



Artículos

- [Importancia de la genómica en enfermedades emergentes: COVID-19 y viruela símica](#)
- [PCR punto final y tiempo real: una revolución en biomedicina](#)
- [Secuenciación de última generación: otra revolución genómica](#)
- [Sucesión de epidemias virales sin haber terminado la pandemia](#)
- [Conclusiones](#)
- [Referencias](#)

Flor Pujol

PhSc

Lab. Virología Molecular, IVIC. Caracas,
Venezuela

Asociación Venezolana para el Avance de la Ciencia

Importancia de la genómica en enfermedades emergentes: COVID-19 y viruela símica

Fecha de recepción: 01/01/2000

Fecha de aceptación: 01/01/2000

LXXII CONVENCIÓN ANUAL DE AsoVAC "Ciencia y Arte: dos caminos para el progreso."
Facultad de Ciencias de la UCV

El surgimiento de pandemias virales ha puesto más de manifiesto la importancia de las herramientas moleculares para el diagnóstico y control de estas enfermedades emergentes. La PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), junto a su versión cuantitativa, la PCR en tiempo real, ha representado una revolución biomédica, al volverse una herramienta de rutina para el diagnóstico molecular de cualquier patógeno emergente. La secuenciación genómica, particularmente la de nueva generación, se ha vuelto igualmente el elemento indispensable para el manejo y caracterización de estas epidemias virales. Este trabajo describe la importancia que han tenido estas herramientas de la pandemia de COVID-19 y la emergencia internacional de importancia en salud pública de viruela símica.

Palabras Claves: PCR, PCR tiempo real, Genómica, Secuenciación, COVID-19, Viruela símica.

Title

Importance of genomics in emerging diseases: COVID-19 and monkeypox

Abstract

The emergence of viral pandemics has further highlighted the importance of molecular tools for the diagnosis and control of these emerging diseases. PCR (Polymerase Chain Reaction), together with its quantitative version, real-time PCR, has represented a biomedical revolution, becoming a routine tool for the molecular diagnosis of any emerging pathogen. Genomic sequencing, particularly new generation sequencing, has also become an indispensable element for the management and characterization of these viral epidemics. This work describes the importance that these tools have had in the COVID-19 pandemic and the important international public health emergency of monkeypox.

Key Word

PCR, real-time PCR, Genomics, Sequencing, COVID-19, Monkeypox.

PCR punto final y tiempo real: una revolución en biomedicina

La PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa, por sus siglas en inglés) ha representado una revolución biomédica, al cambiar el rumbo de la Biología Molecular. Ideada en 1983 por Kary Mullis, cuyo desarrollo le valió el Premio Nobel en 1993, ha sido usada en una infinidad de campos, desde la identificación de prácticamente cualquier patógenos, de enfermedades genéticas, como para pruebas de paternidad o identificación de ADN en investigaciones forenses (Figura 1).

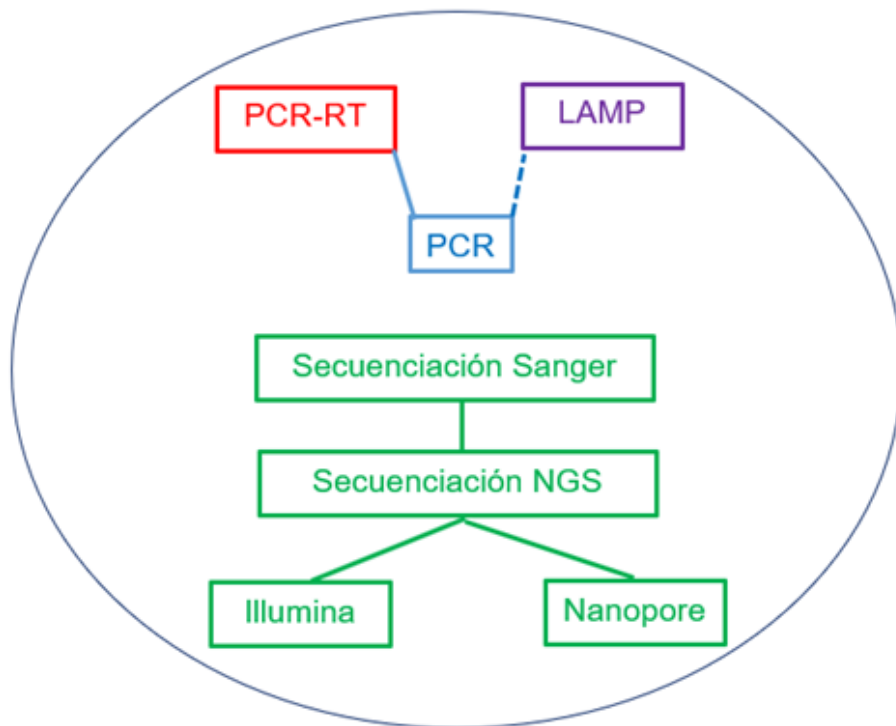


Figura 1: Conjunto de herramientas genómicas para el estudio de virus emergentes. La secuenciación Sanger se refiere a la secuenciación anterior a la de nueva generación.

Una modificación importante a esta técnica consiste en la PCR tiempo real (PCR-RT), donde se puede monitorear la amplificación durante su desarrollo, permitiendo de esa forma la cuantificación del material genético. Otra gran ventaja aportada por la PCR-RT es la posibilidad de automatización de las pruebas (ya que elimina la necesidad de análisis posterior mediante electroforesis en geles de agarosa, por ejemplo), permitiendo así el procesamiento de un gran número de muestras (1).

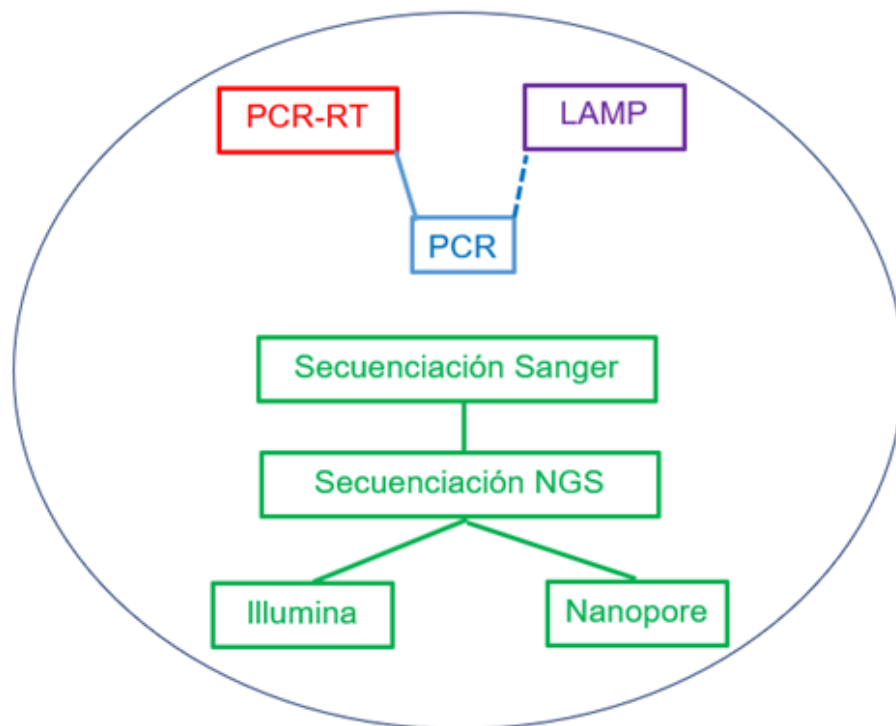
La PCR-RT fue desarrollada para el SARS-CoV2, casi al final de la epidemia, en 2003 (2), por lo que fue de poca utilidad para la misma. Posteriormente su uso se ha masificado, siendo usado por primera vez para el diagnóstico de una pandemia en Venezuela para la de H1N1pd del 2009 (PAHO). En el caso de la epidemia de Ebola en 2014, se pudo correlacionar la carga viral con la evolución de la enfermedad (4). El ejemplo emblemático de la utilidad de la medición de la carga viral lo constituye sin duda la infección por VIH-1, donde existe una clara correlación entre esa carga y la velocidad de progresión a SIDA (5).

Existe una variación a la PCR, la técnica LAMP (Amplificación isotérmica mediada por Bucle, por sus siglas en inglés), menos conocida pero que fue usada también para el diagnóstico molecular de SARS-CoV-2, causante de la COVID-19 (6), con posibilidad de adaptación a prueba de campo (7). Esta es la prueba que se usó hasta el 2022, en el aeropuerto más importante de Venezuela, Maiquetía, para la identificación de viajeros con COVID-19 retornantes al país y que n por métodos complementarios, nos permitió la rápida identificación de la entrada de la variante viral Omicron (8). En cuanto a la carga viral, ésta no tiene el mismo valor pronóstico para SARS-CoV-2 como lo tiene para VIH-1 (9).

Secuenciación de última generación: otra revolución genómica

Desde el inicio de la pandemia de COVID-19, la secuenciación genómica jugó un papel muy importante en el seguimiento de esta epidemia. Es el virus que más ha sido secuenciado en toda la historia, superando el número de secuencias con creces a las disponibles para VIH-1, por ejemplo.

La secuenciación de nueva generación (conocida como NGS por sus siglas en inglés) fue la herramienta que permitió este desarrollo, aunado a la disposición de la base de datos GISAID, para el acceso libre y universal a las más de 15 millones de secuencias disponibles para este virus para marzo 2023. La secuenciación genómica cobró particular importancia con el surgimiento de las variantes virales. Dos grandes plataformas comerciales han permitido obtener resultados muy satisfactorios en muy corto tiempo: las plataformas: los equipos de Illumina y de Oxford Nanopore (Figura 1).



Sin embargo, no todos los países disponían de las mismas capacidades de secuenciación de genomas completos, por lo que se idearon también estrategias racionales para la vigilancia genómica de las variantes del SARS-CoV-2. Un ejemplo de ello lo constituye la estrategia venezolana, que consistió en la secuenciación parcial del genoma viral (2% del genoma de más de 29.000 nt) para la identificación de mutaciones características de cada una de las variantes que circularon en el país, con una correlación de más del 99% con la secuenciación del genoma completo. Hasta la fecha se han analizado más de 10.000 secuencias parciales y unas mil de genomas completos, para describir la sucesión de variantes (Gamma, Mu, Delta, en menor proporción Alfa y Lambda, que fueron todas desplazadas por Omicron) (10) y ahora la circulación muy diversa de los distintos sub-linajes de la variante Omicron.

Sucesión de epidemias virales sin haber terminado la pandemia

Sin haber terminado la pandemia por SARS-CoV-2, la OMS decreta el 23 de Julio 2023 al brote de viruela símica, causada por el MPOX, una emergencia de salud pública de importancia internacional.

De nuevo, las herramientas moleculares juegan un papel fundamental en el seguimiento y control del brote: la PCR-RT para el diagnóstico en las lesiones y la secuenciación del genoma, para confirmar que es debido al clado africano menos agresivo, pero también para describir la

evolución del mismo y diversificación en distintos linajes. El genoma de este virus es un ADN doble cadena de cerca de 200.000 nt, con relativa poca variabilidad, lo cual implica la necesidad de obtener la secuencia del genoma completo para la asignación de linaje. En este sentido, se hizo aún más valioso el hecho de que los países se habían ido equipando de plataformas de secuenciación de nueva generación para la vigilancia genómica del SARS-CoV-2, como fue el caso en Venezuela, para el primer reporte de esta enfermedad viral en el país (11).

Conclusiones

El surgimiento de pandemias virales ha puesto más de manifiesto la importancia de las herramientas moleculares para el diagnóstico y control de estas enfermedades emergentes. La pandemia de COVID-19 y la emergencia internacional de importancia en salud pública de viruela símica han demostrado la importancia del acceso a estas herramientas en tiempo real.

Referencias

1. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996 Oct;6(10):986-94. doi: 10.1101/gr.6.10.986.
2. Poon LL, Chan KH, Wong OK, Yam WC, Yuen KY, Guan Y, Lo YM, Peiris JS. Early diagnosis of SARS coronavirus infection by real time RT-PCR. *J Clin Virol.* 2003 Dec;28(3):233-8. doi: 10.1016/j.jcv.2003.08.004.
3. PAHO. Información de la OMS para diagnóstico de laboratorio del virus pandémico (H1N1) 2009 en humanos. https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2010/Spanish-WHO_Diagnostic_RecommendationsH1N1_20090521_mco.pdf
4. Jääskeläinen AJ, Moilanen K, Aaltonen K, Putkuri N, Sironen T, Kallio-Kokko H, Vapalahti O. Development and evaluation of a real-time EBOV-L-RT-qPCR for detection of Zaire ebolavirus. *J Clin Virol.* 2015 Jun;67:56-8. doi: 10.1016/j.jcv.2015.04.003.
5. Ho DD. Viral counts count in HIV infection. *Science.* 1996 May 24;272(5265):1124-5. doi: 10.1126/science.272.5265.1124.
6. El-Kafrawy SA, El-Daly MM, Hassan AM, Harakeh SM, Alandijany TA, Azhar EI. Rapid and Reliable Detection of SARS-CoV-2 Using Direct RT-LAMP. *Diagnostics (Basel).* 2022 Mar 28;12(4):828. doi: 10.3390/diagnostics12040828.
7. Amaral C, Antunes W, Moe E, Duarte AG, Lima LMP, Santos C, Gomes IL, Afonso GS, Vieira R, Teles HSS, Reis MS, da Silva MAR, Henriques AM, Fevereiro M, Ventura MR, Serrano M, Pimentel C. A molecular test based on RT-LAMP for rapid, sensitive and inexpensive colorimetric detection of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Sci Rep.* 2021 Aug 12;11(1):16430. doi: 10.1038/s41598-021-95799-6.
8. Jaspe RC, Sulbaran Y, Loureiro CL, Moros ZC, Marulanda E, Bracho F, Ramírez NA, Canonico Y, D'Angelo P, Rodríguez L, Castro J, Liprandi F, Rangel HR, Pujol FH. Detection of the Omicron variant of SARS-CoV-2 in international travelers returning to Venezuela. *Travel Med Infect Dis.* 2022 Jul-Aug;48:102326. doi: 10.1016/j.tmaid.2022.102326.
9. da Silva SJR, de Lima SC, da Silva RC, Kohl A, Pena L. Viral Load in COVID-19 Patients: Implications for Prognosis and Vaccine Efficacy in the Context of Emerging SARS-CoV-2 Variants. *Front Med (Lausanne).* 2022 Jan 31;8:836826. doi: 10.3389/fmed.2021.836826.

10. Jaspe RC, Loureiro CL, Sulbaran Y, Moros ZC, D'Angelo P, Hidalgo M, Rodríguez L, Alarcón V, Aguilar M, Sánchez D, Ramírez J, Garzaro DJ, Zambrano JL, Liprandi F, Rangel HR, Pujol FH. Description of a One-Year Succession of Variants of Interest and Concern of SARS-CoV-2 in Venezuela. *Viruses*. 2022 Jun 24;14(7):1378. doi: 10.3390/v14071378.
11. D'Angelo P, Loureiro CL, Jaspe RC, Sulbaran YF, Rodríguez L, Alarcón V, García JM, Zambrano JL, Liprandi F, Rangel HR, Pujol FH. First Case of Monkeypox in Venezuela: Partial Complete Genome Sequence Allowed Its Grouping into the West African Clade II. *Trop Med Infect Dis*. 2022 Dec 21;8(1):2. doi: 10.3390/tropicalmed8010002.

NOTA: Toda la información que se brinda en este artículo es de carácter investigativo y con fines académicos y de actualización para estudiantes y profesionales de la salud. En ningún caso es de carácter general ni sustituye el asesoramiento de un médico. Ante cualquier duda que pueda tener sobre su estado de salud, consulte con su médico o especialista.