

Un paso más allá del diagnóstico etiológico

*DRA. ALICIA S. MISTCHENKO^a; DRA. MARIANA VIEGAS^a; DRA. LAURA E. VALINOTTO^a;
BIOQ. SILVINA B. LUSSO^a; BIOQ. MÓNICA I. NATALE^a; LIC. ESTEFANÍA TITTARELLI^a
LIC. STEPHANIE GOYA^a*

Los virus patógenos humanos son motivo de múltiples investigaciones en salud pública por ser altamente contagiosos pudiendo provocar consecuencias en la morbilidad y la mortalidad de la población.

Debe conocerse con premura la naturaleza de los virus circulantes en la población humana. Evaluar su virulencia, respecto de los que se detectaron en años anteriores en los sitios primarios de transmisión. También es necesario determinar si los que se presentan actualmente son variantes nuevas. Para ello se debe abordar la problemática mediante estudios de variabilidad génica, con el fin de detectar polimorfismos y divergencias, así como realizar análisis filogenéticos y filogeográficos. A su vez, se pueden ampliar las investigaciones sobre los factores de patogenicidad y virulencia asociados.

En el Laboratorio de Virología del Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez (HNRG) se realiza el diagnóstico de numerosos agentes virales. En el Área de Secuenciación del Laboratorio, los proyectos de genómica viral han sido tema de investigación en los últimos años. La población que acude al Laboratorio de Virología del Hospital –que no es sólo pediátrica sino también adultos–, representa los casos más graves y raros. Funciona como un sensor de la circulación viral, lo que permite monitorear la circulación de cepas conocidas y emergentes en tiempo real. Para llevar a cabo estos objetivos, se requiere una capacidad de secuenciación local que sea flexible y esté disponible en el mismo sitio de detección del virus.

El desarrollo de las metodologías de secuenciación del ADN, en particular la técnica de Sanger, han proporcionado información de alta definición, tales como la secuencia del genoma primario. Desde el año 2000, el laboratorio del HNRG incorporó la utilización de la tecnología de secuenciación de rutina, a través de la adquisición de un secuenciador automático. Luego en el año 2009, frente a la necesidad de responder a la pandemia de gripe A, se renovó con la adquisición de un nuevo secuenciador ABI 3500. Esta técnica es utilizada habitualmente en los estudios que se realizan en el laboratorio de virología del HNRG, con el fin de lograr la vigilancia epidemiológica molecular así como profundizar en el conocimiento de los virus con los que se trabaja. En el Laboratorio se realiza no sólo el diagnóstico, sino también se estudia a nivel molecular gran parte de los virus detectados con el fin de confirmarlos, tipificarlos y evaluar la resistencia a los antivirales. Los virus más frecuentemente analizados **son los virus respiratorios como adenovirus, para-influenza, influenza, sincicial respiratorio (HRSV), metapneumovirus y rinovirus; virus emergentes como dengue, Chikungunya y San Luis; virus inmunoprevenibles como sarampión y rubéola; y otros como virus papiloma, citomegalovirus, herpes simplex y rotavirus.**

A su vez, se realizan estudios que permiten conocer y evaluar los tiempos de dispersión, origen y movimiento de las distintas cepas circulantes o que forman parte de un brote. Esto permite evaluar la divergencia evolutiva entre las cepas originarias de los virus o grupos de dispersión a partir de importaciones del virus a la comunidad desde diferentes países. Secuenciar la totalidad del genoma de los virus facilita la exploración de mutaciones compensatorias que afectan la

a. Área de Secuenciación del Laboratorio de Virología del Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez.
labseqhnr@gmail.com

virulencia y la capacidad de replicación o aptitud de las cepas locales.

El avance de las tecnologías de secuenciación del ADN, particularmente la secuenciación masiva de nueva generación (NGS), proporciona un impulso adicional. La profundidad de exploración de las secuencias arroja datos definitivos de alta calidad en menor tiempo permitiendo una visión más amplia de la genómica de los virus, basándose en poblaciones en lugar de entidades únicas.

El Laboratorio del HNRG trabaja para mantenerse actualizado con las nuevas tecnologías e incluirlas como herramienta de rutina en sus investigaciones. Se encuentran en desarrollo diferentes proyectos donde se implementa la secuenciación de última generación para obtener información de genomas virales completos y producir resultados innovadores. Un ejemplo es el caso de pacientes con infecciones por HRSV con excreción prolongada, ensayos con NGS permiten analizar la dinámica de las poblaciones virales, proporcionando secuencias de gran cantidad de variantes virales en cada momento de la infección. Estos resultados no podrían ser obtenidos por medio de las técnicas de clonado convencionales, debido a la demanda de trabajo y tiempo que éstas requerirían. Mientras más fina sea la calidad de los datos disponibles para análisis, más poderosa será la inferencia biológica.

Sin embargo, los avances en la secuenciación del genoma también crean un gran desafío intelectual, más allá del simple incremento de complejas bases de datos genómicas, para responder a cuestiones sencillas sobre la biodiversidad viral y la epidemiología molecular. Por lo tanto, es fundamental orientar el poderío de la información genómica para resolver las preguntas de relevancia biológica, imposibles de concretar con anterioridad.

Gracias a la tecnología que posee el laboratorio así como la experiencia en secuenciación genómica adquirida en estos años, fue posible interactuar con médicos dermatólogos del HNRG en pos de su inquietud en responder al diagnóstico de genodermatosis desde el punto de vista molecular, no realizado hasta el momento en el país. A partir de esta interacción y gracias a la posibilidad de llevar a cabo el diagnóstico molecular de enfermedades tales como **epidermólisis ampollar, síndrome de Kindler e incontinencia pigmenti** entre otras, es que se conformó el “**Centro de Investigaciones en Genodermatosis y Epidermólisis Ampollar (CEDIGEA)**”.

A partir de lo expuesto es importante contar con la infraestructura y el entrenamiento en la última tecnología en secuenciación y los recursos bioinformáticos asociados y ponerlos a disposición de la comunidad científica para concretar proyectos de alto impacto a nivel genómica.

