

# Introducción

Concepción Gimeno Cardona<sup>a</sup> y Gustavo Cilla Eguiluz<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario y Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. Valencia. España.

<sup>b</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Donostia. San Sebastián. Guipúzcoa. España.

La introducción en los laboratorios de microbiología clínica de técnicas basadas en el estudio de los genomas microbianos (técnicas moleculares) comenzó hace aproximadamente 20 años. Las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos desarrolladas para identificar ciertas especies bacterianas fueron las primeras y, aunque muy utilizadas en esos años iniciales, fueron en gran parte desplazadas en los años siguientes por las técnicas de amplificación del ácido desoxirribonucleico. Aquellos inicios tímidos han dado paso a un verdadero arsenal de técnicas, muchas de las cuales forman ya parte del trabajo diario de los laboratorios de microbiología. La evolución ha sido especialmente rápida en el último período, pero todo hace suponer que los años venideros van a seguir siendo tan o más innovadores.

En microbiología clínica, las técnicas moleculares son útiles para detectar microorganismos patógenos en muestras clínicas, identificar especies microbianas, realizar la caracterización epidemiológica (clasificación en genogrupos, genotipos, clones, etc.), estudiar resistencias a fármacos (análisis de mutaciones), llevar a cabo el seguimiento de tratamientos antivirales (carga viral), etc. En esta monografía se ha revisado el papel que las técnicas moleculares –especialmente las basadas en la amplificación de ácidos nucleicos– tienen actualmente en el diagnóstico microbiológico clínico, dado el gran desarrollo que este campo está experimentando y su creciente repercusión en el terreno comercial. Baste pensar en la importante aportación de las técnicas moleculares al diagnóstico de meningitis y encefalitis, de infecciones respiratorias, de hepatitis virales e infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), de infecciones en pacientes inmunodeprimidos (virus JC, citomegalovirus, *Pneumocystis*...), de infecciones de transmisión sexual (*Chlamydia*, papilomavirus), etc. Actualmente, las técnicas moleculares son la mejor (y a veces la única) manera de diagnosticar infecciones causadas por microorganismos no cultivables, como norovirus, u otros de cultivo difícil, lento y/o laborioso, como metapneumovirus humano, *Chlamydia*, *Leishmania*, etc.

Sin embargo, las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos tienen limitaciones que debemos conocer. Su implantación en los laboratorios requiere un estudio de idoneidad de las instalaciones, e incluso, en ocasiones, efectuar pequeñas modificaciones estructurales. Además,

es preciso contar con personal especialmente entrenado. En el día a día, los problemas más habituales se relacionan con la presencia potencial de factores inhibidores de la amplificación en las muestras clínicas y con el riesgo de contaminación con ácidos nucleicos procedentes de reacciones previas (amplicones), durante los procesos de trabajo. También la valoración de resultados positivos de microorganismos que pueden ser colonizantes, además de patógenos, en ocasiones plantea dificultades. Protocolos de trabajo contrastados y fiables, y un control de calidad sistematizado, son pilares esenciales para conseguir unos buenos resultados. Además, la llegada de nuevas tecnologías muy sensibles (p. ej., la amplificación en tiempo real), menos susceptibles a contaminaciones, de manejo más sencillo, y que permiten una mayor flexibilidad a la hora de organizar el trabajo y rapidez de respuesta ante peticiones urgentes, está facilitando la implantación cada vez mayor de las técnicas moleculares. Asimismo, la comercialización progresiva de reactivos, equipos (*kits*) e instrumentos aprobados para el diagnóstico por parte de organismos reguladores (p. ej., marcado CE), favorecen la normalización de estas técnicas y su uso cada vez más extendido.

Por tanto, la introducción de técnicas moleculares, que alcanza ya a casi todas las áreas de trabajo de los laboratorios de microbiología clínica, bien en sustitución, bien como complemento o ampliación de las más tradicionales, está potenciando de modo importante la capacidad diagnóstica. Debido a la variedad de enfermedades infecciosas para las que se han desarrollado técnicas de diagnóstico molecular, la presente monografía se ha centrado en enfermedades de importancia para la salud humana en nuestro medio, para las que existen métodos de diagnóstico molecular de uso ya extendido en los laboratorios de microbiología, o con vocación de serlo en un futuro cercano. Los autores son profesionales con una experiencia amplia y reconocida en los temas tratados en los artículos que han elaborado. Por último, y a pesar de la importancia histórica que la infección por el VIH ha tenido en la implantación del diagnóstico molecular en los laboratorios de microbiología, en esta ocasión ha quedado deliberadamente al margen, porque las técnicas empleadas en este contexto son en gran parte técnicas de uso generalizado, introducidas en los laboratorios desde hace ya algunos años, de las que se han realizado con anterioridad numerosas y excelentes revisiones.