CARACTERIZACIÓN DE UN NUEVO ENTEROVIRUS HUMANO EN PANAMÁ

Jean Paul Carrera[1], Mattew B. Rogers[3], Adam Fitch[3], Jay V. DePasse[3], Yamilka Díaz[1], Davis Beltran[1], Scott C. Weaver[2], Nikos Vasilakis[2], Néstor Sosa[1], Robert B. Tesh[2] y Elodie Ghedin[3]

[1]Departamento de Investigación en Virología y Biotecnología, Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Panamá; [2]Institute for Human Infection and Immunity, Deparment of Pathology, The University of Texas Medical Branch, Galveston TX, USA; [3]Center for Vaccine Research, University of Pittsburgh School of Medicine, Pitt, PA, USA .

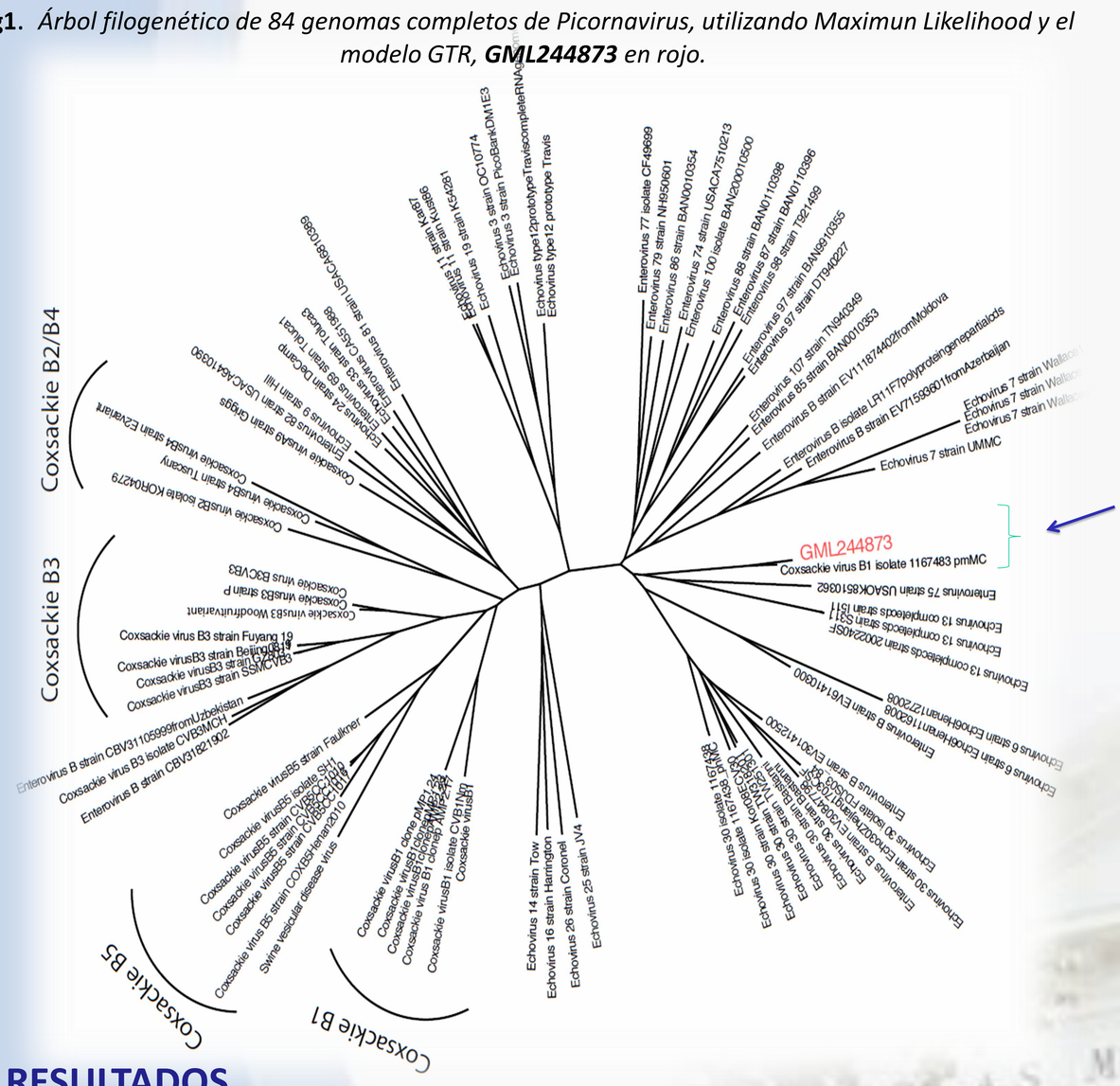
INTRODUCCIÓN

Los enterovirus (*Picornaviridae*) incluyen alrededor de 70 serotipos patógenos para los humanos, sin embargo, la información de los serotipos que circulan en Panamá hasta la fecha es escasa. En el 2009, una paciente de 45 años de la provincia de Coclé acudió a un centro de atención primaria, con pródromos de un día de evolución de: fiebre, escalofríos, cefalea, dolor retroorbital, mialgias y artralgias.

METODOLOGÍA

A partir de una muestra de sangre de la paciente se intentó el aislamiento viral. Además se realizó RT-PCR para dengue y otros Arbovirus, resultando negativos. Luego con el propósito de identificar el agente etiológico, se realizó un estudio de microscopia electrónica (ME) al intento de aislamiento en células de hámster (BHK) (fig. 3). El material genético del virus fue extraído y el cDNA fue sintetizado utilizando SISPA Random priming. El genoma completo se generó en HiSeq2000 (Illumina) y el corte máximo fue estimado en 7297 pb. El alineamiento múltiple se realizó utilizando 84 y 40 genomas completos de *Picornavirus, en MUSCLE. Los árboles filogenéticos fueron generados en PhyML empleando el modelo de sustitución GTR y distribución gamma*

Fig1. *Árbol filogenético de 84 genomas completos de Picornavirus, utilizando Maximun Likelihood y el modelo GTR,* ***GML244873*** *en rojo.*



RESULTADOS

Se obtuvo el aislamiento de un virus designado como **GML244873**. La ME reveló que este virus posee una simetría pleomórfica de aproximadamente 300 nm de diámetro (Fig.3). El virus se identifico como un Picornavirus utilizando BLAST. El análisis filogenético mostró que **GML244873** no se agrupa con los virus Coxsackie, pero su vecino más cercano es un virus anotado como **Coxsackie B1-1167438_pmMC** (Fig 1,2). **GML244873** presenta un 98 % de identidad con la cepa **Coxsackie B1 1167438_pmMC** al nivel de proteínas, y ambas cepas son claramente distintas del resto de las cepas de Coxsackie B1.

FINANCIAMIENTO

Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación, Panamá (SENACYT), proyecto: **60-4-FID09-103**

CONCLUSIONES

A pesar **GML244873** está estrechamente relacionada con la cepa **Coxsackie B1 1167438_pmMC**, ambas son claramente distintas de los Coxsackie B. Nuestros resultados indican que las cepas **GML244873** y **Coxsackie B1 1167438_pmMC**, no pertenecen al grupo de los Coxsackies, sino más bien a un nuevo linaje de los enterovirus. No está claro de donde **Coxsackie B11167483_pmMC** fue aislado originalmente. Sin embargo, nuestros resultados sugieren que **Coxsackie B11167483_pmMC** se agrupó de manera incorrecta dentro del grupo de los Coxakie B. Por otra parte, aunque nuestros datos de secuencias indican que **GML244873** es un nuevo enterovirus (20-30 nm), las imágenes de ME, muestran viriones tipo *Paramixovirus* (≥ 150 nm), nosotros creemos que la paciente fue infectada por más de un virus al mismo tiempo. Sin embargo, hasta el momento no esta claro cual de los dos virus produjo la enfermedad, por lo que otros estudios de secuencias y patogénesis viral deben llevarse a cabo para esclarecer cual de los virus causó la enfermedad febril.

Fig2. *Árbol filogenético de 40 genomas completos de Picornavirus, utilizando Maximun Likelihood y el modelo de distribución Gamma,* ***GML244873*** *en rojo.*

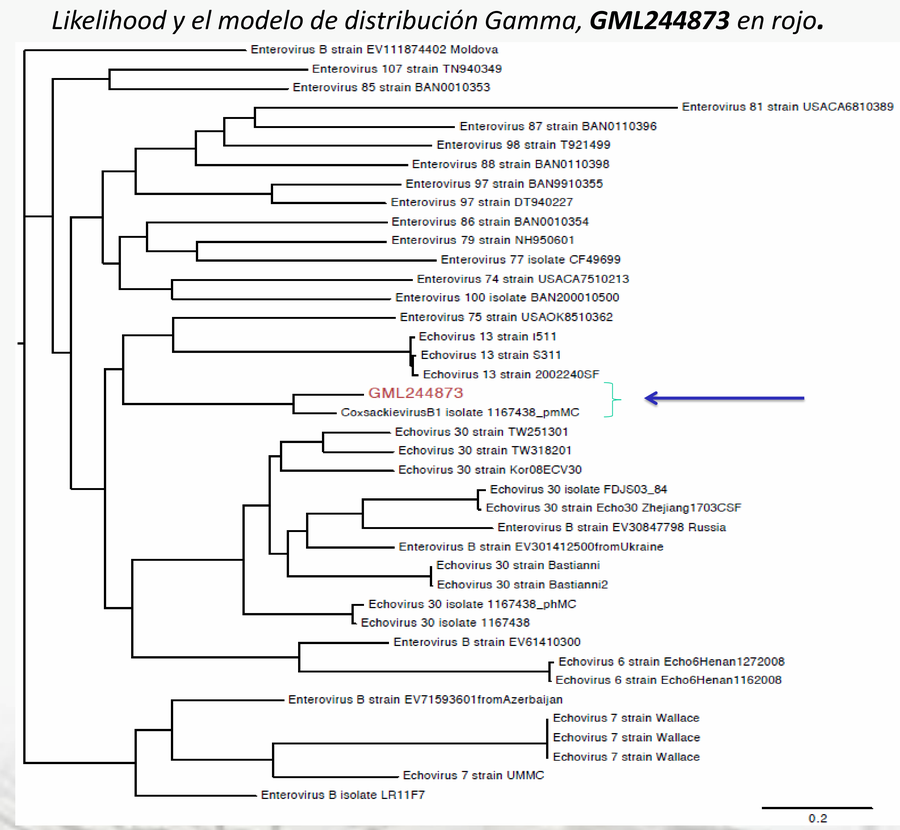
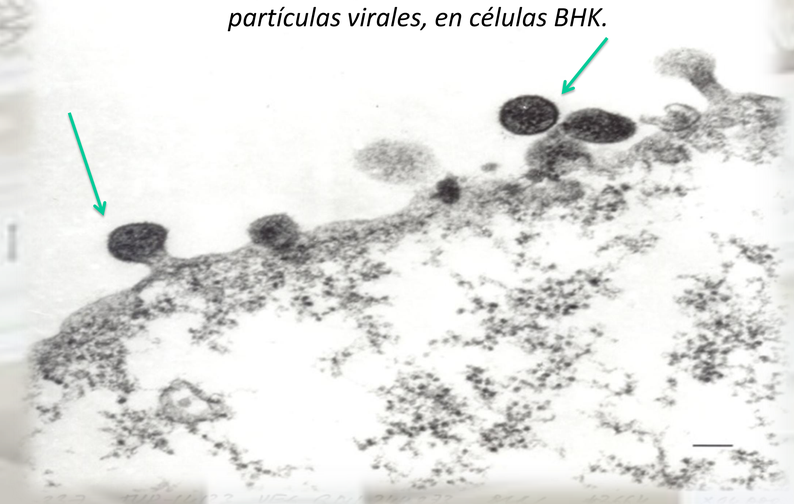


Fig3. ***GML 244873****: Micrografía electrónica, liberación de partículas virales, en células BHK.*



BIBLIOGRAFÍA

- D A., R. H, et al. 2008. "Viral genome sequencing by random priming methods." BMC Genomics **9**: 5.
- E, R. C. 2004. "MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput." Nucleic Acids Res **32**(5): 1792-1797.
- GS. and O. G 2003. "A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood." Syst Biol **52**(5): 696-704.