

Eficiencia de la amplificación del genoma del virus del dengue

Efficacy of the amplification of the dengue virus genome

María Inés Odreman Macchiolo

Profesora Instructora, Laboratorio de Microbiología y Salud Pública del Estado Mérida, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

Daniel Atchley

Biólogo, College Of Pharmacy Harding University, Searcy, EE.UU.

Guillermo Comach

Médico veterinario, Laboratorio Regional de Diagnóstico e Investigación del Dengue y otras enfermedades virales, Aragua, Venezuela

Álvaro Ramírez

Biólogo molecular, Laboratorio Biología de Virus, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Altos de Pipe, Venezuela

Silvana Vielma

Médica, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

Acceda a este artículo en **siicsalud**



Código Respuesta Rápida
(Quick Response Code, QR)

+ Especialidades médicas relacionadas, producción bibliográfica y referencias profesionales de los autores, autoevaluación.

Desde el punto de vista epidemiológico, el virus del dengue (DENV) es la infección transmitida por artrópodos más frecuente en el planeta. La infección es causada por cualquiera de los cuatro serotipos virales denominados DENV-1 a DENV-4. Recientemente, la OMS/TDR ha clasificado las formas sintomáticas de la enfermedad en dengue con signos de alarma o sin ellos y dengue grave.

El diagnóstico específico de la infección por el virus dengue constituye un elemento clave para la instauración de medidas terapéuticas destinadas a evitar las complicaciones asociadas con las diversas formas clínicas de esta enfermedad. Las pruebas confirmatorias de la enfermedad se realizan basadas en la fase en que se encuentra el paciente. Durante la fase aguda se realizan pruebas virales (cultivo o amplificación por reacción en cadena de la polimerasa [PCR]) y en la fase crítica y de recuperación se utilizan la determinación de anticuerpos del tipo IgM anti-dengue. Los métodos de amplificación viral descritos en la literatura utilizan regiones variables tales como la región de la envoltura (E), premembrana, NS3, NS5 y 3'NC tanto por las técnicas de PCR punto final, como en tiempo real. El principal problema de la amplificación del DENV son sus posibles variaciones en las secuencias del genoma viral.

El objetivo del estudio* fue evaluar la eficiencia de amplificación de la región genómica NS5, una de las áreas más conservadas del DENV, mediante un ensayo cuantitativo de PCR-tiempo real (qPCR), comparándola con la

región cápside-premembrana (C-prM), utilizada clásicamente para amplificación y la región 3'NC viral, a partir de 167 muestras de ARN viral aislado de casos sospechosos clínicamente de la enfermedad.

Entre los resultados más relevantes de esta investigación se encontró que las tres regiones génicas tuvieron perfiles de amplificación/coeficientes de correlación similares (0.987-0.999). La región NS5 tuvo la eficiencia de amplificación más elevada para los cuatro serotipos (98% al 100%). Durante el proceso de validación, 41.1% (67/167) de las muestras de suero resultaron positivas para DENV al menos por dos de las regiones genómicas empleadas. Los valores de concordancia entre las regiones NS5/C-prM y NS5/3'NC fueron de 56.7% y 97%, respectivamente. La concordancia fue débil entre las regiones NS5/C-prM (< 0.109; intervalo de confianza del 95% [IC 95%]), sin embargo, fue moderada entre las regiones NS5/3'NC (< 0.489; IC 95%). La naturaleza de la variación genómica en el dengue se atribuye principalmente a fenómenos de degeneración de un codón, especialmente

en las regiones que codifican la cápsula, la membrana y la envoltura viral. Por lo tanto, cualquier modificación no predecible de la secuencia del gene de la unión cápside-premembrana pudiera generar variaciones entre los ensayos de amplificación cuando se utilizan virus del dengue de varios orígenes. Por el contrario, la secuencia usada para amplificar la región 3'NC incluye al menos 52 nucleótidos bien conservados entre los serotipos virales, permitiendo una mejor eficacia de la región comparada con NS5.

Otras variables estudiadas en este estudio fue la comparación de las químicas SYBRGreen®-I y el ensayo TagMan®, bien sea en formato uniplex o en formato multiplex. El ensayo de tipificación en formato uniplex mostró alta sensibilidad (100%) cuando se comparó con el ensayo C-prM utilizando SYBRGreen®-I (76%). El formato multiplex de la región NS5 no permitió la amplificación de los cuatro genotipos al mismo tiempo, disminuyendo la sensibilidad alcanzada por el formato uniplex.

La validación externa del ensayo mostró una significativa concordancia entre los resultados de la amplificación



de la región NS5, comparada con los resultados combinados de amplificación de la región premembrana, cultivo viral y determinación del antígeno NS1. Igualmente, una alta sensibilidad (100%), especificidad (78%) y acuerdo alto entre los ensayos utilizados.

Un hallazgo inesperado fue la existencia, en un 17.3% de los casos, de coinfecciones por más de un serotipo

del DENV, donde la más observada fue entre DENV-1/ DENV-2.

En conclusión, la amplificación de la región NS5 ofrece la mayor opción para la detección y serotipificación del DENV en muestras clínicas provenientes de casos sospechosos venezolanos y posiblemente de virus circulando en las Américas.

***Nota de la redacción:** La autora hace referencia al trabajo publicado en *Investigación Clínica* 54(1):5-19, Mar 2013. Los lectores que precisen el artículo completo pueden solicitarlo gratuitamente a la Biblioteca Biomédica (BB) SIIC de la Fundación SIIC para la promoción de la Ciencia y la Cultura.

Cómo citar este artículo: Odreman Macchiolo MI, Atchley D, Comach D, Ramírez Á, Vielma S. Eficiencia de la amplificación del genoma del virus del dengue. *Salud i Ciencia* 20(5):534-5, May 2014.

How to cite this article: Odreman Macchiolo MI, Atchley D, Comach D, Ramírez Á, Vielma S. Efficacy of the amplification of the dengue virus genome. *Salud i Ciencia* 20(5):534-5, May 2014.



1980 - 2014

Use el Código Respuesta Rápida para acceder a siicsalud

El Código de Respuesta Rápida (CRR) permite enviar o copiar la revista completa o el artículo, caso clínico o entrevista de su elección.

Proceda de la siguiente manera:

- Enfoque la cámara de su teléfono móvil del tipo *Smartphone* (u otro dispositivo de mano con cámara y GPRS) al Código Respuesta Rápida (CRR) impreso en los informes, obtenga una foto de él o simplemente aguarde unos segundos.
 - El sistema lo llevará automáticamente a la página del artículo en www.siicsalud.com.
 - El CRR de Salud(i)Ciencia también puede ser leído, con un resultado similar, por las cámaras de su computadora portátil o la PC de escritorio.
 - Para facilitar el desempeño de su equipo utilice los programas gratuitos de lectura del CRR (**QR-code**, de acuerdo con las siglas del nombre en inglés) en <http://tinyurl.com/yzlh2tc>.
- Para conocer otras aplicaciones sin cargo consulte <http://tinyurl.com/2bw7fn3> o <http://tinyurl.com/3ysr3me>.