

BREVE RESUMEN DEL PROYECTO

TÍTULO:

Detección y caracterización simultánea de los virus de Dengue, Zika y Chikungunya mediante el método de secuenciación basado en tecnología Nanopore

Investigadores Responsables: Dra Patricia Baré - Dr Federico Di Lello

Colaboradores: Dra Valeria De Giorgi

Dra Graciela Carballo

Dra Sonia Espíndola

Lic M Javier Pereson

Dr Harvey J Alter

- LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR- IIHEMA- PATOGENIA DE INFECCIONES VIRALES-IMEX
- Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Instituto de Investigaciones en Bacteriología y Virología Molecular (IBaViM). Buenos Aires, Argentina
- National Institutes of Health - Department of Transfusion Medicine, Clinical Center, National Institutes of Health, Bethesda, MD
- Laboratorio CEBAC, Posadas, Misiones

En los últimos años, la aparición de nuevos brotes de arbovirus como los del virus de Zika (ZIKV) y chikungunya (CHIKV), sumados a los ya endémicos como el virus del dengue (DENV), representan un reto para los sistemas de salud en la región de las Américas. Este desafío se debe a la complejidad que se requiere para la mejora del diagnóstico clínico y de laboratorio, de la vigilancia epidemiológica y del control de las poblaciones de mosquitos, para prevenir la transmisión de enfermedades y evitar consecuencias graves en la población.

Debido a las manifestaciones clínicas iniciales similares, las áreas de prevalencia superpuestas y el riesgo creciente de coinfección en seres humanos, el diagnóstico diferencial oportuno y preciso es importante para el manejo clínico y la investigación epidemiológica. El desarrollo de herramientas con aplicaciones clínicas y de investigación contribuye a generar nuevos conocimientos para el control y prevención de epidemias provocadas por estos virus.

Este proyecto surge de la colaboración, con la Dra. Valeria De Giorgi, Enfermedades Infecciosas del Departamento de Medicina transfusional de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos (*NIH- USA- Laboratorio del Dr Harvey Alter*), que desarrolló la técnica de diagnóstico basada en la secuenciación de próxima generación (NGS, Oxford Nanopore technologies) para los tres arbovirus de importancia epidemiológica en nuestra región (DENV, ZIKV y CHIKV) (*Baumann R et al, 2021; Baumann R et al, 2022*).

OBJETIVO GENERAL: El objetivo del presente proyecto es evaluar y validar la técnica de secuenciación por NGS mediante la tecnología Nanopore para la detección, identificación y caracterización simultánea de DENV, ZIKV y CHIKV.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar la sensibilidad, especificidad y reproducibilidad de la técnica de diagnóstico multiviral en muestras de la región.
- Analizar la utilidad de la técnica en nuestro entorno epidemiológico.
- Determinar el riesgo de transmisión de DENV, ZIKV y CHIKV mediante la detección de ácidos nucleicos de los tres arbovirus en bancos de sangre.

- Realizar un análisis evolutivo (filogenético y de coalescencia) a fin de describir el origen y dispersión de estos virus en nuestro país.

Muestras a utilizar y diseño del estudio

El estudio se realizará sobre 400 sueros de archivo, pertenecientes a los 3 últimos grandes brotes de DENV en el país, 2016, 2020, 2023. Se analizarán también muestras de banco de sangre de Argentina, Bolivia y Paraguay que arrojen resultados positivos por PCR a tiempo real. Dado el reciente brote de CHIKV, se analizarán también 100 muestras CHIKV (+) de 2023.

Muestras de Bancos de Sangre: Este estudio forma parte de un proyecto colaborativo con la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires y varios homocentros de Argentina, Paraguay y Bolivia. El mismo contempla el análisis de 6000 muestras de donantes de sangre (2000 por país), tomadas durante el período de elevada circulación viral del año 2023. Las muestras que se obtuvieron de los bancos de sangre fueron remitidas al laboratorio de la ANM por el investigador responsable de tal proyecto: **Dr Federico Di Lello**. El estudio cuenta con la aprobación del Comité de Bioética de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires (EX-2021-06386245-E-UBA-DME#SSA_FFYB) que contó con el aval firmado por todos los centros participantes.

IMPORTANCIA POTENCIAL DEL PROYECTO A DESARROLLAR:

Impacto de la exposición simultánea a arbovirus en la infección y transmisión por mosquitos *Aedes aegypti*: La reemergencia de CHIKV y ZIKV en las Américas amplió su distribución (Mayer S. V., 2017) aumentando la posibilidad de que las personas se infecten con más de un virus transmitido por *Aedes aegypti* a la vez. Numerosos trabajos recientes han indicado que, en la naturaleza, los seres humanos y los mosquitos pueden infectarse con múltiples arbovirus con más frecuencia de lo que se creía anteriormente (Carrillo-Hernández MY, et al, 2018) Desafortunadamente, la medida en que los virus que coinfectan interfieren o se sinergizan entre sí *in vivo*, no se conoce todavía. La información clínica es limitada y, muy probablemente, las coinfecciones estén subdiagnosticadas. *Ruckert C y cols* han demostrado la existencia de triple infección y transmisión de CHIKV, DENV-2 y ZIKV. Si bien la exposición a los tres virus simultáneamente es extremadamente infrecuente, sus resultados confirman que un solo mosquito puede transmitir múltiples arbovirus durante un solo episodio de alimentación. Por lo tanto, luego de esta primera etapa de evaluación y validación de la técnica, el trabajo futuro tendrá como objetivo identificar las coinfecciones y comprender el efecto de la existencia simultánea de estos arbovirus en la patogénesis de la enfermedad.

-
1. Baumann R; Zhou H, Henning A, Baré P, De Giorgi, V. Microarray-based Multiplexing Platform for Detecting and Serotyping Dengue Virus Infection. Transfusion. Published Sep 2021.
 2. Baumann R; Zhou H, Henning A, Baré P, De Giorgi, V. Next Generation Sequencing Methods for Simultaneous Detection of Chikungunya, Dengue, and Zika Viruses. Dept of Transfusion Medicine, Clinical Center, National Institute of Health, Bethesda, MD. IIHEMA, IMEX, CONICET, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires, Argentina. Abstract aprobado AABB
 3. Carrillo-Hernández MY, Ruiz-Saenz J, Villamizar LJ, Gómez-Rangel SY, Martínez-Gutierrez M. Co-circulation and simultaneous co-infection of dengue, chikungunya, and zika viruses in patients with febrile syndrome at the Colombian-Venezuelan border. BMC Infect Dis. 2018 Jan 30;18(1):61.
 4. Ruckert C, Weger-Lucarelli J, Garcia-Luna SM et al. Impact of simultaneous exposure to arboviruses on infection and transmission by *Aedes aegypti* mosquitoes. Nat. Commun., 8 (2017), p. 15412