

D. Xairó Mimó, I. Calicó

An Esp Pediatr 1996;44:191-196.

La virología clínica en la pediatría

Introducción

El especialista en pediatría puede preguntarse ¿por qué hacer el diagnóstico etiológico de las infecciones sospechosas de ser virales si la mayoría son autolimitadas, curan solas, y en las graves disponemos de muy pocos fármacos realmente eficaces?. Esta interrogación no puede sostenerse desde hace ya más de una década y en la actualidad el número de laboratorios de virología que hay en los hospitales de nuestro país ha crecido considerablemente. Dicha proliferación es debida a que el diagnóstico etiológico de las infecciones víricas es de gran interés en los siguientes aspectos:

a) El número de enfermos pediátricos que presentan un cuadro febril de origen desconocido por el que ingresan en un centro hospitalario y en los que la historia clínica se cierra sin saber la etiología. Incluso puede haber la dificultad de diferenciar una infección bacteriana de una viral, como sucede en algunas meningitis bacterianas abortadas por el tratamiento. Además, es muy preocupante el tener pacientes con síndrome febril que persiste a pesar del tratamiento antibiótico.

b) El establecer el diagnóstico etiológico de una infección viral importante, persistente o grave, es necesario para poder aventurar un pronóstico del paciente⁽¹⁾, decidir si necesita aislamiento, como en las infecciones por virus respiratorio sincitial, o requiere cuidados especiales como en las producidas por VIH. En la actualidad hay la posibilidad de administrar fármacos antivirales muy efectivos como el aciclovir, el ganciclovir o el foscarnet, no exentos de efectos indeseables, el uso de los cuales, especialmente de los dos últimos, deberá apoyarse en un control virológico.

c) A pesar de que la virología diagnóstica ha progresado notablemente en los últimos diez años y que en algunas infecciones se puede conocer el resultado de la investigación virológica en menos de 24 horas, puede decirse que una parte importante de dictámenes llegan demasiado tarde y carecen de la utilidad deseada. Sin embargo, si en el momento de cerrar la historia clínica ya se conoce la etiología infecciosa, esta experiencia será válida ante nuevos pacientes con el mismo síndrome.

El pediatra que trabaja en un centro hospitalario y en especial el que se dedica a enfermedades infecciosas, o que tiene contac-

to con enfermos inmunodeprimidos, debe tener una idea, aunque sea muy básica, de las técnicas de laboratorio de virología para poderlas solicitar cuando sea preciso. Ha de saber las muestras que debe estudiar en cada síndrome infeccioso, cómo obtenerlas y mandarlas al laboratorio, el resultado que puede esperar y cuándo lo va a recibir, y finalmente, cómo valorar los resultados obtenidos.

Técnicas virológicas de laboratorio

El diagnóstico etiológico de las infecciones víricas, al igual que las bacterianas, se puede realizar mediante la visualización del microorganismo, la detección de sus antígenos o de su ácido nucleico, su aislamiento mediante cultivo o por el estudio serológico del paciente⁽²⁾.

Visualización del agente etiológico

Mediante la microscopía óptica: esta técnica muy utilizada en bacteriología tiene poca aplicación en virología. Por microscopía óptica no se pueden observar directamente los viriones en la muestra debido a su pequeño tamaño, aunque sí pueden visualizarse inclusiones intracitoplasmáticas o intranucleares en el interior de las células afectadas. Estas inclusiones corresponden a acúmulos de virus que se están multiplicando. En la práctica, el anatomopatólogo puede dictaminar la lesión inflamatoria viral inespecífica, o con más precisión la presencia de citomegalovirus en biopsias de casi todo tipo de órganos sólidos. La desventaja que presenta esta técnica está en que sólo las muestras muy abundantes serán positivas.

Por microscopía electrónica: da un aumento y una definición suficientes para la observación de las partículas víricas. Es imprescindible que estén muy concentradas para visualizar algunas. Por este motivo el diagnóstico directo en la muestra sólo es útil en algunos casos concretos como son las muestras de heces en lactantes con gastroenteritis vírica. Aparte del trabajo de diagnóstico, esta técnica permite visualizar patógenos que quizá por otros métodos no se podrían descubrir. Así, la microscopía electrónica ha facilitado el descubrimiento de infecciones como la hepatitis B, las infecciones por parvovirus B19 o, por el interés actual, cabe citar el virus de Ebola. En todas ellas el número de viriones circulantes en sangre llega a ser muy elevado. La inmunoelectromicroscopía, que consiste en el tratamiento serológico de la muestra con la finalidad de aglutinar las partículas virales, previo a la observación microscópica, no sólo ayuda a localizar los

Servicio de Microbiología. Ciudad Sanitaria y Universitaria Vall d'Hebron. Barcelona.

Correspondencia: I. Calicó.

Pº de la Reina Elisenda de Montcada 13, A 1º 1ª, 08034 Barcelona.

viriones, sino que al ser una reacción específica es útil en su identificación. En la práctica diagnóstica la microscopía electrónica ha quedado limitada al estudio de gastroenteritis, biopsias de encefalitis focal necrosante y muestras de sangre en los casos concretos citados.

Detección de los antígenos virales⁽³⁾

Mediante reacciones antígeno-anticuerpo se pueden detectar los antígenos de determinados virus directamente en las muestras clínicas, obteniendo el resultado en pocas horas e incluso en minutos. En la actualidad existen técnicas muy diversas que varían fundamentalmente en el sistema de lectura: en la reacción específica contra una de las proteínas virales suele utilizarse un anticuerpo monoclonal (de origen murino) y posteriormente se pone de manifiesto por la acción de un segundo suero antiglobulina de ratón unido a un enzima, habitualmente una peroxidasa, fosfatasa alcalina o biotina, o a fluoresceína. El primer caso da lugar a las reacciones inmunoenzimáticas (EIA) y el segundo, a la inmunofluorescencia (IF). Las primeras se están utilizando ampliamente en el diagnóstico rápido de las viriasis respiratorias, especialmente para las infecciones por virus respiratorio sincitial, virus gripales y paragripales. Las muestras requeridas para su estudio son secreciones respiratorias entre las que el lavado nasal parece dar el mejor resultado. La detección de la proteína denominada p24 de VIH en la sangre de los pacientes sospechosos de padecer esta infección se realiza en muestras de suero por EIA. Asimismo, la mayoría de los marcadores antigénicos de la hepatitis B y C se investigan por el mismo sistema.

El EIA, que inicialmente se realizaba en tubo o en el pocillo de una placa de microtitulación, en la actualidad conoce un soporte nuevo: un papel de filtro sujeto a una cápsula de plástico. En nuestras manos este tipo de EIA es rápido y sencillo de realizar, pero tiene el grave inconveniente de ser caro, sobre todo si el número de muestras probadas es elevado, y que a lo largo de los años hemos observado una notable disminución de su sensibilidad.

Detección de los ácidos nucleicos virales⁽⁴⁾

A mediados de la década de los ochenta fue utilizada la técnica de hibridación para detectar ácidos nucleicos de virus en las muestras clínicas. Aunque la técnica era atractiva y de hecho facilitaba el estudio en determinadas circunstancias como la investigación de parvovirus B19 en sangre o la de citomegalovirus en biopsia, no siempre presentaba más ventajas que una reacción inmunoenzimática «in situ». La ingeniosa reacción en cadena de la polimerasa aplicada a la virología desde 1987, multiplica en progresión geométrica determinado segmento de una cadena de ADN o ARN antes de proceder a su hibridación. En consecuencia, consigue detectar cantidades ínfimas de determinada porción de genoma viral. A la técnica inicial de detección de ADN se han desarrollado numerosas variantes. Una de ellas es la adición de una transcriptasa inversa para transformar el ARN viral en ADN. Esta técnica permite la investigación de virus ARN tan frecuentes como los enterovirus. A su extraordinaria sensibilidad

hay que oponer la dificultad de interpretación: la presencia de unas cadenas de ácido nucleico no demuestran que el patógeno esté en plena replicación, pues hay la posibilidad de detectar virus que están en fase latente, y además cada reacción es específica para una sola especie.

Tras una experiencia amplísima en el diagnóstico virológico, en la actualidad puede decirse que, prácticamente, todos los virus patógenos conocidos para el hombre pueden investigarse mediante la técnica de la PCR o sus variantes. Hay aplicaciones muy concretas reconocidas universalmente como técnicas de elección. Así, la investigación de citomegalovirus (CMV) es más útil en el plasma sanguíneo que en los polimorfonucleares, y la detección de los agentes responsables de las encefalitis (herpes simple, varicela y enterovirus, entre otros) en líquido cefalorraquídeo o en biopsias, es el método más sensible, recomendándose como técnica de elección. La PCR presenta una sensibilidad y especificidad que la hace extraordinariamente útil en el diagnóstico de la infección por VIH congénita determinada en la sangre del lactante mayor de un mes. El precio de estas reacciones aunque algo caro es más asequible en la actualidad y permite el uso de la PCR en diagnóstico.

Aislamiento⁽²⁻⁵⁾

A diferencia de la mayoría de las bacterias, los virus necesitan células vivas para su desarrollo y multiplicación. Además los virus humanos tienen especificidad por las células humanas de animales relativamente próximos. Por este motivo la virología siempre ha tenido mayor dificultad técnica en el aislamiento de estos gérmenes que la bacteriología. Inicialmente sólo se podía cultivar virus por inoculación de las muestras clínicas a animales susceptibles. De esta manera se conseguía reproducir la poliomielitis humana en el chimpancé al inocular un extracto de heces de un paciente con poliomielitis. Las especies víricas aislables eran muy pocas, y la virología no avanzó tangiblemente hasta que se practicó la inoculación al huevo embrionado. Desde hace cuatro décadas el aislamiento rutinario de los virus a partir de las muestras clínicas se realiza por siembra en cultivos celulares, que consisten en la propagación «in vitro» de células obtenidas en un macroorganismo. Los cultivos celulares, llamados también cultivo de tejidos, permiten investigar un número de muestras elevado con un trabajo y un costo muy asequible a los hospitales. No todas las especies víricas conocidas pueden aislarse por este sistema, pero hay un buen número de ellas que se desarrollan en pocos días y que, por tanto, son útiles para realizar el diagnóstico de nuestros enfermos. Así, es frecuente en un laboratorio de virología aislar virus como el virus del herpes simple, varicela-zoster, citomegalovirus, adenovirus, respiratorio sincitial y buena parte de los enterovirus (tabla I). Por otro lado el aislamiento de virus de crecimiento lento y difícil como el de la inmunodeficiencia humana tiene una utilidad limitada a cuando no es posible o seguro por otros métodos, tal como sucede en el recién nacido sospechoso de padecer infección por VIH. La mayoría de virus citados pueden reconocerse en el cultivo celular por las lesiones celulares que producen, el llamado efecto citopático que es carac-

Tabla I Virus que se pueden aislar de muestras clínicas y tiempo de aparición del efecto citopático

Virus	Tiempo (días)
V. de herpes simple	1-2
V. de la varicela zoster	3-5
Citomegalovirus (CMV)	6-8
CMV en recién nacidos	1
Adenovirus	3-7
Enterovirus (polio, coxsackie B, ECHO)	1-8
Virus influenza A y B	1-9
V. parainfluenza	3-8
V. respiratorio sincitial	2-6
V. de la parotiditis	2-6
Reovirus*	3-5
Coronavirus*	3-6

* Virus que pueden mostrar efecto citopático poco evidente e inconstante.

terístico de la especie o al menos de la familia viral. Por este motivo, al aparecer los síntomas de crecimiento se podrá dar con cierta garantía un dictamen de presunción.

Ventajas del cultivo

El cultivo de las muestras clínicas para el aislamiento de virus presenta las siguientes ventajas:

a) Permite estudiar cualquier tipo de muestra clínica excepto las prótesis. El aislamiento en biopsias, LCR o sangre, es una prueba indiscutible de que la infección está en aquel órgano o líquido orgánico. Se considera el «gold standard» o prueba patrón para los virus de fácil crecimiento.

b) El cultivo es una investigación abierta a numerosas especies, a diferencia de las pruebas de detección de antígeno. En nuestros pacientes hemos aislado repetidas veces toxoplasma cuando el patógeno buscado era citomegalovirus, y de las muestras respiratorias se pueden obtener una muy variada gama de virus.

c) El tener la cepa viral aislada posibilita hacer pruebas de sensibilidad a antivirales. El virus herpes simple y el de la varicela zoster son ocasionalmente resistentes al aciclovir, así como el citomegalovirus puede serlo al ganciclovir e incluso al foscarnet. Hay técnicas que determinan el grado de resistencia que una cepa pueda tener.

Al mismo tiempo el cultivo tiene sus limitaciones:

a) Hay muchas especies víricas que crecen muy despacio o no crecen en absoluto. El virus de Epstein-Barr, el parvovirus B19, el herpes humano 6 y otros muchos, al no crecer en los cultivos habituales deben estudiarse con otros métodos.

b) El cultivo celular requiere personal especializado y constante, tanto en el mantenimiento de las células, como de la detección de los efectos citopáticos.

c) El coste de los cultivos celulares es relativamente caro a no ser que el laboratorio mismo los obtenga.

Tabla II Indicaciones de la serología, según el agente viral

La serología es muy útil en:
 Diagnóstico y estado inmunitario de infecciones por virus difíciles de aislar o detectar:
 Virus de las hepatitis A, B, C, D y E
 V. de Epstein-Barr
 Parvovirus B19
 VIH 1 y 2, HTLV V1, HTLV V2
 V. de la rubéola
 V. del sarampión
 Virus herpes 6, 7 ¿8?
 Hantavirus

Es ocasionalmente útil en:
 Infecciones por:
 Citomegalovirus, herpes simple (infecciones sistémicas), varicela zoster.

Es muy limitada en:
 Infecciones por:
 Virus de la parainfluenza, adenovirus, rinovirus, coronavirus.

Indicaciones de la serología según el cuadro clínico:
Puede ser muy útil en:
 Todo síndrome febril, persistente o grave, de origen desconocido.
 Encefalitis
 Hepatitis
 Infecciones exantemáticas máculo-papulosas

Es ocasionalmente útil en:
 Infección intrauterina (si la IgM es positiva)
 Neumonía (limitada en lactantes)

La serología es poco útil en cuadros agudos o con poco estímulo antigénico:
 Gastroenteritis víricas
 Meningitis agudas
 Infecciones respiratorias agudas del lactante
 Infecciones limitadas en piel y mucosas: oculares, genitales, orales.

Detección de antígeno en el cultivo

A esta técnica se le denomina «shell-vial». Consiste en que a las 24-48 horas de haber sembrado una muestra en cultivo celular, se fija y se investigan los antígenos del virus que se sospecha. Tiene su máxima utilidad en el estudio de CMV, virus de crecimiento lento, pues requiere unos 6-8 días para conocerlo, y que al detectar el antígeno temprano (proteína de 74.000 daltons) podemos tener el diagnóstico en menos de 24 horas. También se ha mostrado válida para investigar diversos virus en infecciones respiratorias.

Serología^(3,5)

Durante muchos años el diagnóstico de las infecciones víricas se ha basado mayoritariamente en la serología. En la actualidad la serología está indicada en aquellas infecciones en las que no es posible, o es difícil, detectar o aislar el virus causal (tabla II) como

sucede en las infecciones por virus de la hepatitis A, B, C, D y E, el virus de Epstein-Barr y parvovirus B19. Y también en infecciones en las que pudiéndose diagnosticar por otros métodos, hay circunstancias, como es la obtención de muestras con pocas partículas virales, por lo que el rendimiento de éstas es bajo y la serología aumenta las posibilidades de aclarar el cuadro clínico. Aparte de la utilidad diagnóstica en enfermos, una aplicación importante de la serología es el estudio del estado inmunitario de la población. Así, es posible investigar la susceptibilidad o la inmunización de una población vacunada o no.

Las técnicas utilizadas son muy variadas (tabla III) y se podrían clasificar en aquellas que no diferencian las IgG de las IgM específicas: reacción de fijación de complemento, de inhibición de la hemoaglutinación, aglutinación indirecta y de neutralización, de las que sí se pueden distinguir las diversas gammaglobulinas: enzimoimmunoensayo, inmunofluorescencia y radioimmunoensayo. La reacción de western-blot estudia los anticuerpos en función de los antígenos virales.

La reacción de fijación de complemento ha sido la más utilizada hasta que ha sido reemplazada, en parte, por la reacción de enzimoimmunoensayo. Permite estudiar la mayoría de infecciones virales, y aunque es menos sensible y algo menos específica, ha sido y es todavía de valor indudable. Su mayor desventaja está en que para establecer un diagnóstico de infección es preciso obtener la seroconversión del paciente, es decir: hacer el estudio conjunto de una muestra de suero obtenida en la fase inicial y otra a los 7-12 días en una fase mal llamada de convalecencia. El incremento notable de anticuerpos debe detectarse al menos cuatro veces más, lo que corresponde a dos diluciones de suero; es una prueba indiscutible de infección haya o no haya clínica. La reacción de fijación de complemento es compleja y delicada: por un lado, es una ventaja, pues el técnico de laboratorio sabe perfectamente si la reacción ha funcionado bien o no, y en este caso el motivo por el cual no ha funcionado; por otro lado, para que la reacción de resultados sea fiable debe realizarla personal muy entrenado.

El enzimoimmunoensayo (EIE), al igual que las otras técnicas citadas, nos puede detectar por separado la IgM, IgG e IgA, y además es mucho más sensible. Por tanto, en una muestra de suero es posible obtener una IgM positiva que indicará infección en fase aguda o subaguda. Debe recordarse que la duración de una IgM en suero suele ser de 2 a 4 meses, pero depende de la inmunidad del enfermo y del estímulo antigénico. El EIE es la reacción más utilizada en serología desde hace más de una década, en ello ha influido su innegable ventaja diagnóstica y también la facilidad de ejecución.

La reacción de inmunofluorescencia tiene algunas de las mismas ventajas que presenta el EIE, pero la realización de la técnica y su lectura son más lentas. En la actualidad es la técnica de elección para la investigación de los anticuerpos, tanto IgG como IgM, anticápside de virus de Epstein-Barr. Esta prueba tiene la ventaja de ser más sensible que la de los anticuerpos heterófilos (Paul-Bunnell-Davidsohn), que en pacientes pediátricos puede dar resultados falsamente negativos.

Tabla III Reacciones serológicas

No distinguen el tipo de inmunoglobulinas:

Reacción de fijación de complemento
Inhibición de la hemoaglutinación
Neutralización
Aglutinación indirecta de partículas de látex
Inmunodifusión

Distinguen diferentes tipos de inmunoglobulinas (IgM, IgG, IgA):

Enzimoimmunoensayo
Inmunofluorescencia
Radioimmunoensayo

Distinguen anticuerpos frente a diversas proteínas virales:

Western-blot

Reacciones inespecíficas:

Paul-Bunnell-Davidsohn

La reacción de western-blot se ha estudiado en varias infecciones víricas, pero en trabajo rutinario se utiliza exclusivamente como prueba de confirmación en los sueros positivos o dudosos a VIH. Es debido a que los únicos anticuerpos anti-VIH que se consideran totalmente específicos son los dirigidos contra las proteínas 120 y 41 Kd de VIH-1 y 36 Kd de VIH-2.

Obtención y transporte de las muestras^(3,6)

El éxito en el diagnóstico etiológico de una infección viral depende en gran medida de las muestras estudiadas. El laboratorio de virología puede tener técnicas irreprochables pero si las muestras no son las adecuadas o han llegado en malas condiciones, los resultados serán falsamente negativos si es que el espécimen se pudo procesar. En primer lugar hay que saber las técnicas diagnósticas que solicitaremos: serología, aislamiento, detección de ADN, ARN o de antígenos proteicos, o visualización. Probablemente, dependiendo del diagnóstico clínico, se requieran varias técnicas al mismo tiempo (tabla IV).

Una buena muestra viene definida por haberla obtenido en el lugar y en el momento preciso. Si el objetivo está en el aislamiento, detección o visualización del patógeno, hay que obtener las muestras en los órganos y fluidos corporales que tengan más posibilidades de albergar el germen. Para ello hay que tener en cuenta, además de la clínica del paciente, la patogenia de los posibles responsables de la infección, es decir, los lugares que afecta el virus en las diferentes etapas de viriasis. Así, en una meningitis sospechosa de ser vírica, es aconsejable no sólo estudiar el líquido cefalorraquídeo, sino también el exudado faríngeo por ser la inhalación o la ingesta probablemente la puerta de entrada del virus, y las heces ya que la mayoría de meningitis en nuestro país se deben a enterovirus, y cuando el enterovirus está inactivado en LCR aún se elimina algunos días o incluso semanas por vía entérica. Tanto si se trata de infecciones agudas como subagudas, es fundamental obtener la muestra en los primeros días, si fuese posible las primeras horas, de aparecer el cuadro clínico.

Tabla IV Muestras clínicas que deben estudiarse según la patología del enfermo

<i>Síndrome infeccioso</i>	<i>Muestras clínicas diagnósticas</i>	<i>Muestras clínicas auxiliares</i>	<i>Serología</i>
Sistema nervioso central			
Encefalitis (HS, VZ, CMV, EV, otros)	Biopsia cerebral, LCR	Exudado faríngeo, heces	LCR y suero
Meningitis (EV)	LCR	Exudado faríngeo, heces	
Polirradiculitis en SIDA (CMV)	LCR		LCR y suero
Infecciones respiratorias (vías altas y bajas)			
Por virus que no presentan latencia (RS, Flu, Pflu)	Lavado o aspirado nasofaríngeo	Frotis faríngeo	
Por virus habitualmente en estado latente (CMV)	Lavado broncoalveolar, cepillado, biopsia.		Suero
Mononucleosis (E-B, CMV, AD, toxoplasma).	Exudado faríngeo		2 muestras de suero
Infecciones cardíacas			
Miocarditis, pericarditis (EV, CMV, Flu)	Heces, líquido pericárdico (?) Biopsia miocardio (?)	Exudado faríngeo	Suero
Infecciones de aparato digestivo			
Estomatitis (HS)	Frotis oral		
Esofagitis (HS, CMV)	Exudado, biopsia		
Gastritis, duodenitis hemorrágica (CMV)	Biopsia		
Gastroenteritis (Rota, AD, otros)	Heces		
Proctitis (HS, CMV)	Frotis de lesión		
Infecciones urinarias			
Cistitis hemorrágica (AD)	Orina		
Síndrome febril sin focalidad en inmunodeprimido CMV, E-B, VH6, otros.			
	Sangre (leucocitos)	Orina, saliva, secreciones respiratorias	Serología seriada
Infecciones oculares			
Conjuntivitis, queratitis (AD, HS, EV)	Frotis		
Infecciones exantemáticas			
Vesiculares (HS, VZ, EV)	Líquido de vesícula	Exudado faríngeo, heces	
Máculo-papulares (Ru, Sa)			Suero
Infección intrauterina (CMV, Ru, VIH, Parvo B18, VZ, etc.)			
	Líquido amniótico, orina, sangre.		Sangre del cordón

AD: adenovirus; CMV: citomegalovirus; E-B: virus de Epstein-Barr; EV: enterovirus; HS: herpes simple; Flu: influenza; Pflu: parainfluenza; Parvo B19: parvovirus B19; Ru: rubéola; Sa: sarampión; VZ: varicela-zoster.

Posteriormente las defensas naturales del organismo habrán neutralizado al microorganismo. Habitualmente las muestras fáciles de obtener llegan al laboratorio en cantidad más que suficientes: heces, orina y otras. Cuando la muestra en estudio es escasa: punción biopsica, a veces el LCR, el pediatra debe seleccionar por orden de interés las pruebas que solicita al laboratorio, sea al de microbiología, anatomía patológica o bioquímica.

Conservación y transporte de muestras clínicas

Debido a que la mayoría de agentes virales son lábiles a la acción de los agentes físicos y químicos, una vez que se ha obtenido la muestra debe mantenerse a baja temperatura en nevera y remitirla al laboratorio lo antes posible. Sólo las heces pueden congelarse puesto que los virus que pueden contener son resistentes. El pediatra debe ser consciente de la urgencia que tiene la mues-

tra para cultivo, pero esta premisa no debe frenar a los clínicos que ejercen lejos de los centros de virología, pues de las muestras refrigeradas pueden haber muchos aislamientos a las 24 horas, y dependiendo del virus de que se trate podría permanecer aún más tiempo. Además, muestras que por el tiempo transcurrido entre la toma y la reacción son estériles y no son útiles para cultivo, pueden ser aptas para la detección de antígeno o ácido nucleico. Así, en nuestras manos, las muestras de aparato respiratorio sembradas en lunes, y obtenidas uno o dos días antes, dan un notable mayor número de detecciones positivas de virus respiratorio sincitial que de aislamientos del mismo, mientras que el resto de la semana las positividadades se corresponden sensiblemente.

Es muy aconsejable utilizar medios de transporte para virus, siempre y cuando aquella muestra no comporte la investigación con bacteriología. El medio de transporte está compuesto por una

solución tamponada, un protector como la albúmina o gelatina, y antibióticos para eliminar la proliferación bacteriana. Las muestras de sangre destinadas al aislamiento o detección a partir de los leucocitos deberán llevar anticoagulante: heparina o EDTA. Este último da mejores resultados para la separación de los polimorfonucleares.

Si el espécimen debe enviarse por correo u otro medio de transporte, debe ir junto con material absorbente dentro de una bolsa impermeable sellada, y todo ello dentro de una caja suficientemente fuerte para que no se chafe ni desgarre.

Valoración de los resultados^(3-5,7)

La evaluación de las pruebas de laboratorio en virología es algo más fácil que en bacteriología en cuanto todo virus humano es patógeno obligado de las células humanas y, por tanto, no caben los conceptos de saprofito o de comensal, pero las diferentes fases que puede tener una infección vírica pueden dificultar la interpretación de los resultados. La infección subclínica, las infecciones por repetición, el estado latente, la infección lenta y la infección activa aguda pueden ser diferentes estadios de un mismo virus con diversas manifestaciones clínicas y serológicas. Por todo ello, conviene analizar cuándo un resultado tiene valor diagnóstico y cuándo no, con todos los matices intermedios dando el valor que merece cada uno de ellos, con la finalidad de ser útil para establecer el diagnóstico.

En la valoración de los resultados debe tenerse en cuenta: la muestra positiva, el agente infeccioso determinado y la técnica utilizada. El ideal en un paciente infectado sería: tener una seroconversión, el aislamiento en una muestra de primer orden (biopsia, LCR o lavado broncoalveolar) y que todo ello coincidiese con la clínica del enfermo. Si estos hallazgos no se acompañasen de la sintomatología correspondiente habría que pensar que el paciente está en fase de incubación, de latencia, o que se trata de una infección subclínica. En principio pueden afirmarse los siguientes puntos:

Resultados con valor diagnóstico

Teniendo en cuenta el tipo de muestra y la técnica empleada tendríamos: el aislamiento de un virus en una muestra de primer orden, es decir, biopsia, LCR o lavado broncoalveolar obtenido en condiciones irreprochables. La detección de ácidos nucleicos o de antígenos en LCR, biopsia cerebral y miocárdica. La seroconversión y la aparición de la IgM específica. También tiene valor diagnóstico el aislamiento en cualquier tipo de muestra de virus en los que no se reconoce un estado de latencia, aunque sí de infección subclínica aguda: virus respiratorio sincitial, influenza, parainfluenza, parotiditis, o incluso virus responsables de infección lenta, como el virus del sarampión.

Resultados orientativos

Son hallazgos que refuerzan la etiología dentro de un contexto clínico y analítico. Tiene valor orientativo el aislamiento de agentes virales cuya patología coincide con la clínica pero que se ais-

lan en muestras no relacionadas directamente con el síndrome específico. El aislamiento de enterovirus en la faringe o en las heces de un niño con meningitis de líquido claro, o el de un adenovirus, en las mismas muestras, de un enfermo de neumonía atípica, entrarían en este grupo. Se acepta que el aislamiento de este último virus en ambas muestras a la vez refuerza, con mucho, el diagnóstico, pues demuestra replicación activa. La detección de antígeno de CMV en el polimorfonuclear en niveles bajos es todavía difícil de evaluar pero se pretende dar un significado de infección con pocas posibilidades de ser el responsable de dar sintomatología. El hallazgo de ADN de CMV en órganos en los que puede estar latente, como el pulmón, es un dato positivo pero hay que tener en cuenta esta posibilidad.

Unos títulos serológicos marcadamente altos frente a un antígeno es orientativo, sobre todo, si los valores serológicos frente a otros agentes persisten bajos, es decir, no hay hiperreactividad personal.

Resultados de valor limitado

Será de utilidad dudosa el aislamiento de un virus cuya excreción puede prolongarse más allá de la curación, y que no guarda una relación clara con la enfermedad actual. Son ejemplos conocidos el aislamiento de CMV de la orina de un lactante o un herpes simple de faringe, que deben valorarse sólo en relación con la patología del paciente.

Unos títulos séricos medios invariables o en descenso en un paciente inmunocompetente apuntan a una infección ya curada o con poco estímulo antigénico; por ejemplo, la infección localizada en mucosas. Los mismos títulos en un enfermo inmunodeprimido apenas son valorables.

Bibliografía

- 1 Kliegman RM, Feigin RD, Behrman RE y cols. Enfermedades infecciosas (781-1124). En: Nelson. Tratado de Pediatría, vol 3, 4ª edición. Ed. Interamericana-McGraw. Madrid, 1993.
- 2 Calicó I. Diagnóstico de las infecciones víricas por métodos de laboratorio. *Med Clin (Barc)* 1986;**86**:854-858.
- 3 Gleaves CA, Hodinka RL, Johnston SLG, Swierkosz EM. Laboratory diagnosis of viral infections. Cumulative techniques and procedures in clinical microbiology 15A. American Society for Microbiology. Washington DC, 1994.
- 4 White DO, Fenner FJ. Laboratory Diagnosis of Viral Diseases. En: Medical Virology (191-218), 4ª edición. Academic Press. San Diego, 1994.
- 5 Lennette DA, Ray CG, Menegus MA (eds). Section VII. Viruses. En: Manual of Clinical Microbiology, 5ª edición. American Society for Microbiology. Washington DC, 1991; págs. 811-1032.
- 6 Niubò J, Pérez JL, Carvajal A, Ardanuy C, Martín R. Effect of delayed processing of blood samples on performance of cytomegalovirus antigenemia assay. *J Clin Microbiol* 1994;**32**:1119-1120.
- 7 Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR. Principles and Practice of Clinical Virology, 3ª edición. Chichester/New York/Brisbane/Toronto/Singapore. John Wiley & Sons.