

## EVALUAREA COMPARATIVA A TREI TEHNICI MOLECULARE PENTRU ANALIZA VIRUSULUI HEPATITEI C

Sorin Dinu, Camelia Szmal, Claudiu Sbarcea, Emilia Lupulescu, Gabriela Oprisan

Virusul hepatitei C (HCV), descoperit in 1989, este cauza hepatitei virale non A non B.

Statisticile arata ca pe Glob 170 milioane de persoane sunt infectate cu HCV, patologia asociata fiind hepatia acuta, hepatita cronica, cu posibila evolutie spre ciroza hepatica si carcinom hepatocelular.

HCV este un virus ARN monocatenar de polaritate pozitiva, care nu se poate cultiva in laborator.

Obiectivele studiului sunt detectia si analiza HCV prin metode moleculare, genotiparea, identificarea genotipurilor rezistente la schemele de tratament si trasarea infectiilor.

Detectia si analiza HCV s-au realizat prin PCR (polymerase chain reaction), Real-Time PCR (metoda SYBR GREEN) si secventiere.

Regiunile genomice amplificate si studiate sunt: regiunea Core (sistem PCR "in house") si HVR (hipervariable region).

Ampliconii rezultati in urma amplificarii au fost secventiati, analizati din punct de vedere al mutatiilor (programele BIOEDIT si MEGA 4) si incadrati in tipuri si subtipuri virale. S-au construit arbori filogenetici care indica gradul de asemanare intre tulpinile analizate si alte tulpini circulante in lume.

Sistemele PCR (Core si HVR ) au fost adaptate pentru Real-Time PCR (metoda SYBR GREEN).

Ambele sisteme PCR au fost capabile sa detecteze prezenta virusului hepatitei C dar informatiile legate de structura genomului au fost obtinute doar prin secventiere si analiza secventelor obtinute. Atat analiza ampliconilor Core cat si a ampliconilor HVR au furnizat informatii similare referitoare la incadrarea filogenetica a tulpinilor virale.

Real-Time PCR a adus informatii legate de cantitatea de virus prezenta in probele analizate.

Deși Real-Time PCR prezintă ca avantaje sensibilitatea mai mare față de PCR clasic și monitorizarea în timp real, secvențierea este singura tehnică ce oferă informații legate de structura și dinamica evoluției genomului HCV.