

Avaliação da eficiência do ensaio HDV RT-qPCR na presença de controle interno

Débora da Silva Lopes¹; Luan Felipe Botelho-Souza¹; Juan Miguel Villalobos Salcedo¹; Deusilene Souza Vieira Dall'acqua¹; Alcione de Oliveira dos Santos¹

*¹ FIOCRUZ – RONDÔNIA, Rua da Beira, 7671 - BR 364, Km 3,5 Bairro Lagoa, CEP: 76812 – 329
Porto Velho – RO. Email: alcione.m@hotmail.com*

O vírus da hepatite D (HDV) é classificado como vírus satélite do vírus da hepatite B (HBV), pois baseia-se nos princípios biológicos de que o HDV é incapaz de causar infecção na ausência do HBV. O diagnóstico sorológico para infecção pelo HDV é complexo, em decorrência dos tipos de infecções e da interpretação dos diferentes marcadores sorológicos. Atualmente, a reação em cadeia da polimerase em tempo real quantitativa (RT-qPCR), é frequentemente utilizada para determinar os níveis de carga viral, devido a sua precisão, sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade. No entanto, variações experimentais, tais como qualidade dos ácidos nucleicos, eficiência da transcrição reversa e a condição experimental, podem afetar a confiabilidade da RT-qPCR. Dessa forma, um parâmetro para obtenção de dados precisos e reprodutíveis é a utilização de controle interno na reação. Assim, este estudo tem como objetivo avaliar a eficiência do ensaio HDV RT-qPCR na presença de controle interno, para isto foram selecionados controles internos endógenos, baseado em estudos anteriores, β -actina e β -tubulina, descritos como genes de expressão, componentes fundamentais presentes em células eucarióticas. Será padronizada a RT-PCR para os genes endógenos e posteriormente, será introduzida no ensaio HDV RT-qPCR e serão realizados testes de sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade para avaliar o desempenho analítico do ensaio na presença do controle interno. Com base nos resultados parciais, em razão da padronização dos genes endógenos, os mesmos se mostraram efetivos na amplificação durante o gradiente de concentração realizado. Sendo assim, este estudo irá corroborar para o diagnóstico molecular deste agente etiológico, possibilitando avanços nas áreas endêmicas, tais como a Região Amazônica.

Palavras-chave: HDV RT – qPCR, Controle interno, β -actina e β -tubulin.

Apoio: PPSUS/FAPERO/SESAU/MS/nº001/2013, FIOCRUZ-RO E CEPEM.