



CINÉTICA DE INFECCIÓN DE CÉLULAS C6/36 CON EL VIRUS DEL DENGUE PARA EL ESTUDIO DE LA IMPORTINA β

María Leticia Ávila Ramírez, Juan Santiago Salas Benito

1. Instituto Politécnico Nacional, Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía, México D. F., C.P. 07320.
jsalasb@yahoo.com

Palabras clave: Dengue, MOI, cinética.

Introducción. El dengue es la enfermedad viral transmitida a humanos por vectores más importante a nivel mundial y ha emergido como un problema de salud pública con un significativo impacto económico, político y social (1). El virus del dengue (DENV) presenta 4 serotipos antigénicamente relacionados (DENV1 a DENV4), cada uno de los cuales puede ser transmitido al hombre por mosquitos del género *Aedes*. El genoma de DENV es de RNA de cadena sencilla de polaridad positiva que codifica para una poliproteína, la cual es procesada por proteasas virales y del huésped en 3 proteínas estructurales: la cápside (C), la proteína de membrana (M) y la proteína de envoltura (E); y 7 proteínas no estructurales (NS): NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5 (2). La NS5 es la más conservada entre DENV1-4, lleva a cabo actividades de metiltransferasa y de RNA polimerasa. Tiene señales funcionales de importe y exporte nuclear que media el transporte nucleo-citoplásmico a través de transportadores nucleares celulares específicos como el heterodímero de importina (IMP α / β 1) (3).

El objetivo es realizar una cinética de infección por DENV en células de mosquito usando diferentes multiplicidades de infección (MOI) a lo largo del tiempo para en el futuro correlacionarla con la expresión de la importina β .

Metodología. La cepa del DENV-2 New Guinea C (NGC), donada por el Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE), fue propagada en cerebro de ratón lactante de la cepa Balb/c. Se realizó una infección de células C6/36 (*Ae. albopictus*) con el DENV2 a una MOI de 0.1, 2, y 10 y se recolectó el sobrenadante a 12, 24, 36, 48, 72 y 120 horas post-infección. Con el sobrenadante se llevó a cabo la titulación del virus a través del ensayo de placa lítica en células BHK-21.

Resultados. Se realizó la infección de células C6/36 (Fig. 1), donde se observan cambios morfológicos, agregación celular y formación de sincitios causado por el DENV2. En la titulación viral, sólo a la MOI de 10 se detectan partículas infecciosas a las 12h, mientras que a las 24h se presentan los títulos virales más altos para todas las MOI; a las 36 horas hay una ligera disminución, y a las 48 hay una recuperación. La disminución más notoria se observa las 72 y 120 horas post-infección (Fig. 2).

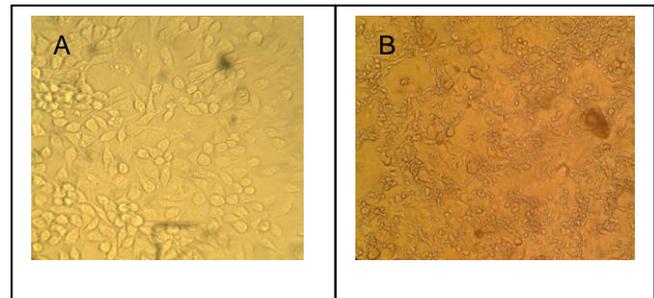


Fig. 1. Microfotografía de luz de células C6/36. A) Células no infectadas. B) Células infectadas con DENV2.

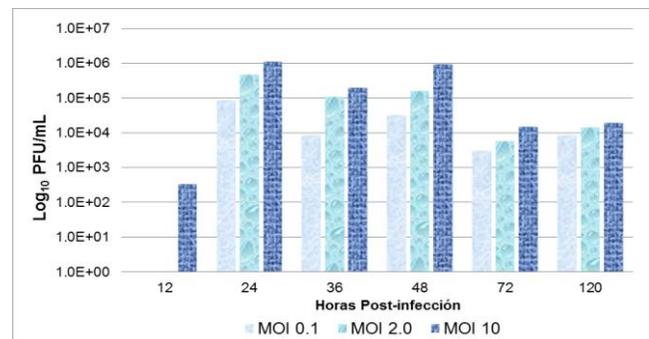


Fig. 2. Titulación del DENV2 en el sobrenadante de células C6/36 infectadas a distintos tiempos y diferentes MOI. Los títulos fueron determinados por triplicado.

Conclusiones. Se obtuvo la cinética de infección donde el título más alto se obtuvo a las 24h y los más bajos a las 72 y 120h post-infección respectivamente. Se continuará con la siguiente metodología.

Agradecimiento. Proyecto SIP-20140955. MLAR becaria BEIFI 2094.

Bibliografía.

- Kyle J, Harris E. (2008). Global spread and persistence of dengue. *Annu Rev Microbiol.* 62: 71-92.
- Kumar A., Bühler S, Selisko B, Davidson A, Mulder K, Canard B. (2013). Nuclear Localization of Dengue Virus Nonstructural Protein 5 Does Not Strictly Correlate with Efficient Viral RNA Replication and Inhibition of Type I Interferon Signaling. *J Virol.* 87(8): 4545-4557
- Tay M.Y.F, Fraser J.E. Chan W.K.K, Moreland N.J, Rathore A.P, Wang C. (2013). Nuclear localization of dengue virus (DENV) 1-4 non-structural protein 5; protection against all 4 DENV serotypes by the inhibitor Ivermectin. *Antiviral Res.* 99: 301-306.