



Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-19. The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect, the company's public news and information website.

Elsevier hereby grants permission to make all its COVID-19-related research that is available on the COVID-19 resource centre - including this research content - immediately available in PubMed Central and other publicly funded repositories, such as the WHO COVID database with rights for unrestricted research re-use and analyses in any form or by any means with acknowledgement of the original source. These permissions are granted for free by Elsevier for as long as the COVID-19 resource centre remains active.



Infecciones víricas

F. Galán-Sánchez, C. Fernández-Gutiérrez del Álamo y M. Rodríguez-Iglesias

Unidad de Gestión Clínica de Microbiología. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz. España.

Palabras Clave:

- Virus
- Patogénesis
- Infección
- Diagnóstico

Keywords:

- Virus
- Pathogenesis
- Infection
- Diagnosis

Resumen

Los virus pueden causar enfermedad, tras superar las barreras protectoras naturales del organismo y evadir el control inmunológico, destruyendo células o desencadenando una respuesta inflamatoria e inmunitaria que puede causar daño al propio organismo. El desarrollo de la infección vírica está determinado por el tipo de relación virus/hospedador y la respuesta de este a la infección. Las infecciones víricas pueden ser líticas o persistentes (latencia, recurrencia y/o transformación de la célula). La respuesta inmunitaria es la mejor herramienta para controlar la diseminación del virus; sin embargo, en ocasiones, contribuye a la patogénesis de la infección. El laboratorio aporta información relevante mediante la descripción del efecto citopático inducido por el virus, la detección de las partículas víricas utilizando microscopía electrónica, el aislamiento y crecimiento del virus en medios celulares *in vitro*, la detección de componentes víricos (proteínas y ácidos nucleicos) y la evaluación de la respuesta inmunitaria del paciente frente al virus.

Abstract

Viral infections

Viruses cause disease after they break through the natural protective barriers of the body, evade immune control, and either kill cells of an important tissue or trigger a destructive immune and inflammatory response. The outcome of a viral infection is determined by the nature of the virus-host interaction and the host's response to the infection. Viral infections can be lytic or persistent (latency, recurrence and / or transformation of the the cell). Immune response is the best treatment, but it often contributes to the pathogenesis of a viral infection. The laboratory methods accomplish the following results: description of virus-induced cytopathologic effects (CPEs) on cells, electron microscopic detection of viral particles, isolation and growth of the virus, detection of viral components (proteins and nucleic acids) and evaluation of the patient's immune response to the virus.

Introducción

Los virus pueden causar enfermedad, tras superar las barreras protectoras naturales del organismo y evadir el control inmunológico, destruyendo células o desencadenando una respuesta inflamatoria e inmunitaria que puede causar daño al propio organismo. El desarrollo de la infección vírica está determinado por el tipo de relación virus/hospedador y la respuesta de este a la infección (tabla 1). La respuesta inmunitaria es la mejor herramienta para controlar la disemina-

ción del virus; sin embargo, en ocasiones, puede contribuir a la patogénesis de la infección. El tejido diana del virus define la naturaleza de la enfermedad y sus síntomas¹. Factores víricos y del hospedador modulan la gravedad de la misma, siendo importantes el inóculo vírico y su virulencia, así como el estado general del hospedador. La capacidad de controlar la infección por la respuesta inmunitaria determina la menor o mayor gravedad y duración de la enfermedad vírica^{2,3}.

Los virus que tienen en común un tropismo tisular determinado pueden causar enfermedades similares tales como

TABLA 1
Los determinantes que modulan la infección vírica

Característica	Gravedad
Tejido diana	Capacidad citopática del virus
Puerta de entrada	Tamaño del inóculo vírico
Acceso del virus al tejido diana	Competencia del sistema inmunitario
Tropismo tisular del virus	Inmunidad previa al virus
Permisividad celular para la replicación	Inmunopatología
Virulencia de la cepa vírica	Estado general y nutricional de la persona
	Predisposición genética
	Edad

hepatitis, cuadros respiratorios o encefalitis. Por otro lado, un mismo virus puede ser responsable de enfermedades diferentes e incluso infecciones asintomáticas. Muchas infecciones víricas benignas pueden llegar a ser una amenaza vital en pacientes inmunodeprimidos, niños y ancianos.

Los virus patógenos se caracterizan por expresar factores de virulencia que incrementan la eficiencia de la replicación vírica, la transmisión, la llegada y unión al tejido diana o tener la capacidad de neutralizar las defensas del hospedador y su respuesta inmunitaria eficaz. La pérdida de los factores de virulencia supone la atenuación del virus pero no implica una dificultad de crecimiento en cultivos celulares, por lo que se ha empleado como estrategia de vacunación para la obtención de cepas víricas inmunógenas y avirulentas.

Principales mecanismos etiopatogénicos

Desarrollo de la infección vírica

La enfermedad vírica progresa mediante una serie de pasos definidos (tabla 2) relacionados con la replicación del virus. Al inicio, la incubación de la enfermedad puede ser asintomática o producir síntomas inespecíficos denominados prodrómicos, en muchos casos debido a la respuesta inmediata del sistema inmunitario y a las defensas locales. Los síntomas de la enfermedad están causados por el daño tisular provocado por la replicación del virus y, en ocasiones, por la activación del propio sistema inmunitario del hospedador. Estos síntomas pueden mantenerse en un periodo de convalecencia mientras el daño tisular está siendo reparado. El desarrollo de una respuesta inmunitaria específica y eficaz puede proteger de futuros encuentros con el virus.

El virus penetra en el organismo por la entrada pasiva a través de la piel (cortes, picaduras, pinchazos) o cruzando la barrera mucosa a distintos niveles (tractos respiratorio, urogenital y gastrointestinal, conjuntiva ocular y mucosa oral). Existen defensas locales que impiden la entrada del virus. La piel intacta es una barrera excelente y se añaden otras defensas como el moco y el epitelio ciliado de la mucosa respiratoria, el ácido gástrico, la bilis y la presencia de inmunoglobulina (Ig) A en las mucosas.

En el lugar de entrada del virus se produce su replicación. Para ello necesita células que expresen receptores adecuados y sean permisivas para su replicación. Muchos virus

TABLA 2
Progreso de la infección vírica

Entrada en el organismo
Inicio de la infección en el lugar primario
Activación de las defensas innatas
Periodo de incubación (replicación en el lugar primario y diseminación al secundario)
Replicación en el tejido diana
Respuesta inmunitaria y posible acción inmunopatológica
Liberación del virus y posibilidad de transmisión y contagio
Resolución o infección crónica y/o persistente

inician su replicación en las células de la mucosa oral y del tracto respiratorio superior. La replicación en el lugar primario puede ser sintomática y conduce a la diseminación a otros tejidos a través de la sangre o del sistema linfático. También ciertos virus utilizan las prolongaciones neuronales para diseminarse en el sistema nervioso.

A través del aparato circulatorio y el sistema linfático el virus puede llegar a todo el organismo. De este modo, tras provocar el daño tisular que favorece la llegada de macrófagos, utiliza a estos como transporte y protección. Las células mucoepiteliales también pueden contener al virus y facilitar su difusión.

El transporte del virus a través de la sangre se denomina *viremia*. El virus puede desplazarse libre en el plasma o en el interior de linfocitos y macrófagos. La replicación en el interior de los macrófagos, las células endoteliales o las células del sistema reticuloendotelial pueden amplificar e iniciar el desarrollo de una viremia secundaria. En ocasiones esta viremia secundaria precede a la llegada del virus al tejido diana y al inicio en la manifestación de los síntomas.

Los virus también pueden acceder al sistema nervioso central a través de la sangre, las envueltas meníngeas, la migración de los macrófagos infectados o la infección de las terminaciones neuronales.

Patogénesis vírica

Una infección vírica puede evolucionar de tres formas diferentes:

1. Infección lítica que provoca la destrucción celular debido al daño provocado por la replicación del virus.
2. Infección persistente, en la que el virus se replica sin provocar la muerte de las células. Estas infecciones persistentes pueden ser crónicas (productivas pero no líticas), latentes (con replicación parcial sin producción de partículas víricas completas), recurrentes (con periodos de latencia y replicación) y transformantes (que al inmortalizar la célula infectada pueden provocar la transformación tumoral).
3. Infección abortiva, debido a la aparición de mutantes víricas que no pueden multiplicarse dentro de la célula.

La naturaleza de la infección depende de las características del virus y de la célula diana. Una célula no permisiva, debido a la falta del receptor adecuado, los activadores transcripcionales necesarios o la expresión de mecanismos antiví-

ricos evita la replicación del virus. Por el contrario, la célula permisiva aporta la maquinaria de biosíntesis necesaria para la replicación completa del virus. Esta replicación puede provocar cambios y alteraciones en la célula, en su aspecto y sus propiedades funcionales⁴.

Infecciones líticas

La replicación del virus puede causar efectos que provoquen la muerte de la célula que infecta. En su afán de obtener las condiciones necesarias para su multiplicación, hay virus que inhiben la síntesis de macromoléculas celulares o producen enzimas degradativas y tóxicas. Así, los herpesvirus inhiben la síntesis del ADN celular o ARNm y sintetizan proteínas que degradan el ADN del hospedador obteniendo material para su replicación⁵. La síntesis de proteínas celulares puede estar bloqueada por enzimas o de forma pasiva por la hiperproducción de ARNm vírico que compite con el celular. La acumulación de componentes y nuevas partículas víricas dentro de la célula rompe su estructura interna y altera su funcionalidad, causando la muerte celular. La expresión de moléculas víricas, reconocidas como antígenos, en la superficie de la célula facilita la acción del sistema inmunitario que contribuye a la destrucción de las células enfermas⁶.

En algunos casos, los efectos de la infección vírica inducen la apoptosis de la célula, facilitando la liberación del virus, aunque ello suponga la destrucción de la maquinaria de replicación. Por ello, algunos virus (herpesvirus, papilomavirus, adenovirus) han desarrollado mecanismos de inhibición de la apoptosis.

La expresión en la superficie celular de glucoproteínas víricas de envuelta puede inducir señales de fusión de membrana con las células contiguas y la formación de sincitios (paramixovirus, retrovirus). Esta situación le permite al virus la difusión de célula a célula escapando de la detección por los anticuerpos, aunque los sincitios celulares son frágiles y muy susceptibles a la lisis.

Algunas infecciones víricas inducen cambios celulares en el aspecto y las funciones celulares. Se pueden producir alteraciones cromosómicas y cambios histológicos. En ocasiones se forman nuevas estructuras (cuerpos de inclusión), en citoplasma o núcleo como producto de la replicación del virus y que son útiles en el diagnóstico de ciertas infecciones víricas por sus características microscópicas. También aparece vacuolización y cambios celulares e histológicos inespecíficos.

Infecciones no líticas

Cuando la célula no es destruida en el proceso de la replicación vírica nos encontramos ante una *infección persistente*⁷, lo que consiguen algunos virus con una producción limitada de nuevas partículas y la liberación por exocitosis o gemación de la partícula vírica envuelta en un fragmento de membrana celular.

La replicación vírica puede estar latente durante periodos de tiempo determinados en determinados virus (herpesvirus), debido a que la célula no aporta los factores de transcripción necesarios para iniciar la replicación de las partículas víricas. Esta situación puede cambiar por la activación de la célula a través de efectos hormonales o de citocinas, situacio-

nes de estrés u otros estímulos, pudiendo desencadenar la replicación del virus.

Infecciones transformantes

Algunos virus ADN y retrovirus pueden establecer infecciones persistentes que estimulan el crecimiento celular causando la transformación e inmortalización de la célula infectada y comportarse como *virus potencialmente oncogénicos*. Los mecanismos de inmortalización celular incluyen la activación o adición de genes estimuladores del crecimiento, el bloqueo o inactivación de mecanismos celulares que limitan la síntesis de ADN y la replicación celular o mediante la prevención de la apoptosis.

La inmortalización de las células infectadas por algunos virus ADN implica una replicación defectiva e incompleta del virus. En algunos casos el genoma vírico se integra en el cromosoma celular y expresan proteínas que alteran los mecanismos de control celular (papilomavirus). En otras ocasiones (retrovirus oncogénicos), sintetizan proteínas oncogénicas similares a proteínas celulares involucradas en la activación del crecimiento celular o estimulación de la expresión de estas proteínas mediante genes transactivadores.

Algunos virus, aun teniendo mecanismos de transformación directa, pueden inducir una oncogénesis indirecta (virus de la hepatitis B [VHB] o C [VHC]) debido al daño producido por la infección persistente y a la acción de los mecanismos de reparación celular que pueden promover mutaciones que originan transformación celular. Esta situación, en un contexto de inmunosupresión como la provocada por las infecciones por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), es facilitada por la ausencia de mecanismos inmunológicos eficaces en la detección y destrucción de las células infectadas.

Aunque la transformación celular inducida por el virus es un primer paso necesario, puede no ser suficiente para causar la oncogénesis y formación del tumor. Sin embargo, las células inmortalizadas son más sensibles a la hora de acumular mutaciones o modificaciones cromosómicas, así como a la acción de promotores del crecimiento celular.

Defensas frente a la infección vírica

El objetivo de la respuesta antivírica del hospedador es prevenir la entrada y difusión del virus, contribuyendo a su eliminación y a la destrucción de las células infectadas por el mismo. La respuesta inmunitaria es el mecanismo más óptimo y consigue, en la mayoría de los casos, el control de la infección vírica. Tanto la respuesta inmunitaria celular como la humoral son esenciales en los mecanismos de defensa antivíricos. Aunque existen barreras naturales que previenen la entrada del virus a nivel de piel y mucosas, una vez que han sido superadas se activan defensas inmunitarias innatas e inespecíficas (interferón, macrófagos, células dendríticas, células citotóxicas naturales [NK -*natural killer*-]) que intentan limitar y controlar la replicación y diseminación vírica desde el lugar de penetración. Las moléculas víricas, incluyendo su genoma, son reconocidas por receptores de membrana y endocíticos que activan la expresión de los genes que codifican

la síntesis de interferón y otros mediadores facilitadores de la respuesta celular.

Aunque la respuesta específica de anticuerpos precisa varios días para estar disponible y ser eficaz en un primer contacto con el virus, este mecanismo puede ser suficiente para resolver la infección. Los anticuerpos son eficaces frente a los virus citolíticos y esenciales en controlar la diseminación del virus a otros órganos en la fase de viremia. La inmunidad celular se requiere para la eliminación de las células infectadas con virus no citolíticos^{8,9}.

La primoinfección vírica genera una memoria inmunológica en linfocitos T y B que responderán de forma inmediata ante nuevas infecciones de virus similares, limitando la difusión del virus, y los anticuerpos séricos neutralizan la posible viremia. La eficacia de la respuesta secundaria al contacto con el virus es la base de la prevención primaria mediante vacunas.

Algunos virus han desarrollado mecanismos de escape al control inmunológico, incluyendo bloqueo de la síntesis de interferón, difusión entre células, presentando cambios antigénicos o alterando los mecanismos de presentación antigénica y función linfocitaria.

Inmunopatología

La mayoría de los síntomas en una infección vírica están producidos por la reacción inflamatoria ocasionada por la respuesta inmunitaria antivírica. Los efectos del interferón y las citocinas producidas en la respuesta innata son responsables del cuadro inespecífico en una infección vírica respiratoria y que, a veces, preceden (periodo prodrómico) a la sintomatología más característica una vez que el virus alcanza su órgano diana. Más tarde, los inmunocomplejos circulantes, la respuesta inducida por linfocitos CD4 y la acción citolítica de los linfocitos CD8 son responsables del daño tisular que conlleva en ocasiones una infección vírica. La liberación de mediadores inflamatorios provoca una situación difícil de controlar, como ocurre en las infecciones por virus envueltos. La respuesta inmunitaria menos activa en los niños, especialmente en sus células NK, da lugar a que las infecciones víricas en la infancia se desarrollen con menores síntomas y sean más leves, aunque la falta de una respuesta inmunitaria eficaz puede llevar a una infección crónica persistente de algunos virus.

Clasificación sindrómica

La susceptibilidad de una persona y la gravedad de una enfermedad vírica son relativas y dependen de diversos factores: a) los mecanismos y el lugar de exposición a la infección; b) factores del hospedador, como edad, situación inmune, estado de salud y predisposición genética y c) factores víricos, como inóculo y virulencia de la cepa infectante.

Una vez que la persona ha sido infectada, es la competencia de su sistema inmunitario el factor más determinante en la evolución de la enfermedad vírica. Durante el periodo de incubación, el virus comienza su replicación pero aún no ha producido suficiente daño tisular. El periodo de incubación

es relativamente corto (1-2 días) si el lugar primario de la infección es el órgano diana y presentará los síntomas característicos de la enfermedad. Serán necesarios periodos de incubación más largos (a veces, años) cuando el virus requiera diseminarse a otros lugares del organismo donde se encuentran las células idóneas para su replicación y provocar el daño tisular directo o inmunopatológico.

La naturaleza y gravedad de los síntomas de la enfermedad vírica están relacionadas con la función del órgano afectado (cerebro, hígado, etc.) y la importancia de la respuesta inmunopatológica desencadenada por la infección. En la tabla 3 se resumen los síndromes más importantes de etiología vírica y órganos preferentemente afectados. En muchas ocasiones la infección es inaparente debido a que el tejido infectado no es dañado, la infección es controlada antes de que el virus alcance el órgano diana, o es posible que el tejido afectado del órgano diana pueda ser destruido sin afectar a la función, dañado de forma mínima o rápidamente reparado. Las infecciones inaparentes, al cursar de forma silente, son una fuente importante de contagio y transmisión en las infecciones víricas.

Estrategias diagnósticas

La metodología diagnóstica de las infecciones víricas se ha modificado sustancialmente en los últimos años, de modo que en la actualidad existen múltiples opciones para conseguir una sensible y precisa identificación de la infección vírica a partir de muestras clínicas. La mejor calidad de los anticuerpos monoclonales para la detección directa de antígenos víricos y la revolución tecnológica que han supuesto los métodos moleculares para la identificación directa del genoma vírico consiguen, cada vez con menor tiempo de respuesta, la detección e identificación vírica, lo que permite una elección precoz de las alternativas terapéuticas adecuadas.

La historia clínica y los síntomas del paciente ofrecen las primeras claves para diagnosticar una infección vírica, excluyendo otros tipos de infección (bacterianas, fúngicas). Los estudios de laboratorio pretenden: a) confirmar el diagnóstico identificando el agente vírico responsable de la infección; b) determinar el tratamiento antivírico adecuado; c) definir el curso y evolución de la enfermedad vírica; d) monitorizar epidemiológicamente la enfermedad y e) servir de información al personal sanitario y a los pacientes.

El laboratorio puede aportar información relevante mediante: a) la descripción del efecto citopático inducido por el virus en las células infectadas; b) la detección de las partículas víricas utilizando microscopía electrónica; c) el aislamiento y crecimiento del virus en medios celulares *in vitro*; d) la detección de componentes víricos (proteínas y genomas); y e) la evaluación de la respuesta inmunitaria del paciente frente al virus (serología).

Los procedimientos basados en la microscopía, tanto óptica como electrónica, cuya finalidad era la observación directa de la partícula vírica o la detección del efecto citopático en la célula infectada, solo tienen sentido en muy contadas situaciones de diagnóstico clínico y requieren unas condiciones de equipamiento reservadas a laboratorios de alto nivel.

TABLA 3

Etiología de los principales síndromes víricos

Tejido	Enfermedad	Virus
Cardíaco	Miocarditis, pericarditis	ADV, enterovirus, virus de la gripe, metaneumovirus
Cutáneo	Exantema maculopapular	ADV, enterovirus, VHH-6, virus del sarampión, parvovirus B19, virus rubeola
	Exantema vesicular	Enterovirus, VHS, poxvirus, VVZ
Fetal, neonato		CMV, VHB, VIH, parechovirus tipo 3, parvovirus B19, virus rubeola
Gastrointestinal	Diarrea	ADV tipos 40 y 41, astrovirus, CMV, norovirus, parechovirus, rotavirus
	Hepatitis	ADV, CMV, VEB, VHA, VHB, VHC, VHD, VHE
	Parotiditis	ADV, CMV, enterovirus, VEB, VHH-6, VIH, virus parotiditis, virus parainfluenza
Hematopoyético	Anemias	Parvovirus B19
	Linfomas	VEB, VIH, virus de leucemia de células T humanas
Ocular	Conjuntivitis	ADV, enterovirus, VHH-6, virus sarampión, parvovirus B19, virus rubeola
	Coriorretinitis	CMV, VHS, VVZ
	Queratoconjuntivitis	ADV, VHS, VVZ
Respiratorio	Bronquiolitis	ADV, enterovirus, coronavirus, metaneumovirus, virus de la gripe, virus parainfluenza, VRS, rinovirus
	Crup	Metaneumovirus, virus de la gripe, virus parainfluenza, rinovirus, VRS
	Faringitis	ADV, CMV, VEB, enterovirus, VHS, coronavirus, VRS
	Neumonía	ADV, CMV, hantavirus, VHS, coronavirus, metaneumovirus, virus de la gripe, virus parainfluenza, rinovirus, VRS, VVZ
	Rinitis	ADV, coronavirus, enterovirus, metaneumovirus, virus de la gripe, virus parainfluenza, rinovirus, VRS
SNC	Encefalitis	Arbovirus, CMV, VEB, virus de fiebres hemorrágicas, VHS, VIH, virus sarampión, virus parotiditis, virus rabia, parechovirus, VVZ
	Leucoencefalopatía multiforme progresiva	Virus JC
	Meningitis	Arbovirus, enterovirus, VHS, virus coriomeningitis linfocitaria, virus sarampión, parechovirus
Urogenital	Cervicitis	ADV, VHS
	Cistitis hemorrágica	ADV tipo 11, virus BK
	<i>Molluscum contagiosum</i>	Poxvirus
	Uretritis, herpes genital	VHS, VVZ
	Verrugas genitales, carcinoma	Papilomavirus

ADV: adenovirus; CMV: citomegalovirus; VEB: virus de Epstein-Barr; VHA: virus de la hepatitis A; VHB: virus de la hepatitis B; VHC: virus de la hepatitis C; VHD: virus de la hepatitis D; VHE: virus de la hepatitis E; VHH-6: virus herpes humano tipo 6; VHS: virus del herpes simple; VIH: virus de inmunodeficiencia humana; VRS: virus respiratorio sincitial; VVZ: virus de la varicela zoster.

De forma análoga, los cultivos celulares que han sido, desde su desarrollo, el método de referencia para el diagnóstico vírico, se han visto superados en sensibilidad por las técnicas moleculares que también han conseguido una especificidad excelente. De este modo, se evita el aislamiento del virus, que la mayoría de las veces es innecesario para un diagnóstico correcto, y evita o reduce los riesgos para el personal del laboratorio. No obstante, mantiene un papel imprescindible en el estudio de la infección vírica a nivel celular y la caracterización de variantes y nuevas cepas víricas. Por ello queda limitado su uso a centros de referencia y laboratorios de investigación.

Toma de muestras

Los síntomas del paciente y su historia clínica, incluyendo viajes recientes, edad, estación del año en la que se desarrolla el cuadro clínico y un diagnóstico probable ayudan a determinar los procedimientos que deben ser utilizados para identificar el agente vírico¹⁰. Por ejemplo, una encefalitis focalizada en el lóbulo temporal precedida de cefaleas y desorientación sugiere una infección por herpes y requiere analizar el líquido cefalorraquídeo (LCR) por técnicas moleculares. El desarrollo de síntomas meníngeos durante el verano puede relacionarse con una meningitis producida por

arbovirus, y se precisan muestras de LCR y sangre para el estudio molecular y serológico, o bien un enterovirus, en cuyo caso, además del LCR, sería interesante disponer de muestras nasofaríngeas y de heces para su análisis molecular e identificación vírica. Por ello, la selección de la muestra apropiada puede ser compleja, debido a que virus diferentes ocasionan cuadros clínicos similares y pueden ser diagnosticados en muestras diferentes (tabla 4).

Las muestras deben ser recogidas de forma precoz en la fase aguda de la infección, antes de que el virus disminuya la capacidad replicativa. Los virus respiratorios, por ejemplo, se eliminan preferentemente de 3 a 7 días desde el inicio de la infección y desaparecen antes que los síntomas. Los virus herpes simple y varicela zoster solo son detectables en lesiones de menos de 5 días de evolución desde el comienzo de los síntomas y los enterovirus solo son diagnosticados en el LCR 2 o 3 días después. Además, la respuesta de anticuerpos neutralizantes puede dificultar la detección del virus. La detección serológica de la infección primaria hay que realizarla en el momento adecuado para que el resultado sea clínicamente valorable (tabla 5).

Acortar los tiempos de recogida y transporte de la muestra al laboratorio aumenta la posibilidad del diagnóstico, siendo necesario que el laboratorio también disponga de las condiciones y medios organizativos que le permitan dar una respuesta lo más inmediata posible. Los virus pueden ser

TABLA 4
Tipo de muestras para el diagnóstico vírico

Virus	Tipo de muestras
ADV ojos, biopsia	Sangre, LCR, heces, respiratorio, genital, oral, orina,
Arbovirus	Sangre, LCR, biopsia
Arenavirus	Sangre, LCR, respiratorio, orina
Astrovirus	Heces
Calicivirus	Heces
Coronavirus	Sangre, heces, respiratorio, biopsia
CMV	Médula ósea, sangre, LCR, heces, respiratorio, genital, oral, orina, ojos, biopsia, líquido amniótico
Enterovirus	Sangre, LCR, heces, respiratorio, piel, oral, orina, ojos, biopsia, líquido pericárdico
VEB	Médula ósea, sangre, LCR, biopsia
Filovirus	Sangre, respiratorio, biopsia
VHA	Sangre, heces
VHB	Sangre
VHC	Sangre, biopsia
VHD	Sangre
VHE	Sangre, heces
VHS	Sangre, LCR, heces, respiratorio, piel, genital, oral, ojos, biopsia, líquido amniótico
VHH-6	Médula ósea, sangre, LCR, biopsia
VHH-8	Sangre, piel, oral
Metaneumovirus	Respiratorio, biopsia
Virus de la gripe	Respiratorio, biopsia
Virus del sarampión	Sangre, respiratorio, orina, biopsia
Virus parotiditis	LCR, oral, orina, biopsia
Papilomavirus	Genital, biopsia
Virus parainfluenza	Respiratorio, oral, biopsia
Parvovirus	Médula ósea, sangre, respiratorio, biopsia, líquido amniótico
Parechovirus	LCR, heces, respiratorio
Poliomavirus	LCR, orina, biopsia
Poxvirus	Piel, oral
Virus de la rabia	Sangre, LCR, piel, oral, biopsia
VRS	Respiratorio, biopsia
Retrovirus	Sangre, LCR, respiratorio, genital, oral, biopsia
Rinovirus	Respiratorio, biopsia
Rotavirus	Heces
Virus rubeola	Médula ósea, sangre, heces, respiratorio, oral, orina, biopsia, líquido amniótico
VVZ	Médula ósea, sangre, LCR, respiratorio, piel, ojos, biopsia

CMV: citomegalovirus; LCR: líquido cefalorraquídeo; VHA: virus de la hepatitis A; VHB: virus de la hepatitis B; VHC: virus de la hepatitis C; VHD: virus de la hepatitis D; VHE: virus de la hepatitis E; VHH-6: virus del herpes humano tipo 6; VHH-8: virus del herpes humano tipo 8; VHS: virus del herpes simple; VRS: virus respiratorio sincitial; VVZ: virus de la varicela zoster.
Modificada de Forman MS, et al¹.

transportados correctamente en frío (hielo seco) o en medios líquidos especiales para transporte de muestras víricas. No es adecuado mantener la muestra a temperatura ambiente ni debe ser congelada a -20 °C. Los virus envueltos siempre son más lábiles que los no envueltos y es necesario ser muy rigurosos en los procedimientos para no perder posibilidades diagnósticas.

En la tabla 6 se resume la relevancia que cada método diagnóstico puede ofrecer en la detección e identificación de los virus.

Métodos de diagnóstico directo

Citología. Los virus pueden producir efectos citopáticos característicos en las muestras de tejido y en los cultivos celulares, incluyendo cambios morfológicos como lisis celular, vacuolización, sincitios y cuerpos de inclusión. Las muestras citológicas pueden ser examinadas para detectar la presencia de antígenos víricos específicos mediante técnicas de inmunofluorescencia directa y el genoma vírico puede ser identificado por hibridación y/o reacción en cadena de la polimerasa (PCR) *in situ*. Este tipo de test al utilizar reactivos específicos son seleccionados tras un diagnóstico diferencial adecuado.

Microscopía electrónica. La microscopía electrónica no es un método habitual entre las técnicas del laboratorio de microbiología clínica, pero pueden ser usadas para detectar e identificar algunos virus presentes en la muestra con la suficiente cantidad de viriones, especialmente si se utilizan técnicas de microscopía inmunoelectrónica.

Cultivos celulares. Un virus puede crecer en cultivos celulares, huevos embrionados y animales de experimentación. Aunque los huevos embrionados aún son utilizados en el crecimiento de virus necesarios para la fabricación de algunas vacunas, su utilización en el aislamiento de virus rutinario ha sido sustituida por los cultivos celulares. Del mismo modo, los animales de experimentación son rara vez utilizados para el aislamiento de virus.

Determinados tipos celulares son utilizados para la replicación de los virus, mediante pases de los cultivos infectados a medio celular fresco que aporta nuevas células susceptibles de infección. Se utilizan células primarias, obtenidas a partir de órganos mediante disociación con productos enzimáticos, y que admiten un número de pases muy limitado; líneas celulares diploides, capaces de permitir un mayor número pero aún limitado de pases y, finalmente, líneas tumorales inmortalizadas que se caracterizan por la posibilidad de realizar muchos pases sin que se observen signos de senescencia celular.

El virus es detectado e identificado en el cultivo celular por la formación de efectos citopáticos, inmunofluorescencia o análisis molecular del genoma. En aquellos casos en los que el crecimiento es muy lento y poco productivo o son virus muy peligrosos para manejarlos y requieren medidas muy

TABLA 5
Serología como herramienta diagnóstica primaria

Al inicio de los síntomas	A los 4-10 días del inicio	A las 2-4 semanas del inicio
ADV (IgM), VEB (IgM), hantavirus (IgM, IgG), VHA (IgM), VHB (IgM, IgG), VHC (IgG), VHD (IgM, IgG), VIH (IgG), HTLV (IgG) parvovirus (IgM)	VHE (IgM), arbovirus	Arbovirus, coronavirus, virus del sarampión, virus de la parotiditis, virus de la rubeola

ADV: adenovirus; HTLV: virus linfotrópico humano; Ig: inmunoglobulina; VEB: virus de Epstein-Barr; VHA: virus de la hepatitis A; VHB: virus de la hepatitis B; VHC: virus de la hepatitis C; VHD: virus de la hepatitis D; VHE: virus de la hepatitis E; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana;

TABLA 6

Métodos para la detección e identificación de virus

	Cultivo	Detección de antígenos	Detección de ácidos nucleicos	Microscopía electrónica	Detección de anticuerpos
Adenovirus	+++	+++	+++	+	+
Arbovirus	+	-	++	+	+++
Bocavirus	-	-	+++	-	+
Citomegalovirus	+++	+++	+++	+	++
Coronavirus	+	+	+++	+	++
Enterovirus/parechovirus	+++	-	+++	-	-
Filovirus/arenavirus	+++	+++	+++	+	++
Hantavirus	+	++	+++	+	+++
Metaneumovirus	++	+++	+++	+	-
Norovirus	-	+	++	++	-
Papilomavirus	-	-	+++	+	+
Parvovirus	-	+	+++	+	+++
Poliomavirus	+	++	+++	++	+
Poxvirus	+++	+	+++	+++	+++
Priones	-	+	++	+	-
Rinovirus	+++	+	+++	-	-
Rotavirus	-	+++	++	+	-
Virus de Epstein-Barr	-	++	+++	-	+++
Virus de la hepatitis A	-	+	+	-	+++
Virus de la hepatitis B	-	+++	+++	+	+++
Virus de la hepatitis C	-	+	+++	-	+++
Virus de la hepatitis D	-	++	++	-	+++
Virus de la hepatitis E	-	-	++	-	+++
Herpesvirus humano 6/7	+	+	+++	+	++
Herpesvirus humano 8	-	++	++	+	+++
Virus herpes simple	+++	+++	+++	+	++
Virus de la inmunodeficiencia humana	+	+	+++	-	+++
Virus de la gripe	+++	+++	+++	-	++
Virus Hendra/Nipah	++	++	+++	+	+++
Virus leucemia de células T	+	-	++	-	+++
Virus parainfluenza	+++	+++	+++	-	+
Virus parotiditis	+++	+	++	+	+++
Virus rabia	++	+++	++	+	++
Virus rubeola	+++	-	++	-	+++
Virus sarampión	++	++	+	+	+++
Virus respiratorio sincitial	+++	+++	+++	+	+
Virus varicela zoster	+++	+++	+++	+	++

Modificada de Landry L, et al¹²

estrictas de aislamiento es más práctico y razonable utilizar técnicas moleculares y serológicas.

Detección de antígenos víricos. Los anticuerpos pueden ser utilizados como reactivos específicos y sensibles para detectar, identificar y cuantificar virus o antígeno vírico en muestras clínicas o cultivos celulares (inmunohistoquímica). Los anticuerpos monoclonales permiten distinguir de forma específica virus muy relacionados mediante técnicas inmunofluorescentes, inmunoenzimáticas (ELISA) y partículas de látex. Existen múltiples ensayos comerciales que ofrecen un diagnóstico rápido, sensible y específico en el diagnóstico de algunos virus (virus respiratorio sincitial, rotavirus) que son utilizados rutinariamente en el laboratorio.

Detección molecular de genoma vírico. La estructura y secuencia genética son características fundamentales para

discriminar entre virus. Existen diferentes métodos que permiten diferenciar e identificar cepas víricas y las sondas de ADN, con secuencias complementarias de regiones específicas del genoma vírico son una herramienta fundamental en la detección de virus. Estas sondas pueden detectar virus en estado no replicativo, no es posible el cultivo o la detección de antígenos mediante test inmunológicos. Las secuencias genéticas víricas pueden reaccionar con sondas complementarias en tejido fijado mediante el uso de la hibridación *in situ*. No obstante, es posible que el número de copias de ADN presentes en la muestra no sea suficiente para ser detectada y, entonces, son necesarias técnicas de amplificación genómica de fragmentos específicos, entre las cuales ha destacado de forma indiscutible la PCR.

La mayoría de los laboratorios clínicos utilizan las técnicas de PCR en el diagnóstico de virus en muestras clínicas, en sus diferentes aplicaciones y formatos. Es una técnica que

