

Presente y futuro de la virología clínica

Amalio Telenti

División de Enfermedades Infecciosas e Instituto de Microbiología. Hospital Universitario de Lausana. Suiza.

La virología clínica se enfrenta a desafíos importantes y de signo opuesto. Por un lado se perfila una necesidad de dar respuesta a un número creciente de infecciones por nuevos virus con capacidad patogénica, un aumento en la demanda de análisis de resistencia en una era de terapia antiviral, y la apuesta por la revolución tecnológica. Por otro lado, las responsabilidades de la virología clínica se están transfiriendo al laboratorio de microbiología general, con la consecuente amenaza para la formación futura de un número suficiente de especialistas en virología.

Palabras clave: Virología clínica. Formación en virología. Diagnóstico virológico. Virología médica.

The present and future of clinical virology

Clinical virology faces challenges of opposing sign. On one hand, there will be an increasing demand for identification of novel pathogenic viruses, for resistance testing in a new era of antiviral therapy, and for full participation in the molecular revolution in diagnostic technologies. On the other hand, the responsibilities of clinical virology are being transferred to the general diagnostic microbiology laboratory, that risks limiting the numbers of specialists in virology available for meeting future challenges and demands.

Key words: Clinical virology. Training in virology. Diagnostic virology. Medical virology.

Introducción

La virología, tanto en su vertiente del diagnóstico, como en sus aspectos clínicos, todavía se considera un campo de investigación básica, o una especialidad de interés menor, con un impacto clínico modesto. Sus bases están fundadas en la especialización histórica requerida para su desarrollo: principalmente el cultivo celular y la microscopía electrónica¹.

El campo del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA), el trasplante y las hepatitis, las nuevas posibilidades terapéuticas y el desarrollo del diagnóstico molecular representa un desafío a las estructuras existentes. Aunque la evidencia de estos desafíos podría suponer una demanda de

servicios virológicos altamente especializados, también puede observarse la tendencia opuesta: una banalización de los aspectos de especialidad y una transferencia de la demanda y de la consulta virológica a las prestaciones de rutina en muchos laboratorios de microbiología^{2,3}.

Los próximos años verán la evolución de esta paradoja: un desarrollo posible de la disciplina de la virología similar al observado en bacteriología en la segunda mitad del siglo anterior y, al mismo tiempo, una presencia más importante del diagnóstico virológico en la rutina del laboratorio de microbiología clínica general.

La virología clínica hoy

Los laboratorios de microbiología de suficiente envergadura ofrecen una serie de servicios de virología que utilizan una miscelánea de técnicas consideradas estándar: serología de la familia de herpes virus (incluidos citomegalovirus y virus de Epstein-Barr), y de virus con importancia durante el embarazo, cultivo viral utilizando un número limitado de líneas celulares, e incluyendo métodos de identificación rápidos, inmunofluorescencia para la identificación de un número limitado de antígenos virales, y un desarrollo más importante en el área de virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y las hepatitis, con la incursión de sistemas comerciales para la detección/cuantificación viral. Los laboratorios de nivel terciario o universitario identifican sistemáticamente 18 virus diferentes utilizando una o múltiples técnicas de cultivo, serología, detección de antígeno y biología molecular (tabla 1). La disponibilidad de un abanico más grande de técnicas o una capacidad de identificación de otras especies virales dependen principalmente del interés local y de investigación, y de demandas específicas de vigilancia epidemiológica y salud pública³.

El uso de múltiples sistemas de detección (aproximadamente 10 técnicas diferentes) para un número limitado de virus requiere una capacidad técnica elevada, y con frecuencia, una interpretación de resultados en el contexto de situaciones clínicas complejas, por ejemplo, en pacientes inmunodeprimidos. Por otro lado, la implementación de técnicas moleculares no es tan simple como sería deseable. Hay una falta de interés comercial en el desarrollo de test específicos dada la modesta demanda excepto para el VIH y el virus de la hepatitis C. Los análisis moleculares tienen un coste elevado, y un tiempo de ejecución prolongado frente a tests basados en la inmunofluorescencia, o en la serología, y son de una eficacia marginal para un número de virus. En contraste con algunos de los cultivos celulares, los análisis moleculares requieren un conocimiento previo de los virus posibles en el material. Finalmente, los criterios de interpretación de resultados de análisis moleculares, en particular resultados cuantitativos, están por establecer^{1,3}.

Correspondencia: Dr. A. Telenti.
División de Enfermedades Infecciosas e Instituto de Microbiología.
Hospital Universitario de Lausana. Suiza.
Correo electrónico: amalio@telenti@chuv.hospvd.ch

TABLA 1. Un número limitado de virus son investigados en la rutina de laboratorios de medio y gran tamaño

Virus	Técnica diagnóstica			
	Cultivo	Detección de antígeno	Detección de anticuerpos	Diagnóstico molecular
Herpes simple 1 y 2	×	×	×	○
Herpes varicela-zóster	×	×	×	○
Citomegalovirus	×	×	×	○
Virus Epstein-Barr	-	-	×	○
Hepatitis A	-	-	×	-
Hepatitis B	-	×	×	×
Hepatitis C	-	-	×	×
Hepatitis D	-	-	×	-
VIH-1 (-2)	-	×	×	×
Influenza	×	×	×	-
Parainfluenza	×	×	×	-
RSV	×	×	-	-
Adenovirus	×	×	-	-
Rotavirus	-	×	-	-
Enterovirus	×	-	-	○
Sarampión	-	-	×	-
Rubéola	-	-	×	-
Papiloma	-	-	-	○

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana; RSV: virus del sarcoma aviar de Rous; ×: técnicas generalmente utilizadas; ○: técnicas frecuentemente disponibles.

TABLA 2. Convergencia de tecnologías. Soluciones a algunos de los problemas actuales

Problema	Solución técnica
Contaminación por productos de amplificación	Sistemas a tubo cerrado (p. ej., PCR en tiempo real – Sistemas TaqMan, Molecular Beacon, Light-Cycler)
Identificación simultánea de múltiples microorganismos	<i>Microarray</i> , robots, pipeteado de ácidos nucleicos en nanoescala
Límite en la sensibilidad	Mejoras en técnicas de concentración y captura de ácidos nucleicos, análisis de la eficacia del análisis repetido

PCR: reacción en cadena de la polimerasa.

Futuro del virólogo clínico

La posibilidad de identificar patógenos virales por medio de técnicas que no necesitan el cultivo celular hace prever una integración de la virología en la microbiología general y temer por la desaparición del especialista en virología². Este fenómeno acaece al tiempo que se discuten el posible papel de nuevos virus, y de virus emergentes en la medicina clínica, y de la amenaza del bioterrorismo⁴. En la ausencia de un virólogo, es posible preguntarse qué especialista (¿el infectólogo?, ¿el microbiólogo?) se interesará en el papel de virus diversos en la patología humana y aceptará el liderazgo.

La identificación de virus “exóticos” (p. ej., fiebres hemorrágicas) presenta otro punto de confusión en la atribución de responsabilidades entre los servicios de salud pública, la medicina tropical, los laboratorios de referencia, y el virólogo del laboratorio de microbiología. La intensidad de los movimientos de población (turismo, refugiados, etc.) reclaman la puesta a punto de programas de detección y respuesta. ¿Será el virólogo la persona clave en esta estructura?

Desafíos y prioridades

Convergencia de tecnologías (tabla 2)

De los aspectos discutidos en los apartados previos se puede prever una convergencia y automatización en las técnicas de virología. La velocidad en el desarrollo de técnicas moleculares y en la instrumentación (automatización, miniaturización) hace prever una revolución técnica comparable a la de la automatización en el campo de la bioquímica clínica^{5,6}. Este fenómeno es inevitable y, por ello, debe darse la prioridad al análisis de la correlación entre resultados de pruebas moleculares y clínica. Es una paradoja que se hayan establecido técnicas moleculares eficaces y se haya avanzado en su correlación con la clínica para virus a ARN de cultivo complejo o no cultivables (el caso de VIH y de virus de la hepatitis C [VHC])⁷, y no se haya conseguido el mismo nivel de conocimientos con virus a ADN, más fácilmente cultivables, como es el caso de citomegalovirus en los diversos trasplantes de órganos.

No hay barreras imposibles al concepto “amplificar todos los virus”, que imite la estrategia de la rutina de “cultivar todas las bacterias” con importancia clínica. Al avance imparables de las tecnologías basadas en la amplificación de ácidos nucleicos, hay que añadir la posibilidad de desarrollo de otras tecnologías revolucionarias (p. ej., detección viral por

detección de ondas sonoras tras separación de las partículas recubriendo cristales de cuarzo sometidos a vibración⁸.

Sin embargo, la revolución tecnológica no debe disminuir la capacidad técnica en virología clásica, que está actualmente amenazada. Este punto ha sido recientemente puesto de relieve por la comisión americana para el estudio de virus transmitidos por artrópodos⁹.

Resistencia

La era de la terapia antiviral ha comenzado. Las posibilidades terapéuticas aumentarán la demanda de análisis de diagnósticos rápidos¹⁰, y el uso de nuevos agentes antivirales generará el problema inevitable de la resistencia. Los análisis que se deben desarrollar probablemente estarán basados en el análisis genotípico (el caso más difícil, el seguimiento de la terapia antirretroviral, debe servir de ejemplo)⁷.

Nuevos patógenos

En los últimos 25 años se han descrito 11 nuevos virus patógenos para el ser humano, algunos con un impacto epidemiológico máximo: VIH-1, VIH-2, HTLV-1, HTLV-2, virus de la hepatitis C (VHC), virus herpes humanos 6, 7 y 8 (virus del sarcoma de Kaposi), Parvovirus B19, nuevos Hantavirus, y el virus Nipah. La mayoría fueron identificados con ayuda de las nuevas técnicas de investigación molecular. No hay ninguna razón para pensar que la lista se vaya a acabar ahí. En juego está además el análisis de factores virales en oncogénesis, y una lista larga de enfermedades de etiología desconocida. La cuantificación y el análisis molecular llevará también a la necesidad de crear el concepto "normal viral flora" (p. ej., en sangre). La investigación sobre el genoma humano potenciará el campo de la retrovirología endógena y la evaluación del papel de retrovirus en la patogenia de enfermedades diversas.

El campo de los priones podría constituirse como una prioridad en la medicina humana en un futuro. Resta por

definir qué laboratorio (¿virología?) sería el más apropiado para este desafío.

El binomio huésped-parásito

La virología (y la microbiología) actual examina el patógeno fuera del contexto del huésped infectado. El proyecto genoma, y los análisis posgenoma facilitarán el estudio de la relación del paciente con su agente infeccioso. De nuevo, el VIH está marcando la pauta con la identificación de un número en rápido aumento de genes que modifican la respuesta a la infección (protección, progresión, y respuesta al tratamiento)¹¹. Esta información será un día parte integrante de la evaluación diagnóstica y del manejo clínico.

Bibliografía

1. Madeley CR. The future of diagnostic virology. *Clin Microbiol Infect* 1999;5:657-61.
2. Madeley CR. The future of diagnostic virology, part 2: Staffing the service. *Clin Microbiol Infect* 2000;6:344-9.
3. Storch GA. Diagnostic virology. *Clin Infect Dis* 2000;31:739-51.
4. Berche P. The threat of smallpox and bioterrorism. *Trends Microbiol* 2001;9:15-8.
5. Mackay IM, Arden KE, Nitsche A. Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Res* 2002;30:1292-305.
6. Carman B. Molecular techniques should now replace cell culture in diagnostic virology laboratories. *Rev Med Virol* 2001;11:347-9.
7. Telenti A. New developments in laboratory monitoring of HIV-1 infection. *Clin Microbiol Infect* 2002;8:137-43.
8. Cooper M, Dultsev FN, Minson T, Ostanin VP, Abell C, Klenerman D, et al. Direct and sensitive detection of a human virus by rupture event scanning. *Nat Biotech* 2001;19:833-7.
9. Calisher CA, American Committee on Arthropod-borne viruses. Identification of arboviruses and certain rodent-borne viruses: Reevaluation of the paradigm. *Emerg Infect Dis* 2001;7:756-8.
10. Smith TF. Susceptibility testing. *Viral pathogens. Infect Dis Clin North Am* 2001;15:1263-94.
11. Telenti A, Aubert V, Spertini F. Individualizing HIV treatment -pharmacogenetics and immunogenetics. *Lancet* 2002;359:722-3.