

Cargas virales en pacientes trasplantados y genotipificación de Citomegalovirus

(Viral loads in transplant patients and Cytomegalovirus genotyping)

Elizabeth Rojas-Cordero¹, María Rodríguez-Sevilla², Álvaro Herrera-Muñoz³, James Karkashian-Córdoba⁴

Resumen

Objetivo: Determinar el curso de infecciones virales por un periodo de un año, mediante la medición de la carga viral de Adenovirus, virus BK, virus Epstein-Barr, Citomegalovirus y Herpesvirus humano 6, en 30 pacientes del Hospital San Juan de Dios, sometidos a trasplante de riñón o células progenitoras hematopoyéticas.

Métodos: Se determinaron las cargas virales en diez muestras de sangre por paciente: una muestra pretrasplante, ocho muestras obtenidas cada dos semanas postrasplante y una última muestra a los seis meses posteriores al trasplante. La cuantificación de los virus se realizó por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real y, solo en el caso del Adenovirus, por reacción en cadena de la polimerasa de punto final. También se determinaron los genotipos de Citomegalovirus en los pacientes positivos para este virus, utilizando una reacción en cadena de la polimerasa dirigida al gen de la glicoproteína B y secuenciación de los fragmentos amplificados. Las secuencias obtenidas fueron comparadas y alineadas con una secuencia de referencia, utilizando el programa Clustal Omega.

Resultados: Al 77 % de los pacientes se les detectó al menos uno de los cinco virus analizados y el virus con mayor prevalencia fue el Citomegalovirus, con un 57% de positividad del total de la población. El genotipo de Citomegalovirus que más se detectó fue el genotipo 3. Se monitoreó el comportamiento de las cargas virales para cada virus analizado y la proporción de su incidencia entre pacientes masculinos y femeninos.

Conclusiones: La cuantificación y caracterización de virus en pacientes de trasplante, permite un mejor manejo clínico del paciente con infecciones oportunistas y también un manejo más adecuado de las terapias farmacológicas.

Descriptor: Trasplante, Inmunosupresión, Carga viral, Genotipo.

Summary

Aim: The objective of this study was to determine the course of viral infections during a period of one year, by measuring viral loads for Adenovirus, BK virus, Epstein-Barr virus, Cytomegalovirus and Human herpesvirus 6, in 30 patients from the San Juan de Dios National Hospital, undergoing kidney or hematopoietic progenitor cell transplants.

Methods: Viral loads were determined in ten blood samples from each patient: a pre-transplant sample, eight samples obtained at two-week intervals post-transplant and one last sample at six months post-transplant. Viral quantification was performed by

Afiliación de los autores:

¹Hospital San Juan de Dios, Laboratorio de Biología Molecular.

²Hospital San Juan de Dios, Servicio de Hematología, San José, Costa Rica. ³Hospital San Juan de Dios, Servicio de Nefrología.

⁴Universidad de Costa Rica, Escuela de Biología, Laboratorio de Biología Molecular, San José, Costa Rica.

Abreviaturas: BK virus, BKV; Caja Costarricense del Seguro Social, CCSS; Citomegalovirus, HCMV; Virus Epstein Barr, EBV; Genotipo 3, gB3; Herpes 6, HHV6; Hospital San Juan de Dios, HSJD; Trasplante de riñón, TR; Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas o médula ósea, TMO.

Fuentes de apoyo: pruebas de gabinete para pacientes trasplantados, Laboratorio de Biología Molecular, Laboratorio Clínico Dr. Clodomiro Picado T.

Conflicto de interés: no existió un potencial conflicto de interés entre los autores participantes.

✉ elirojc@gmail.com



Esta obra está bajo una licencia internacional: Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0.

real-time polymerase chain reaction and, only for Adenovirus, by end-point polymerase chain reaction. Also, Cytomegalovirus genotypes were determined in patients that tested positive for this virus, by polymerase chain reaction directed towards the glycoprotein B gene and sequencing of the amplified fragments. These sequences were compared and aligned with a reference sequence, using the Clustal Omega Program.

Results: The results of the study indicated that 77% of the patients had at least one of the five viruses detected and the virus with the highest prevalence was Cytomegalovirus, exhibiting 57% positivity in the total population studied. The most frequent Cytomegalovirus genotype detected was genotype 3. The viral load behavior was monitored for each virus analyzed as well as the incidence proportion between male and female patients.

Conclusions. Viral quantification and characterization in transplant patients allows for better clinical management of patients with opportunistic infections and also a better management of pharmacological therapies.

Keywords: Transplantation, Immunosuppression, Viral load, Genotype.

Fecha recibido: 18 de diciembre 2019

Fecha aprobado: 19 de agosto 2021

El reemplazo de células, tejidos u órganos humanos es utilizado como terapia para restaurar o establecer la función normal de un tejido u órgano dañado.¹

Desde que se realizó el primer trasplante con éxito se ha generado una vasta experiencia en el tema, desarrollando una serie de procedimientos que dependen del tipo de trasplante que se realice.

Cuando se habla de trasplante de órganos sólidos como es el caso del riñón, el órgano por lo general proviene de un donante que puede ser vivo o también de un donante muerto, que sea compatible con el receptor o persona trasplantada.²

En el caso de los trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas o de médula ósea, los criterios se vuelven más selectivos y por la misma complejidad, se ha establecido una clasificación con el fin de escoger el más apropiado para el paciente enfermo. Varias enfermedades relacionadas con células progenitoras hematopoyéticas han sido tratadas exitosamente por alotrasplante de médula ósea.²

Los virus pertenecientes al grupo de los Herpesvirus, son los que más frecuentemente infectan al paciente trasplantado. La importancia de los Herpesvirus en esta población se justifica por su ubicuidad y por su capacidad de producir latencia, lo que permite al virus reactivarse y comenzar su

ciclo replicativo en condiciones en las que existe una disminución de la vigilancia inmunológica, como sucede en los trasplantes.³

Existen factores asociados al trasplante a partir de los cuales se toman decisiones para el manejo terapéutico del paciente. Dentro de estos factores están los estados de neutropenia e inmunosupresión desencadenados por los medicamentos aplicados para que el injerto se logre con éxito y se disminuya la posibilidad de rechazo del trasplante.⁴ Otro factor es la aparición de infecciones dadas por la reactivación de virus en estado de latencia que se haya establecido previamente, aún desde etapas tempranas de la niñez.⁵ La latencia de las infecciones virales se caracteriza por tres propiedades generales: los productos de los genes virales que promueven la reproducción de los virus en pocas cantidades, las células que albergan al genoma latente y son poco reconocidas por el sistema inmune y la persistencia del genoma viral intacto para que se inicie una infección productiva posterior, garantizando la difusión de la progenie viral hacia nuevos hospederos.⁶ La latencia de ciertos genomas de Herpesvirus se puede mantener en forma de episoma en células en división, como es el caso del virus Epstein-Barr (EBV) en las células B o en la infección por Citomegalovirus en las células salivales y de glándula mamaria. La infección por Citomegalovirus (HCMV) es una

de las causas más significativas de morbilidad y mortalidad en individuos que se ven afectados por episodios de inmunodepresión como es el caso de los trasplantes.⁷ El HCMV representa la primera causa de infección primaria en humanos y se mantiene en latencia durante toda la vida, por lo que puede darse una reactivación que provoque una reinfección.⁶ La tasa de seropositividad de la población en general en países desarrollados, oscila entre el 30% y 70%, y es mayor en sujetos de mayor edad y bajo nivel socioeconómico.⁸

La glicoproteína B del HCMV (gB) es una proteína altamente inmunogénica incorporada en la envoltura viral, que ejerce un papel biológico esencial en la interacción con el hospedero del virus, ya que participa en la entrada, propagación y replicación del virus en diferentes células hospederas.^{9,10} Las cepas de HCMV de tipo silvestre se pueden clasificar en cuatro variantes genotípicas gB mayores (gB 1-4), basadas en la secuencia de gB. Cada una de ellas tiene tropismo por líneas celulares distintas, lo que conduce a diferencias en patogénesis y gravedad de la enfermedad.

Por lo tanto, la caracterización genotípica de cepas de HCMV que infectan a individuos inmunocomprometidos puede contribuir a estudios moleculares epidemiológicos y a la definición del papel de la variabilidad genética viral en la expresión clínica y en el pronóstico.¹¹

El objetivo del presente estudio fue determinar el curso de infecciones virales por un periodo de un año, mediante la medición de la carga viral de Adenovirus, virus BK, virus Epstein-Barr, Citomegalovirus y Herpesvirus humano 6, en pacientes sometidos a trasplante de riñón o células progenitoras hematopoyéticas, atendidos en el Hospital San Juan de Dios (HSJD).

Métodos

Pacientes: Se estudiaron treinta pacientes mayores de 12 años con diagnóstico de trasplante de riñón (TR) y trasplante de células progenitoras hematopoyéticas o médula ósea (TMO). Se analizaron las muestras de pacientes del Servicio de Nefrología y del Servicio de Hematología del HSJD de la Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS), durante un periodo de un año (septiembre 2015 a setiembre 2016). La cantidad de pacientes

trasplantados en el estudio se calculó con base en el comportamiento histórico anual que se ha registrado en el HSJD en años anteriores (Fuente: Servicio de Nefrología y Hematología, HSJD-CCSS). Todos los pacientes realizaron el proceso de consentimiento informado, de acuerdo con los procedimientos y el protocolo establecido por el Comité Local de Bioética e Investigación del HSJD, CCSS (CLOBI).

Método: Se recolectó sangre a través de punción venosa en tubos Vacutainer con anticoagulante EDTA. Se centrifugó a 2000 g (4400 r.p.m.) por 20 minutos, con el fin de separar el plasma con el cual se trabajó. La medición realizada fue de 10 muestras por paciente que incluyeron: una muestra pretrasplante que correspondió a la medición 1 y luego 8 muestras cada quince días posteriores al trasplante por un periodo de 4 meses (mediciones 2 a 9) y una última muestra a los 6 meses posteriores al trasplante (medición 10).

Cuantificación y detección del ácido nucleico de los virus: Se realizó la cuantificación de virus BK, HCMV, EBV y HHV6 por medio de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, para conocer la carga viral de cada uno. Solamente en el caso de Adenovirus, la detección se realizó de manera cualitativa, por PCR de punto final.

Para HCMV, se utilizó la técnica y equipos de la casa comercial ABBOTT. La extracción del ácido nucleico fue a través de partículas electromagnéticas que atrapan los ácidos nucleicos en el equipo de Abbott m2000sp. Posteriormente se realizó el montaje de la mezcla de reacción y finalmente se realizó la detección y cuantificación de la carga viral del HCMV en el equipo Abbott m2000rt. Para el resto de los virus, se realizó una sola extracción del ácido nucleico a través de columnas de la marca QIAGEN en el instrumento QIAcube. El principio de la técnica se basa en varios ciclos de centrifugación a través de los cuales el material genético viral queda atrapado en las columnas que son de gel de sílice y luego el ADN es liberado por medio de una solución de elución, para ser recolectado en tubos de polipropileno. El volumen final del ácido nucleico extraído fue de 100 uL. A partir de ese ADN extraído, se realizó el montaje de cada mezcla de reacción según fuera el virus a determinar y por medio de PCR en tiempo

real se determinó la carga viral de cada virus. Las reacciones de PCR en tiempo real se realizaron en el equipo Rotor Gene de QIAGEN. En el caso de Adenovirus, se utilizaron reactivos de la casa comercial SECASE para el montaje de la mezcla de reacción y se realizó la amplificación del ácido nucleico mediante un PCR de punto final, en un termociclador de la casa comercial Applied Biosystems. Luego se hizo la corrida electroforética del fragmento amplificado en un gel de agarosa teñido con bromuro de etidio y se visualizó a través de un transiluminador con luz ultravioleta. Las muestras fueron clasificadas cualitativamente como positivas o negativas. Las cargas virales del resto de los virus fueron reportadas en términos de copias/mL. Toda carga viral mayor al límite inferior de detección se consideró prueba positiva y los límites superiores e inferiores de detección fueron determinados por lo establecido por las casas comerciales y recomendaciones del fabricante.

PCR anidado y detección del genotipo del HCMV: Las cargas virales positivas por HCMV se guardaron en un congelador que mantiene muestras a -80 °C. Para efectos de la determinación de genotipos de HCMV, se trabajó únicamente con cargas virales superiores a 1000 copias/mL⁶ y se realizó un PCR anidado para verificar la presencia de material genético viral mediante un gel de agarosa. Se realizó una extracción de ácido nucleico a partir de las muestras guardadas y seleccionadas para el análisis de genotipo, utilizando columnas de la marca QIAGEN en el instrumento QIACube. Para el PCR anidado se utilizó una mezcla de reacción de la casa comercial Thermo Scientific N°K0171. Para la primera ronda de amplificación, los oligonucleótidos iniciadores externos utilizados fueron gB 1319 (5'TGGAACCTGGAACGTTTGGC3') y gB 1676 (5'TGACGCTGGTTTGGTTGAATG3'). Para la segunda ronda del PCR anidado se utilizaron los iniciadores gB 1319 (5'TGGAACCTGGAACGTTTGGC3') y gB 1604 (5'GAAACGCGCGCAATCGG3'). Todos los iniciadores se estandarizaron para ser utilizados a una concentración final de 10 uM. La mezcla de reacción tuvo un volumen final de 50 uL incluyendo la solución de reacción, cada uno de los iniciadores, ADN de cada muestra clínica y agua libre de nucleasas. Las condiciones de PCR fueron las siguientes: una desnaturalización inicial a 95 °C

por 3 minutos, 25-40 ciclos con desnaturalización a 95 °C por 30 segundos; hibridación a Tm 55 °C por 30 segundos y extensión a 72 °C por 1 minuto, con una extensión final a 72 °C por 5-15 minutos.

El producto amplificado de 357 pb de la primera ronda, fue visualizado en un gel de agarosa al 2 % teñido con bromuro de etidio. Se realizó un PCR anidado de todas las muestras amplificadas de la primera ronda, para obtener un fragmento amplificado de 285 pb. Las condiciones y cantidades para la segunda ronda fueron las mismas que para la primera, pero con los iniciadores mencionados anteriormente. Para la secuenciación se contrataron los servicios del CIBCM (Centro de Investigación en Biología Celular y Molecular de la Universidad de Costa Rica) donde las muestras fueron analizadas en el equipo ABI 3500. Las secuencias obtenidas de los pacientes se editaron, con el fin de dejar únicamente la secuencia nucleotídica que corresponde a los codones 441-511 del gen para la glicoproteína B (gB) del HCMV humano. Para ello se realizó un alineamiento de las secuencias obtenidas con la secuencia de referencia *Human Herpesvirus 5 strain HANRTR5, complete genome* (número de acceso KY123652.1), utilizando el programa DNA Baser (Version 4.36.0.2.). Se comparó la secuencia de aminoácidos mediante un análisis Blast en el sitio NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) y se realizó un alineamiento de Clustal de las secuencias de aminoácidos para comparar las posiciones de los aminoácidos en la proteína. El alineamiento de Clustal se realizó mediante la herramienta Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>).

Resultados

De la muestra seleccionada con 30 pacientes, 21 fueron sometidos a TR y 9 fueron sometidos a TMO y la distribución por sexo fue de 15 hombres y 15 mujeres, con solo un paciente menor de 18 años. Además, un paciente presentó un rechazo del injerto al segundo día tras realizado el trasplante y tres fallecieron aproximadamente al mes y medio de haber recibido el injerto. Se encontró que 23 pacientes (77 %) evidenciaron resultados positivos para al menos uno de los virus analizados (Cuadro 1).

Cuantificación y detección del ácido nucleico de los virus:

El cuadro 1 muestra los virus encontrados por cada paciente. En total se encontraron 7 pacientes positivos para adenovirus, de los cuales 3 corresponden a TMO y 4 a trasplante de riñón. El virus BK fue detectado en 5 casos, de los cuales 2 fueron de TR y 3 de TMO.

El virus que más se detectó fue el HCMV, con 17 casos que corresponden a 11 de TR y 6 de TMO. El virus EBV fue el que menos se detectó, con solo 2 casos y finalmente el HHV6 con 3 casos positivos.

En los pacientes positivos por Adenovirus, se obtuvo una medición cualitativa positiva en la medición 3, dos en la 4, una en la 5, uno en la 6, uno en la 7 y uno en la medición postrasplante. El cuadro 2 muestra la cantidad de pacientes positivos según el virus y sexo del paciente. En general hubo más virus presentes en la población femenina que en la masculina. El Adenovirus presentó 6 casos en mujeres y 1 caso en hombres.

De los 5 casos positivos por virus BK, 2 fueron masculinos y 3 femeninos. El HCMV mostró un comportamiento casi igual entre hombres y mujeres, ya que del total de 17 casos positivos 9 fueron masculinos y 8 femeninos. Para el virus Epstein-Barr solo hubo un caso femenino y uno masculino, mientras que para HHV6 se presentaron 2 casos en mujeres y uno en hombres.

La figura 1A muestra el comportamiento en el tiempo de las determinaciones de la carga viral de los pacientes positivos por BKV. Se observó que en el paciente 15 se elevó la carga viral de manera significativa durante la medición 5, luego decayó y volvió a elevarse en la medición 9, mientras que en

los demás pacientes se detectaron mediciones de siete a nueve en el estudio.

La figura 1B muestra el comportamiento de la carga viral en el tiempo para el virus Epstein-Barr en los pacientes 23 y 24. En ambos pacientes se detecta el virus en la cuarta medición.

Los tres únicos casos que fueron positivos para HHV6 se muestran en la figura 1C, donde se observa un comportamiento similar. El paciente 3 se detectó en la medición 2 mientras que los pacientes 13 y 19 se detectaron durante la medición tres del estudio.

La figura 1D muestra el comportamiento en el tiempo de las cargas virales de los pacientes positivos por HCMV. Este fue el virus que más casos positivos reportó, con valores elevados de carga viral.

El paciente 15 y el paciente 23 fueron los únicos pacientes a los cuales se les detectaron varios virus simultáneamente, como se observa en la figura 2.

PCR anidado y detección del genotipo del HCMV:

De los 17 casos positivos para HCMV, solo se tomaron en cuenta 13 pacientes que presentaron cargas virales con valores mayores a 1000 copias/mL. De estos 13 pacientes, solamente se logró obtener amplificación de 11 muestras en la segunda ronda de PCR y 8 de estas muestras correspondieron a pacientes de TR y las otras 3 restantes fueron de pacientes de TMO. Las bandas obtenidas presentaron un tamaño de aproximadamente 285 pb. Finalmente, de las 11 muestras amplificadas en la segunda ronda de PCR, se lograron secuenciar y analizar exitosamente las muestras de 10 pacientes (cuadro 3). Sólo un paciente (número 15) presentó el genotipo 1 de HCMV, mientras que los demás mostraron el genotipo 3. No se detectó ninguna infección mixta en los pacientes.

Cuadro 1. Distribución de los 30 pacientes con trasplante de riñón (TR) y trasplante de células progenitoras hematopoyéticas o medula ósea (TMO) según el tipo de virus encontrado, periodo septiembre del 2015 a septiembre del 2016, Servicio de Nefrología y Servicio de Hematología del Hospital San Juan de Dios, Caja Costarricense de Seguro Social.

Sexo	Adenovirus	BKV	HCMV	EBV	HHV6	TOTAL
Masculino	1	2	9	1	1	14
Femenino	6	3	8	1	2	20
TOTAL	7	5	17	2	3	34

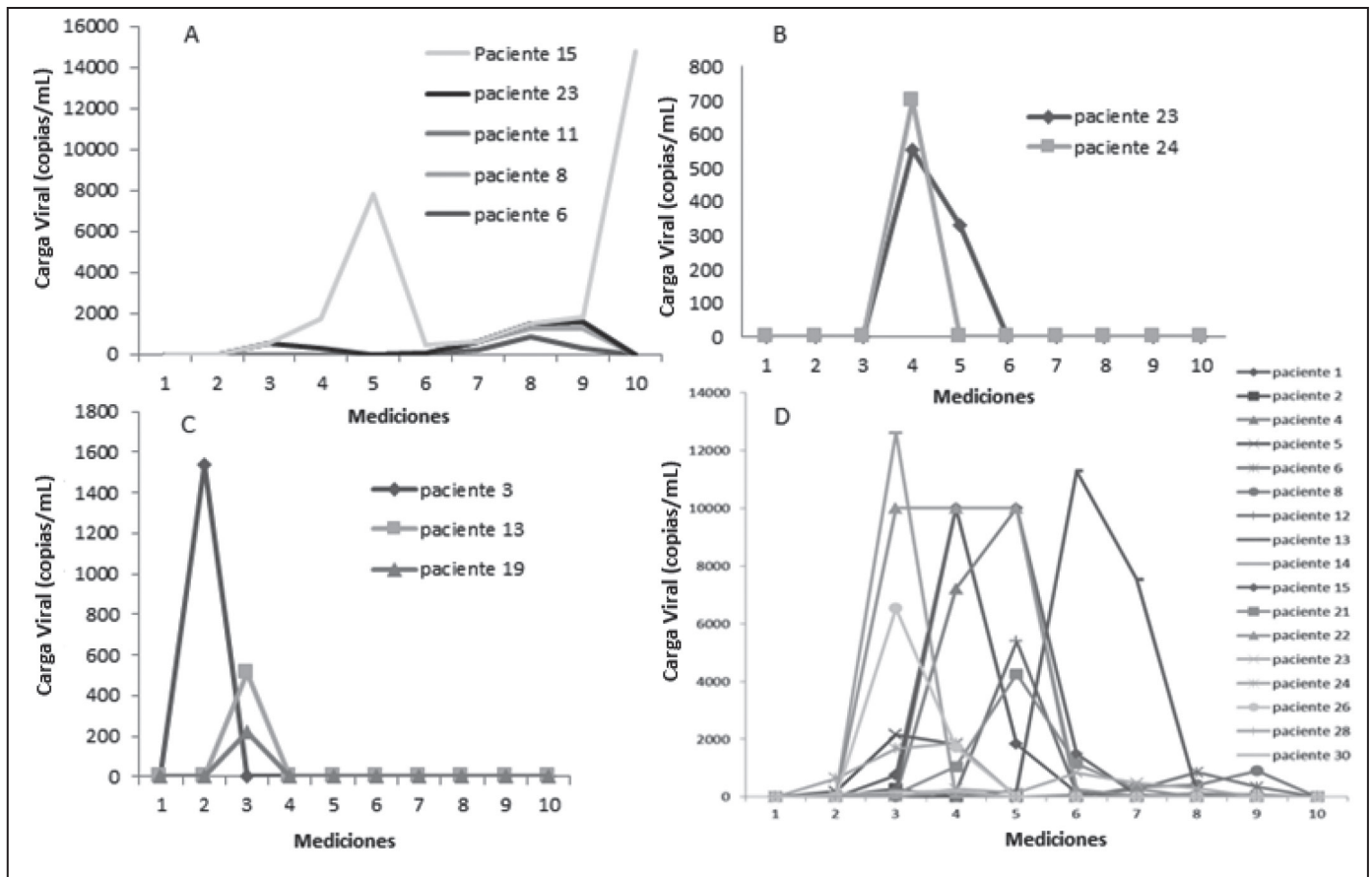


Figura 1. Mediciones en el tiempo de las cargas virales en los pacientes de TMO y TR, con resultados positivos por cuatro virus seleccionados: **A.** BKV, **B.** EBV, **C.** HHV6 y **D.** HCMV. La medición 1 es pretrasplante, las mediciones 2-9 se realizaron cada 15 días postrasplante y la medición 10 se realizó a los 6 meses posteriores al trasplante; periodo de septiembre del 2015 a septiembre del 2016, Servicio de Nefrología y Servicio de Hematología del Hospital San Juan de Dios, Caja Costarricense de Seguro Social.

Discusión

Durante un año se realizó la detección de cinco virus en treinta pacientes de TR y TMO del Hospital San Juan de Dios, se contó con la aprobación de un consentimiento informado por parte de cada uno de los pacientes.

En particular, los pacientes trasplantados de medula ósea por la medicación previa que reciben, sufren de una alta depleción de células, en especial linfocitos, lo que conlleva a propiciar un ambiente favorable para que se desarrollen muchos microorganismos, en especial los virus. Estas infecciones virales se pueden desarrollar por una primoinfección o bien latencia existente por infecciones pasadas y según lo demuestran ensayos clínicos el 30% de las muertes por infecciones después de un trasplante se deben a los virus.¹⁵ También se ha observado en esta población de

pacientes, infecciones concomitantes de varios virus a la vez.¹⁵

Generalmente la activación de los Herpesvirus comunes como el HCMV, promueve la reactivación de otros Herpesvirus en latencia como son el EBV, virus BK y Adenovirus. Del total de pacientes de este estudio, siete resultaron positivos por Adenovirus es decir, un 23% lo que concuerda con otros estudios que indican que la incidencia de Adenovirus en pacientes trasplantados es superior al 21%.^{13,14}

El manejo terapéutico con antivirales hace que la carga viral disminuya como se observó en este estudio donde los pacientes pasaron varias mediciones positivas pero luego la carga viral cae a niveles indetectables por el suministro de fármacos. Cabe mencionar que estos tratamientos lamentablemente traen efectos secundarios al paciente, sobre todo anomalías hematológicas, principalmente neutropenia, anemia y trombocitopenia.¹⁷ Por lo

Cuadro 2. Distribución de los 30 pacientes según las detecciones virales y el tipo de trasplante, periodo de septiembre del 2015 a septiembre del 2016, Servicio de Nefrología y Servicio de Hematología del Hospital San Juan de Dios, Caja Costarricense de Seguro Social.							
NÚMERO DE PACIENTE	SEXO DEL PACIENTE	TIPO DE TRASPLANTE	Adenovirus	BKV	HCMV	EBV	HHV6
1	Femenino	TR			Positivo		
2	Femenino	TR			Positivo *		
3	Masculino	TR					Positivo
4 †	Masculino	TR			Positivo		
6	Masculino	TR	Positivo	Positivo	Positivo*		
7	Masculino	TR					
9	Femenino	TR	Positivo				
10	Femenino	TR					
11	Femenino	TR		Positivo			
12	Masculino	TR			Positivo		
13	Masculino	TR			Positivo		Positivo
14	Femenino	TR	Positivo		Positivo		
17	Masculino	TR					
18	Masculino	TR					
19	Femenino	TR	Positivo				Positivo
20	Masculino	TR					
21	Masculino	TR			Positivo		
22	Masculino	TR			Positivo		
26	Masculino	TR			Positivo		
27	Masculino	TR					
28	Femenino	TR			Positivo*		
5	Femenino	TMO	Positivo		Positivo		
8	Femenino	TMO		Positivo	Positivo		
15	Femenino	TMO	Positivo	Positivo	Positivo		
16	Femenino	TMO	Positivo				
23	Masculino	TMO		Positivo	Positivo	Positivo	
24 †	Femenino	TMO			Positivo	Positivo	
25 †	Femenino	TMO					
29	Femenino	TMO					
30	Masculino	TMO			Positivo*		

Trasplante de riñón (TR), trasplante de células progenitoras hematopoyéticas o medula ósea (TMO).

† Pacientes fallecidos

* Cargas virales bajas < 1000 copias/mL

se obtuvo que el más predominante fue el genotipo 3 (gB3) el cual se presentó en 9 pacientes. El paciente restante, fue el único caso de genotipo 1 (gB1) y corresponde a un paciente trasplantado de riñón. Estudios señalan que el genotipo 1 no se asocia con enfermedad mortal por HCMV.¹⁸

Según otros estudios,¹⁹ el genotipo predominante en Costa Rica es el genotipo 2 (gB2), sin embargo, en menor proporción también encontraron el genotipo 1 y 3. Por otro lado, Cunha et al.¹¹ mencionan que los genotipos 2 y 3 son los que se encuentran más frecuentemente en pacientes con trasplantes de médula ósea.

El presente estudio no es concluyente, ya que tiene varias limitaciones tales como: muestreo limitado, el tipo de muestras utilizado solo es de plasma y la población en estudio se remite solo a pacientes trasplantados. Por esta razón se sugiere a futuro, realizar un estudio con un mayor muestreo que sea más representativo de la población en cuestión.

Como conclusión, se puede afirmar que las técnicas moleculares son un excelente instrumento para la detección y cuantificación de los virus y así el médico tratante podrá dar un mejor manejo clínico al paciente que atraviese por alguna infección viral oportunista. Además se podrá tener un mejor pronóstico sin tener que hacer uso de terapias farmacológicas que conllevan a los efectos secundarios indeseables.²⁰

Agradecimientos y colaboradores: A los asesores de la Universidad de Costa Rica: MSc. Sandra Silva De la Fuente, Dr. Rodrigo Mora Rodríguez. Asesor en Bioinformática: Lic. Mario Ulate Solano. A la Dirección del Laboratorio Clínico del Hospital San Juan de Dios: Dr. José Pablo Marín Gómez.

Referencias

1. Rouchi H, Mazdeh M. Regenerative Medicine in Organ and Tissue Transplantation: Shortly and Practically Achievable?. *Int J Organ Transplant Med.* 2015;6(3):93-5
2. Chinen J, Buckley RH. Transplantation immunology: solid organ and bone marrow. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(2): S324-35.
3. Braun DK, Domínguez G, Pellett PE. Human herpesvirus 6. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10(3):521-67.
4. Cervera C, Lumbreras C. Factores de riesgo de la enfermedad por citomegalovirus en el receptor de un trasplante de órgano sólido. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29:11-7.
5. Echavarría M, Basilotta N, Aguiar A, Davalos M, Ricarte C, Iotti A, et al. Neuropatía por virus BK post trasplante renal diagnóstico y seguimiento por PCR en tiempo real. *Medicina (B Aires).* 2007;67(6):719-22.
6. Crough T, Khanna R. Immunobiology of human cytomegalovirus: from bench to bedside. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22(1):76-98.
7. Boeckh M, Boivin G. Quantitation of cytomegalovirus: methodologic aspects and clinical applications. *Clin Microbiol Rev.* 1998;11(3):533-54.
8. Kanj SS, Sharara AI, Clavien PA, Hamilton JD. Cytomegalovirus infection following liver transplantation: review of the literature. *Clin Infect Dis.* 1996;22(3):537-49.
9. Arista S, De Grazia S, Giammanco GM, Di Carlo P, Iannitto E. Human cytomegalovirus glycoprotein B genotypes in immunocompetent, immunocompromised, and congenitally infected Italian populations. *Arch Virol.* 2003;148(3):547-54.
10. Navarro D, Paz P, Tugizov S, Topp K, La Vail J, Pereira L. Glycoprotein B of human cytomegalovirus promotes virion penetration into cells, transmission of infection from cell to cell, and fusion of infected cells. *Virology.* 1993;197(1):143-58.
11. Cunha AA, Aquino VH, Mariguela V, Nogueira ML, Figueiredo LTM. Evaluation of glycoprotein B genotypes and load of CMV infecting blood leukocytes on prognosis of AIDS patients. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2011;53(2):82-8.
12. Chou S, Dennison KM. Analysis of interstrain variation in cytomegalovirus glycoprotein B sequences encoding neutralization-related epitopes. *J Infect Dis.* 1991;163(6):1229-34.

13. Chakrabarti S, Mautner V, Osman H, Collingham KE, Fegan CD, Klapper PE, et al. Adenovirus infections following allogeneic stem cell transplantation: incidence and outcome in relation to graft manipulation, immunosuppression, and immune recovery. *Blood*. 2002;100(5):1619-27.
14. Ison MG. Adenovirus infections in transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2006;43(3):331-9.
15. Khanna R, Smith C. Cellular immune therapy for viral infections in transplant patients. *Indian J Med Res*. 2013;138(5):796-807.
16. Green M. Management of Epstein-Barr Virus-induced Post-transplant Lymphoproliferative Disease in Recipients of Solid Organ Transplantation. *Am J Transplant*. 2001;1(2):103-108.
17. Mercorelli B, Lembo D, Palù G, Loregian A. Early inhibitors of human cytomegalovirus: state-of-art and therapeutic perspectives. *Pharmacol Ther*. 2011;131(3):309-29.
18. Drew WL, Chou S, Miner RC, Mohr BA, Busch MP, Van der Horst CM, et al. Cytomegalovirus glycoprotein B groups in human immunodeficiency virus-infected patients with incident retinitis. *J Infect Dis*. 2002;186(1):114-7.
19. Ahumada-Ruiz S, Taylor-Castillo L, Visoná K, Luftig RB, Herrero-Urbe L. Determination of human cytomegalovirus genetic diversity in different patient populations in Costa Rica. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2004;131:87-92.
20. Lion T, Baumgartinger R, Watzinger F, Matthes-Martin S, Suda M, Preuner S, et al. Molecular monitoring of adenovirus in peripheral blood after allogeneic bone marrow transplantation permits early diagnosis of disseminated disease. *Blood*. 2003;102(3):1114-20.