

EL LABORATORIO DE VIROLOGIA EN LA ATENCION DE LOS RECEPTORES DE TRASPLANTE DE CELULAS PROGENITORAS HEMATOPOYETICAS

En este número de Medicina Infantil se describe la casuística de las infecciones virales en una cohorte de pacientes pediátricos que recibieron un trasplante alogénico de células hematopoyéticas (TCPH) durante el período 2012-2016. Para ello los autores revisaron la base de datos del servicio de TCPH y registraron las infecciones virales. El estudio incluyó el diagnóstico y monitoreo para los siguientes virus: CMV, EBV, ADV, HHV-6, BKV y panel respiratorio (ADV, VSR, INF A y B, PI 1, 2 y 3) en el laboratorio de Virología Clínica del Hospital Garrahan. En pacientes con infección respiratoria y estudios virológicos negativos se amplió la búsqueda de virus respiratorios en el laboratorio de Virología del Hospital Gutiérrez, donde también se derivaron las muestras para Parvovirus y JC.

La búsqueda de los distintos agentes virales arriba mencionados se realizó en muestras variadas con diversas técnicas de acuerdo a los criterios diagnósticos y material de elección. A lo largo de los años los avances en la tecnología permitieron mejorar la sensibilidad y especificidad e incorporar la detección de nuevos agentes virales. En los inicios del Laboratorio de Virología del Garrahan se utilizaban técnicas clásicas de inmunofluorescencia y cultivo orientadas a la detección de virus respiratorios y CMV. Con los años se fue ampliando el espectro de detección con la incorporación de técnicas de biología molecular que permitieron el reemplazo de los cultivos, que son métodos lentos, laboriosos y que requieren condiciones estrictas de bioseguridad (nivel B2). Actualmente se utilizan técnicas de biología molecular cuali y cuantitativas basadas en la metodología de PCR de tiempo real. Para esto se requiere la extracción de ácidos nucleicos cuya metodología fue mejorando desde las técnicas manuales con fenol/cloroformo a los ensayos comerciales que utilizan columnas de extracción. Recientemente hemos incorporado métodos automatizados que permiten el procesamiento simultáneo de 96 muestras en menos de dos horas.

Los métodos cualitativos incorporados permitie-

ron ampliar el diagnóstico de las infecciones virales respiratorias, mejorando la sensibilidad en la detección y los tiempos de entrega de resultados, fundamentales en la atención de pacientes pediátricos complejos. En el presente se está trabajando para incorporar el diagnóstico de Rhinovirus, Parvovirus y Metapneumovirus.

Los métodos cuantitativos para el monitoreo de infecciones virales son claves en el seguimiento de pacientes inmunosuprimidos, en quienes es fundamental detectar precozmente la reactivación de las infecciones latentes. Por ello, con el tiempo, se fueron incorporando las cuantificaciones de EBV, CMV (en reemplazo del pp65), ADV, HHV-6, HSV-1 y 2, VZV y BKV.

Actualmente se enfrentan nuevos desafíos en el campo de la virología clínica para el manejo de los pacientes con TCPH, como la detección de resistencia a antivirales y la genotipificación viral. Durante el 2018 se pondrán a punto métodos de secuenciación directa para la identificación de mutaciones que confieren resistencia en CMV e Influenza A. Por otra parte, los estudios de genotipificación tienen por objetivo conocer la epidemiología molecular de los virus que infectan a esta población y relacionarlos con su posible patogenicidad. Ya iniciamos estos estudios para el ADV.

La reciente incorporación de nuevas tecnologías moleculares en el hospital, específicamente la secuenciación masiva de nueva generación (NGS: next generation sequencing) permitirá ampliar la identificación de genotipos y nuevas variantes virales como así también abordar el desafío de estudiar por primera vez el viroma presente en pacientes receptores de TCPH.

Es importante resaltar la importancia del trabajo en equipo y la coordinación entre los servicios asistenciales y el laboratorio de Virología. Esto no solo permite priorizar los estudios según su urgencia, sino también una mejor interpretación de los resultados y que la incorporación de nuevas tecnologías este orientada a la solución de los problemas reales de los pacientes.