

## Recomendaciones

1. Fortalecer las actividades de vigilancia epidemiológica en la captación de febriles, llenado de ficha clínico-epidemiológica y toma de muestra.
2. Realizar el segundo ciclo de fumigación según el esquema establecido y realizar una evaluación entomológica de adultos post intervención, al finalizar los ciclos de tratamiento espacial.
3. Recuperar las viviendas cerradas en el menor tiempo posible utilizando una brigada de "recuperación de viviendas" (hay renuencia del 30%)
4. Ejecutar el plan integral de prevención y control del dengue acordado.

## CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DEL VIRUS DE LA FIEBRE AMARILLA PROVENIENTE DE UN BROTE ICTEROHEMORRÁGICO EN UNA COMUNIDAD NATIVA DEL DISTRITO DE IMAZA, AMAZONAS, 2005

Carlos Yábar<sup>1</sup> Enrique Mamani<sup>2</sup>

La fiebre amarilla (FA) sigue siendo una enfermedad de importancia en salud pública en el mundo a pesar de la existencia de una vacuna eficaz (WHO, 2005). En Sudamérica, el Perú fue uno de los países que registró el mayor número de casos de FA durante el 2004 (WHO, 2005), contando con zonas endémicas que se extienden desde la selva norte hacia la selva central. Recientemente, en diciembre de 2005 la Dirección de Salud (DISA) de Bagua tomó conocimiento de un brote icterohemorrágico en la comunidad de la etnia awajun localizada en Alto Tuntus, distrito de Imaza, Amazonas, informándose además de tres casos de muerte. Para lograr el acceso

a esta comunidad localizada a 700 msnm no existe ninguna carretera de referencia, razón por la cual es necesario realizar el viaje a pie siguiendo una trocha, viaje que toma un tiempo de siete días desde la localidad de Imaza; o bien por helicóptero desde la base militar "El Valor" en Bagua, lo cual demora aproximadamente 45 minutos.

Es importante mencionar que entre las características epidemiológicas más importantes de este brote se encontraron las siguientes: alta morbilidad (25 %), alto índice de pacientes menores de 15 años entre los fallecidos (15 %), epidemia concentrada en una comunidad indígena sin antecedentes de haber tenido contacto con el virus de la FA (VFA) y ausencia de epizootias en la zona. Con el fin de conocer las características genéticas del virus y determinar su similitud con otras especies de VFA de Perú, se realizó el análisis genético del VFA proveniente de una muestra clínica de un paciente afectado durante el brote.

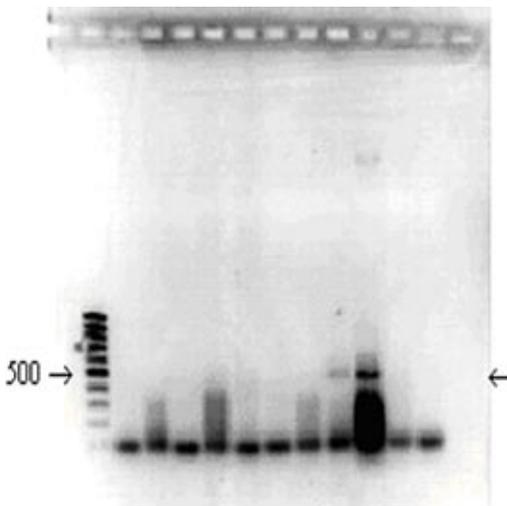
La muestra clínica correspondió a una biopsia de hígado extraída *post mórtem*. El diagnóstico clínico del paciente reveló que se trataba de un síndrome icterohemorrágico agudo, mientras que el diagnóstico serológico confirmó la presencia de anticuerpos IgM contra el VFA mediante ELISA de captura.

Una vez obtenido el diagnóstico clínico y de laboratorio del paciente, se procedió a la caracterización genética del virus mediante transcripción reversa – reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) y secuenciamiento automático de ADN.

En el primer caso, la muestra de hígado fue sometida a tratamientos de lisis celular, lo cual permitió la liberación del ARN total. Seguidamente el ARN fue lavado con soluciones de lavado, precipitado con isopropanol y resus-

<sup>1</sup> Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular, Laboratorio de Microbiología y Biomedicina. Instituto Nacional de Salud.

<sup>2</sup> Laboratorio de Arbovirus, Laboratorio de Microbiología y Biomedicina. Instituto Nacional de Salud.



**Figura 1.** Electroforesis de productos de amplificación de una región de 480 pb del gen de la envoltura del VFA de muestras provenientes del brote icterohemorrágico ocurrido en Bagua, Amazonas, en diciembre de 2005. Carril 1: Marcador de peso molecular. Carriles de 2 al 7: Pacientes 001, 012, 016, 020, 021 y 022, sospechosos de FA. Carril 8: Líquido ascítico de paciente 020. Carril 9: Hígado de paciente 020. Carril 10: Cepa vacunal VFA 17D. Carril 11: Sujeto sano. Carril 12: Control de contaminación. La flecha de la derecha indica la banda de 500 pb del marcador de peso molecular. La flecha de la izquierda señala la banda de diagnóstico de 480 pb.

pendido con agua libre de nucleasas. El ARN puro permitió la síntesis de ADN complementario (ADNc) mediante el ensayo de transcripción reversa. El ADNc fue utilizado posteriormente para la amplificación por PCR de una región de 900 pb correspondiente a las regiones C-prM-E y un fragmento de 480 pb perteneciente al gen E.

Los productos de amplificación fueron separados por electroforesis y luego visualizados con tinción con bromuro de etidio e irradiación con luz ultravioleta. Paralelamente se consideraron controles de positividad de PCR mediante el uso de cultivo viral de fiebre amarilla correspondiente a la cepa vacunal 17D.

Finalmente, para la caracterización genética de las regiones amplificadas, los productos de PCR fueron purificados y sometidos a reacción de secuenciamiento automático. Para tal efecto, se alinearon las secuencias genéticas mediante el programa *Clustalw* versión 1.83 y se diseñó un árbol filogenético mediante el método de distancias *Neighbour Joining* usando el programa *Mega* versión 3.1.

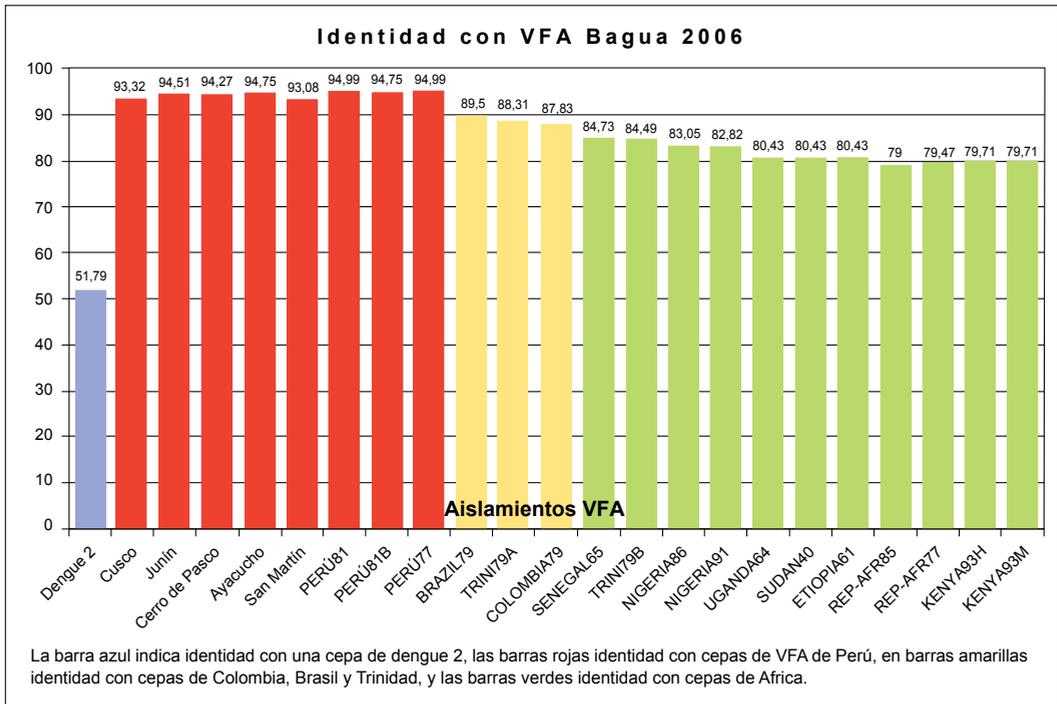
## Resultados

De acuerdo con los resultados de PCR se observaron las bandas esperadas de 900 y 480 pb (Ver figura 1, gen de la envoltura) siendo el tamaño similar al observado en los controles de positividad de la cepa de referencia 17D. Asimismo, ningún producto de amplificación fue observado en los controles de contaminación.

Los datos de análisis de secuencia genética revelaron por su parte una alta homología de una región de aproximadamente 100 pb del gen prM con secuencias de fiebre amarilla de referencia de acuerdo a los datos del programa *Blast* del Centro Nacional de Información de Biotecnología (NCBI por sus siglas en inglés).

De otro lado, los datos de alineación de 419 nucleótidos del gen de la envoltura del VFA revelaron una alta homología entre el virus de Bagua y diferentes aislamientos peruanos reportados previamente (1) con valores que fluctuaron entre 93% y 95% de identidad.

Asimismo, se comparó la identidad con otras cepas de referencia de Sudamérica y el Caribe como Colombia, Trinidad y Brasil con las cuales se encontró una identidad de 88% y 90% respectivamente. Estos valores de homología disminuyeron cuando el VFA de Bagua fue comparado con otras cepas de referencia provenientes de África hallándose una identidad entre 79% y 85%. Al comparar la secuencia de VFA de Bagua con un flavivirus relacionado, en este caso una cepa del virus dengue, se encontró una identidad aún menor de 52%.



**Figura 2.** Porcentaje de identidad de nucleótidos de 419 pb del gen de la envoltura del VFA proveniente del brote de Bagua frente a otros aislamientos de referencia de fiebre amarilla.

En el círculo ( ) de la figura 3 se resalta el VFA proveniente del brote de Bagua. El árbol filogenético fue construido usando el programa Mega versión 3.1 usando el método de *Neighbor Joining* bajo el modelo matemático de Jukes and Cantor y un *bootstrap* de 1000 réplicas.

Con respecto al análisis filogenético, se observó una estrecha relación filogenética entre todos los aislamientos peruanos de VFA. En el caso del VFA de Bagua se observó una alta relación filogenética con un aislamiento proveniente de San Martín del año 1999. También se observaron subgrupos filogenéticos entre otros aislamientos peruanos del VFA, principalmente, entre aquellos reportados en zonas epidémicas cercanas.

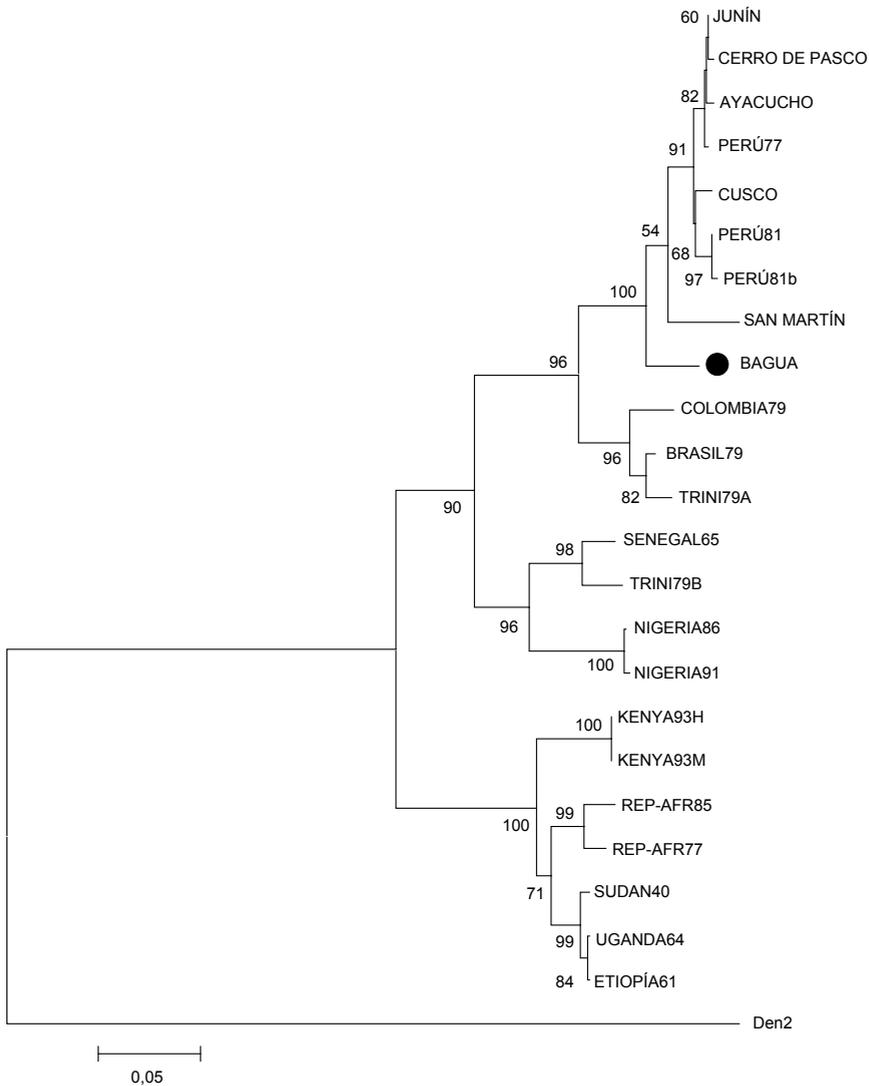
El análisis general con otras cepas de FA de América y África reveló la presencia de dos grandes linajes genéticos conformados por

aislamientos de América y de África denominados genotipo I y genotipo II. De acuerdo con los datos encontrados la cepa de Bagua correspondió al genotipo IA al igual que todas las de Sudamérica.

### Discusión y conclusiones

Los datos de homología de los genes estructurales confirman que el agente etiológico causante del síndrome icterohemorrágico en el poblado Aguaruna del Alto Tuntús corresponde al VFA. La homología a nivel de la secuencia del gen de la envoltura se encuentra en el rango encontrado previamente entre aislamientos de San Martín, Ayacucho, Junín, Cerro de Pasco y Cusco (1).

Del mismo modo, el análisis filogenético demostró que este agente fue adquirido en el mismo



**Figura 3.** Análisis filogenético de aislamientos del virus de la fiebre amarilla (VFA) a partir de 419 pb del gen de la envoltura.

territorio peruano, por introducción del hombre en el ciclo selvático del virus. La alta identidad con aislamientos peruanos sin importar el tiempo en que fueron aislados sugiere que el modo de transmisión del VFA en el Perú sigue siendo enzoótica tal como fue reportado recientemente (2) sin evidencias de la introducción de un nuevo genotipo de VFA en territorio peruano

hasta la actualidad. Aunque es sabido que el ciclo selvático del virus ocurre frecuentemente, entre mosquitos y primates no humanos (3), no se tiene muy claro cuál podría ser el posible reservorio vertebrado en este brote debido a la ausencia de monos en la zona intervenida (comunicación personal, equipo de intervención de brotes, INS).

En la actualidad se viene realizando la colecta de vectores artrópodos, así como también de sujetos que tuvieron contacto con la población afectada a fin de realizar la búsqueda del agente etiológico, establecer la prevalencia de la enfermedad, realizar el aislamiento virológico e incrementar los estudios moleculares e inmunológicos.

### Referencias bibliográficas

1. World Organization Health. The yellow fever situation in Africa and South America in 2004. *Weekly Epidemiological Record*. 2005, 80 (29): 249 – 56
2. Yábar C, Campos Y, Quispe K, Carrillo C, Montoya Y. Análisis genético del virus peruano de la fiebre amarilla. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* 2002, 19 (1): 28-34.
3. Bryant J, Wang H, Cabezas C, Ramirez G, Watts D, Russell K, Barrett A. Enzootic transmission of yellow fever virus in Peru. *Emerg Infect Dis*. 2003 Aug;9(8):926-33.
4. Organización Panamericana de la Salud. Control de la fiebre amarilla. Guía Práctica. Publicación Científica y Técnica No. 603. pp. 64. 2005

### Agradecimientos

Los autores agradecen a la T.M. Paquita García por su colaboración con las pruebas serológicas. Al Blgo. Carlos Padilla por su apoyo técnico en el secuenciamiento del gen prM. Al Dr. Manuel Espinoza y al Blgo. Rafael Tapia por participar en la intervención en la zona del brote. Asimismo, agradecemos al Blgo. Enrique Purisaca M. por su colaboración en la coordinación del Laboratorio de Referencia de Bagua y a la Blga. Gisely Hijar por su apoyo logístico durante el desarrollo del estudio.

## REUNIÓN TÉCNICA DE EVALUACIÓN DE LA RED DESCENTRALIZADA PARA EL MONITOREO LABORATORIAL DE LA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL (TARGA) EN PERSONAS VIVIENDO CON VIH SIDA

Patricia Caballero Ñ.<sup>1</sup>

La terapia antirretroviral en los pacientes con VIH SIDA es de por vida, lo cual establece una diferencia con otras enfermedades transmisibles, y su manejo irregular puede ocasionar a la generación de resistencia del virus a los medicamentos antirretrovirales. Esta última condición ocasiona el deterioro del paciente, falla o fracaso a la terapia, utilización de esquemas terapéuticos de mayor costo y poco accesibles, mayor gasto en hospitalización y la muerte de la persona afectada.

La decisión del Ministerio de Salud de iniciar el programa de terapia antirretroviral, fue tomada considerando fuentes propias y externas. De este modo ha sido factible adquirir los medicamentos, pruebas de laboratorio, algunos equipos y entrenar el recurso humano en el manejo de los pacientes. El Ministerio de Salud tiene también una contraparte de inversión en este programa y, dentro de esto, se encuentra también el aporte del Instituto Nacional de Salud, el cual implementó un sistema descentralizado en abril del año 2004, luego de adquirir destreza suficiente en los dos años previos atendiendo al primer grupo de niños afectados con el VIH SIDA con las pruebas de monitoreo. En este sistema el objetivo principal fue **Implementar una Red de Laboratorios para el monitoreo de la terapia antirretroviral que utilice técnicas validadas y desarrolladas de acuerdo a los niveles de complejidad, equipamiento de los laboratorios y los recursos disponibles, que fortalezca el acceso nacional de las PVIH a esta terapia y se constituya en un eje importante de integración intersectorial.**

<sup>1</sup> Centro Nacional de Salud Pública. Instituto Nacional de Salud.