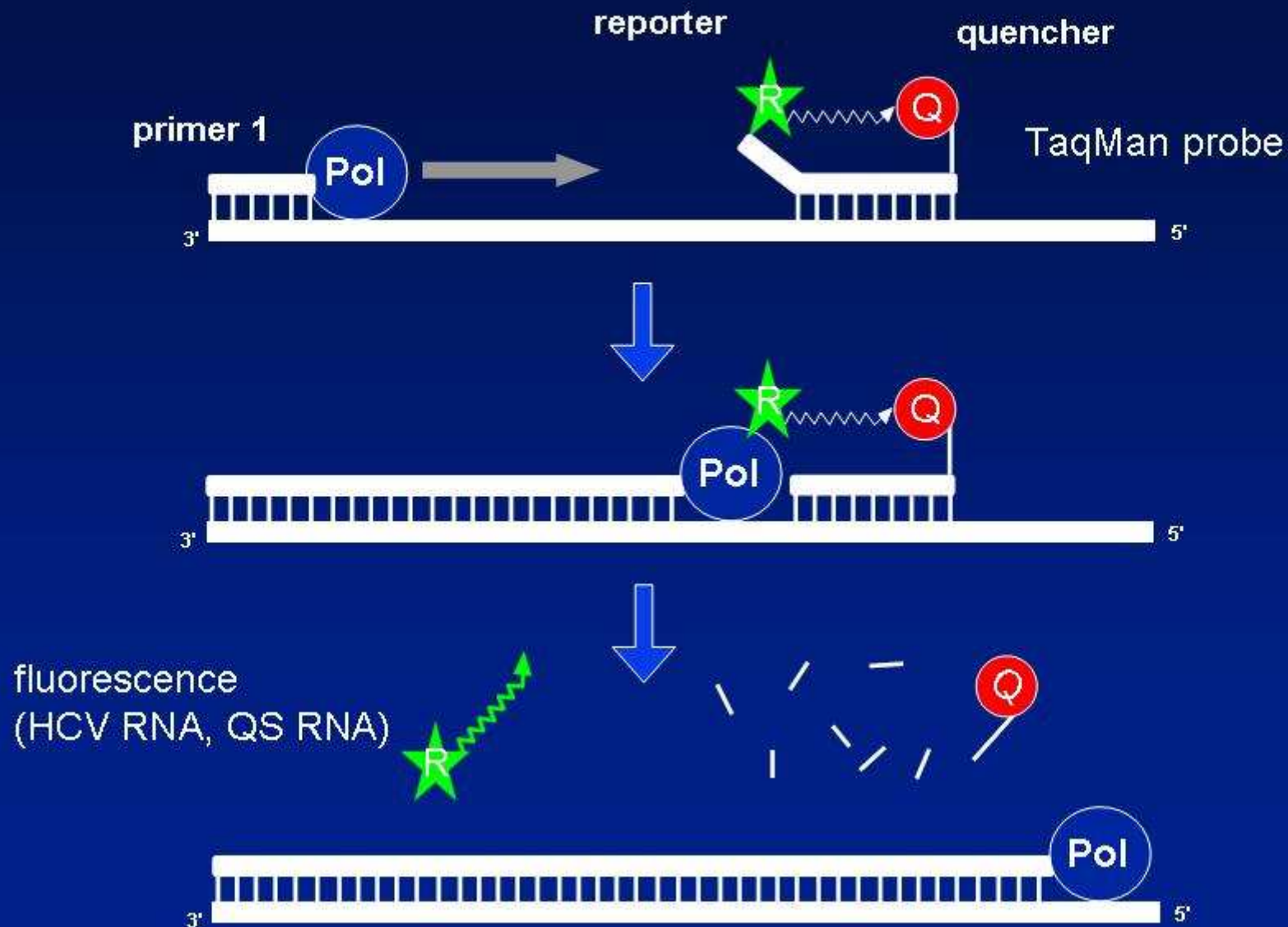


Sistemi standardizzati che sfruttano la tecnologia **RealTime**

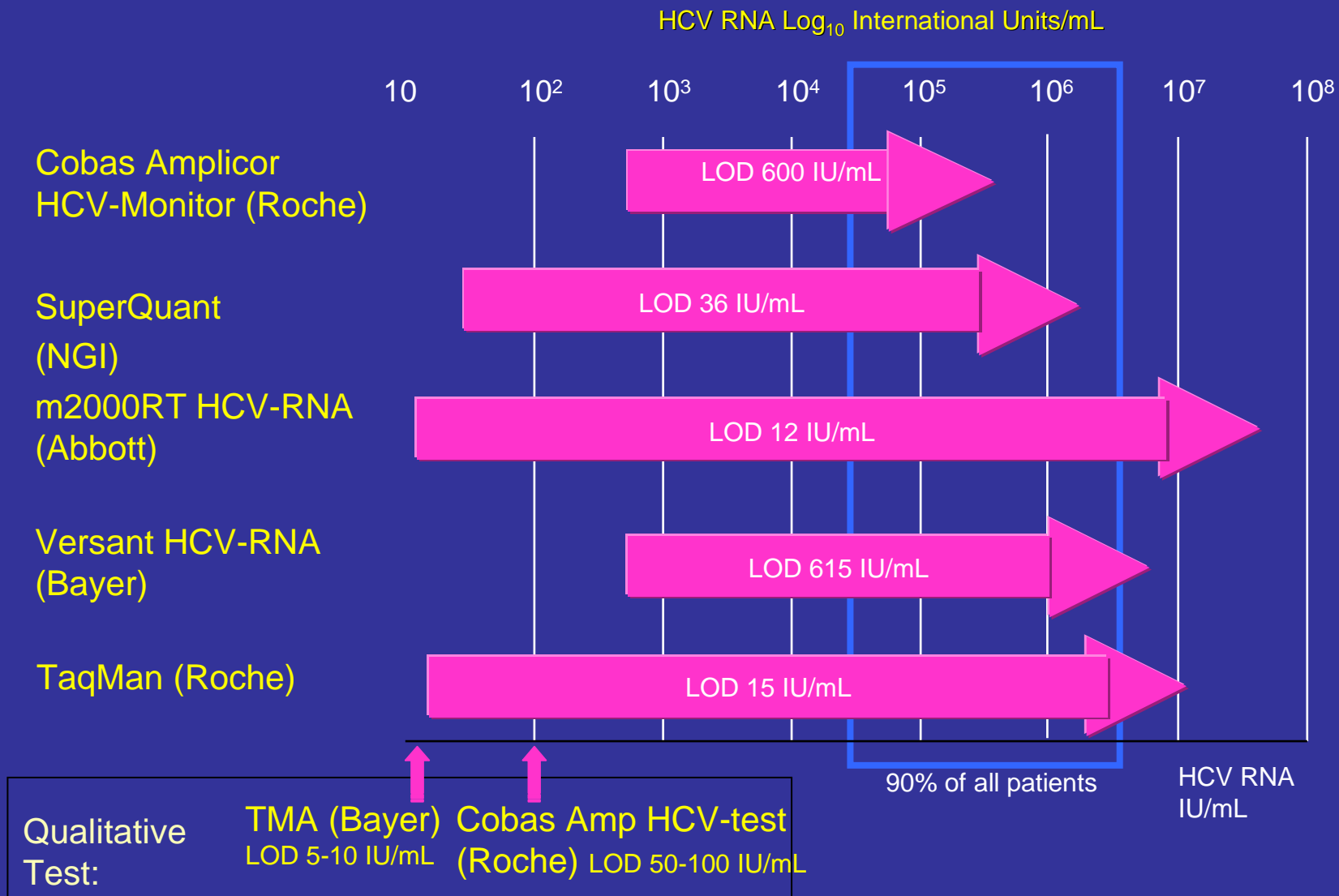
Vantaggi apportati dall'utilizzo della tecnologia PCR-RealTime

- Quantificazione precisa (range dinamico ampio)
- Migliore standardizzazione tra risultati ottenuti con diverse metodiche (il risultato viene sempre fornito come UI/mL)
- Alta sensibilità (durante tutto il trattamento terapeutico e dopo)
- Alta specificità (ridotto rischio di contaminazioni e falsi positivi)
- Un unico test permette di avere un risultato sia qualitativo che quantitativo

Real-time PCR-based HCV RNA detection



Confronto tra le diverse metodiche per la rilevazione di HCV-RNA



Confronto Roche – Abbott in due lavori

Overestimation and Underestimation of Hepatitis C Virus RNA Levels in a Widely Used Real-Time Polymerase Chain Reaction–Based Method

Stéphane Chevaliez,^{1,2} Magali Bouvier-Alias,^{1,2} Rozenn Brillet,^{1,2} and Jean-Michel Pawlotsky^{1,2}

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, June 2009, p. 1726–1732
0095-1137/09/\$08.00+0 doi:10.1128/JCM.01300-08
Copyright © 2009, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 47, No. 6

Performance of the Abbott Real-Time PCR Assay Using *m2000_{sp}* and *m2000_{rt}* for Hepatitis C Virus RNA Quantification[∇]

Stéphane Chevaliez, Magali Bouvier-Alias, and Jean-Michel Pawlotsky*

French National Reference Center for Viral Hepatitis B, C, and Delta, Department of Virology, Hôpital Henri Mondor, Université Paris 12, and INSERM U955, Créteil, France

Received 9 July 2008/Returned for modification 3 December 2008/Accepted 6 April 2009

IL NOSTRO STUDIO: UN CONFRONTO TRA TMA E ABBOTT

Comparable performance of TMA and Real-Time PCR in detecting minimal residual hepatitis C viraemia at the end of antiviral therapy

Gladis Bortoletto^a, Davide Campagnolo^a, Silvia Mirandola^a, Giuseppe Comastri^b, Letizia Severini^b, Franco Renato Pulvirenti^b, Alfredo Alberti^{a,c,*}

^aVenetian Institute of Molecular Medicine, via Orus 2, 35100 Padova, Italy

^bAbbott Molecular, Roma, Italy

^cDepartment of Histology, Microbiology and Medical Biotechnologies, University of Padova, via Gabelli 9, 35100 Padova, Italy

2 scopi principali di questo studio:

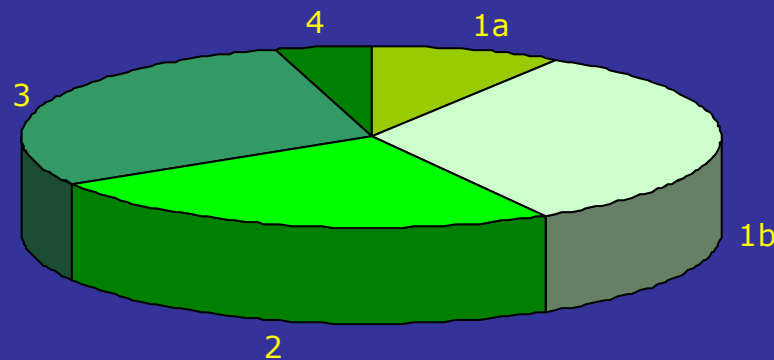
1. Valutare la differente capacità di rilevazione della Viremia Minima Residua (VMR) tra queste due differenti metodiche
2. Valutare la capacità predittiva di queste due metodiche in relazione all'andamento della malattia (SVR o VR)

Pazienti

202 soggetti arruolati tutti negativi a fine terapia per PCR classica
(LOD = 50 – 100 UI/mL)

Tutti i soggetti trattati secondo terapia convenzionale PEG-IFN + Riba
secondo genotipo

Popolazione suddivisa per genotipo



Materiali e metodi

- In un precedente lavoro (Gerotto et al. J. of Hepatol., **2006**) i soggetti (PCR-) erano stati tutti analizzati mediante TMA ottenendo un 12,5% di TMA+
- I campioni, conservati a -80°C, sono stati rianalizzati mediante metodica **Abbott m2000^{sp}** e **Abbott m2000^{rt}**
- I risultati ottenuti sono stati confrontati anche in funzione del decorso della malattia (SVR o VR)

Risultati

Capacità tra le due metodiche di rilevare la viremia minima residua

Numero (%) di pazienti con viremia minima residua a fine terapia

HCV genotipo	TMA n (%) 95% CI	Abbott Real Time HCV n (%) 95% CI
Tutti (202)	22 (10.9%)	28 (13.8%)
HCV-1a	5 (27.7%)	4 (22.2%)
HCV-1b	9 (13.6%)	10 (15.1%)
HCV-2	0 (0%)	2 (4%)
HCV-3	8 (13.5%)	11 (18.6%)
HCV-4	0 (0%)	1 (11.1%)

Risultati

Capacità predittiva delle due metodiche in funzione dell'andamento di malattia

HCV-genotipo	PPV (per VR post-terapia)		NPV (per SVR post-terapia)	
	TMA	ABBOTT	TMA	ABBOTT
	Tutti	81.8%	85.7%	83.8%
HCV-1a	100%	100%	76.9%	71.4%
HCV-1b	77.7%	90%	82.4%	85.7%
HCV-2	-	100%	92%	95.8%
HCV-3	75%	72.7%	80.4%	83.3%
HCV-4	-	100%	77.7%	87.5%

Conclusioni:

- Abbott RealTime innalza la capacità di rilevare la Viremia Minima Residua da 11% (TMA) a 14%
- TMA dimostra difficoltà di rilevazione di Viremia Minima Residua con genotipi 2 e 4 che Abbott RealTime non sembra avere
- Le capacità predittive in funzione di decorso di malattia sono confrontabili tra le due metodiche
- Abbott RealTime è una metodica che sfrutta le potenzialità della PCR Real Time ed inoltre grazie all'automatizzazione del sistema permette un uso molto più facile e veloce

Twelve Weeks Posttreatment Follow-up Is as Relevant as 24 Weeks to Determine the Sustained Virologic Response in Patients with Hepatitis C Virus Receiving Pegylated Interferon and Ribavirin

Michelle Martinot-Peignoux,¹ Christiane Stern,¹ Sarah Maylin,¹ Marie-Pierre Ripault,² Nathalie Boyer,² Laurence Leclere,¹ Corinne Castelnau,² Nathalie Giuily,² Ahmed El Ray,² Ana-Carolina Cardoso,¹ Rami Moucari,^{1,2} Tarik Asselah,^{1,2} and Patrick Marcellin^{1,2}

	Patients	SVR	PPV
Week +4	252	242	96.0%
Week +12	409	408	99.7%
Week +24	408	408	100%

Serum HCV RNA (Follow-Up)	Patients (n)	HCV RNA (-)	SVR	PPV (95% CI)
Amplicor (LOD = 50 UI/mL)	431			
Week +4		285	259	91%
Week +12		259	259	100%
Week +24		259	259	100%
TaqMan (LOD = 15 UI/mL)	72			
Week +4		38	32	84%
Week +12		32	32	100%
Week +24		32	32	100%

Aghemo et al. Hepatology, September 2010

Valore predittivo post-terapia del test di viremia (Abbott m2000 RealTime) per eradicazione di HCV

	Patients	SVR	PPV (95% CI)
Week +12	125	124	99.2%
Week +24	124	124	100%

VIMM database, 2010

Un rapido confronto tra le diverse metodiche

	TMA	Cobas TaqMan (Roche)	Abbott m2000
Predittività 24w-SVR	+	+	+
Predittività 12w-SVR	+	+	+
Facilità di esecuzione	-	+	+
Rilevazione diversi genotipi	?	?	+
Rilevamento VMR e PPV	+	?	++

GRAZIE PER LA VOSTRA ATTENZIONE

...e GRAZIE a

Prof. A. Alberti

Dott. R. Pulvirenti e Abbott Molecular

Dott. P. Lanzafame