

embargo, se aisló influenza B/Sichuan en el mes de febrero de 2004.

La mayor actividad se presentó para adenovirus (ADV) en los meses de enero 2004 18% (69 /377) y en mayo 14,7% (29/197).

En el caso de parainfluenza (PIV) la mayor circulación del virus fue en el mes de noviembre 13% (21/160).

Para el virus sincicial respiratorio (RSV) se inicia un incremento de la circulación en el mes de febrero 18% (49/275), en marzo 24,8% (69/278), en abril continua el incremento 25% (79/315) y se mantiene con un promedio de 20% hasta el mes de agosto. Coincidiendo el pico de actividad con la epidemia de virus sincicial respiratorio que se presentó en Chile entre marzo y abril de 2004.

ENERO 2005

En la primera semana epidemiológica (2-8 de enero 2005), los resultados son los siguientes: influenza A 38% (13/34) tipificada una muestra como A/H1, influenza B 2,9% (1/34), adenovirus 35% (12/34), sincicial respiratorio 5,8% (2/34), negativos (8/34).

Segunda semana epidemiológica (9-15 de enero 2005), la actividad viral fue como sigue: influenza A 32% (17/53), tipificada una muestra como influenza A/H3, influenza B 1,9% (1/53), adenovirus 3,77% (2/53), virus sincicial respiratorio 1,9% (1/53), negativos (30/53).

Se consideran muestras negativas a las que presentan infecciones pasadas y las muestras en las que no se detecta presencia de virus.

SECUENCIAMIENTO GENÉTICO DEL VIRUS DENGUE 3, CIRCULANTE EN UCAYALI EN EL AÑO 2004

Omar Cáceres¹, Enrique Mamani¹, Ricardo Iwasaki¹, Victoria Gutiérrez¹, María García¹, Miguel Cobos¹

A partir de la semana epidemiológica N° 37 del año 2004 se ha reportado un incremento de casos de dengue clásico en la ciudad de Pucallpa, Ucayali, entre ellos, algunos con sintomatología de dengue hemorrágico (DHF).

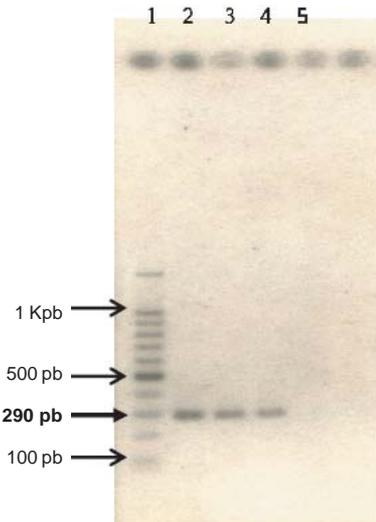
El diagnóstico virológico determinó la circulación del virus dengue serotipo 3 en dicha ciudad.

Dos muestras de suero en fase aguda de pacientes afectados con dengue hemorrágico pertenecientes a un grupo de muestras (UCA-933 y UCA-919), correspondiente a la semana epidemiológica N° 44, fueron seleccionadas con el objetivo de determinar el genotipo circulante del virus dengue serotipo 3.

A partir del ARN viral extraído de suero, una región del gen C/PrM del virus fue amplificado utilizando las técnicas de transcripción reversa y PCR (RT-PCR) con primers reportados por Lanciotti *et al.* (1992). Luego, usando el producto amplificado se realizó la técnica de Nested-PCR para reamplificar específicamente una región de 290 pb.

Esta región es propia del virus dengue serotipo 3 (figura 1).

¹ Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud.



Carril 1: Marcador de Peso molecular 100pb, **Carril 2:** UCA-933, **Carril 3:** UCA-919, **Carril 4:** Aislamiento H287 dengue 3 (control +), **Carril 5:** Control sistema

Figura 1. Amplificación por Nested-PCR de la región C/PrM de 290 pb del virus Dengue 3.

Los productos de amplificación de 290 pb de cada muestra fueron aplicados a columnas de purificación, posteriormente se realizó la reacción de secuenciamiento por duplicado, finalmente los productos de la reacción fueron nuevamente purificados y colocados en el

secuenciador automático *ALFexpress* (Amersham Biosciences).

El análisis de las secuencias obtenidas fue realizado utilizando los siguientes paquetes bioinformáticos:

BLASTn (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) y Fasta (<http://www.ebi.ac.uk>). Para determinar el genotipo del virus y analizar la identidad u homología de las secuencias obtenidas frente a las secuencias informadas en el *GenBank*.

Por otro lado el programa *ClustalW* versión 1,82 fue usado para realizar el alineamiento de las secuencias y determinar la probable filogenia del virus dengue 3 encontrado en Pucallpa.

En el análisis de las secuencias se determinó que la muestra UCA-933 tiene 99,2% de homología con la secuencia de Sullana, Piura, del año 2002 (reportado en un brote de dengue hemorrágico). Del mismo modo, la muestra UCA-919 tiene 98,5% de homología frente a la misma secuencia de Sullana, Piura.

Tanto UCA-933 como UCA-919 tienen elevada homología con las secuencias reportadas de dengue 3 aisladas en Brasil 2002, Martinica 1999-2000 (Indias Francesas Occidentales) y Guatemala 1996-1998 (tabla 1).

Tabla 1. Homología de las muestras de Ucayali frente a los 10 primeros reportes del GenBank.

Secuencia reportada (País)	UCA 933		Secuencia reportada (País)	UCA 919	
	Identidad (%)	Año Aislamiento		Identidad (%)	Año Aislamiento
Sullana - Perú 6682-01 (Perú)	99.248	2001	Sullana - Perú 6682-01 (Perú)	98.513	2001
D3/H1MTSSA-MART/1999/1243 (Martinica)	98.507	1999	D3/H1MTSSA-MART/1999/1243 (Martinica)	98.141	1999
Br7488602 (Brasil)	98.507	2002	Br7488602 (Brasil)	98.141	2002
D3/H1MTSSA-MART/2000/1567 (Martinica)	98.507	2000	D3/H1MTSSA-MART/2000/1567 (Martinica)	98.141	2000
D3/H1MTSSA-MART/2000/1706 (Martinica)	98.507	2000	D3/H1MTSSA-MART/2000/1706 (Martinica)	98.141	2000
Guate 98-1 (Guatemala)	98.507	1998	Guate 96-2 (Guatemala)	98.141	1996
Guate 97-3 (Guatemala)	98.507	1997	Guate 98-2 (Guatemala)	98.141	1998
Guate 97-4 (Guatemala)	98.507	1997	Guate 96-1 (Guatemala)	98.141	1996
Guate 97-2 (Guatemala)	98.507	1997	Guate 96-3 (Guatemala)	98.141	1996
Guate 96-3 (Guatemala)	98.507	1996	Guate 98-1 (Guatemala)	98.141	1998

Del análisis de alineamiento y comparación entre las secuencias obtenidas con las de Sullana, Martinica y Brasil se llega a la conclusión que en Pucallpa circula el virus Dengue 3 Genotipo III (también conocido como genotipo asiático) tal como sucede también en estos países.

El análisis filogenético utilizando el método de Neighbor-Joining confirmó que existe una cercanía evolutiva entre los serotipos circulantes en Perú comparado con los virus de Brasil y Martinica. Además se encontró que UCA-919 presenta mayor cercanía evolutiva con Sullana-Piura que UCA-933.

Esta evidencia significa que el virus dengue 3 genotipo III que circula en Pucallpa está relacionado evolutivamente con el virus del mismo genotipo de Sullana particularmente UCA-919, por lo que existe una elevada probabilidad que el virus de Pucallpa tendría su origen en el virus que circula en Sullana. Pero también se observa que este genotipo está cambiando haciéndose más autóctono y diferenciándose de los demás genotipos como ocurre con UCA-933, por lo que se puede especular que este genotipo de Pucallpa podría formar un nuevo cluster filogenético probablemente con nuevas propiedades en su virulencia y trasmisión (figura 2).

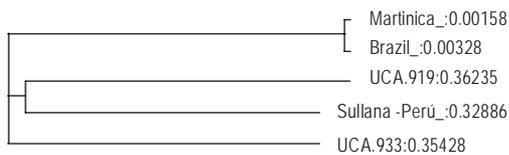


Figura 2. Árbol filogenético generado utilizando el método de Neighbor-Joining entre las secuencias de la región C/PrM del virus dengue 3 de Pucallpa y las secuencias homólogas de Brasil, Martinica y Sullana-Perú.

Se sugiere realizar un estudio más exhaustivo con un número representativo de muestras de esta región así como de áreas fronterizas para determinar con mayor exactitud la existencia de un nuevo cluster filogenético así como analizar la dispersión de este genotipo.

EVALUACIÓN RÁPIDA DE LA ETIOLOGÍA DEL SÍNDROME FEBRIL EN LIMA-CALLAO

Yvonne Torres de Yon¹, Manuel Espinoza¹

Según la Oficina General de Epidemiología (OGE) durante el año 2004 a nivel nacional se presentaron 59 850 casos de infecciones respiratorias agudas, de ellas, 835 casos se presentaron como neumonía, de esta forma grave de infección respiratoria 635 (76%) fallecieron.

En este mismo período, el Laboratorio de Virus Respiratorios del Instituto Nacional de Salud (INS) procesó 2375 muestras, procedentes de 17 direcciones de salud del país. Las muestras correspondieron a hisopados nasales y faríngeos y a 25 muestras séricas. En primer lugar las muestras de los hisopados naso-faríngeos fueron tamizadas por la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), sólo

Tabla 1. Distribución de la etiología viral en infecciones respiratorias agudas, en muestras que resultaron positivas, INS - Perú 2004.

Tipo de virus respiratorio	TOTAL	%
Influenza A	457	31,7
Influenza B	144	10,0
Adenovirus	261	18,1
Virus parainfluenza	147	10,1
Virus sincicial respiratorio	435	30,1
Total	1444	100,0

¹ Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud.