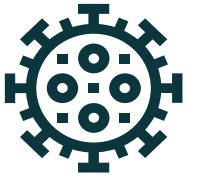


# Revisión bibliográfica sobre los virus Zika, Dengue y Chikungunya y sus métodos de diagnóstico



Presentado por:

NANCY MILENA CORTÉS ÁVILA

Asesora externa:

MÓNICA LOSADA BARRAGÁN, M. Sc. Bioquímica, Ph. D en Ciencias

Asesor interno:

MAURICIO HUMBERTO RODRÍGUEZ PANDURO Biol. Esp



Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

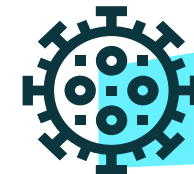
Facultad de Ciencias de la Salud

Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico

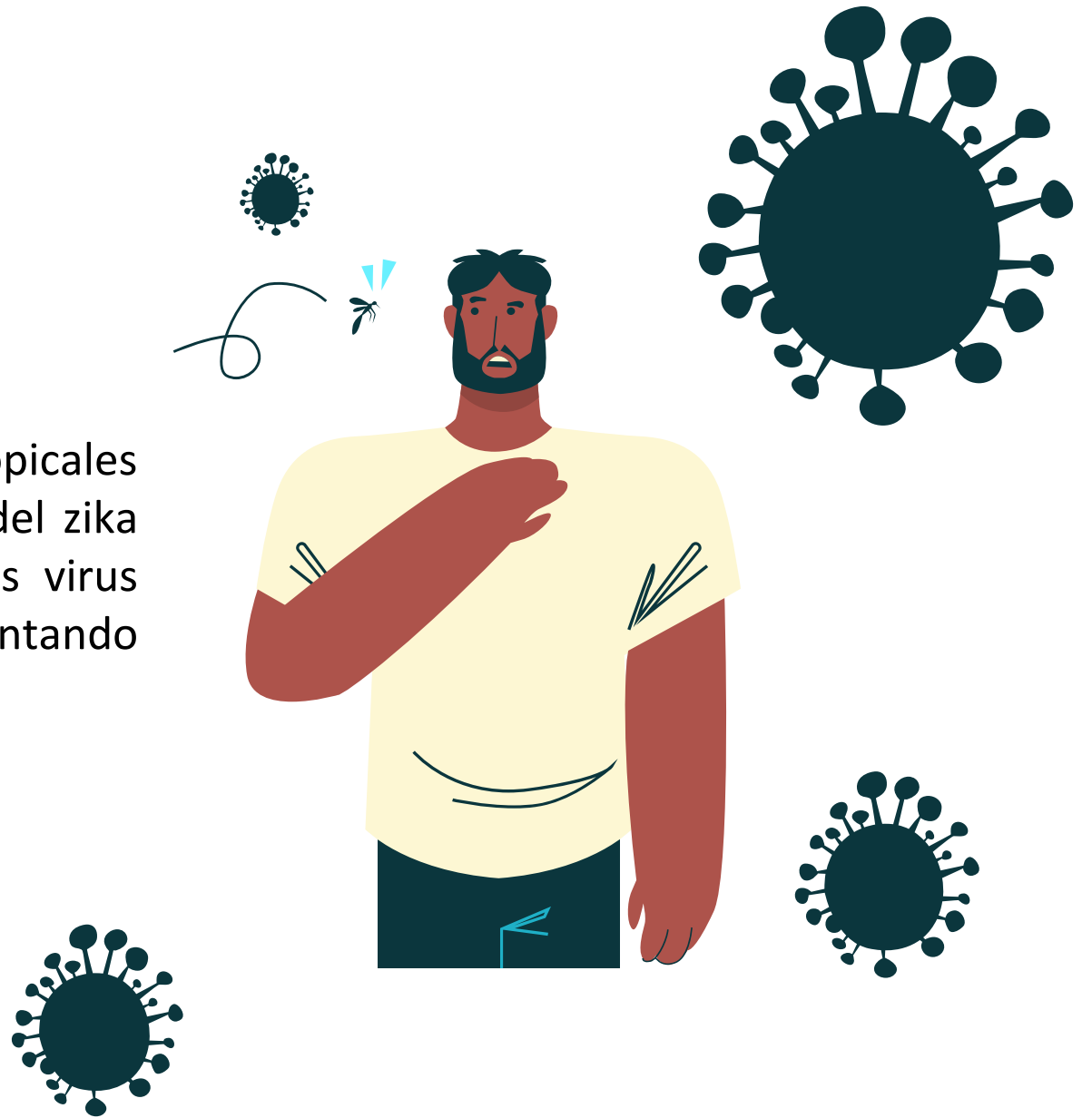
Trabajo de Grado

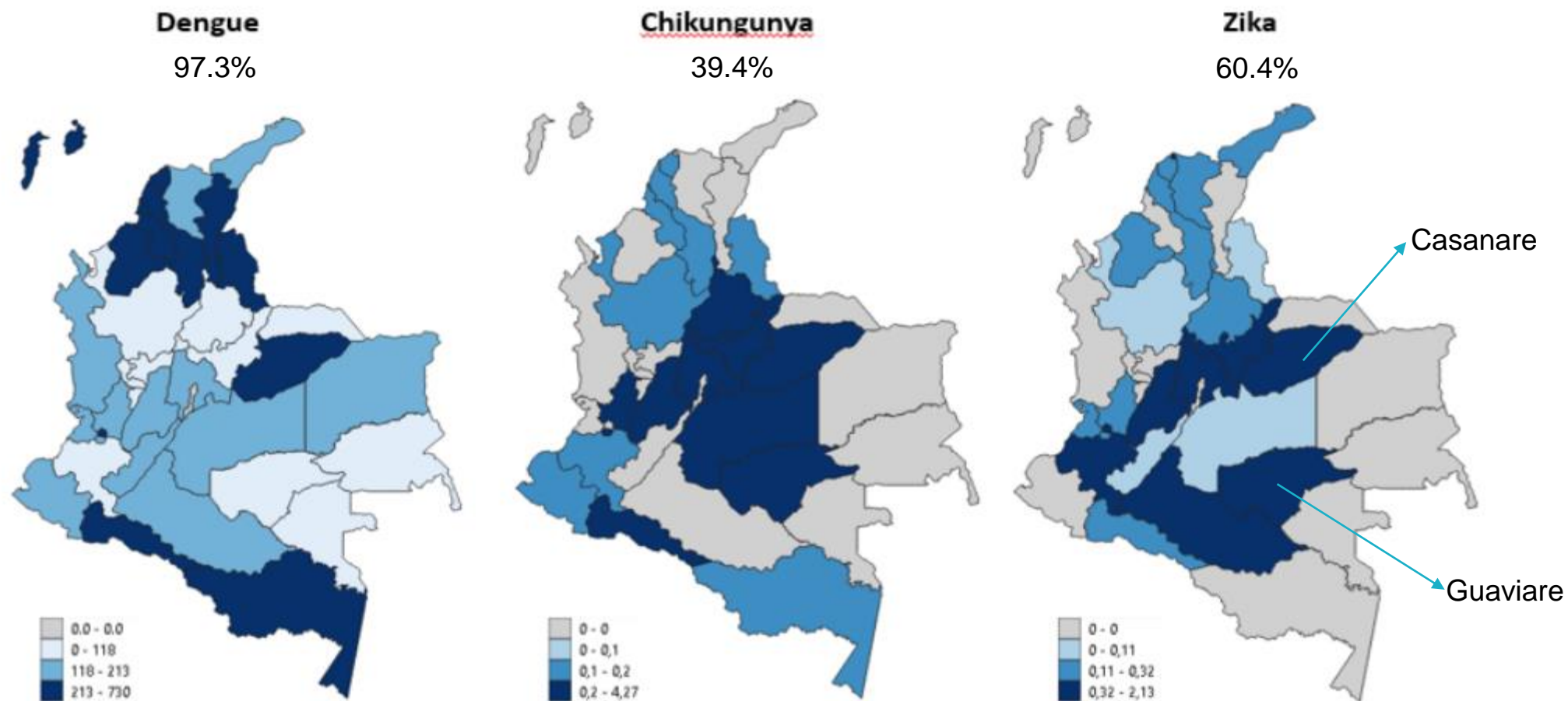
Bogotá D.C

2022-1



El zika, dengue y chikungunya son enfermedades tropicales transmitidas por mosquitos infectados por los virus del zika (ZIKV), dengue (DENV) y chikungunya (CHIKV). Estos virus tienen una amplia distribución en la naturaleza, presentando una estrecha relación con las poblaciones humanas.

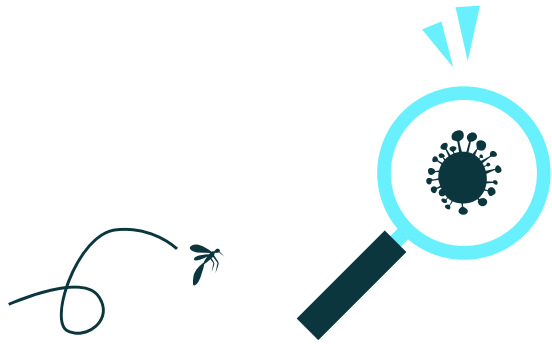




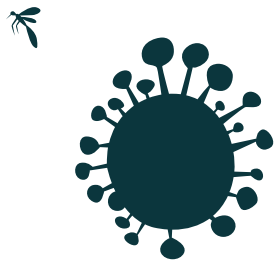
Fuente: Instituto Nacional de Salud - Grupo ETV y Zoonosis.

## Figura 1. Comportamiento epidemiológico de Arbovirus en Colombia, 2021

Tomado de: Semana epidemiológica 12 . 20 al 26 de marzo de 2022 [Internet]. Ins.gov.co. 2022 [citado el 13 de mayo de 2022]. Disponible en: [https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2022\\_Bolet%C3%ADn\\_epidemiologico\\_semana\\_12.pdf](https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2022_Bolet%C3%ADn_epidemiologico_semana_12.pdf)



# Objetivos



## Objetivo general



Realizar una revisión documental sobre los virus Zika, Dengue y Chikungunya y sus métodos inmunológicos y moleculares de diagnóstico en Colombia.

## Objetivos específicos



Presentar una revisión bibliográfica actualizada sobre las generalidades y características de los virus ZIKV, DENV y CHIKV.



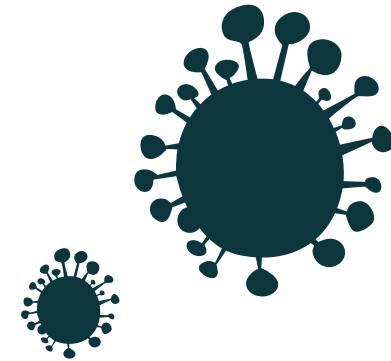
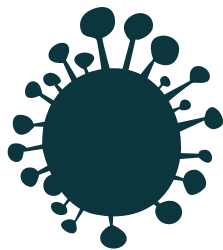
Identificar las técnicas inmunológicas y moleculares de diagnóstico empleadas en cuatro (4) ciudades para la detección de los virus ZIKV, DENV y CHIKV.



Comparar los diferentes métodos de diagnóstico inmunológicos y moleculares para la detección de los virus ZIKV, DENV y CHIKV.



# Antecedentes



# Virus del Zika (ZIKV)



1945



**Descubierto por primera vez**

1953

**Infección humana confirmada por primera vez en Nigeria**

2007

**Primer brote conocido en la isla de Yap**

2014

**Brote en la Polinesia Francesa**

2015

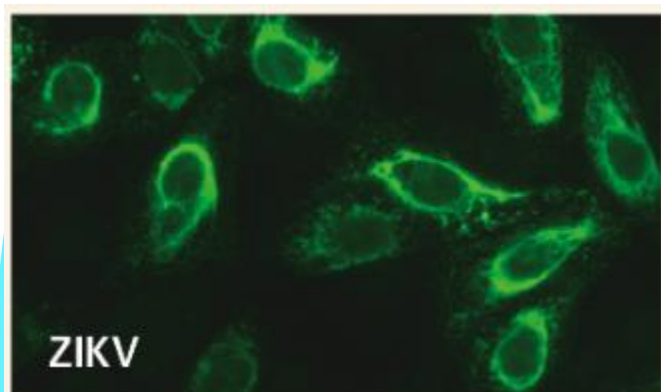
**Didier Musso al.**  
Detección del Virus del Zika en saliva

2016

**OMS declaró una Emergencia de Salud Pública – Brote de síndrome de Guilláin-Barré**

2021

**Uno de los virus más estudiados a nivel mundial**



Recibió poca atención hasta que se informó un aumento en los casos de microcefalia después de un brote de 2015 en Brasil.

# Virus del Dengue (DENV)



1952

**Hotta et al.**

Sangre heparinizada de pacientes a ratones

1998

**Gubler**

Dengue y fiebre hemorrágica del dengue

2000

**Huo-Shu Houng et al**

Detección cuantitativa del virus del dengue serotipo 2 por medio de RT-PCR fluorogénica

2012

**Takanori Hirayama et al.**

Detección del genoma del virus del dengue en orina mediante PCR con transcriptasa inversa en tiempo real

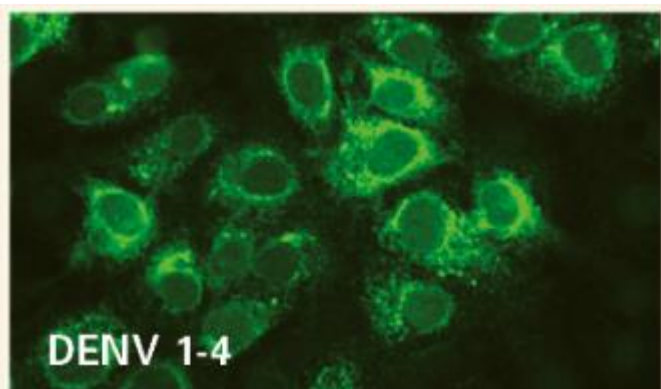
2016

**Daynelis Pardo et al**

Respuesta inmune en la infección por virus del dengue

2020

**Brasil afectado por brote de DENV y pandemia por COVID-19**



Entre marzo y abril se presentan aumento de lluvias, en esta misma época se declaraba la pandemia por COVID-19

# Virus del Chikungunya (CHIKV)



1952

**Descrito por primera vez en Tanzania**



1984

**Brote del virus en Birmania**

Aumento de lluvias y fueron descritas las proteínas estructurales del virus por Simizu et al.

2004

**Marion Sourisseau et al**

Descripción de las características de replicación del virus del Chikungunya

2007

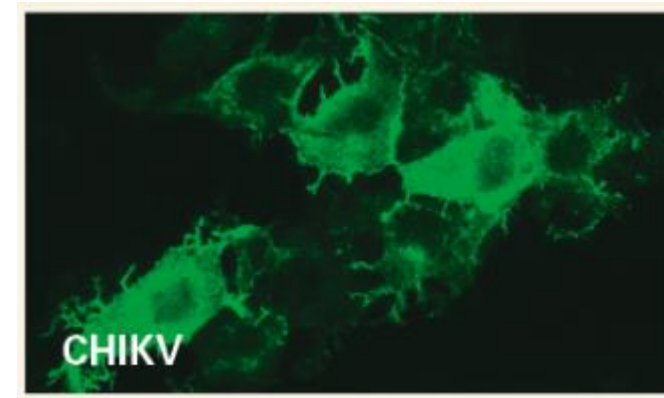
**Primer caso reportado en Europa (Italia)**

Descripción de la caracterización del virus a cargo de Marion Sourisseau et al

2014

**Primer caso reportado en Colombia**

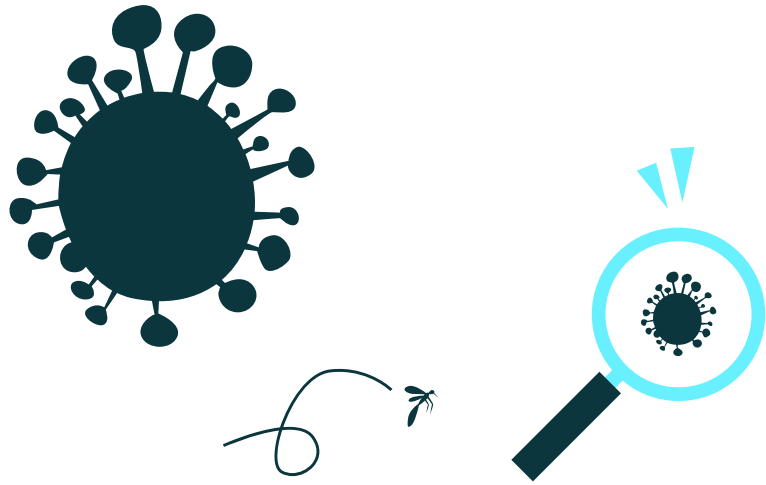
Casos reportados en el pacífico



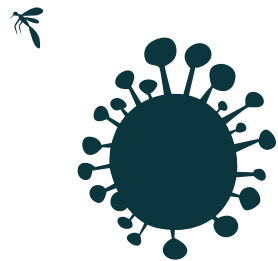
2019

**Brote en India**



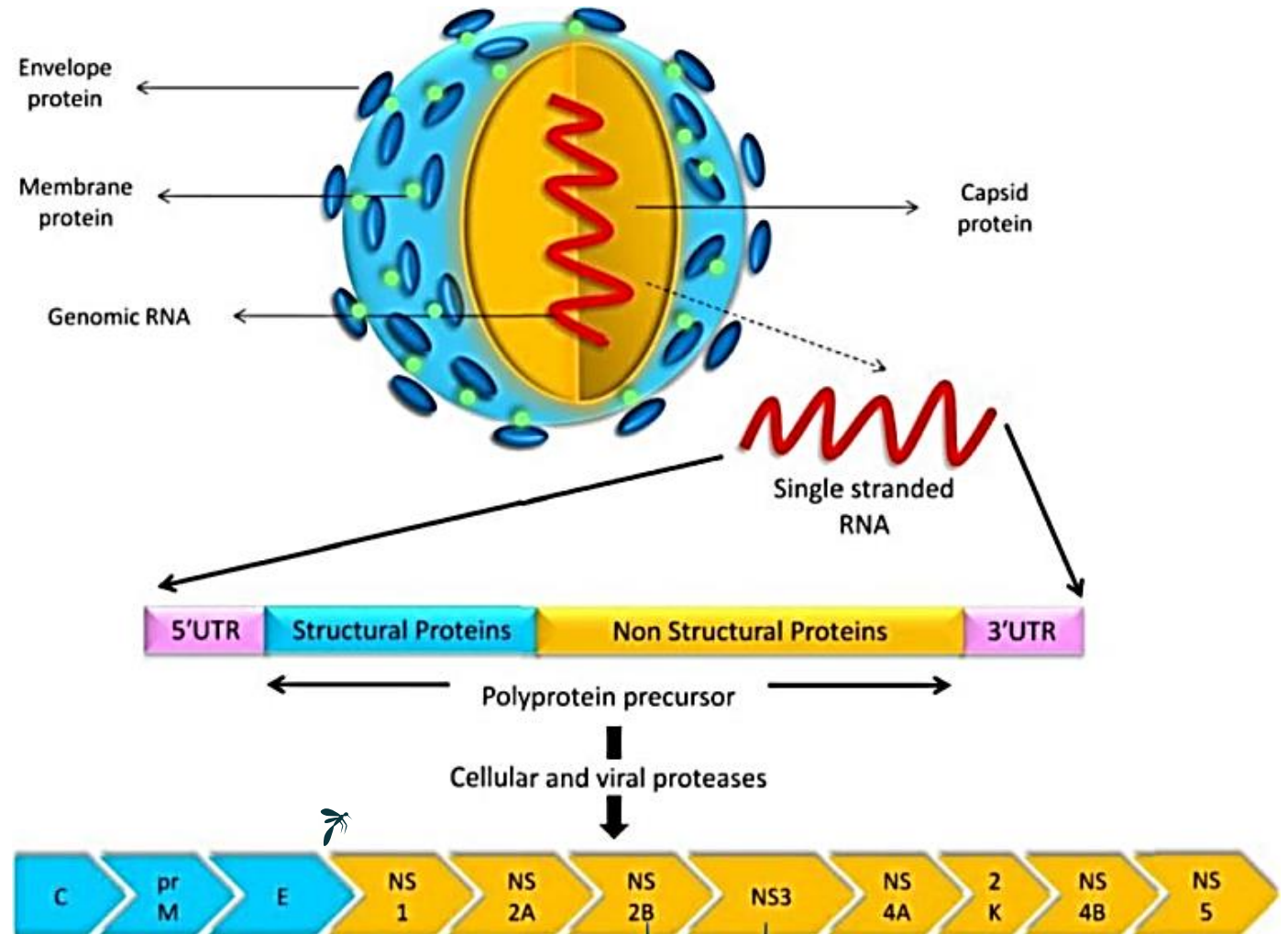


# Marco Teórico



# Virus del Zika (ZIKV)

Familia: *Flaviviridae*  
Género: *Flavivirus*  
Especie: Zika  
Clasificación de Baltimore: IV



3 proteínas estructurales  
7 proteínas no estructurales

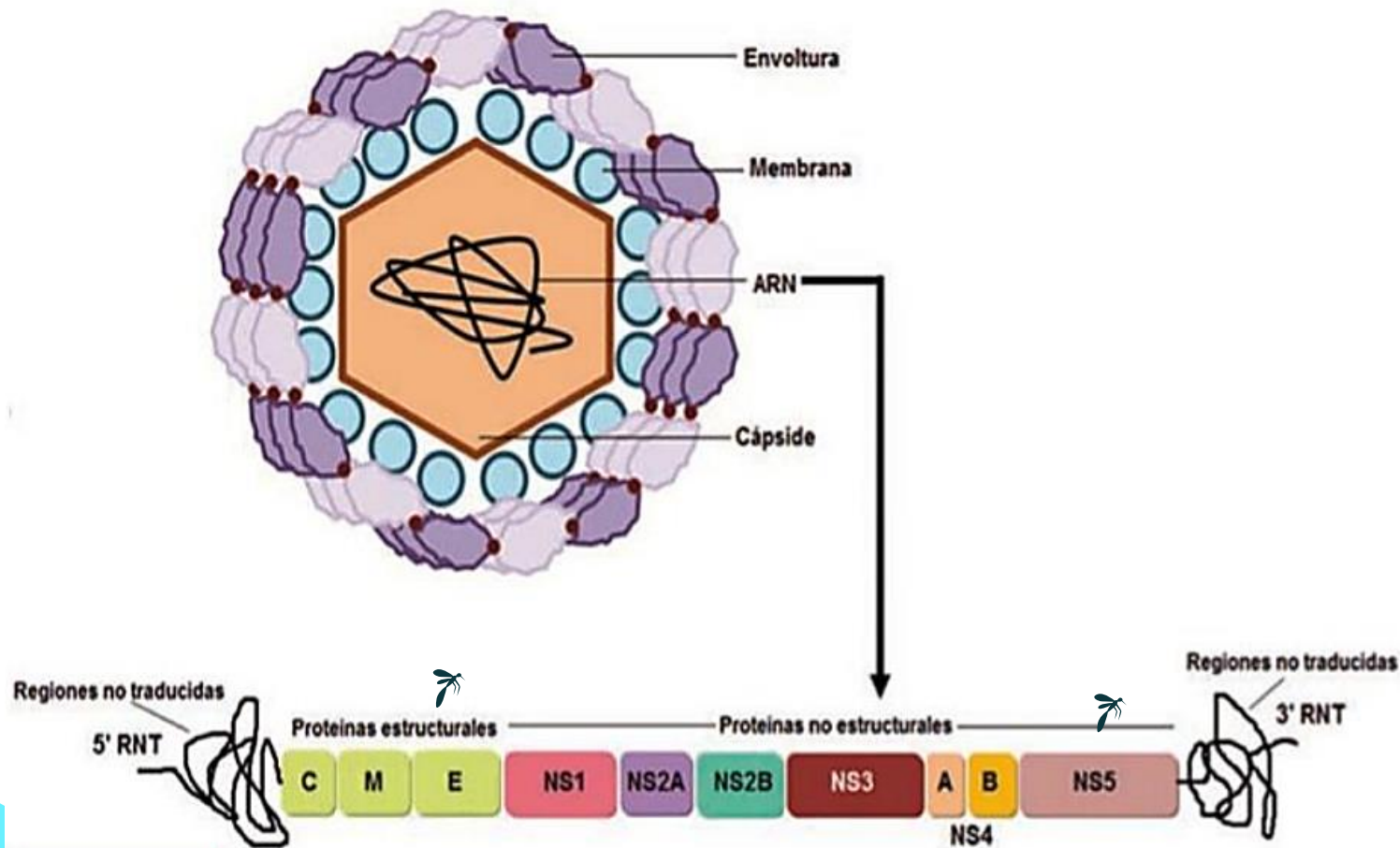


Microcefalia  
Síndrome de Guillain Barré

Figura 2. Genoma del ZIKV

Tomado de: noerasuficientecondengueychiku.pdf [Internet]. [citado 7 de abril de 2021]. Disponible en: [http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portallG/home\\_148/recursos/seminarios/05042016/noerasuficientecondengueychiku.pdf](http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portallG/home_148/recursos/seminarios/05042016/noerasuficientecondengueychiku.pdf)

# Virus del Dengue (DENV)



Familia: *Flaviviridae*  
Género: *Flavivirus*  
Especie: Dengue  
Clasificación de Baltimore: IV



3 proteínas estructurales  
7 proteínas no estructurales



Tiene 4 serotipos  
Dengue clásico – Dengue grave

**Figura 3.** Estructura viral y genoma del DENV

# Virus del Chikungunya (CHIKV)

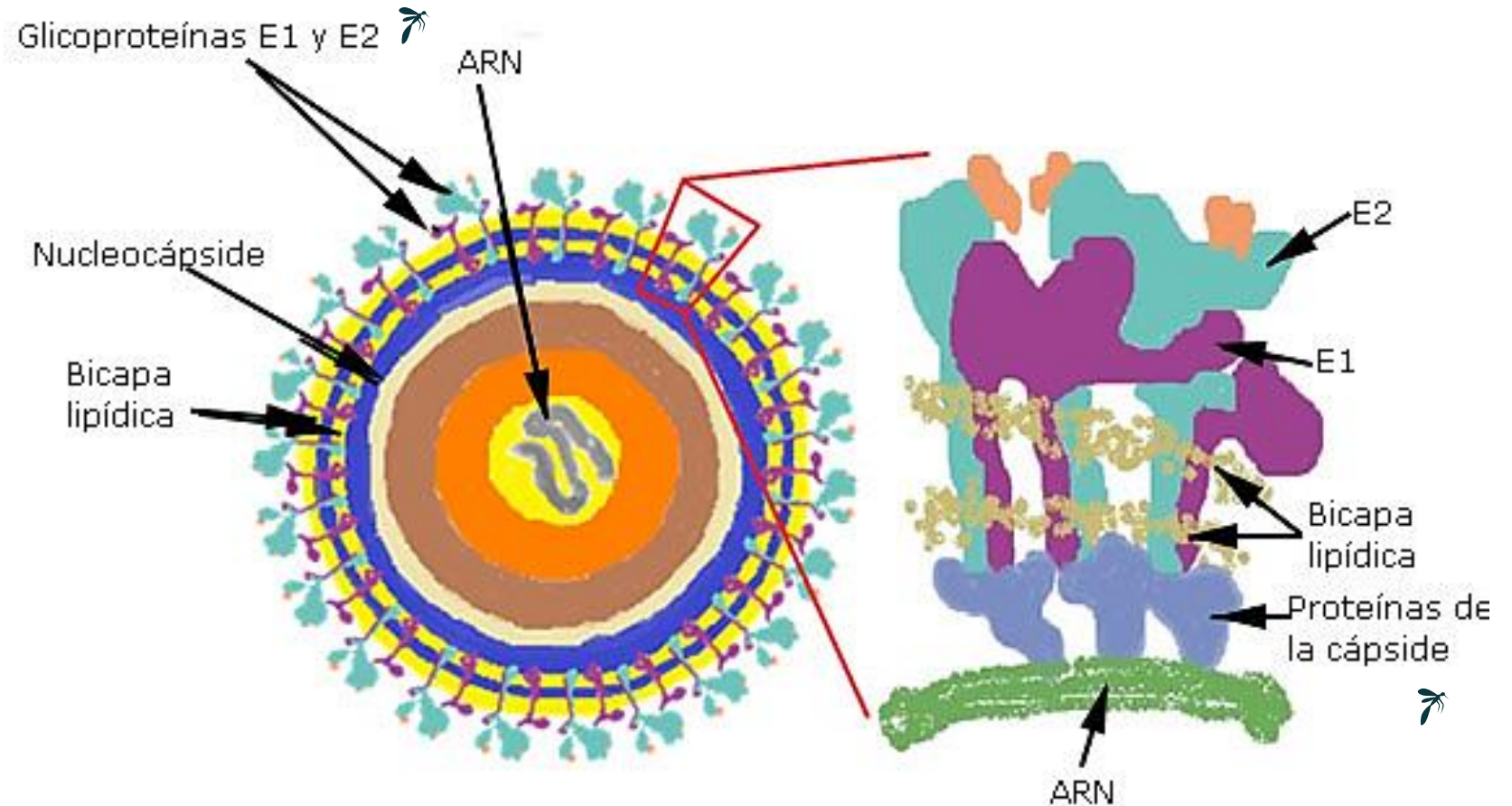
Familia: *Togaviridae*  
Género: *Alphavirus*  
Especie: Chikungunya  
Clasificación de Baltimore: IV



3 proteínas estructurales  
4 proteínas no estructurales



Fiebre del Chikungunya  
Carga viral alta



**Figura 4.** Sección transversal del virus Chikungunya.

Tomado de: med08115.pdf [Internet]. [citado 7 de abril de 2021]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/med/v54n1/med08115.pdf>

# Síntomas



Fotofobia  
Náuseas  
Petequias  
Sangrados  
de mucosas

Fiebre  
Cefalea  
Artralgia  
Mialgia  
Conjuntivitis

Erupción  
cutáneas  
Dolor  
abdominal

Lumbalgia  
Erupción  
cutánea



# Técnicas de diagnóstico



# ELISA



Inmunoensayo de captura sobre fase sólida



Detecta: Anticuerpos, antígenos, proteínas, glicoproteínas



Ac primario y Ac secundario para la detección - Espectrofotómetro

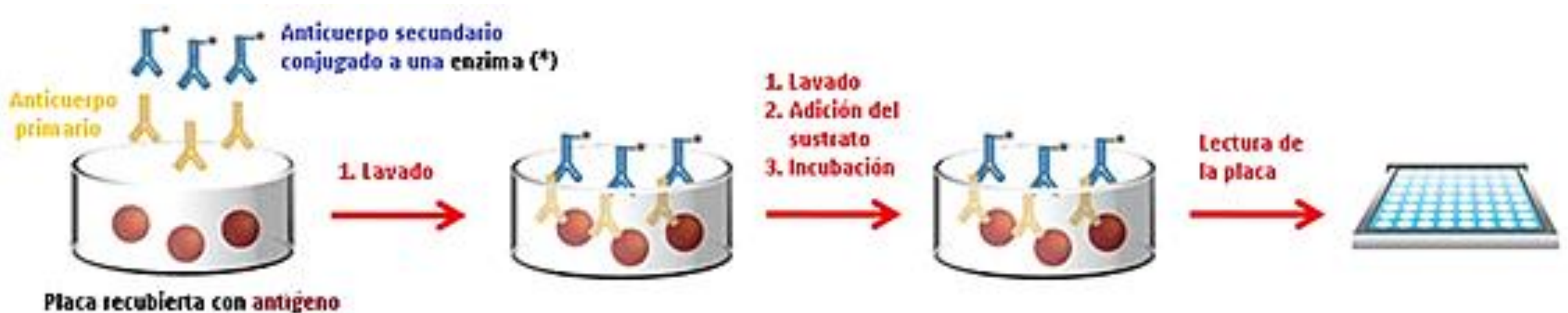


Figura 5. ELISA Indirecta

Tomado de: ELISA: ¿Qué es? ¿En qué consiste? ¿Cuáles son los distintos tipos de este ensayo y en qué se diferencian? [Internet]. AllScience. 2019 [citado el 18 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://www.e-allscience.com/blogs/articulos/elisa-que-es-en-que-consiste-cuales-son-los-distintos-tipos-de-este-ensayo-y-en-que-se-diferencian#:~:text=ELISA%20indirecto%3A&text=En%20este%20m%C3%A9todo%2C%20el%20anticuerpo,una%20amplificaci%C3%B3n%20de%20la%20se%C3%B1al.>

# Inmunofluorescencia indirecta (IFI)



Técnica de interacción Ag-Ac



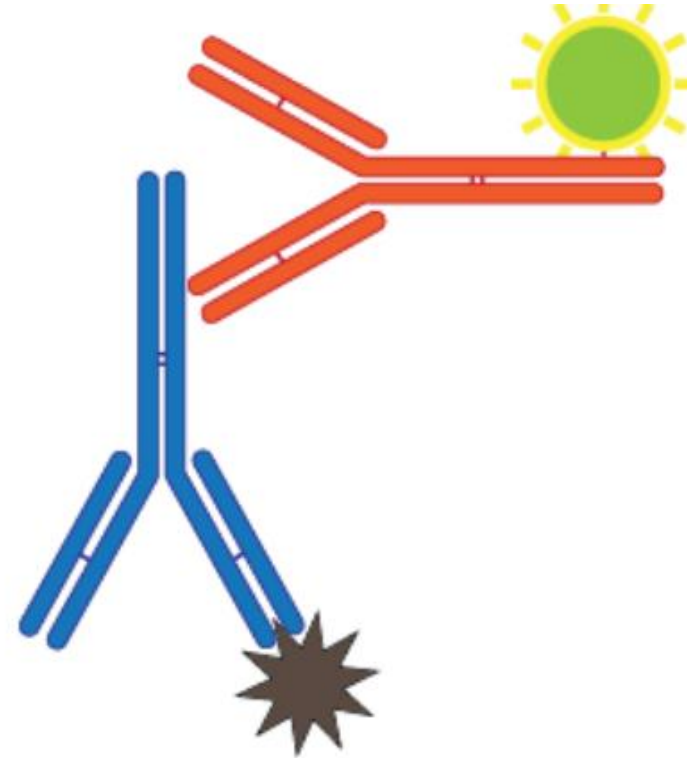
Ac antiinmunoglobulina humana y Ac secundario marcado



Isotiocianato de fluoresceína (FITC) – Color verde manzana



Microscopio de fluorescencia



**Figura 6.** Diagrama que representa el método indirecto.

Tomado de: Inmunofluorescencia directa vs indirecta | Abcam [Internet]. [citado 14 de julio de 2021]. Disponible en: <https://www.abcam.com/secondary-antibodies/direct-vs-indirect-immunofluorescence>



# Amplificación mediada por Transcripción (TMA)



Amplifica el ARN, es isotérmica



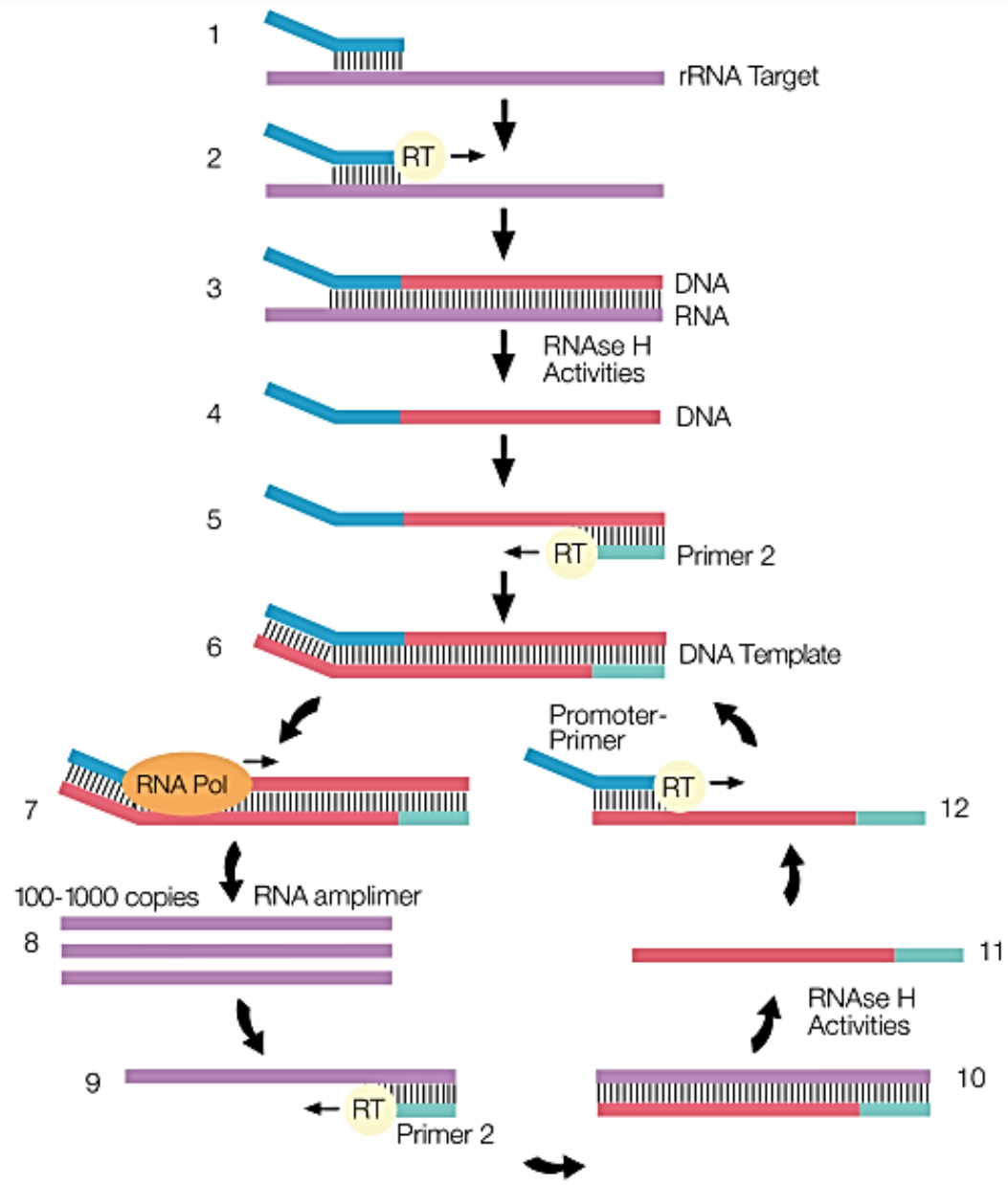
Hibridación del primer cebador y el ARN diana



Plantilla de transcripción de doble cadena



Alquilamina y éster de acridinio - Luminómetro



**Figura 7.** Resumen esquemático de la tecnología de amplificación mediada por transcripción (TMA)

Tomado de: Niesters HGM, van Leeuwen WB. Quantitative Isothermal Molecular Amplification Techniques. En: van Pelt-Verkuil E, van Leeuwen WB, te Witt R, editores. Molecular Diagnostics: Part 1: Technical Backgrounds and Quality Aspects [Internet]. Singapore: Springer; 2019 [citado 14 de julio de 2021]. p. 321-37. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-981-13-1604-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-13-1604-3_7)

# PCR en Tiempo Real



Técnica molecular más sensible



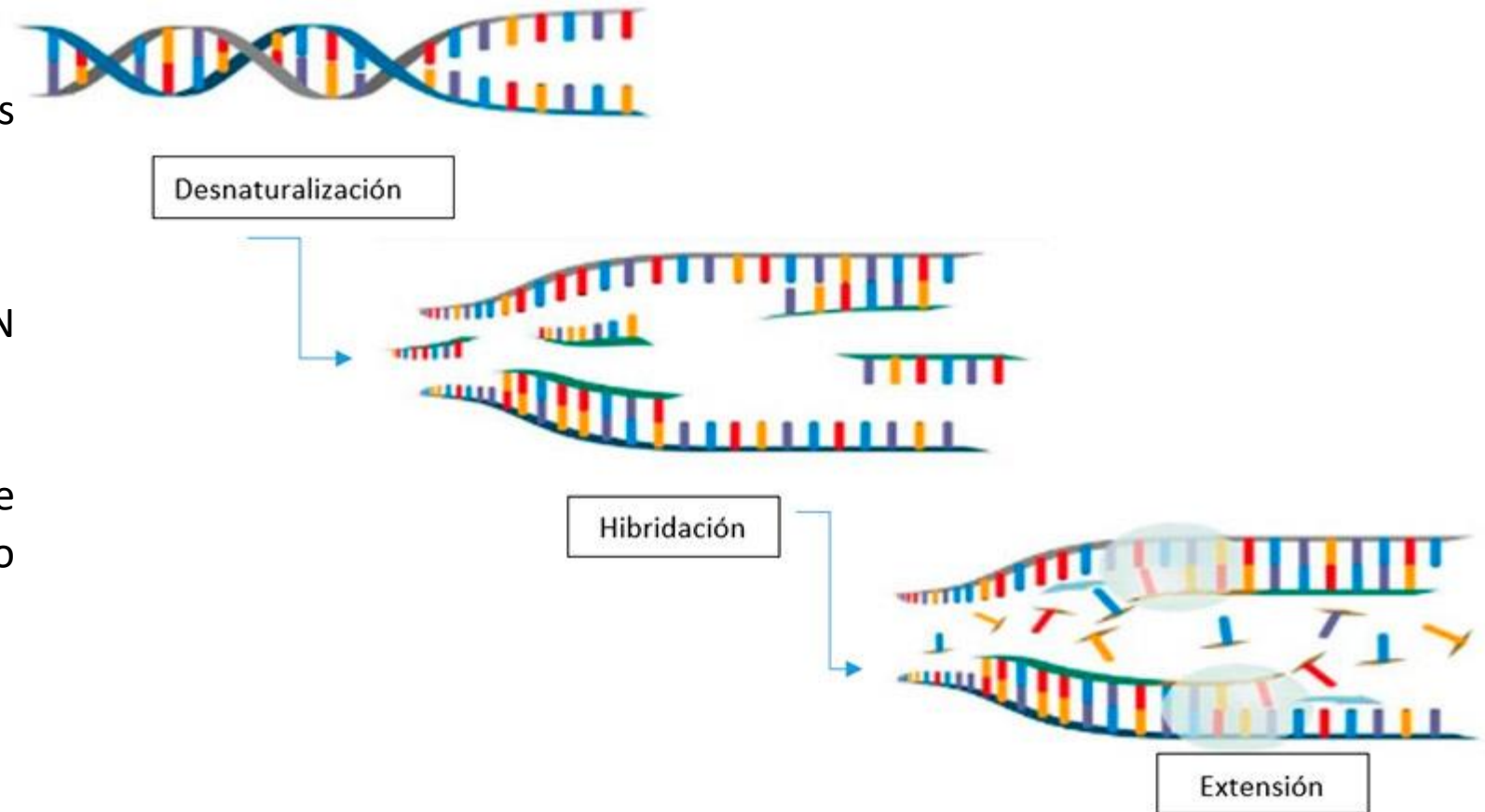
Acumulación de ADN/ARN amplificado



Molécula fluorescente se asocia al material genético amplificado



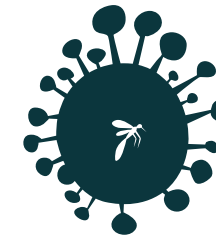
No necesita electroforesis – reduce contaminación



**Figura 8. PCR en tiempo real**

Tomado de: ¿Cómo se realiza la prueba diagnóstica PCR en tiempo real para detección de COVID-19? – Prueba de Coronavirus [Internet]. Pruebacoronavirus.com.mx. 2020 [citado el 10 de marzo de 2022]. Disponible en: <https://pruebacoronavirus.com.mx/blog/como-se-realiza-la-prueba-diagnostica-pcr-en-tiempo-real-para-deteccion-de-covid-19/>

# Tipos de Muestras



Sangre completa



Suero



Orina



Saliva



Leche materna



Semen



Líquido  
amniótico



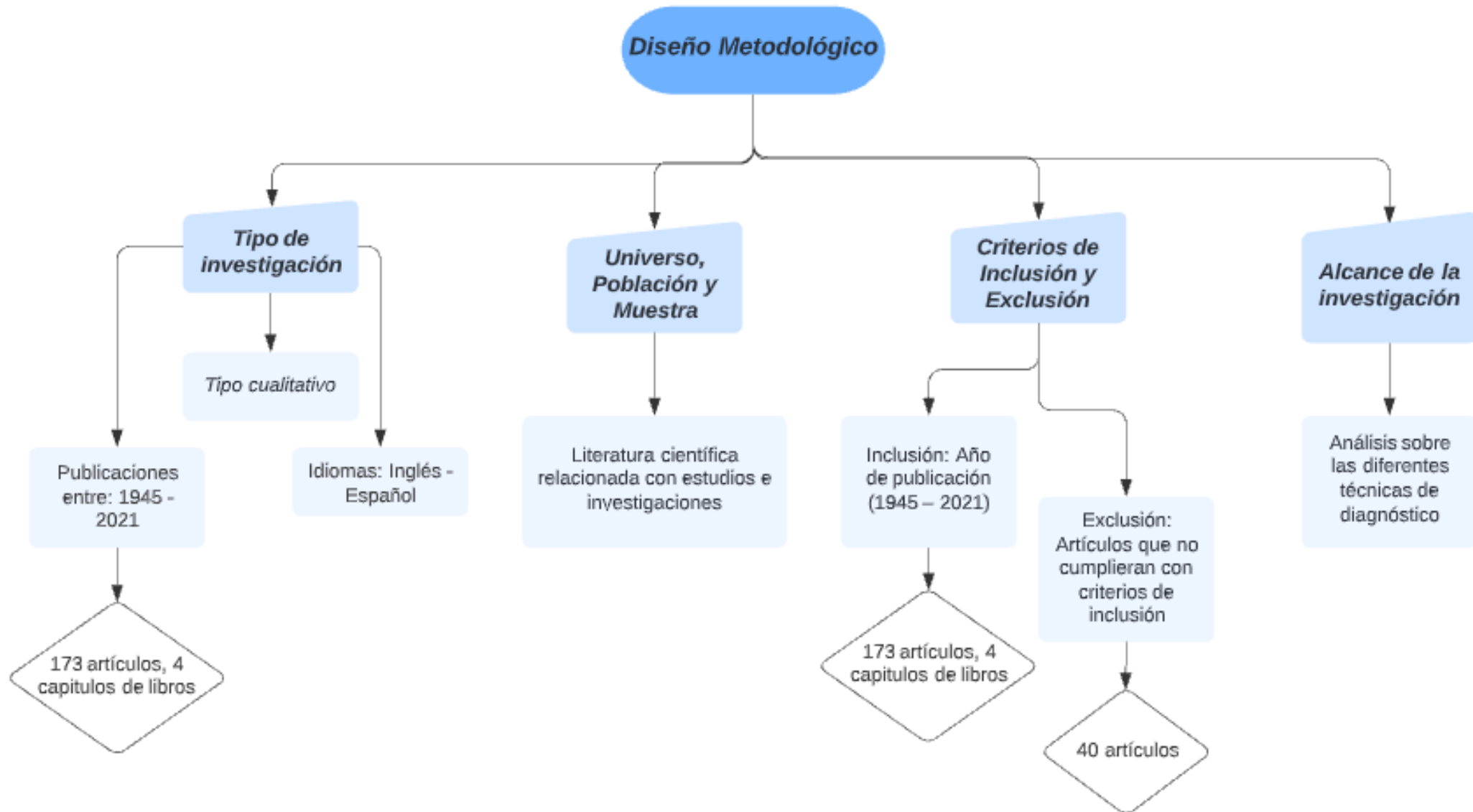
Líquido  
cefalorraquídeo



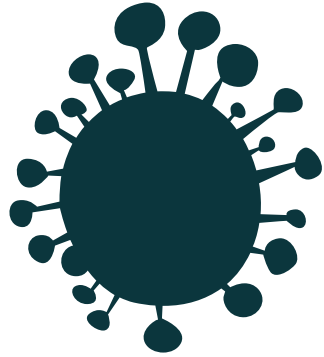
# Metodología

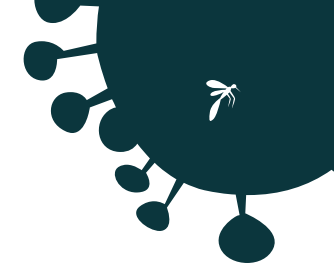


# Diseño metodológico



# Resultados



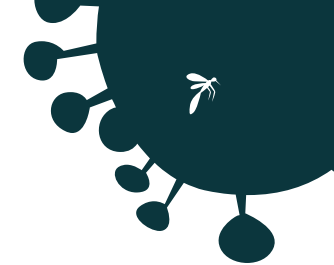


	Laboratorio	Tipo de Prueba	Virus que detecta	Tiempo de entrega	Cualitativa/Cuantitativa	Costo
Bogotá	Laboratorio clínico hematológico	ELISA – IgM	DENV	1 día	Cualitativa	ND
		ELISA – IgG	DENV	Se procesan los jueves	Cualitativa	ND
	Hospital Universitario San Ignacio	PCR	ZIKV	ND	Cualitativa	ND
	Colcan	ELISA – IgG	DENV	1 día	Cualitativa	\$ 49.000
		ELISA – IgM		1 día	Cualitativa	\$ 49.000
	Colsanitas	ELISA - IgM		1 día	Cualitativa	ND
	Synlab	ELISA - IgG	ZIKV	7 días	Cualitativa	\$ 60.000
				7 días	Cualitativa	\$ 60.000
				7 días	Cualitativa	ND
		ELISA - IgG	DENV	1 día	Cuantitativa	\$ 60.000
				1 día	Cuantitativa	\$ 60.000
				PCR en tiempo real	Cuantitativa	\$ 250.000
				IFI – IgG	CHIKV	8 días hábiles
		IFI – IgM	8 días hábiles	Cualitativa		\$ 85.000
		ELISA - IgG	5 días hábiles	Cuantitativa		\$ 60.000
		ELISA - IgM	5 días hábiles	Cuantitativa		\$ 60.000
	AbbaLab	ELISA - IgG	DENV	2 días hábiles	Cualitativa	\$ 55.000
		ELISA - IgM		2 días hábiles	Cualitativa	\$ 55.000
	Mederi	ELISA - IgM	DENV	ND	ND	ND
	Laboratorio clínico central	ELISA - IgM		2 días	Cuantitativa	ND

ELISA es la técnica inmunológica en común



**Tabla 1.** Tipos de pruebas para la detección de CHIKV, DENV, y ZIKV realizados en 12 laboratorios clínicos.



	Laboratorio	Tipo de Prueba	Virus que detecta	Tiempo de entrega	Cualitativa/Cuantitativa	Costo
Medellín	Central de referencia laboratorio clínico	ELISA - IgG	DENV	3 días hábiles	ND	ND
	Bioreferencia laboratorio clínico	ELISA - IgM		ND	Cualitativa	ND
		ELISA – IgG		ND	Cualitativa	ND
Cali	Laboratorio clínico especializado Nohemy Cruz	ELISA – IgM		1 día	Cualitativa	ND
		ELISA – IgG		1 día	Cualitativa	ND
Cartagena	Laboratorio clínico Rosario Arnedo	ELISA - IgM		1 día	ND	ND

ELISA es la técnica inmunológica en común

DENV es el virus más detectado

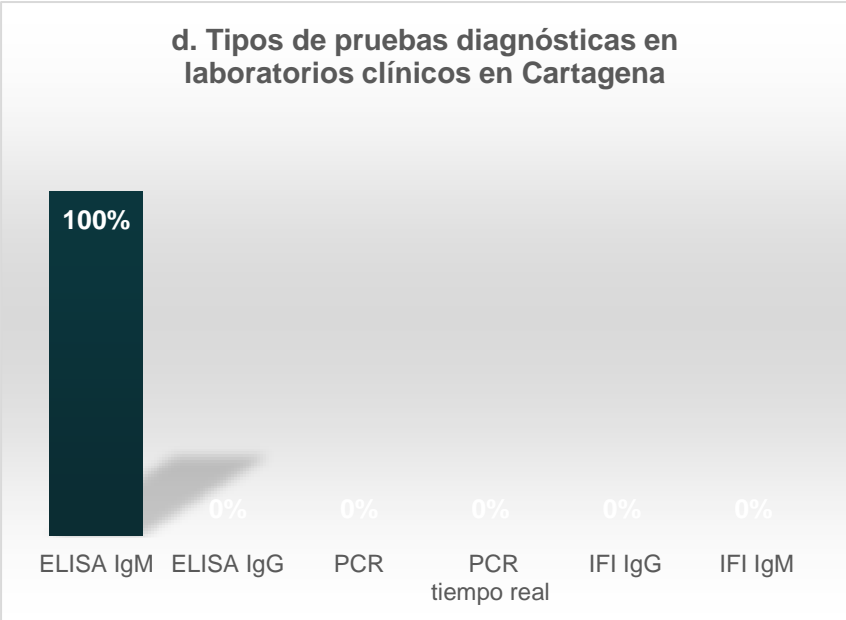
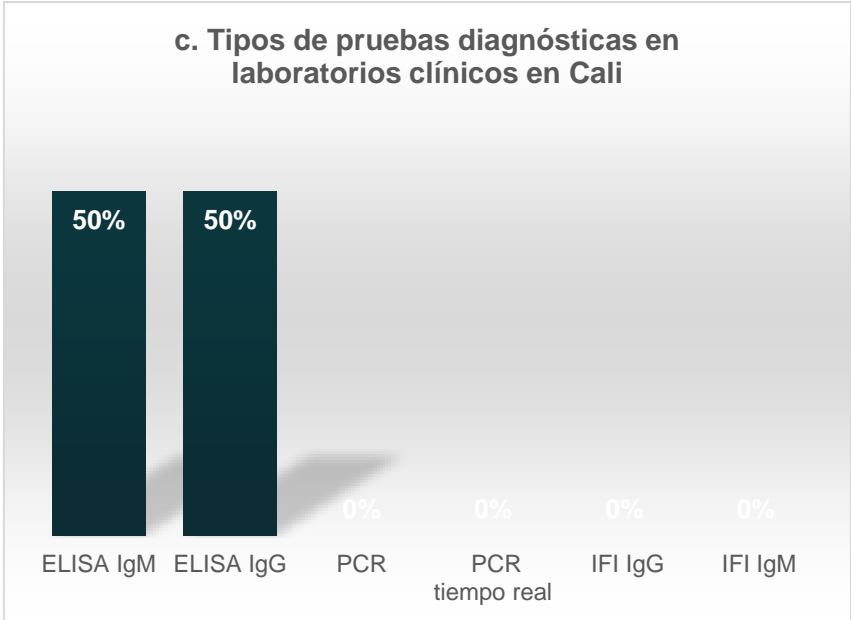
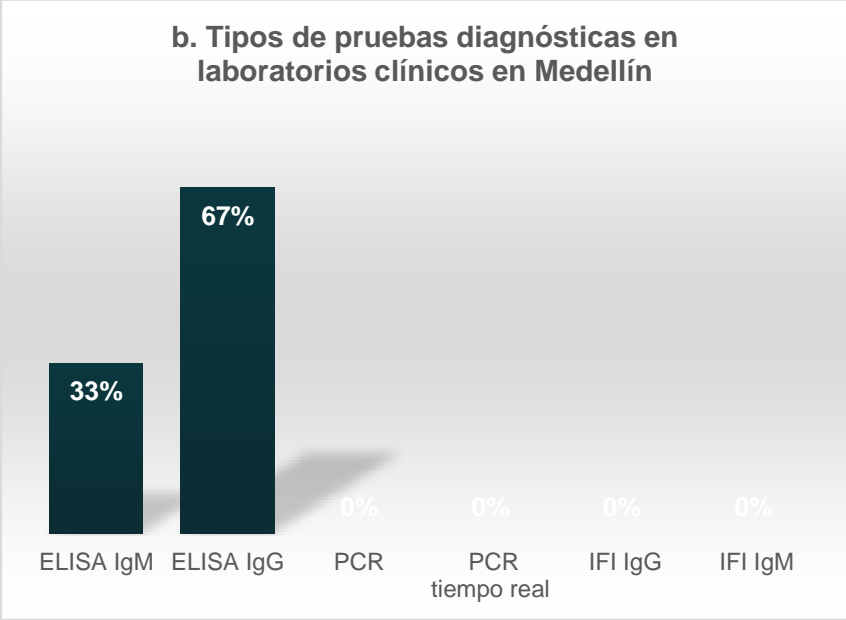
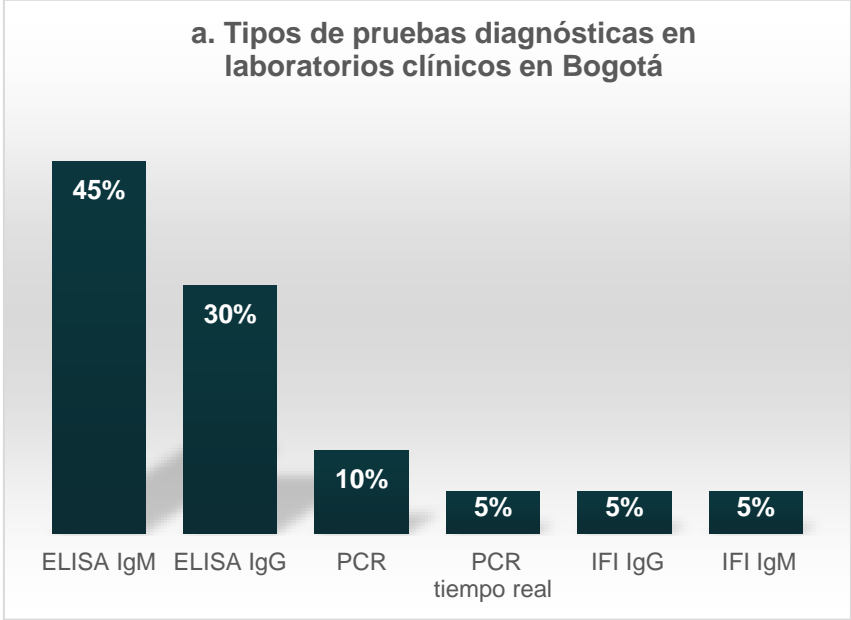
Fuente: Elaboración propia. \*ND: No determinado



**Tabla 1.** Tipos de pruebas para la detección de CHIKV, DENV, y ZIKV realizados en 12 laboratorios clínicos.

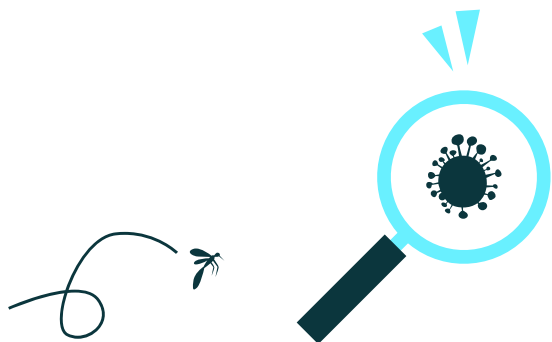


**Gráfica 1.** Tipos de pruebas diagnósticas para los virus del ZIKV, DENV y CHIKV realizadas en laboratorios clínicos en a. Bogotá, b. Medellín, c. Cali, d. Cartagena.



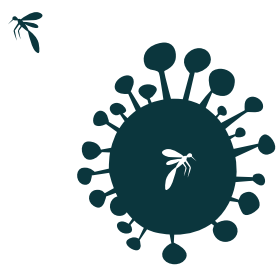
ELISA es la técnica de diagnóstico más empleada a comparación de las demás





Se evidencia la importancia epidemiológica y clínica de la transmisión de estos virus en los últimos cinco (5) años en Colombia, además, el diagnóstico de los mismos es sumamente importante para la detección rápida y oportuna del agente infeccioso impactando de manera positiva en el tratamiento del paciente y a su vez en la salud pública.

# Conclusiones



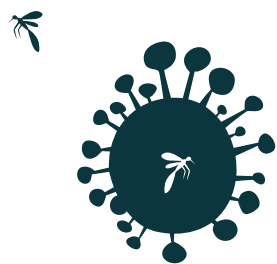
Entre las técnicas de diagnóstico para la detección de los virus ZIKV, DENV y CHIKV se destacan las inmunológicas y las moleculares, entre las cuales cada una proporcionan diferentes ventajas y desventajas a la hora de utilizarlas.





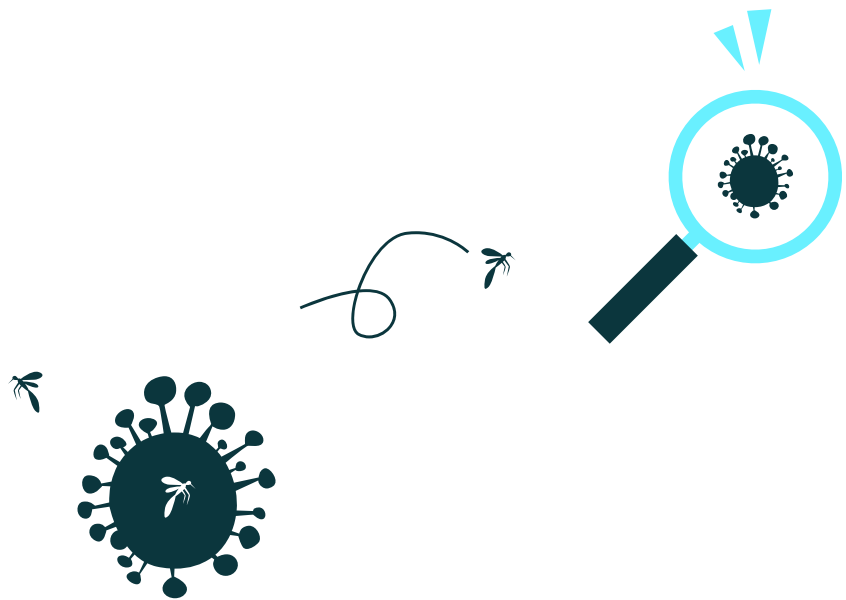
La revisión elaborada a las cuatro (4) diferentes ciudades en Colombia brindan un panorama general en cuanto a las posibilidades de acceder a una prueba de diagnóstico, en donde Bogotá lleva una ventaja al contar con más laboratorios disponibles para la realización de las pruebas y se destacan las pruebas inmunológicas.

# Conclusiones



Una de las técnicas de diagnóstico más empleada según la información obtenida es ELISA, debido a su accesibilidad a comparación de las demás pruebas, aunque la PCR en tiempo real presenta una mayor especificidad y sensibilidad en el diagnóstico su costo es elevado debido al uso de reactivos, equipos y el personal capacitado para su realización.





*A la memoria de Nala...*



# Agradecimientos

*La presente monografía va dedicada principalmente a mi mami, por su amor incondicional, apoyo, trabajo y sacrificio en todos estos años ya que con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona a tal punto de ayudarme a convertir en la profesional que soy hasta el día de hoy.*

*A la Universidad Antonio Nariño y a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, por brindarme la oportunidad de hacerme crecer profesionalmente, a mis asesores Mónica Losada y Mauricio Rodríguez, por confiar en mí y ser mis guías en este proceso gracias por su paciencia y apoyo incondicional.*

*A mi mascota Nala, que a pesar de su enfermedad compartió 9 años de vida brindándome amor y compañía. Las largas noches sin que durmieras temprano no han sido en vano, gracias por cruzarte en mi camino y hacerme creer en el amor a primera vista. Esto es en tu honor.*

*A Daniel, quien llegó de una manera totalmente inesperada a mi vida y ha sido parte fundamental para encontrar el equilibrio, amor y confianza que estaba buscando. ¡Hey! eres mi bonita casualidad.*

*A mis amigos Javier, Álvaro, Diego y Rosemary que con sus deseos y constantes consejos no me dejaron desfallecer ya que han estado presentes en mi crecimiento personal y profesional.*

*A mis abuelas Ana Julia y Sixta que estuvieron acompañándome en cada paso dado a lo largo de la carrera. Al Dr. Rafael Vargas que sin su motivación no estaría aquí el día de hoy, confirmo hasta este momento que no ha habido mejor médico que él. Son las estrellas más bonitas que tiene el cielo.*

*Finalmente, infinitas gracias a los profesores que desinteresadamente me brindaron de su conocimiento, en especial a la profe Liliana Caycedo y Hommy Copete quienes nunca dejaron de darme su voz de aliento.*

*Personas como ustedes no se encuentran fácilmente, es por ello por lo que soy doblemente afortunada de tenerlos en mi vida.*

# Bibliografía

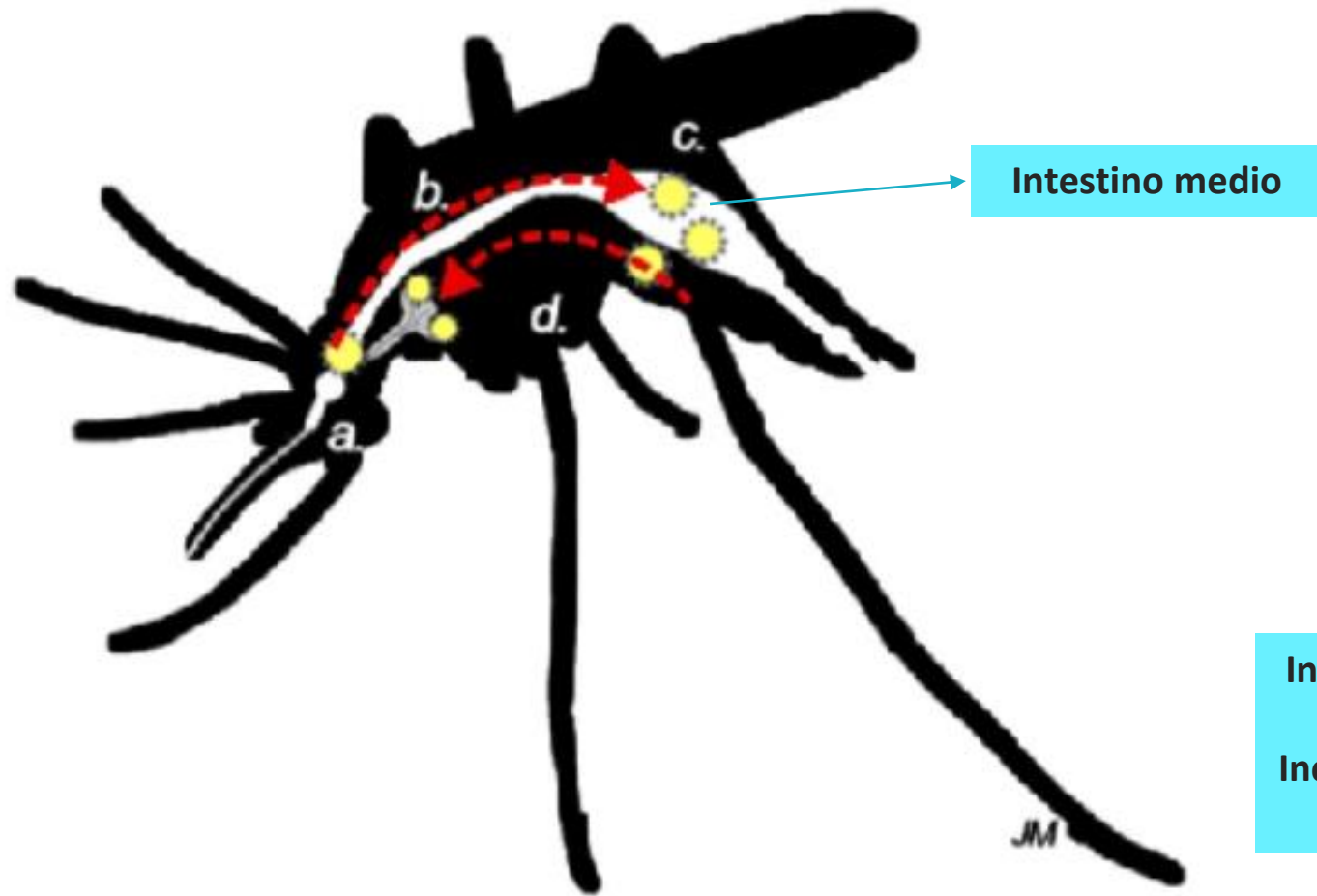


1. Kawiecki AB, Christofferson RC. Zika Virus–Induced Antibody Response Enhances Dengue Virus Serotype 2 Replication In Vitro. *J Infect Dis.* 1 de noviembre de 2016;214(9):1357-60.
2. Priyamvada L, Quicke K, Hudson W, Onlamoon N, Sewatanon J, Edupuganti S, et al. Human antibody responses after dengue virus infection are highly cross-reactive to Zika virus. *Proc Natl Acad Sci.* 27 de junio de 2016;113:201607931.
3. Lanciotti R, Kosoy O, Laven J, Velez J, Lambert A, Johnson A, et al. Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis.* 1 de septiembre de 2008;14:1232-9.
4. Judice CC, Tan JLL, Parise PL, Kam YW, Milanez GP, Leite JA, et al. Efficient detection of Zika virus RNA in patients' blood from the 2016 outbreak in Campinas, Brazil. *Sci Rep.* 5 de marzo de 2018;8(1):4012.
5. Balmaseda A, Stettler K, Medialdea-Carrera R, Collado D, Jin X, Zambrana JV, et al. Antibody-based assay discriminates Zika virus infection from other flaviviruses. *Proc Natl Acad Sci.* 1 de agosto de 2017;114(31):8384-9.
6. Faye O, Faye O, Diallo D, Diallo M, Weidmann M, Sall A. Quantitative real-time PCR detection of Zika virus and evaluation with field-caught Mosquitoes. *Viol J.* 22 de octubre de 2013;10:311.
7. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature.* 25 de abril de 2013;496(7446):504-7.
8. Santiago GA, Vergne E, Quiles Y, Cosme J, Vazquez J, Medina JF, et al. Analytical and Clinical Performance of the CDC Real Time RT-PCR Assay for Detection and Typing of Dengue Virus. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 11 de julio de 2013 [citado 29 de enero de 2021];7(7). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3708876/>
9. Callahan JD, Wu SJL, Dion-Schultz A, Mangold BE, Peruski LF, Watts DM, et al. Development and Evaluation of Serotype- and Group-Specific Fluorogenic Reverse Transcriptase PCR (TaqMan) Assays for Dengue Virus. *J Clin Microbiol.* noviembre de 2001;39(11):4119-24.
10. Bréhin AC, Rubrecht L, Navarro-Sanchez ME, Maréchal V, Frenkiel MP, Lapalud P, et al. Production and characterization of mouse monoclonal antibodies reactive to Chikungunya envelope E2 glycoprotein. *Virology.* 5 de febrero de 2008;371(1):185-95.
11. Jin J, Liss NM, Chen DH, Liao M, Fox JM, Shimak RM, et al. Neutralizing Monoclonal Antibodies Block Chikungunya Virus Entry and Release by Targeting an Epitope Critical to Viral Pathogenesis. *Cell Rep.* 22 de diciembre de 2015;13(11):2553-64.
12. Dick GWA, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* septiembre de 1952;46(5):509-20.
13. Lessler J, Chaisson LH, Kucirka LM, Bi Q, Grantz K, Salje H, et al. Assessing the global threat from Zika virus. *Science* [Internet]. 12 de agosto de 2016 [citado 20 de febrero de 2021];353(6300). Disponible en: <https://science.sciencemag.org/content/353/6300/aaf8160>
14. Pacheco O, Beltrán M, Nelson CA, Valencia D, Tolosa N, Farr SL, et al. Zika Virus Disease in Colombia - Preliminary Report. *N Engl J Med.* 6 de agosto de 2020;383(6):e44.
15. Musso D, Roche C, Nhan TX, Robin E, Teissier A, Cao-Lormeau VM. Detection of Zika virus in saliva. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* julio de 2015;68:53-5.
16. Hotta S. Experimental Studies on Dengue: I. Isolation, Identification and Modification of the Virus. *J Infect Dis.* 1952;90(1):1-9.
17. Shepard DS, Undurraga EA, Halasa YA, Stanaway JD. The global economic burden of dengue: a systematic analysis. *Lancet Infect Dis.* 1 de agosto de 2016;16(8):935-41.
18. Historia evolutiva y dinámica espacio-temporal de los serotipos del virus del dengue en una región endémica de Colombia [Internet]. [citado 20 de febrero de 2021]. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0203090>
19. Castrillón JC, Castaño JC, Urcuqui S. Dengue en Colombia: diez años de evolución. *Rev Chil Infectol.* abril de 2015;32(2):142-9.
20. Romero SEG. INFORME DE EVENTO DENGUE, COLOMBIA, 2017. 2018;(03):22.
21. Morales J, <https://www.facebook.com/pahowho>. OPS/OMS Colombia - 2019, el año con más casos de dengue en la historia regional Los casos de dengue en las Américas superaron los 3 millones en 2019 | OPS/OMS [Internet]. Pan American Health Organization / World Health Organization. 2020 [citado 19 de marzo de 2021]. Disponible en: [https://www.paho.org/col/index.php?option=com\\_content&view=article&id=3334:2019-el-ano-con-mas-casos-de-dengue-en-la-historia-regional-los-casos-de-dengue-en-las-americas-superaron-los-3-millones-en-2019&Itemid=487](https://www.paho.org/col/index.php?option=com_content&view=article&id=3334:2019-el-ano-con-mas-casos-de-dengue-en-la-historia-regional-los-casos-de-dengue-en-las-americas-superaron-los-3-millones-en-2019&Itemid=487)
22. Guzmán MG, Vázquez S. Apuntes sobre el diagnóstico de laboratorio del virus dengue. *Rev Cubana Med Trop.* diciembre de 2002;54(3):180-8.



# Anexos



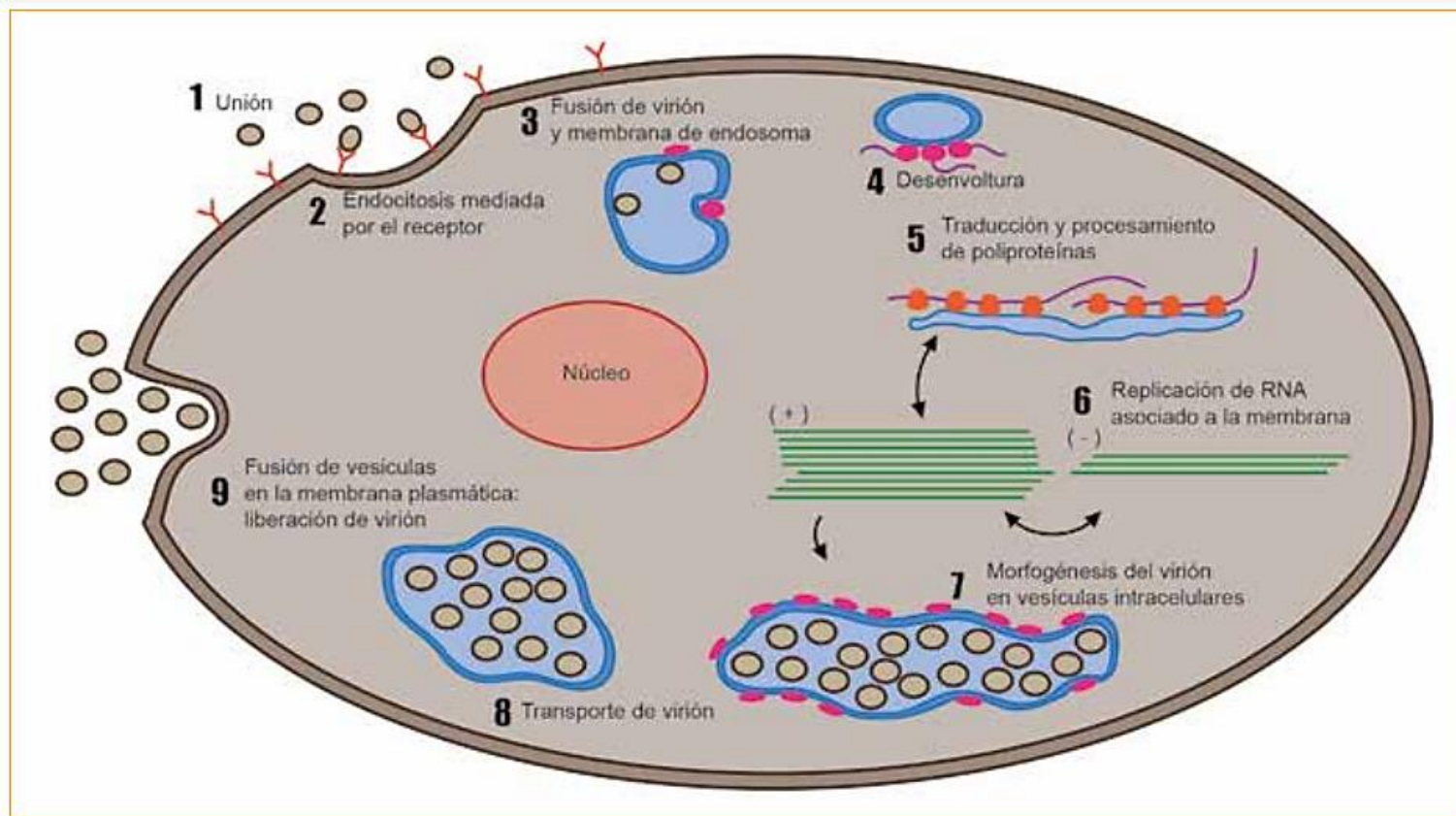


**Incubación extrínseca:** 6 a 8 días  
**Incubación intrínseca:** de 4 a 10 días

## Anexo 1. Ciclo de replicación viral dentro del mosquito

Tomado de: Mendez J, López S, Suárez J. Virus Zika en Panamá y Latinoamérica: Aspectos clínicos y moleculares de un tema emergente [Internet]. puerta de la investigación. 2015 [citado el 15 de abril de 2022].  
Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/301749045\\_Zika\\_virus\\_in\\_Panama\\_and\\_Latinamerica\\_Clinical\\_and\\_molecular\\_aspects\\_of\\_an\\_emerging\\_issue](https://www.researchgate.net/publication/301749045_Zika_virus_in_Panama_and_Latinamerica_Clinical_and_molecular_aspects_of_an_emerging_issue)

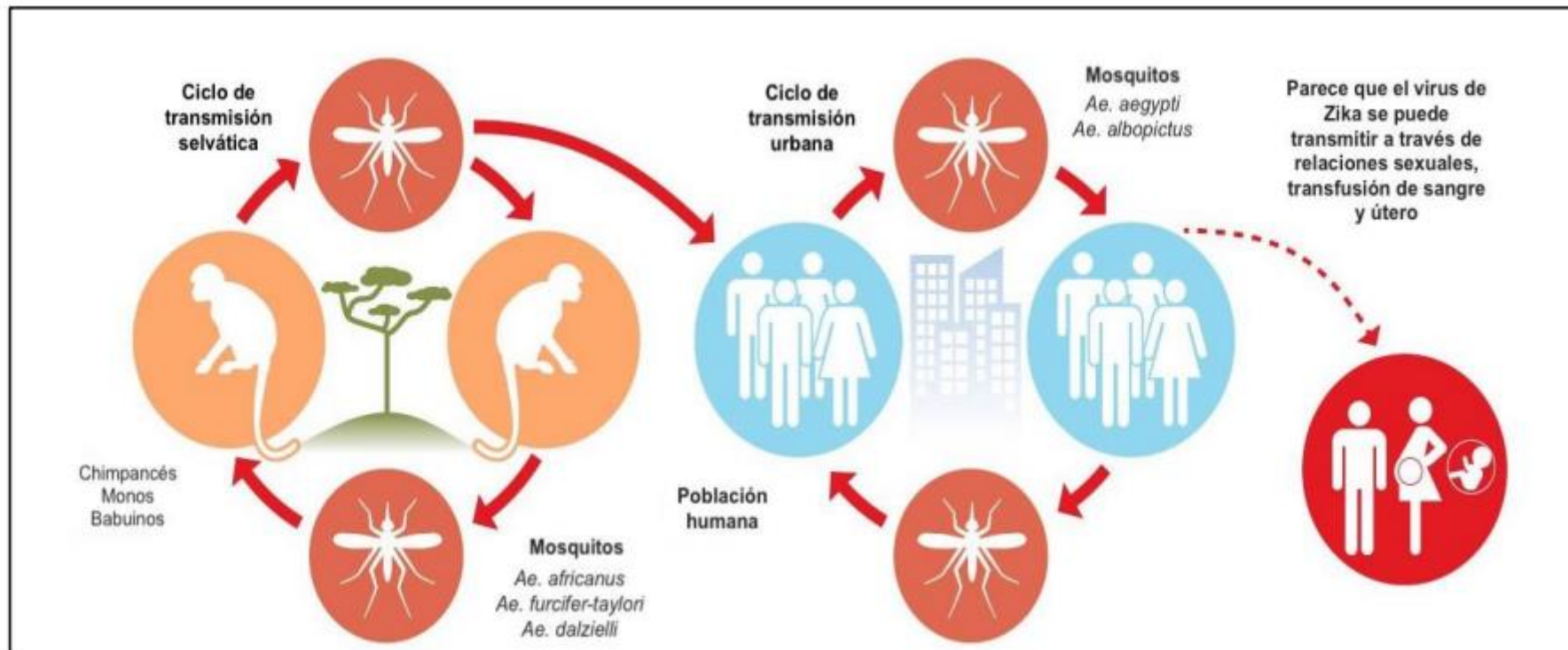




1. Se unen a su receptor en la superficie celular.
2. Entran a la célula mediante endocitosis mediada por receptor.
3. Se fusiona la membrana endosomal con la membrana viral.
4. Se libera el RNA viral al citoplasma.
5. Se traduce.
6. Se replica en los complejos de replicación.
7. Se ensambla
8. Van a las vesículas exocíticas al exterior celular.
9. Infecta a células vecinas.

## Anexo 2. Ciclo replicativo de los arbovirus

Tomado de: Gonzalez L. Zika y su relación con la microcefalia [Internet]. Repositorio.uniandes.edu.co. 2018 [citado el 15 de abril de 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/40507/u808523.pdf?sequence=1>



### Anexo 3. Ciclo de transmisión del ZIKV

Tomado de: Lozada K. Estudio de la interacción del virus de Zika con proteínas de membrana celular [Internet]. Repositorioinstitucional.buap.mx. 2019 [citado el 15 de abril de 2022]. Disponible en: <https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/4784/838819T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>



Proteína Musashi-1 (MSI1)



Se une al genoma del virus para replicarse



Células vulnerables a la muerte celular inducida por el virus



Interrumpiendo desarrollo normal de las células madre neuronales



## Anexo 4. El ZIKV y la microcefalia

Tomado de: El virus zika y la microcefalia - neuronas en crecimiento [Internet]. neuronas en crecimiento. 2016 [citado el 15 de abril de 2022]. Disponible en: <https://neuropediatra.org/2016/01/25/el-virus-zika-y-la-microcefalia/>



### Qué es

Polineuritis de causa desconocida que progresa rápidamente.



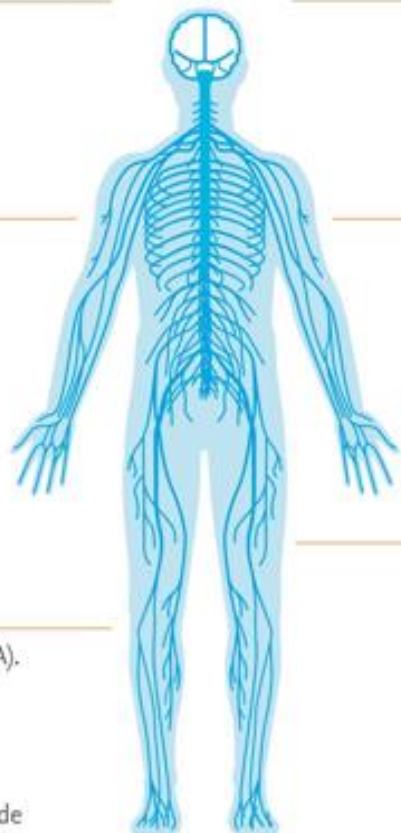
### Cómo actúa

El proceso inflamatorio permite que los linfocitos entren en los espacios perivasculares y destruyan la vaina de mielina que cubre los nervios periféricos o craneales. Las raíces nerviosas posteriores (sensoriales) y anteriores (motoras) pueden verse afectadas debido a esta desmielinización segmentaria, por lo que los individuos pueden experimentar pérdidas tanto sensoriales como motoras.



### Afecciones

- Afectación del sistema nervioso autónomo (SNA).
- Afectación de los nervios craneales.
- Afectación de las raíces nerviosas posteriores (motoras).
- Debilidad motora simétrica, alteración de la postura y del sentido de la vibración, ausencia de reflejos tendinosos profundos o hipoactivos, hipotonía en los músculos afectados y disminución de la capacidad ventilatoria.



### Síntomas

- Debilidad progresiva.
- Arreflexia.



### Pruebas diagnósticas

- Punción lumbar y análisis del LCR.
- Electromiografía (EMG) y estudio de conducción nerviosa.
- Hemograma completo.
- Estudio de potenciales evocados (auditivos, visuales y del tronco encefálico).



### Consecuencias

- El axón resulta relativamente poco afectado.
- Insuficiencia respiratoria (50% afectados).
- Debilidad de los músculos respiratorios. Alto riesgo para la vida del paciente (24 a 72 h después del inicio de los síntomas).



*El 15% de los pacientes tienen una recuperación neurológica completa, y otro 65% tienen déficits leves que no interfieren con las actividades de la vida diaria (AVD).*



1% de pacientes infectados por Zika



Producción de anticuerpos antigangliósidos alterando al SNP



Moléculas del SNC y SNP pierden sus propiedades dando paso a daño neurológico

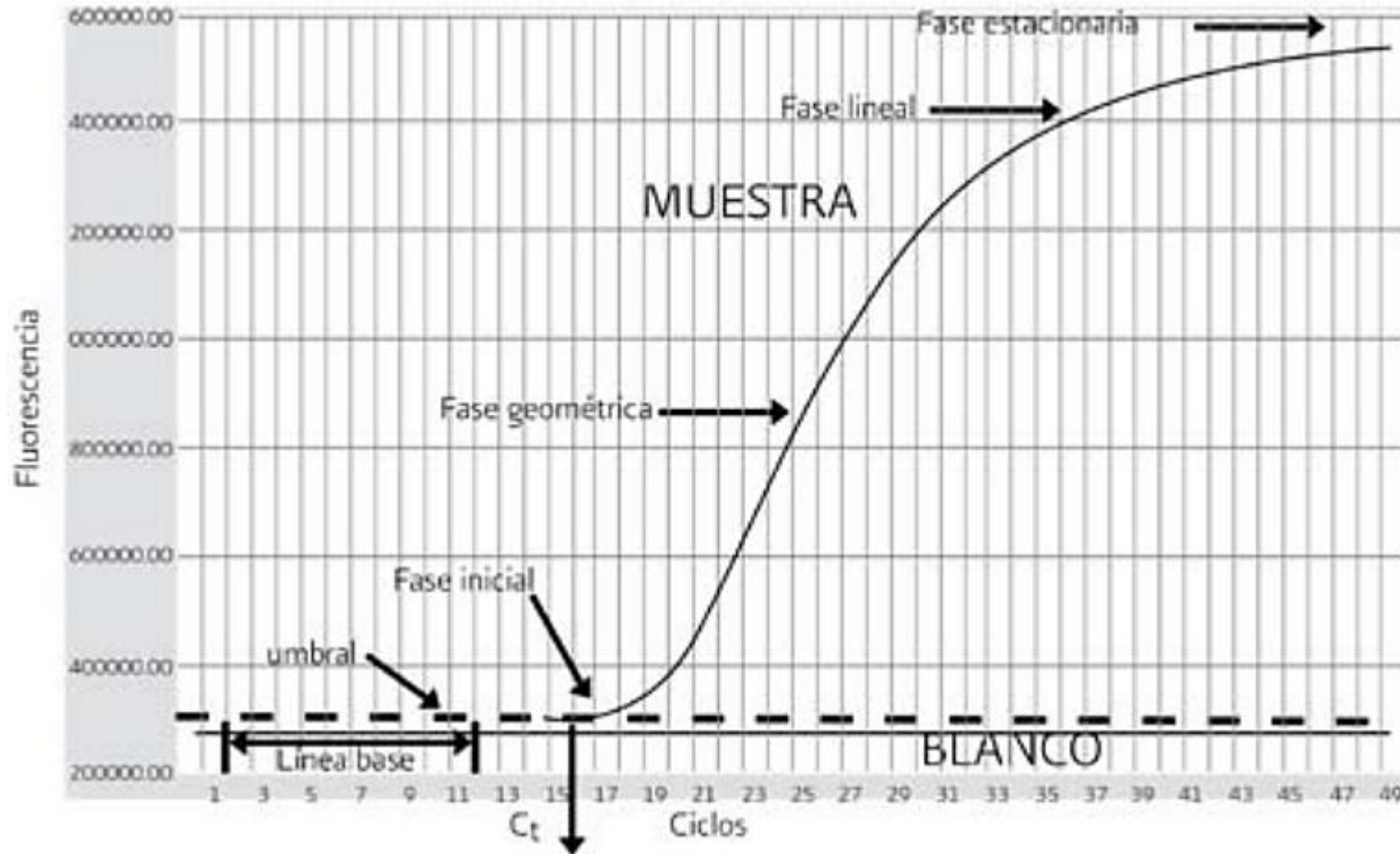


Debilidad en extremidades y pérdida de reflejos

## Anexo 5. Síntomas del Síndrome de Guillain-Barré

Tomado de: RECOMENDACIONES PARA PREVENIR EL SÍNDROME DE GUILLAIN BARRÉ EN II.EE. | Ugel01 [Internet]. Ugel01.gob.pe. 2022 [citado el 15 de abril de 2022]. Disponible en: <https://www.ugel01.gob.pe/noticia/recomendaciones-para-prevenir-el-sindrome-de-guillain-barre-en-ii-ee/>

Cinética de amplificación de la PCR



**FASE INICIAL:** Primeros ciclos (10-15) fluorescencia insuficiente

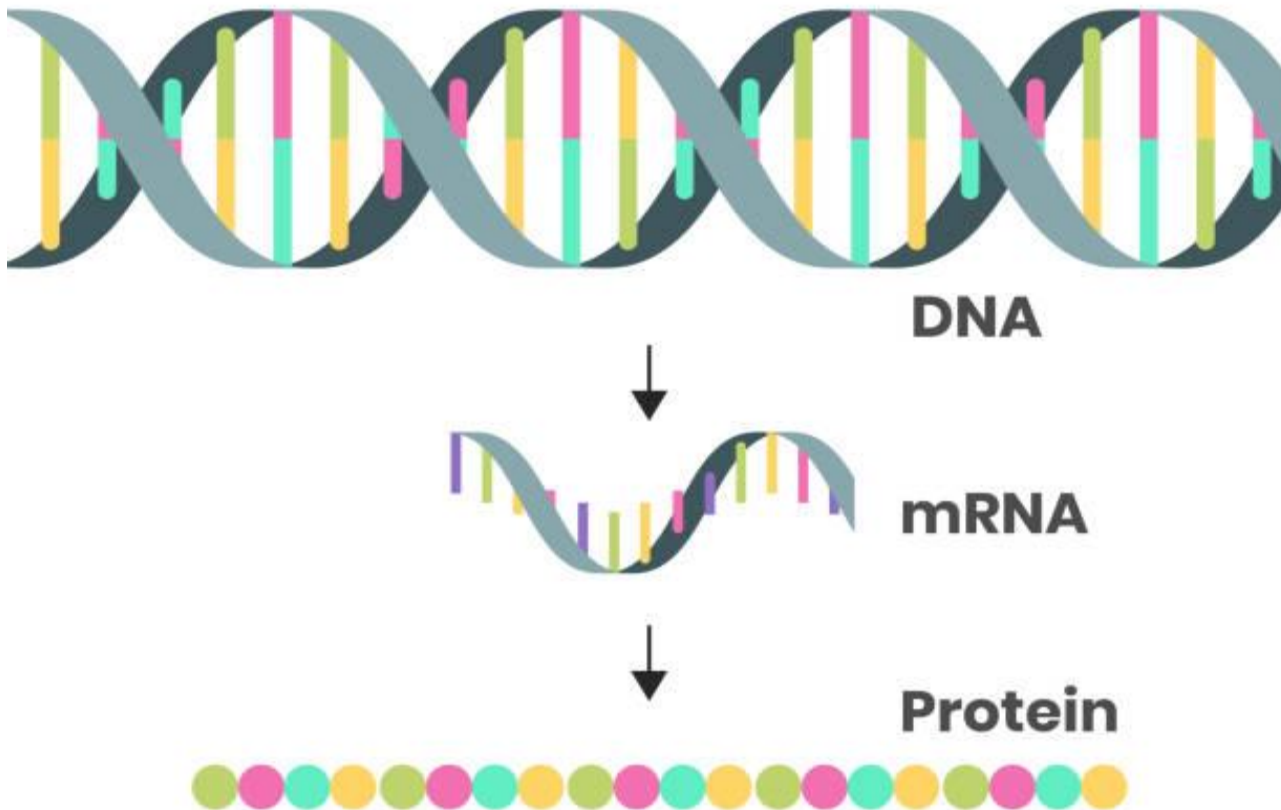
**FASE EXPONENCIAL:** Amplificación con una eficiencia cercana al 100%

**FASE LINEAL:** Reactivos limitantes, decaimiento de la actividad

**FASE ESTACIONARIA:** Amplificación se detiene

## Anexo 6. Cinética de amplificación de la PCR

Tomado de: Aguilera P, Ruiz Tachiquín M, Rocha Munive M, Pineda Olvera B, Chánez Cárdenas M. PCR en tiempo real [Internet]. Www2.inecc.gob.mx. 2018 [citado el 23 de abril de 2022]. Disponible en: <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/710/pctiempo.pdf>



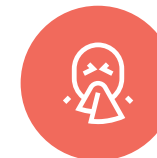
Ácido nucleico que transfiere el código genético



Determina el orden en que se unirán los aminoácidos de una proteína

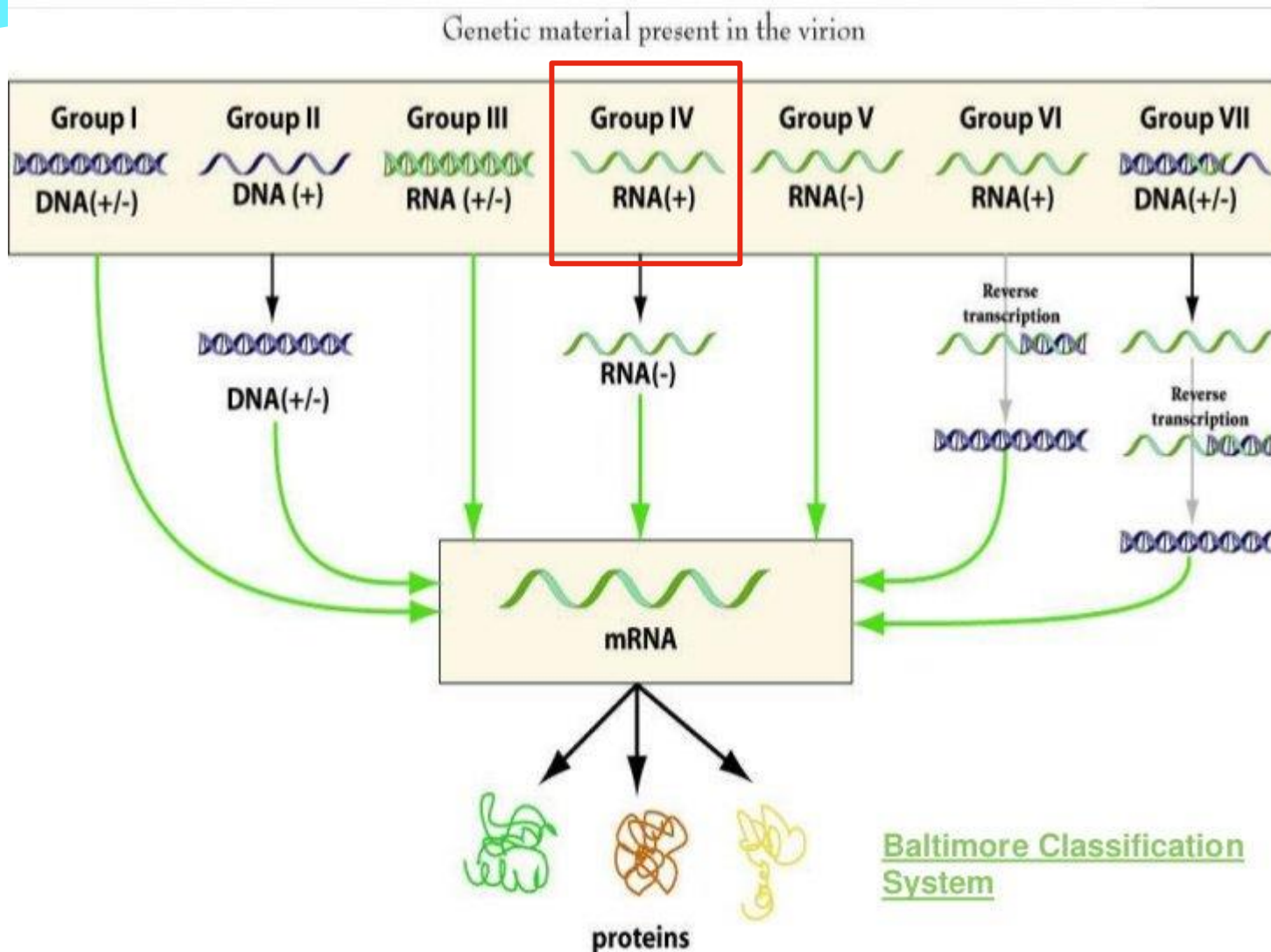


Lleva la información desde el ADN en el núcleo de la célula al citoplasma



Elaboración de proteínas

## Anexo 7. ARN mensajero



RNA de una cadena



Se replican en el citoplasma



RNA (+) son idénticos al RNAm viral

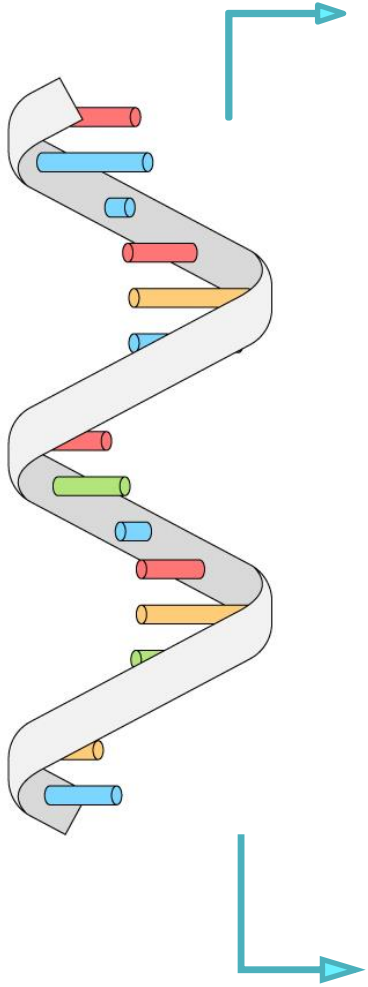


Pueden ser traducidos inmediatamente por el hospedador

## Anexo 8. Sistema de clasificación Baltimore

Tomado de: Clasificación de Baltimore [Internet]. microbioblog. 2022 [citado el 16 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://twitter.com/microbioblog/status/735202981830742016>

ARN



Se excreta en diferentes fluidos corporales

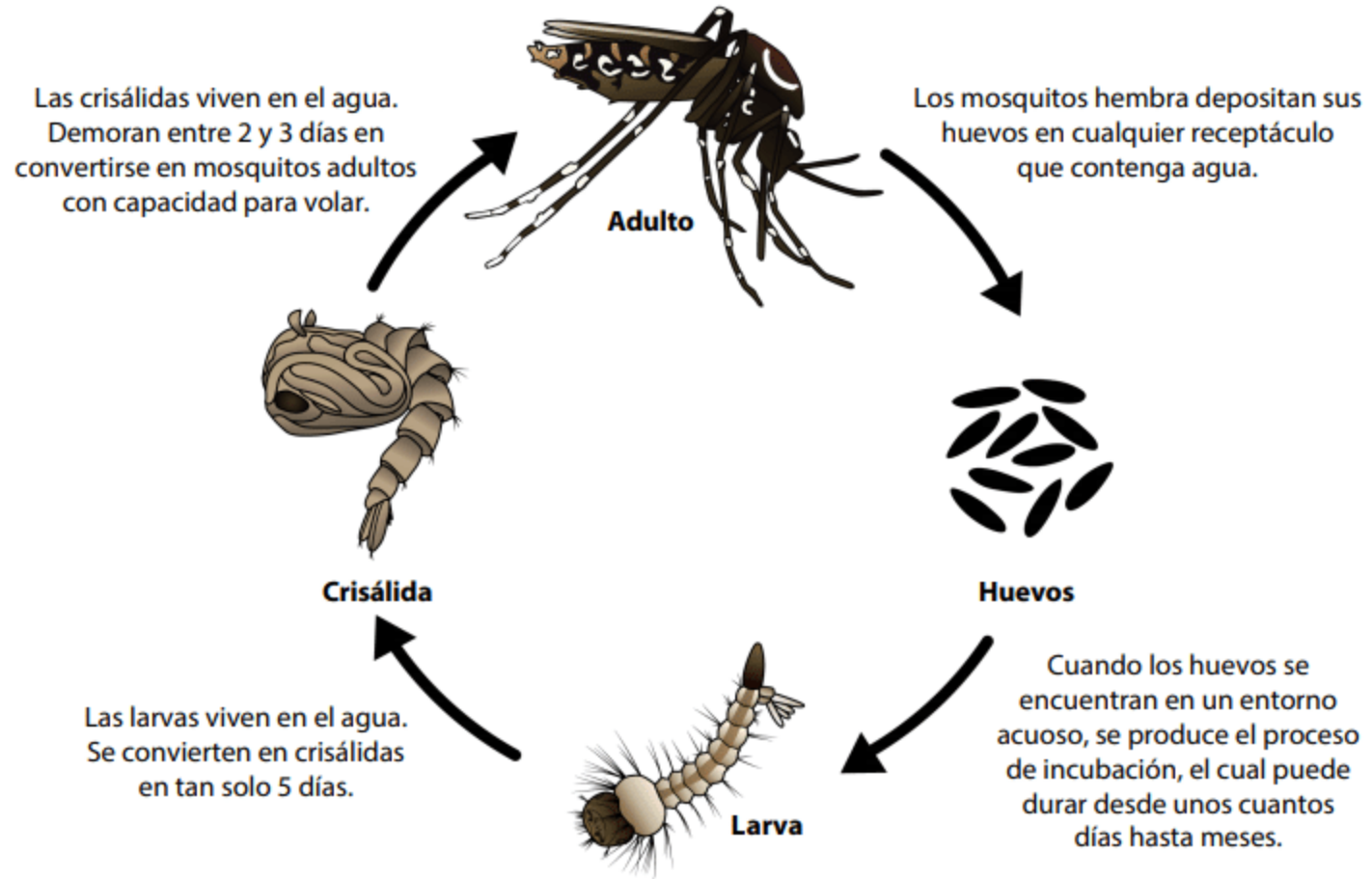


RNA en sangre es casi indetectable después de la semana de la enfermedad

## Anexo 9. Eliminación del virus

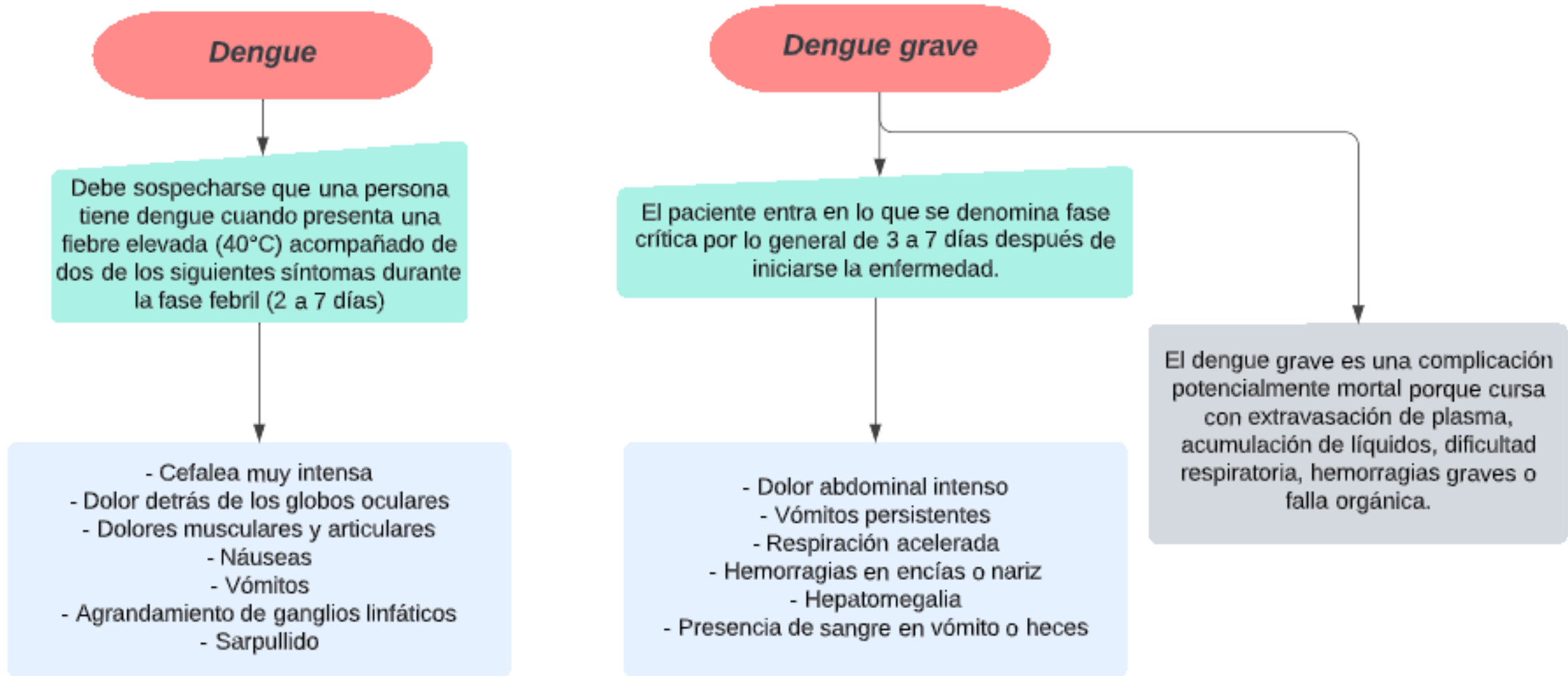


El mosquito adulto puede vivir hasta un mes.

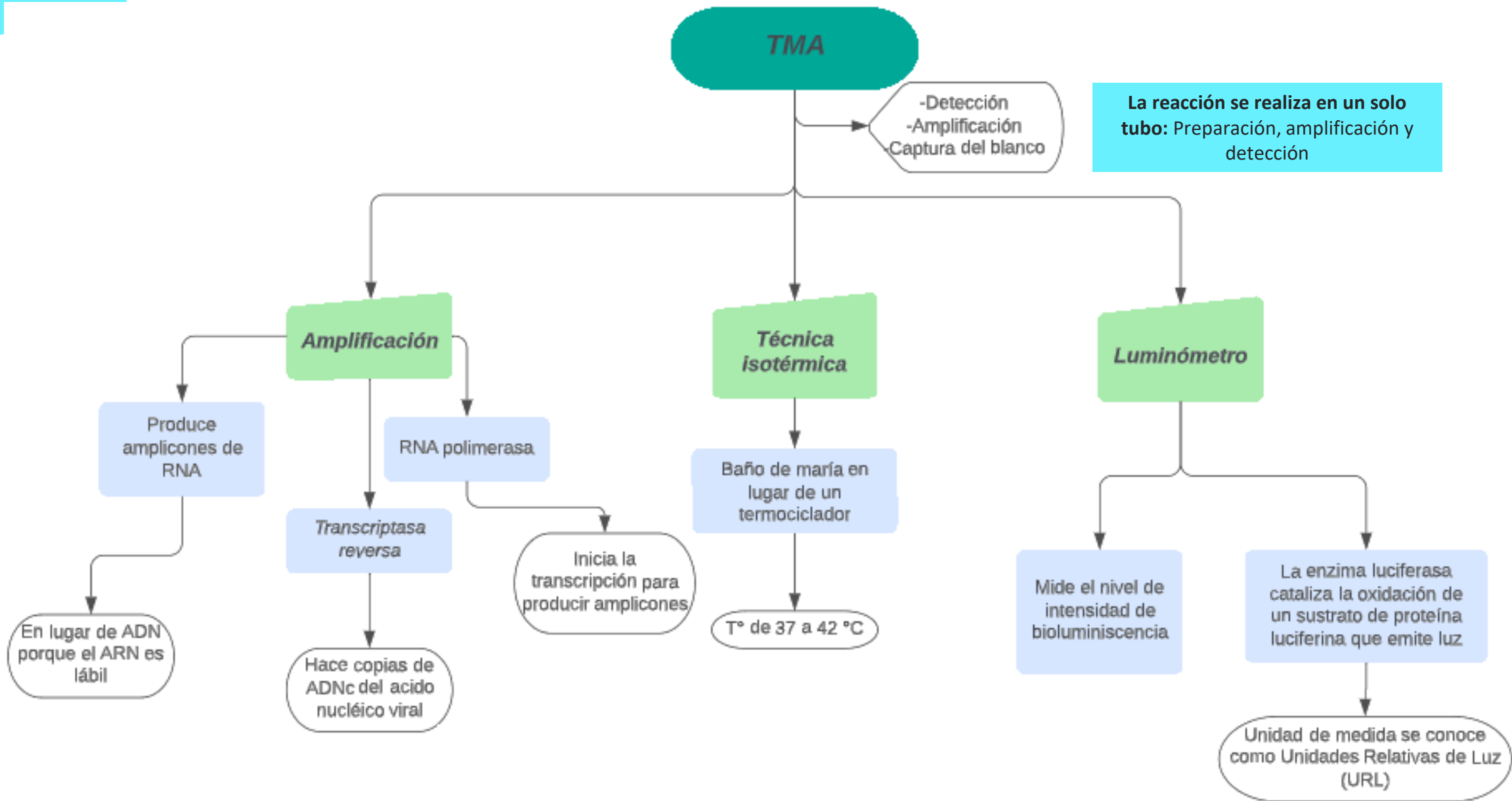


## Anexo 10. Ciclo de vida de mosquito *Aedes aegypti*

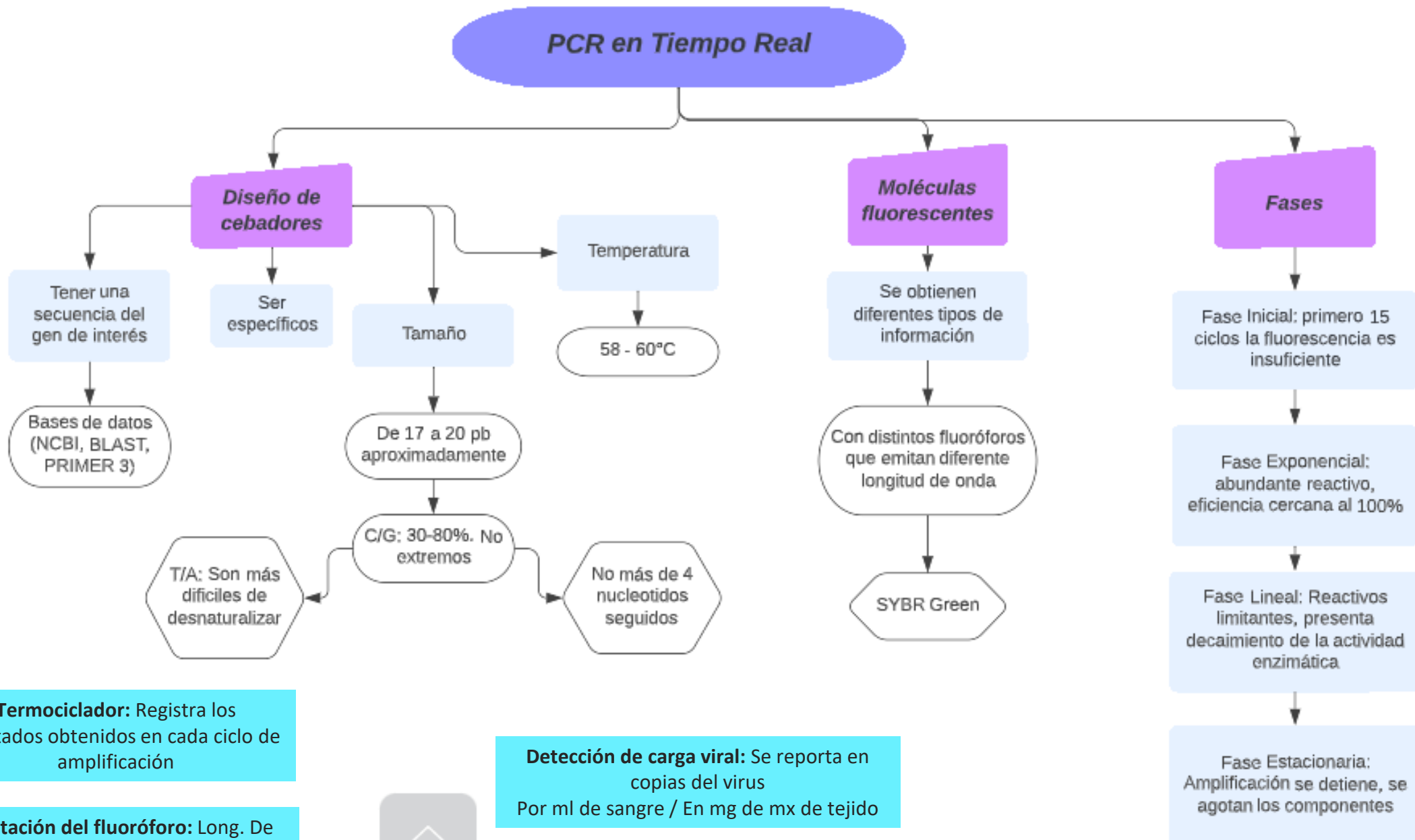
Tomado de: Pino Romero N, Wainer G. Un Modelo Computacional de la Transmisión del Dengue por Autómatas Celulares [Internet]. researchgate.net. 2019 [citado el 18 de mayo de 2022]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/338235429\\_Un\\_Modelo\\_Computacional\\_de\\_la\\_Transmision\\_del\\_Dengue\\_por\\_Automatas\\_Celulares](https://www.researchgate.net/publication/338235429_Un_Modelo_Computacional_de_la_Transmision_del_Dengue_por_Automatas_Celulares)



**Anexo 11.** Clasificación del dengue según la OMS



**Anexo 12.** Amplificación mediada por Transcripción (TMA)

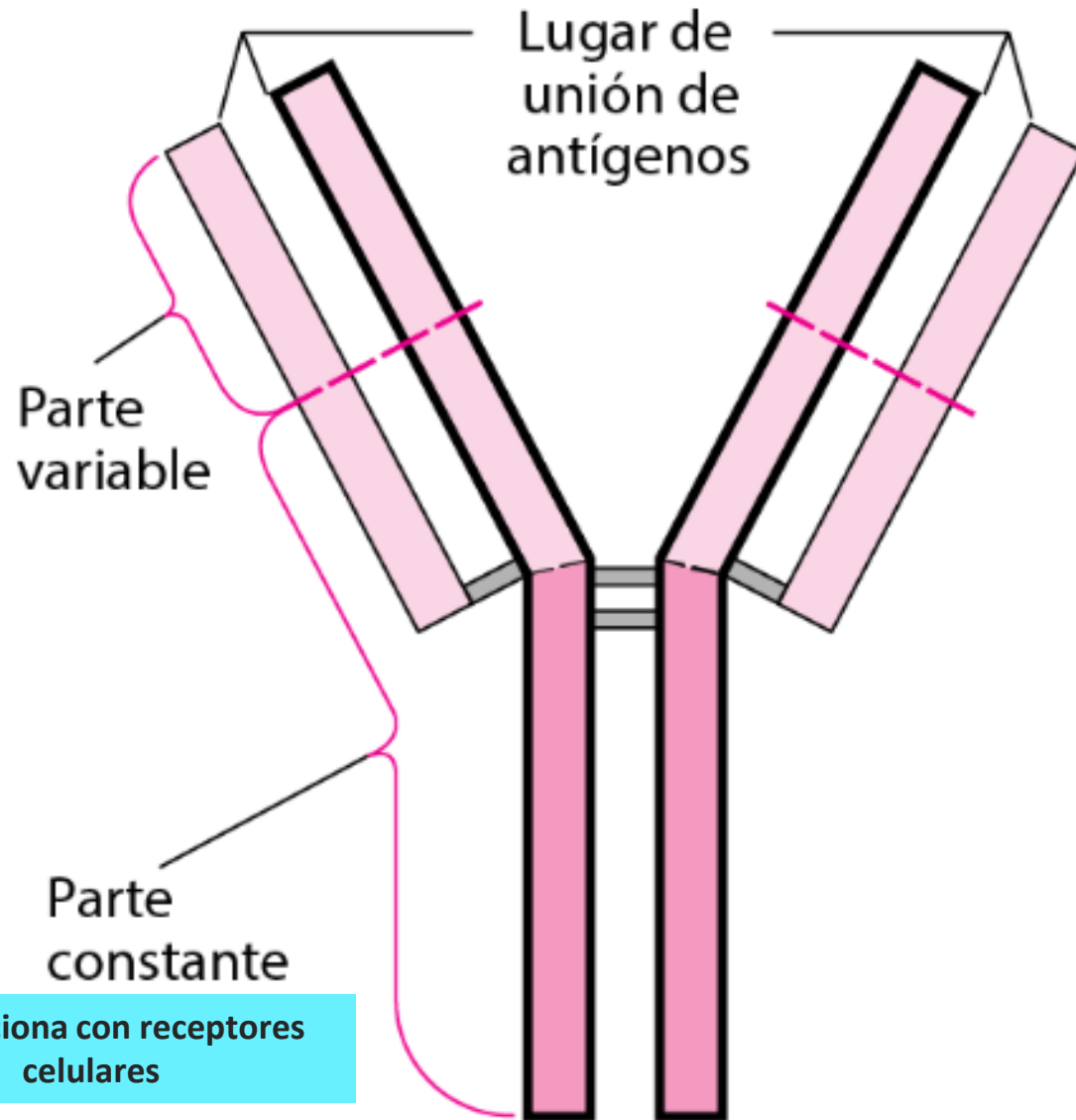


**Termociclador:** Registra los resultados obtenidos en cada ciclo de amplificación

**Excitación del fluoróforo:** Long. De onda de 480 nm

**Detección de carga viral:** Se reporta en copias del virus  
Por ml de sangre / En mg de mx de tejido

## Anexo 13. PCR en Tiempo Real



**Parte variable:** esta parte varía de un anticuerpo a otro, según qué antígeno sea el objetivo del anticuerpo. El antígeno se adhiere a la parte variable.



**Parte constante:** esta parte es una de las cinco estructuras distintas que determinan el tipo de anticuerpo: IgG, IgM, IgD, IgE, o IgA. Característico de cada especie.

## Anexo 14. Estructura básica en Y de los anticuerpos

**Paso 1:** Cebador promotor se une a la diana de ARN

**Paso 2:** La transcriptasa inversa crea una copia de ADN de la diana de ARN

**Paso 3:** Dúplex ARN:ADN

**Paso 4:** Las actividades de RNasa de la transcriptasa inversa degradan el ARN

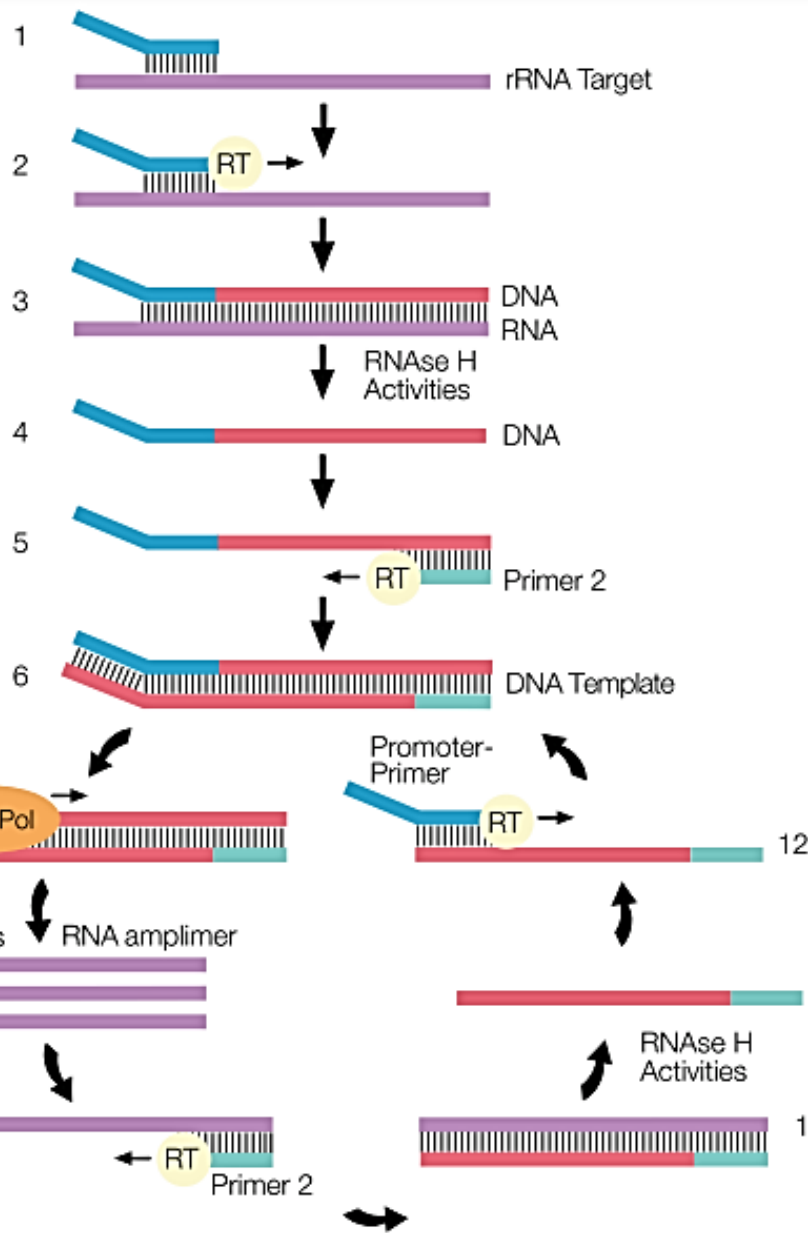
**Paso 5:** Cebador 2 se une al ADN y la transcriptasa inversa crea una nueva copia de ADN

**Paso 6:** Plantilla de dsDNA con secuencia promotora

**Paso 7:** ARN polimerasa inicia la transcripción del ARN a partir del molde de ADN

**Paso 8:** Se producen entre 100 y 1000 copias de amplicon de ARN

**Paso 9:** Cebador 2 se une a cada amplicon de ARN y la Trans. Inversa crea una nueva copia de ADN



**Resultado:** Una amplificación de mil millones de veces

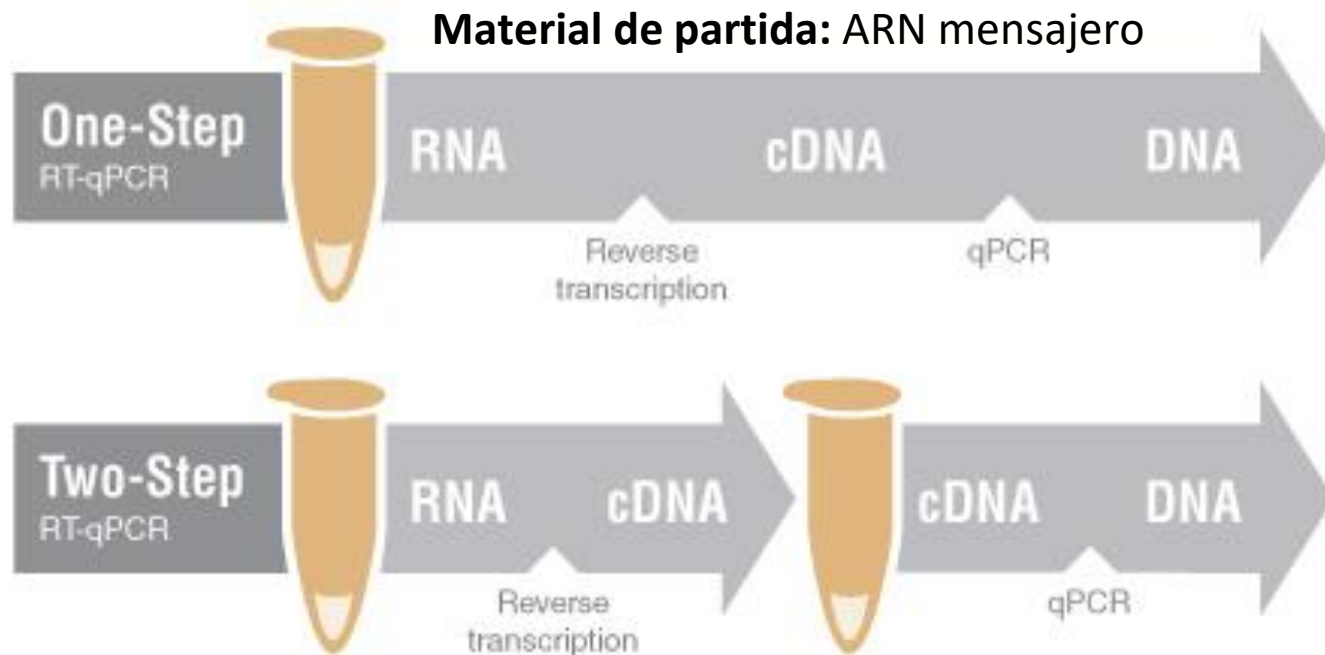
**Paso 12:** Cebador promotor se une al ADN recién sintetizado y se repite

**Paso 11:** Actividad RNasa de la Trans. Inversa degrada el ARN

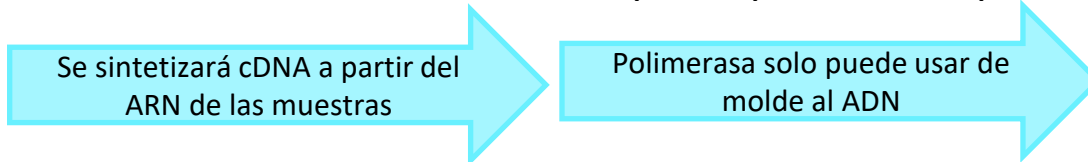
**Paso 10:** Duplex de ARN:ADN

## Anexo 15. Resumen esquemático de la tecnología de amplificación mediada por transcripción (TMA)

Tomado de: Niesters HGM, van Leeuwen WB. Quantitative Isothermal Molecular Amplification Techniques. En: van Pelt-Verkuil E, van Leeuwen WB, te Witt R, editores. Molecular Diagnostics: Part 1: Technical Backgrounds and Quality Aspects [Internet]. Singapore: Springer; 2019 [citado 14 de julio de 2021]. p. 321-37. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-981-13-1604-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-13-1604-3_7)



Es necesario hacer retrotranscripción previa a la qPCR



**Única mezcla en un mismo tubo**

V: Menor tiempo de preparación, menor riesgo de contaminación

D: menor sensibilidad, la RT necesitará primers específicos.



**Se hacen reacciones independientes**

V: Mayor sensibilidad, se conserva el ADNc

D: Mayor tiempo de preparación, mayor riesgo de contaminación.

**Anexo 16. One-Step RT-qPCR y Two-Step RT-qPCR**