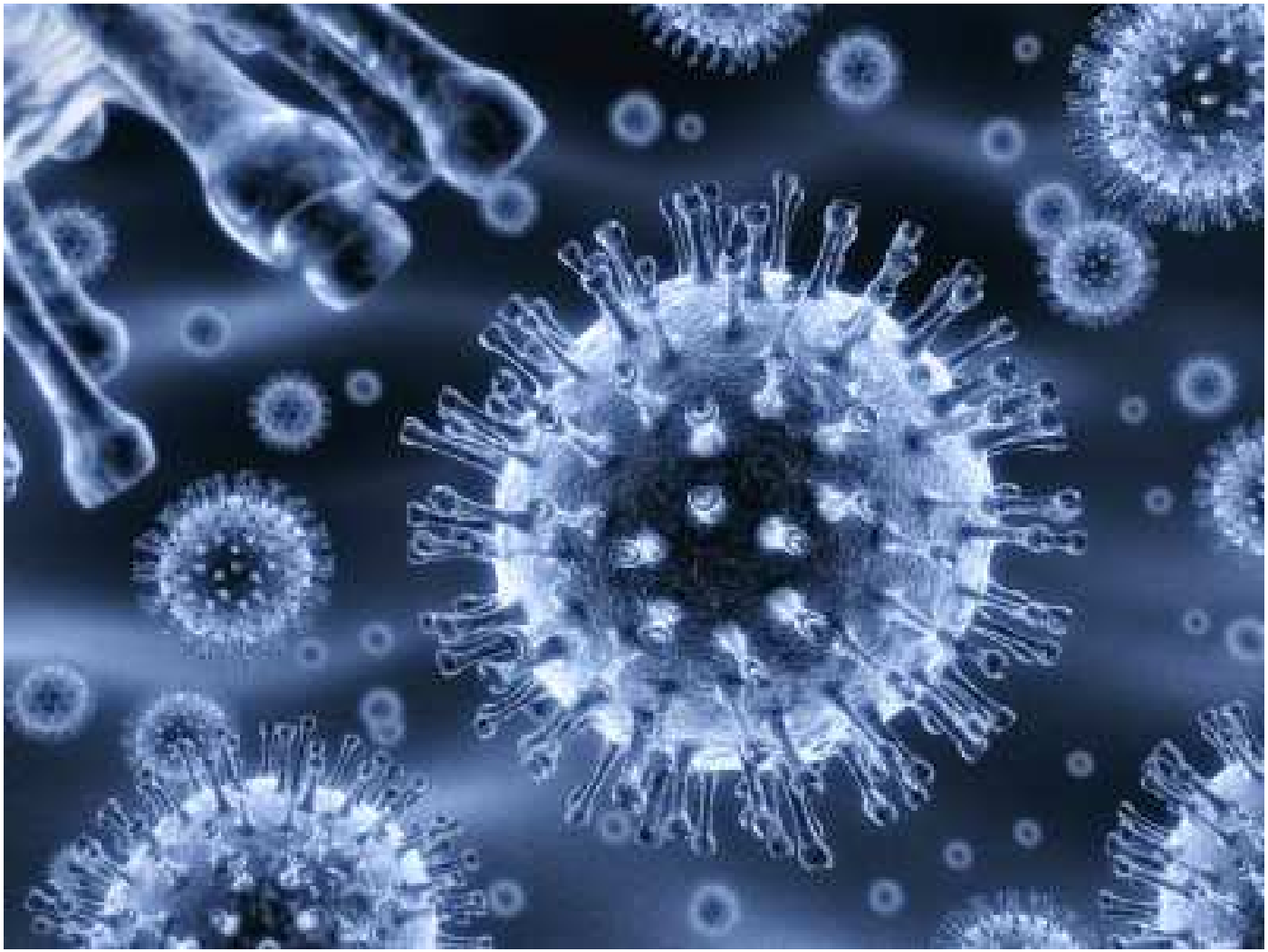
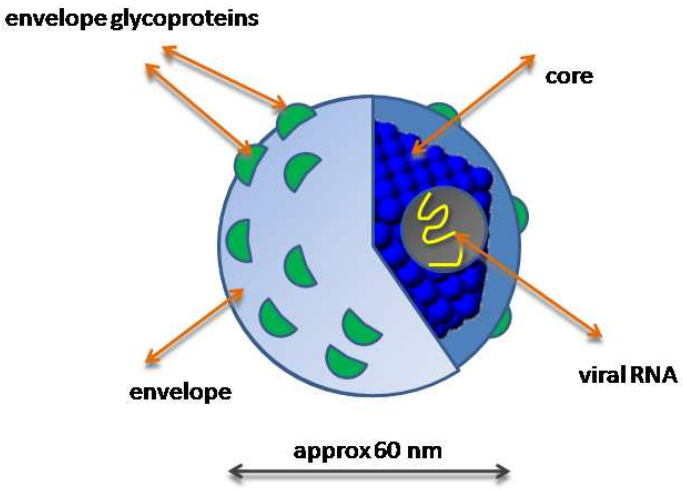


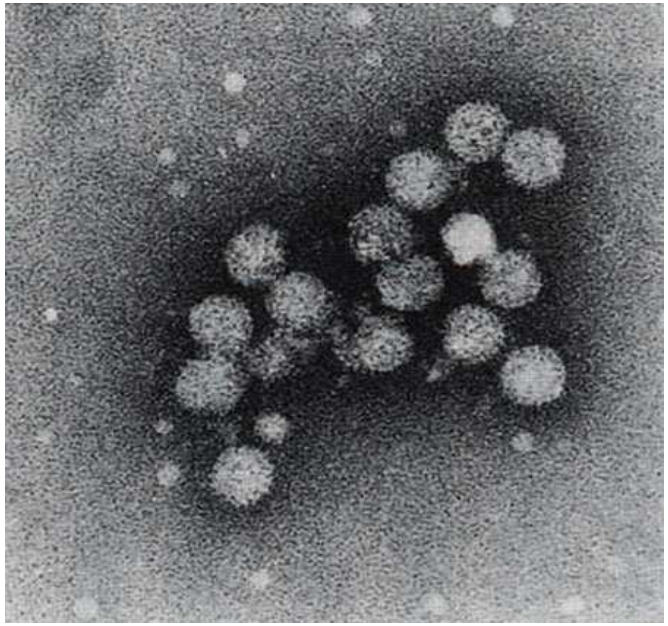
Virus Hepatitis C

Características generales VHC

- Virus de pequeño tamaño (aprox. 50 nm)
- Posee envoltura
- ARN de polaridad +

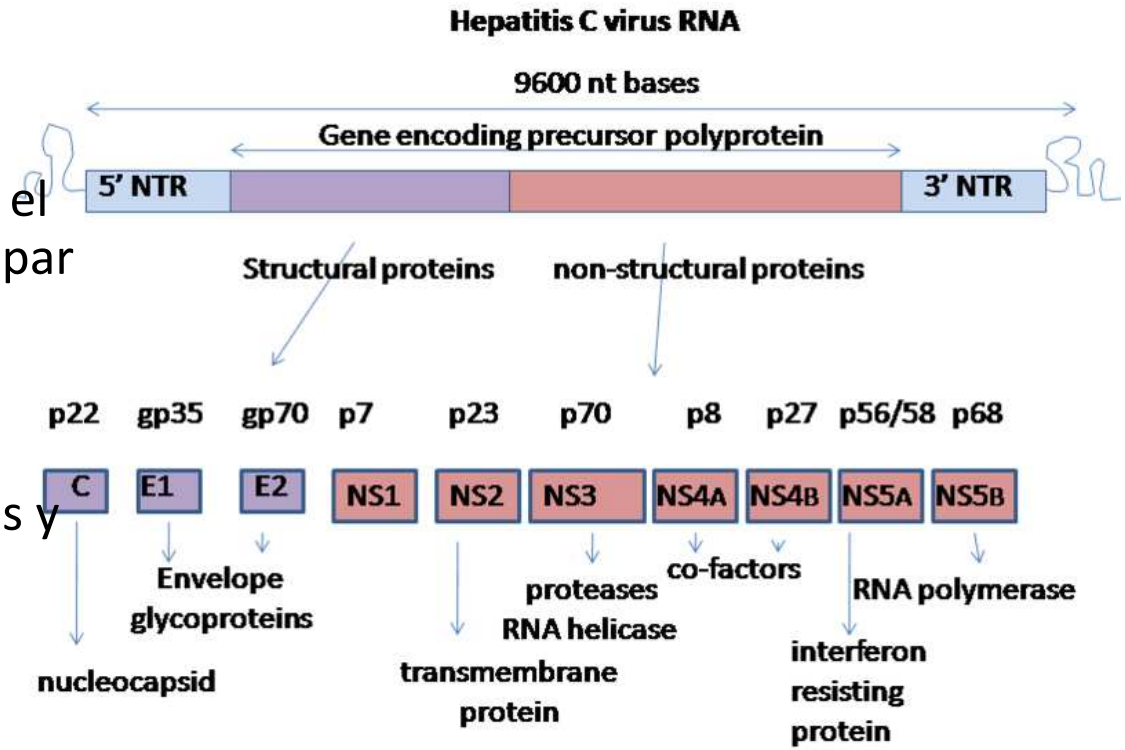


Structure of Hepatitis C Virus



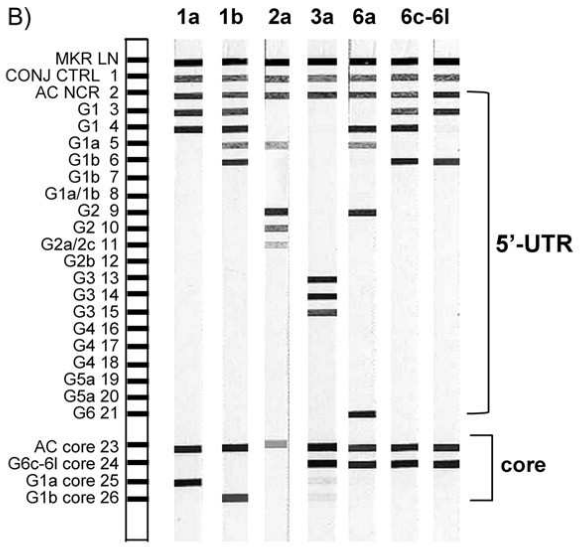
Características genéticas VHC

- Virus RNA con alta tasa de mutación en su replicación (cuasiespecies virales).
- Estos cambios genéticos en el virus hacen que pueda escapar al sistema inmune del hospedador.
- Existen 6 genotipos distintos y 15 subtipos descritos, sus prevalencias varían en cada región del mundo. Cada genotipo tienes sus propias implicaciones clínicas.

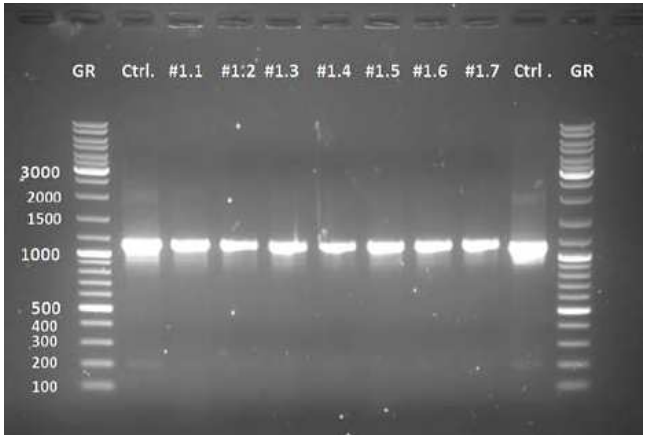


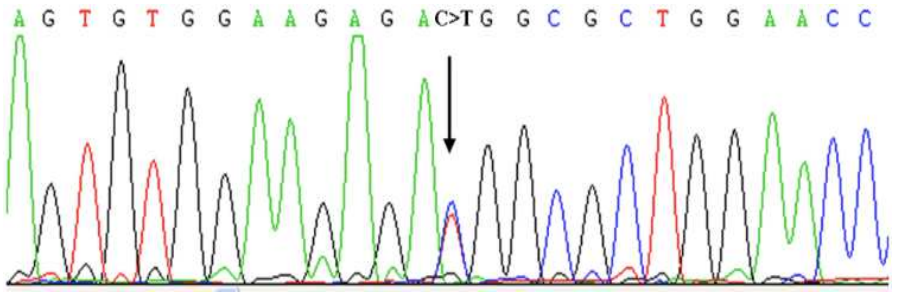
Tipado del VHC

- Métodos Moleculares
  1. Versant HCV Genotype 2.0
  2. RT-PCR-Secuenciación.



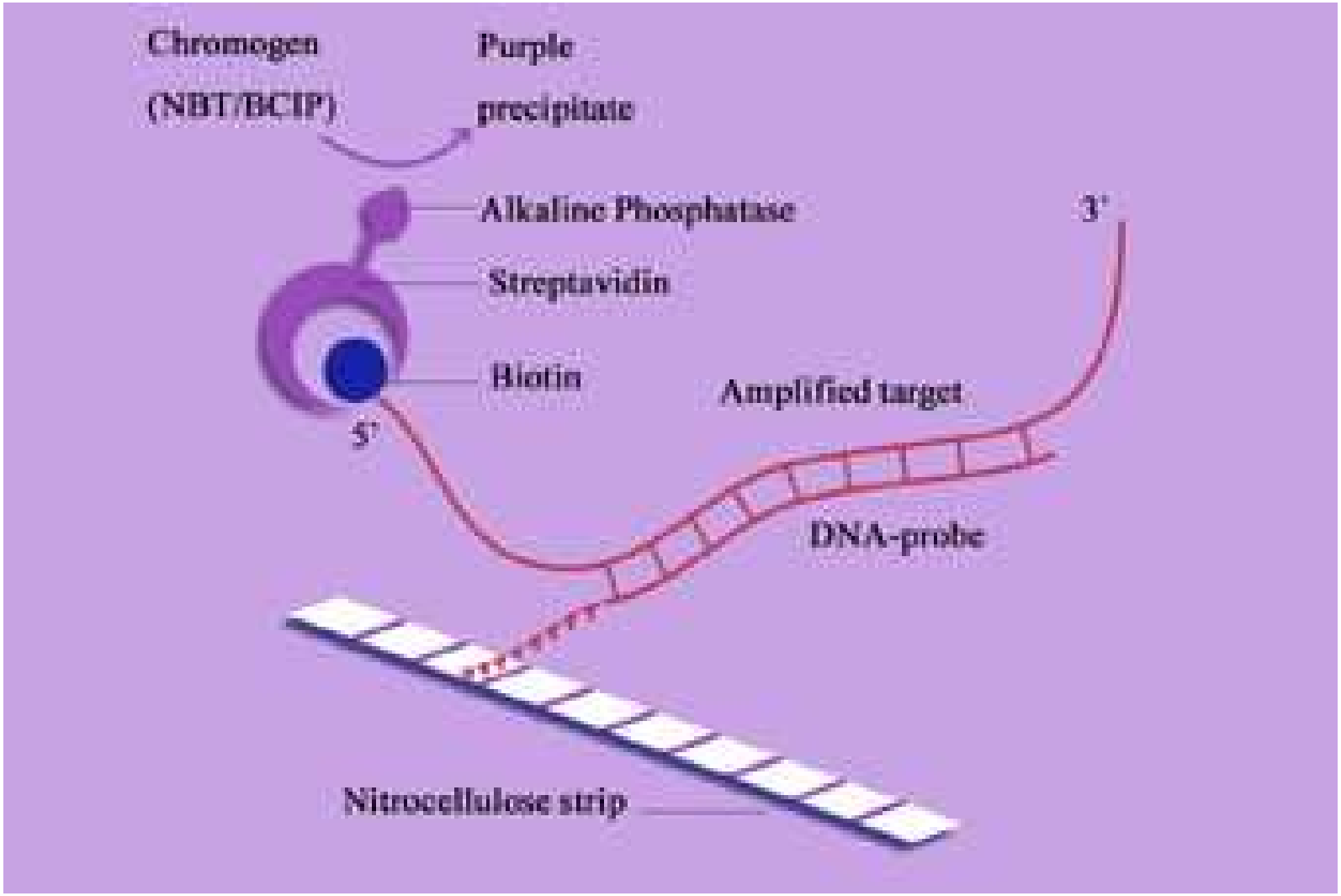
Versant HCV Genotype 2.0



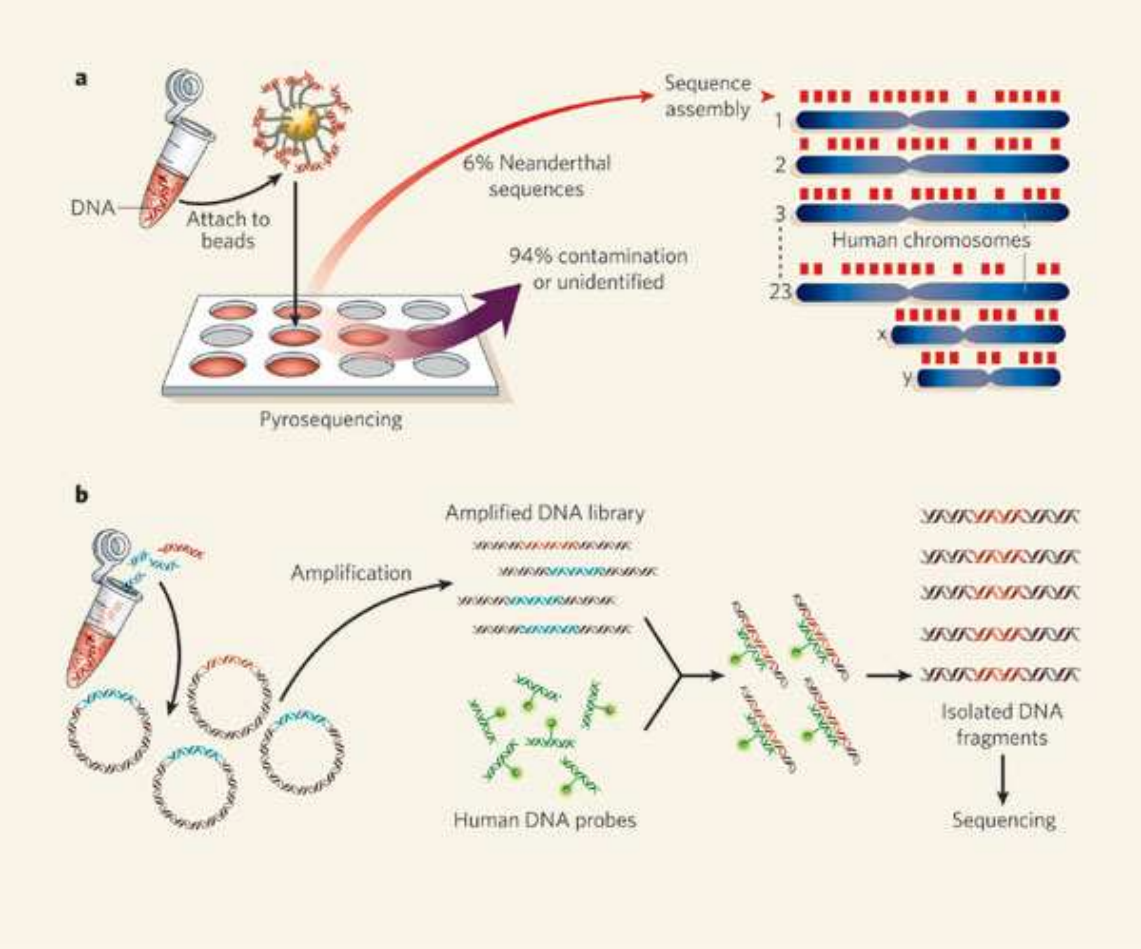


RT-PCR-Secuenciación

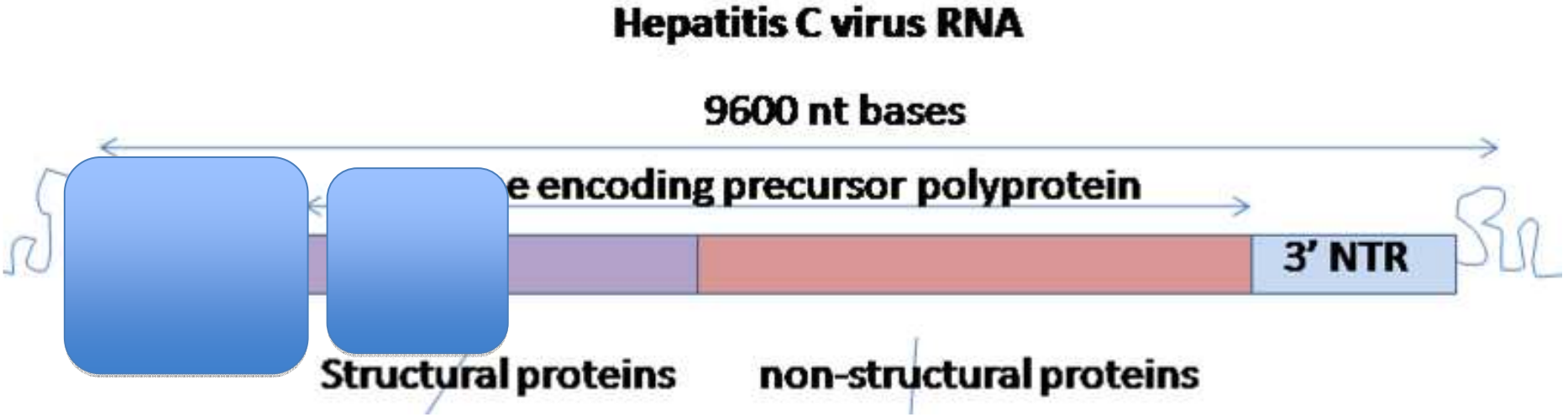
LIPA


Chromogen
(NBT/BCIP)
Purple
precipitate
Alkaline Phosphatase
3'
Streptavidin
Biotin
Amplified target
5'
DNA-probe
Nitrocellulose strip

SECUENCIACIÓN

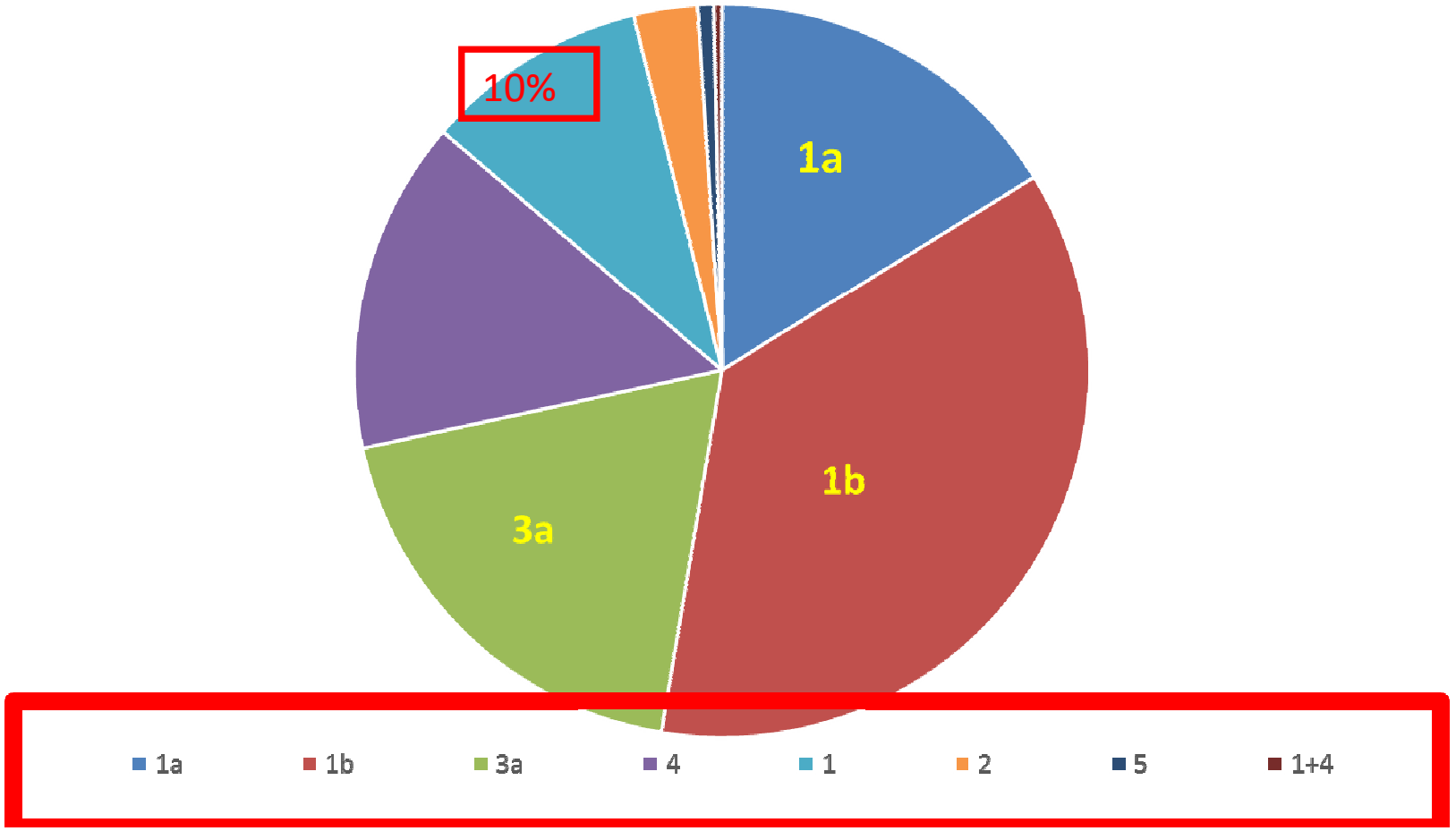


Versant HCV Genotype 2.0

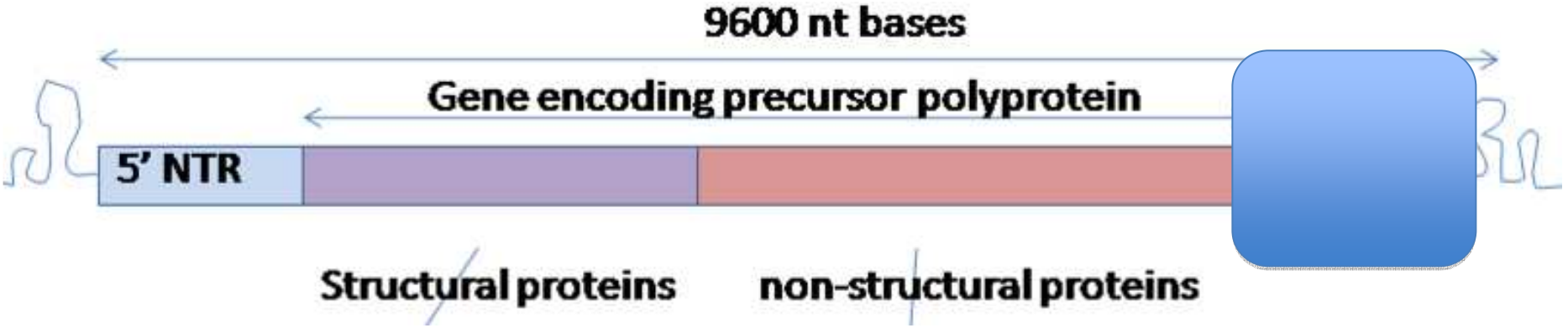


- Utiliza las regiones 5' UTR y parte del CORE
- No puede identificar o identifica erróneamente algunos subtipos
- No puede distinguir entre 1a y 1b en un 10% de los casos.
- No identifica mutaciones importantes como la Q80
- No puede determinar infecciones múltiples minoritarias

GENOTIPADO



RT-PCR-Secuenciación

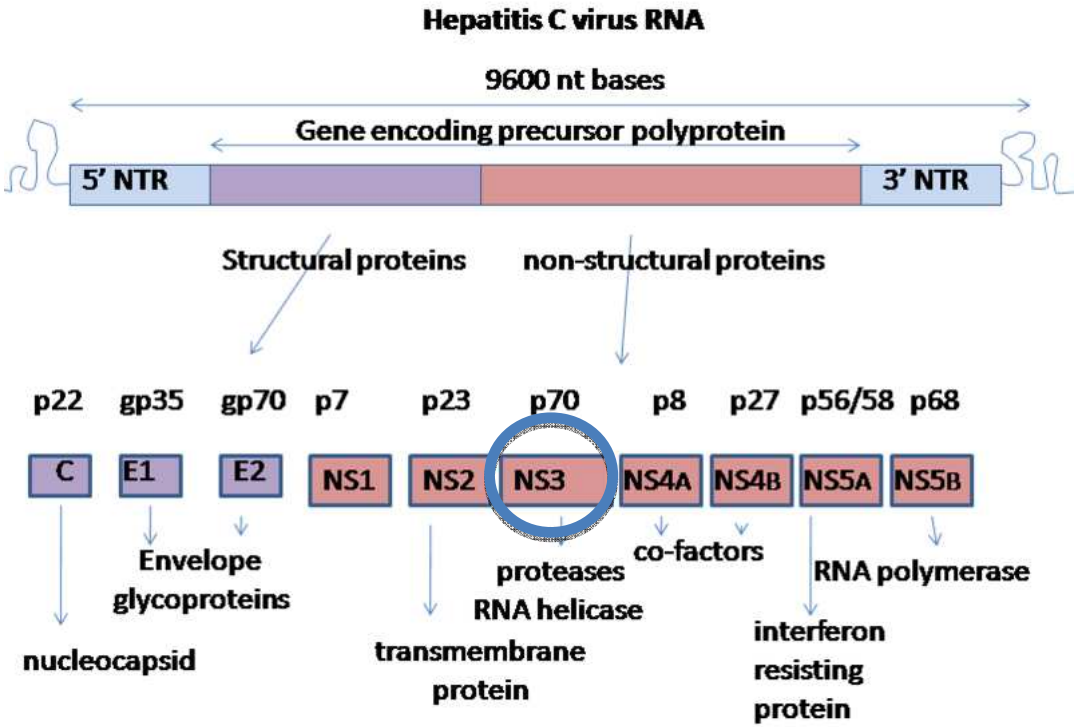


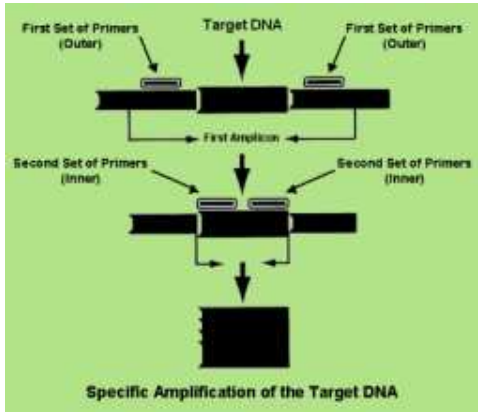
- Analiza la región NS5B de la zona 3' del VHC
- Identifica todos los genotipos y subtipos del VHC
- Distingue entre 1a y 1b
- No puede determinar infecciones múltiples minoritarias

MUTACIÓN Q80K

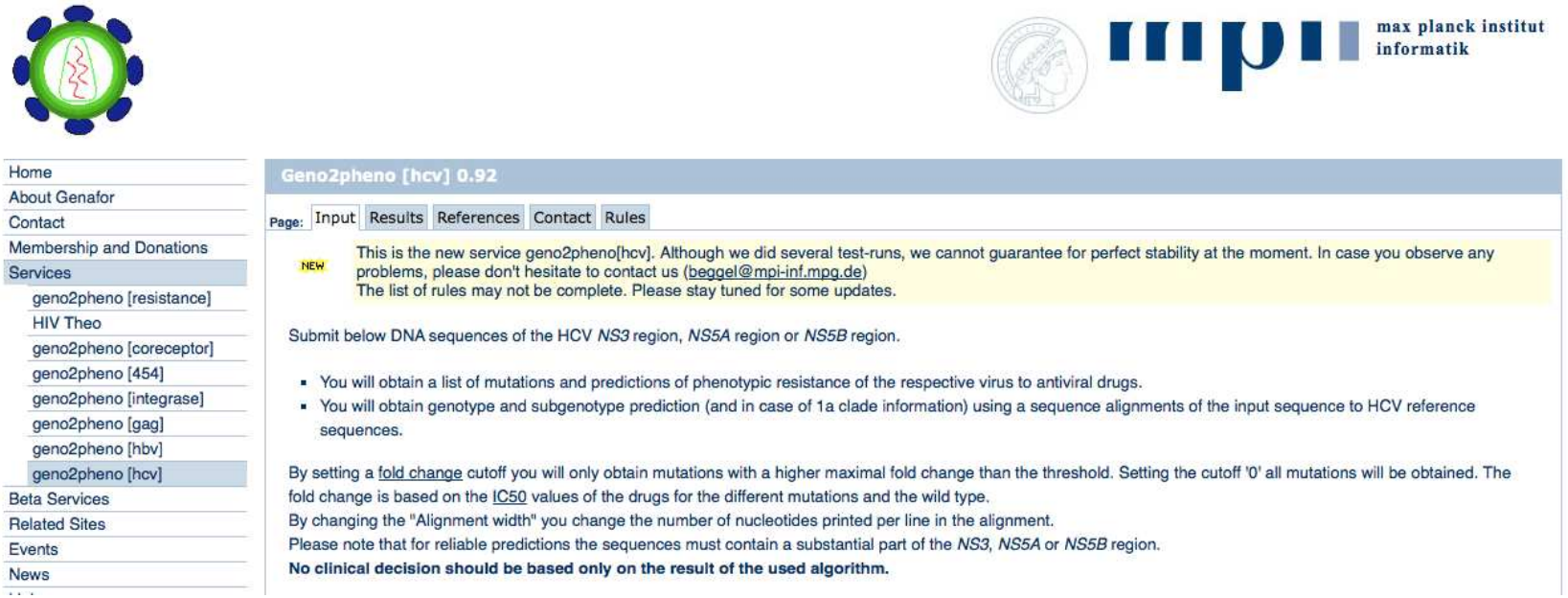
GENO2PHENO

max planck institut





MUTACIÓN Q80K



MUTACIÓN Q80K

Included *NS3* region codons:	**13 - 167 (similarity to reference = 97.42%)**
Mutations *NS3* region:	**T40A, Q89H, S91A, L153I**
Used reference for *NS3* region:	**H77**

Drug Resistance

Drugs	Scored mutations	Resistance analysis	Fold Change	
Boceprevir	none	susceptible	-	
Telaprevir	none	susceptible	-	
Simeprevir	none	susceptible	-	
Faldaprevir	none	susceptible	-	

Detailed Mutation Information

Mutation	Fold Change	Resistance analysis

MUTACIÓN Q80K

Included *NS3* region codons:	**13 - 167 (similarity to reference = 96.77%)**
Mutations *NS3* region:	**T40A, Q80K, Q89H, S91A, L153I**
Used reference for *NS3* region:	**H77**

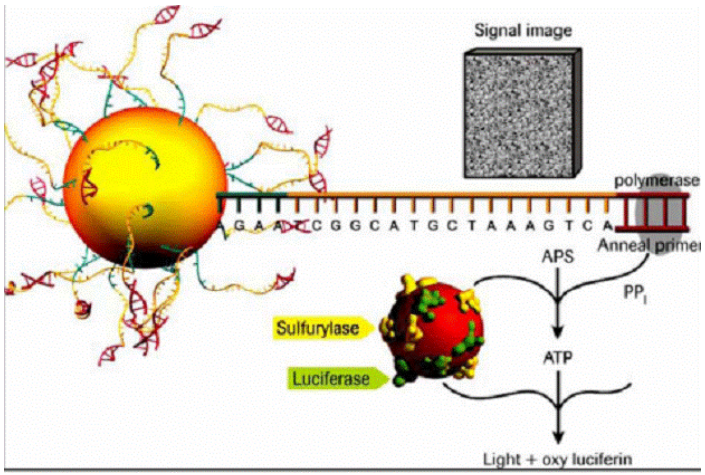
Drug Resistance

Drugs	Scored mutations	Resistance analysis	Fold Change	
Boceprevir	none	susceptible	-	
Telaprevir	none	susceptible	-	
Simeprevir	80K	resistant	14	
Faldaprevir	80K	resistant	2.2	

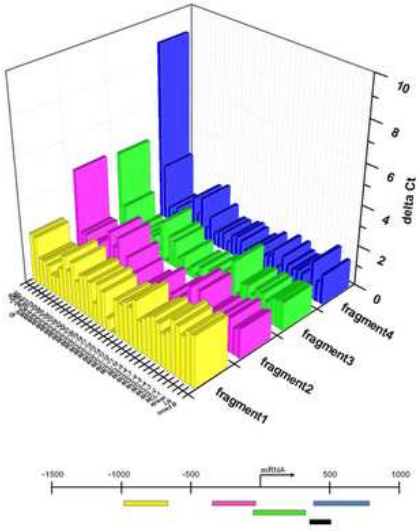
Detailed Mutation Information

Mutation	Fold Change	Resistance analysis
Simeprevir		
80K	14	resistant
Faldaprevir		
80K	2.2	resistant

SECUENCIACION MASIVA



a)



b)

	CpG1	CpG2	CpG3	CpG4
tonsil B	7	7	18	13
LN	5	5	16	10
spleen	15	15	28	22
MCL-1	4	4	7	7
MCL-2	2	2	4	6
MCL-3	4	4	8	8
MCL-4	5	5	10	8
MCL-5	5	5	10	9
MCL-6	3	3	5	6
MCL-7	2	2	3	5
MCL-8	4	4	4	8
MCL-9	7	6	13	8
MCL-10	7	7	9	8
MCL-11	16	17	24	19
MCL-12	4	3	5	4
MCL-13	3	3	7	4
MCL-14	3	2	3	3
MCL-15	6	6	10	7
MCL-16	3	3	6	4
MCL-17	4	3	6	4
MCL-18	3	3	5	4
MCL-19	6	5	9	7
MCL-20	5	5	9	6
MCL-21	3	3	7	8
MCL-22	38	27	54	53
MCL-23	6	5	8	7
MCL-24	2	2	3	5
MCL-25	2	2	2	5
MCL-26	3	4	6	7
MCL-27	3	2	3	3
MCL-28	4	3	5	5
MCL-29	3	2	2	3
Granta519	2	2	3	4
Rec1	5	5	9	10
JeKo	1	2	2	4
JVM2	5	4	7	7
Raji	56	67	92	95

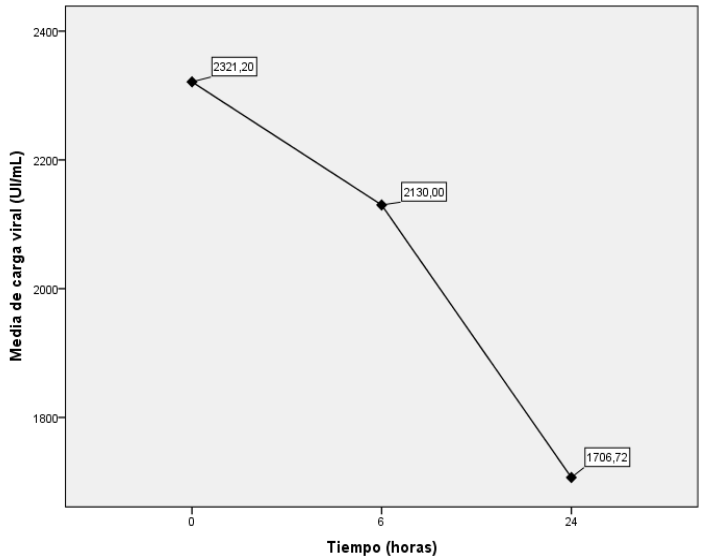
Permite detectar los genotipos y las mutaciones de las poblaciones minoritarias

CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE

Table 1: Mean difference and Intraclass correlation coefficients* (ICC), limits of 95% confidence interval (95% CI)

	Mean difference, UI/ml (95% CI)	SD	CCI (95% CI)
Between 0 and 6 hours	-212.0 (-474.10; 50.10)	634	0.457 (0.099; 0.714)
Between 6 and 24 hours	-412.88 (-645.77; -179.99)	564.207	0.256 (-0.079; 0.564)
Between 0 and 24 hours	-624.88 (-871.95; -377.81)	598.558	0.207 (-0.101; 0.519)

Figura 1:



CONCLUSIONES

- La genotipificación del LIPA es un método poco preciso para diferenciar entre los genotipos 1a y 1b
- Los resultados deben confirmarse, al menos, por secuenciación clásica
- Hay que caracterizar molecularmente todas las mutaciones que sean clínicamente importantes
- La secuenciación masiva es una técnica compleja pero permite:
  - Caracterizar poblaciones minoritarias
  - Estudiar el genoma completo del virus
- La toma, el transporte y la conservación de la muestra es clave para el correcto control del tratamiento