

Cambios en la temperatura de desnaturalización (Tm) en la detección y cuantificación del virus de Epstein-Barr utilizando PCR en tiempo real

Parra-Ortega I, López-Martínez B, Sánchez-Huerta JL,
Vilchis-Ordóñez A, Barrera-Dávila L

Laboratorio Clínico, Hospital Infantil de México.
Federico Gómez.

S6

Introducción: El virus de Epstein-Barr (VEB) está asociado con enfermedades benignas y malignas. La carga viral del VEB no solamente nos sirve para detectar una infección activa, sino también como marcador tumoral de ciertas formas malignas. En los pacientes inmunocomprometidos está relacionado con el síndrome linfoproliferativo postrasplante (SLPT) y la incidencia se encuentra en el orden de 1 a 20%. Se recomienda la determinación de la carga viral del VEB en sangre total y plasma para dar seguimiento a los pacientes en riesgo de padecer el SLPT, para lo cual se utiliza como herramienta la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real. En estas determinaciones la temperatura de desnaturalización (Tm) juega un papel relevante, ya que cambios en la Tm sugieren que la secuencia blanco ha sufrido mutaciones, aunque las regiones seleccionadas para la detección y cuantificación del VEB son altamente conservadas. **Material y métodos:** Se analizaron de forma prospectiva 116 pacientes pediátricos, a los cuales se les realizó la investigación del virus de Epstein-Barr (VEB) en sangre periférica y plasma por medio de PCR en tiempo real. Para la extracción de ADN se utilizó el equipo MagNA Pure Compac®; para la detección y cuantificación del

VEB se amplificó un fragmento de 166 pb del genoma utilizando un diseño de la compañía TIBMOL Biol y el equipo LightCycler®, con una temperatura específica de desnaturalización (Tm) de 68 °C. En todos los casos se siguieron las instrucciones del fabricante. **Resultados:** De los 116 pacientes estudiados, en 59 (51%) se detectó la presencia de VEB y se cuantificó la carga viral. En 3 (5%) de los pacientes positivos, se identificó un cambio de la Tm, de 57.4° y 61.5°. Este comportamiento también se observó en muestras subsecuentes de los pacientes. Por medio de un corrimiento electroforético, en gel de agarosa, se comprobó que el amplificado obtenido corresponde al fragmento de 166 pb. **Conclusiones:** Con el corrimiento electroforético se obtiene el producto específico y el tamaño del amplificado no sufre variaciones, por lo cual pensamos que existe una gran probabilidad de disminución en la concentración de Guanina-Citocina en la secuencia blanco, ya que la Tm sufrió una disminución de 10.6° en uno de los casos y 7.5° en los otros dos, con respecto a la TM esperada. Se requiere la secuenciación de los amplificados para determinar con precisión la causa de disminución en la Tm.