

I - 4

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE DIVERSOS REACTIVOS COMO CANDIDATOS PARA SU USO EN UN SISTEMA DE DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE DENGUE

Olguín Jiménez Araceli,¹ García Jiménez Sara,² Paniagua Solís Jorge F,¹ Silva Zolezzi Irma.³¹Laboratorios Silanes S.A de C.V.; ²Facultad de Farmacia, Universidad Autónoma del Estado de Morelos; ³Instituto Nacional de Medicina Genómica.**Palabras clave:** dengue, diagnóstico, arbovirus.

Introducción: El dengue es una arbovirosis, transmitida principalmente por un vector que es el mosquito *Aedes aegypti*. Existen cuatro serotipos del virus, los cuales son endémicos en regiones tropicales y son de importancia en salud pública ya que cada año se reportan cientos y miles de casos. En muchas áreas, varios serotipos del virus cocirculan provocando epidemias sucesivas debido a que la protección cruzada entre serotipos es de muy corta duración.¹ El virus del dengue pertenece a la familia *Flaviviridae*, el genoma codifica tres proteínas estructurales, Core C, premembrana (prM) y envoltura E y codifica también para siete proteínas no estructurales NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b y NS5.² Los virus son organismos intracelulares obligados y por lo tanto requieren células vivas en las cuales puedan replicarse. Existe una gran variedad de métodos y sistemas empleados para el aislamiento viral partiendo de muestras clínicas. Para el caso del dengue, el método confirmatorio es el aislamiento del virus a partir de suero,³ se inocula la línea celular y se observan los efectos citopáticos específicos para el virus que implican su replicación, la presencia del virus se pone de manifiesto a partir de algún método inmunológico. Tecnologías más recientes permiten poner de manifiesto la presencia de virus por medio de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) que identifica el genoma del virus. Sin embargo, estas tecnologías requieren infraestructura compleja que la mayoría de los laboratorios clínicos no tienen instalada y por lo que se han desarrollado sistemas que involucran anticuerpos monoclonales y/o antígenos que pueden ser integrados a tecnologías clásicas de identificación serológica⁴ lo que ampliaría la capacidad de cobertura para los sistemas de Salud Pública.

Objetivo: Identificar y/o caracterizar a través de análisis inmunológico diferentes reactivos como candidatos para su uso en un sistema de diagnóstico serológico de dengue.

Metodología: Se proponen dos estrategias para la obtención de reactivos que puedan ser incorporados a metodologías para el diagnóstico serológico de la presencia del virus. La primera es la identificación y caracterización inmunológica de antígenos

recombinantes y derivados de cultivo viral *in vitro*. La segunda estrategia será obtener fracciones de la proteína por medio del método de predicción de péptidos o epítomos a través de sistemas computacionales.

Resultados: El análisis inmunológico de los nueve antígenos obtenidos se llevó a cabo mediante la técnica de Western blot. Las bandas que reaccionaron predominantemente con las muestras utilizadas corresponden a proteínas de 37, 54 y 70 KDa. Los antígenos que discriminan entre muestras negativas y positivas son: Core-2, DEN-1 y DEN-2. Para determinar la utilidad de los antígenos en el diagnóstico de dengue en fase aguda se analizó su reactividad con muestras de pacientes IgM⁺, sólo el antígeno Core-2 reaccionó positivamente con estas muestras, mientras que el resto de los reactivos presentaron reactividad cruzada con muestras negativas. Los antígenos que reaccionaron específicamente con muestras IgG⁺ fueron el DEN-1, DEN-3 y Core-2. En el caso de la predicción de epítomos los resultados obtenidos del análisis de la proteína E de los cuatro serotipos del virus se encontraron varios epítomos que son específicos para cada serotipo incluso en regiones compartidas, mediante el uso de las estructuras cristalográficas se pudo corroborar la ubicación de los epítomos predichos con los programas computacionales disponibles.

Conclusión: Es necesario determinar el límite de detección y la especificidad de los antígenos acuerdo con su serotipo mediante un análisis más detallado para su selección. Por medio de estas tecnologías se pueden predecir con mucha certeza distintos determinantes antígenicos que pueden tener múltiples aplicaciones como en diagnóstico, terapéutica e investigación.

REFERENCIAS

1. Gubler DJ. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 480-496.
2. Rigau-Perez JG, et al. Dengue and dengue haemorrhagic fever. *Lancet* 1998; 352: 971-977.
3. Guzmán MG, Kouri G. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996; 3: 621-627.
4. Thanh Nah T, et al. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 1-27.

