

**Título: BÚSQUEDA DE DETERMINANTES DE VIRULENCIA EN EL GENOMA DEL VIRUS DENGUE Y SU POTENCIAL CONTRIBUCIÓN A LA PATOGÉNESIS DEL DENGUE GRAVE DURANTE LAS DOS ÚLTIMAS EPIDEMIAS EN COLOMBIA**

**DESCRIPCIÓN**

**Convocatoria No. 657-2014**

**Entidad:** INSTITUTO NACIONAL DE SALUD - I.N.S.

**Grupo de Investigación:** COL0024507 - Grupo de Virología INS

**Investigador Principal:** José Aldemar Usme Ciro

**Resumen Ejecutivo:** El dengue es la enfermedad viral transmitida por artrópodos más importante en países tropicales y subtropicales. Se estima que en el mundo ocurren alrededor de 390 millones de infecciones cada año, de las cuales entre 50 y 100 millones cursan con manifestaciones clínicas. En Colombia, la re-emergencia del dengue ocurrió a principios de los años 1970's y desde entonces se ha observado un incremento en la incidencia, aparición de formas graves y un incremento en la letalidad por dengue grave. Aunque múltiples factores determinan el desenlace clínico de la enfermedad, el virus es reconocido como un importante componente de la patogénesis. Estudios de epidemiología molecular permitieron tener las primeras evidencias del papel del genotipo viral en la severidad de la enfermedad. Posteriormente, estudios in vitro e in vivo han permitido corroborar las diferencias entre cepas de diferentes genotipos en características tales como las tasas de replicación viral y la virulencia. A pesar de las múltiples evidencias, los determinantes de virulencia en el genoma de los diferentes serotipos del virus dengue aún no han sido plenamente caracterizados.

En este estudio se propone la caracterización in vitro y secuenciación de cepas de virus dengue aisladas de pacientes cuya clasificación final ajustada en el SIVIGILA haya sido de dengue sin signos de alarma, dengue grave ó mortalidad por dengue, durante el período 2010-2014. Se seleccionarán dos grupos. En el primer grupo se incluirán 40 sueros (10 de cada serotipo) de pacientes cuya clasificación final haya sido "dengue sin signos de alarma". El segundo grupo incluirá 40 sueros (10 de cada serotipo) de pacientes cuya clasificación haya sido "dengue grave" ó "mortalidad por dengue". Luego del aislamiento en células de mosquito C6/36, cada sobrenadante será titulado mediante ensayo de placa y RT-PCR en tiempo real. Posteriormente, se realizarán curvas de crecimiento de un paso tanto en células de mosquito como en células de mamífero (Vero). Los genomas de aquellas cepas que presenten diferencias en sus curvas de crecimiento, así como el de aquellas cepas provenientes de pacientes con los diferentes cuadros de la enfermedad, serán obtenidos mediante secuenciación de última generación (NGS). Los resultados obtenidos in vitro, tales como curvas de crecimiento, fenotipo de placa y tasas de replicación, así como el análisis in silico de los genomas virales secuenciados nos permitirá identificar potenciales marcadores genéticos que se correlacionen con diferencias in vitro y con diferencias en el desenlace clínico de la

enfermedad. Dichos determinantes genéticos de virulencia, al ser implementados en la vigilancia virológica del dengue, nos permitirán predecir el impacto de las cepas circulantes o aquellas que eventualmente sean importadas y se convierten por ende en marcadores pronósticos al nivel poblacional, del potencial patogénico de los virus circulantes.