

¿Cómo se diagnostican las ENFERMEDADES VIRALES?

Por: Juan Santiago Salas Benito

¿Por qué es importante diagnosticar las enfermedades virales?

Una buena parte de las enfermedades infecciosas se manifiestan con sintomatologías muy semejantes. Por ejemplo, las bacterias y los virus que causan enfermedades respiratorias presentan síntomas que pueden ser muy parecidos como tos, estornudos, fiebre y dolor general de cuerpo. Sin embargo, el tratamiento es muy diferente; mientras que para combatir a las bacterias se usan antibióticos, para combatir a un virus respiratorio, como el de la Influenza, se usan antivirales específicos y el proceso de recuperación de estas enfermedades depende mucho en el tipo de tratamiento que el paciente reciba. Por ello, el diagnóstico adecuado de las infecciones virales es muy importante. Otro ejemplo lo constituyen las hepatitis, todas ellas presentan síntomas muy semejantes que pueden incluir fiebre, coloración amarillenta en la piel y las mucosas (ictericia), disminución en la coloración de las heces o hipocolia y el oscurecimiento en la orina o coluria, pero los principales agentes virales que producen hepatitis, llamados A, B y C son muy diferentes entre sí y, de hecho, pertenecen a familias virales completamente distintas. Además, los virus de las hepatitis B y C están asociados a cáncer de hígado, por lo que su identificación es muy importante para que el médico pueda decidir el tipo de tratamiento y la vigilancia de estos pacientes.

¿Dónde se pueden encontrar los virus para detectarlos?

Dependiendo del virus, se pueden encontrar en las secreciones del cuerpo como la saliva y el semen; en líquidos corporales como la sangre, la orina, el líquido cerebrospinal y hasta en las heces. Todos estos fluidos y materia pueden ser usados como muestras para hacer el diagnóstico dependiendo del virus a diagnosticar. También los virus se pueden identificar en los propios tejidos de la persona, pero para ello se requiere de la obtención de un pequeño fragmento al que se le denomina biopsia. Para las enfermedades de curso agudo (como resfriados o dengue) la muestra debe ser tomada generalmente cuando los síntomas están presentes; en caso de enfermedades de curso crónico (como el SIDA o papiloma virus), las muestras pueden ser tomadas en cualquier momento después de la infección.

¿Se pueden detectar virus infecciosos en las muestras?

Se pueden detectar virus presentes en las muestras mediante el uso de cultivos celulares que no son más que células de origen animal que se han adaptado para crecer dentro de botellas de plástico especialmente diseñadas y a las que se mantienen con un medio de cultivo especial. En la actualidad existen muchas líneas celulares que se usan rutinariamente en las actividades relacionadas con la virología. Estas líneas celulares son puestas en contacto o inoculadas con la muestra del paciente en

la cual se sospecha está presente el virus. Si la muestra contiene virus, entonces éste infectará dichas células y se generarán más partículas virales se pueden detectar con mayor facilidad. En muchos casos, aunque no en todos, los virus, al momento de reproducirse dentro de la célula, le producen un cambio característico en su forma que puede ser apreciado bajo el microscopio. A esto se le denomina efecto citopático (Figura 1). En otros casos, el proceso de infección no es tan obvio y se requiere del uso de técnicas adicionales para detectar al virus dentro de las células, como los que revisaremos a continuación. El problema con esta técnica es que se requiere de la presencia de virus viables en las muestras, lo que implica un manejo muy cuidadoso de la muestra, por ejemplo, transportarlas en medio y condiciones apropiadas y mantenerlas en refrigeración o congelación, y esto no siempre es posible. Por otra parte, el efecto citopático puede ser apreciado directamente en algunas células del cuerpo mediante el uso de un microscopio. Por ejemplo, la infección ocasionada por el virus del Papiloma humano genera células del cuello uterino modificadas a las que se les denomina coilocitos, y que pueden ser observadas mediante el examen citológico llamado Papanicolaou (Figura 2).

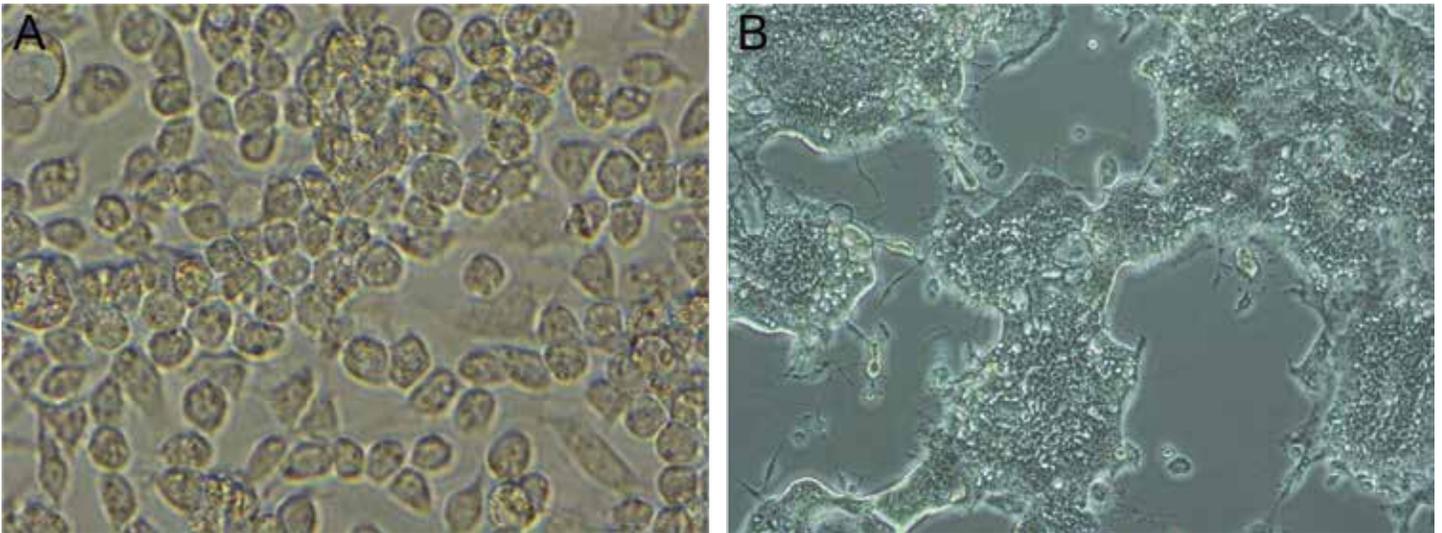


Figura 1. Células de mosquito no infectadas (A) e infectadas con el virus del Dengue (B) donde se puede apreciar el efecto citopático. Cortesía de la M. en C. María de los Ángeles León Guzmán. ENMH-IPN.

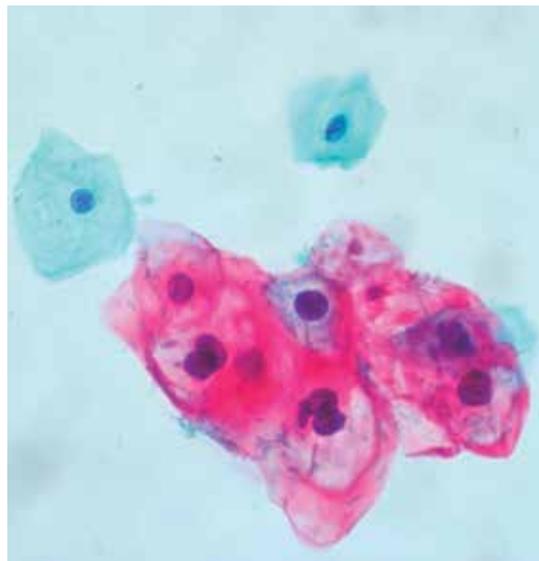


Figura 2. Ejemplo de coilocitos, células del cuello uterino infectadas con el virus del Papiloma humano. Cortesía del Dr. Guillermo Pérez Ishiwara. ENMH-IPN.

¿Se puede saber si una persona tuvo una enfermedad viral?

Cuando los virus infectan a una persona generan lo que se denomina una respuesta inmune, es decir, una serie de procesos dentro del organismo encaminados a combatir la infección, y esta respuesta tiene memoria. Cuando una persona cursa con una infección viral genera, entre muchas cosas, anticuerpos, que son moléculas capaces de reconocer las proteínas de los virus, y estos anticuerpos se mantienen por tiempos prolongados en el suero de las personas afectadas. Mediante técnicas como la inmunofluorescencia o los inmunoensayos, de los que hablaremos a continuación, se pueden detectar los anticuerpos dirigidos contra determinado virus y así saber si una persona tuvo o no contacto con él, independientemente de si presenta datos de la enfermedad o no. Estas técnicas permiten además cuantificar estos anticuerpos y determinar su tipo, con lo que se puede obtener mucha información como si un individuo está cursando con una infección activa o no, o si es la primera vez que tiene contacto con un determinado virus o no.

¿Cómo se detecta a los virus?

Los virus, así como los individuos, tienen ciertas características que los distinguen a unos de otros. Una de ellas es el tipo de proteínas que los forman y que pueden ser detectadas mediante los anticuerpos de los que hablábamos antes y que son generados por nosotros y otros mamíferos en respuesta a las infecciones virales. Existen anticuerpos comerciales que son producidos por la inoculación de estas proteínas en animales como conejos o ratones a los que se les une una molécula que permite su detección y que se emplean rutinariamente en las técnicas de diagnóstico. Los anticuerpos son capaces de reconocer de manera específica a las proteínas de los virus, ya sea dentro de la célula o en las muestras. Si la molécula a la que está unido el anticuerpo es fluorescente, la técnica se llama inmunofluorescencia y es muy útil para detectar virus presentes dentro de las células; por ejemplo, en los cultivos celulares infectados con un virus proveniente de una muestra y el cual no genera un efecto citopático evidente (Figura 3). El problema es que requiere de uso de un microscopio especial que no está al alcance de todos los laboratorios. En los inmunoensayos, los anticuerpos específicos contra una proteína viral son “fijados” sobre una placa de plástico y se ponen en contacto con la muestra sospechosa. Si la proteína viral está presente en la muestra, el anticuerpo es capaz de reconocerla. La unión entre ambos es evidenciada mediante un segundo anticuerpo capaz de reconocer a la proteína viral “fijada”, pero éste va acoplado a una enzima que, mediante el uso de un reactivo determinado, genera un cambio de color que puede ser observado y medido. Tiene la ventaja de que es una técnica mucho más sencilla que la inmunofluorescencia y requiere de un equipo menos sofisticado. Aunque las técnicas de detección de virus basadas en el uso de anticuerpos son muy populares por su sencillez y bajo costo, tienen el problema de que muchas veces el anticuerpo puede no ser capaz de diferenciar las proteínas de dos virus que son muy parecidos dando un resultado que se denomina “falso positivo”, pero tienen la ventaja de que no siempre es necesario que en la muestra se encuentre un virus infeccioso, como sucede con las técnicas que emplean líneas celulares, por lo que el manejo de las mismas no es tan estricto.

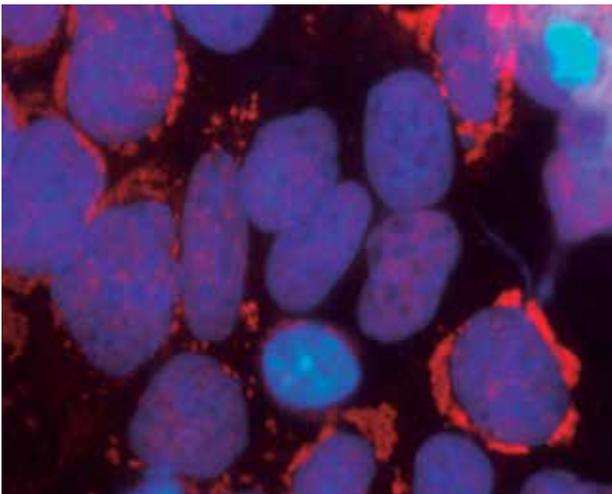


Figura 3. Ejemplo de una inmunofluorescencia. Células CaCo2 infectadas con Astrovirus humano 8. Los núcleos de las células están teñidos de azul y de rojo se ve la señal del virus. Cortesía de la Dra. Mónica De Nova Ocampo. ENMH-IPN.

Las técnicas que han adquirido mucho auge en los últimos años por su especificidad y versatilidad son aquellas encaminadas a la detección del genoma viral. Tienen la gran ventaja de que son muy específicas, incluso pueden diferenciar cepas de un mismo virus; y son muy sensibles, es decir, pueden detectar virus en una muestra aunque se encuentre en bajísimas cantidades. Aunque requieren de un equipo y reactivos muy sofisticados para su realización, éstos se han vuelto cada vez más accesibles para los laboratorios convencionales. Estas técnicas se denominan PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) y la RT-PCR (donde la RT significa Retrotranscripción) y permiten, mediante el uso de determinadas enzimas y de pequeñas moléculas diseñadas para que reconozcan específicamente el genoma del virus, llamados sondas o cebadores, la amplificación de un fragmento del genoma viral que puede ser posteriormente visualizado. La PCR se emplea para detectar virus cuyo genoma está formado por ácido desoxirribonucleico (DNA por sus siglas en inglés) y la RT-PCR para virus cuyo genoma es un ácido ribonucleico (RNA por sus siglas en inglés). La tecnología ha avanzado enormemente y actualmente se pueden cuantificar los “amplificados” del genoma en lo que se llama “tiempo real” lo que permite no sólo identificar al virus sino determinar el número de genomas que están presentes en una determinada muestra, lo que resulta muy útil para evaluar la evolución y éxito de un determinado tratamiento.

Links

PCR

www.webconsultas.com/pruebas-medicas/pcr-13299

<https://www.youtube.com/watch?v=TalHTjA5gKU>

INMUNOENSAYOS

http://www.alergomed.org/uploads/1/0/0/2/10021998/lectura_prctica_-_inmunoensayos_1.pdf

CULTIVOS CELULARES

<http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/celular/cultivos.htm>



**Comisión de Difusión y Divulgación
de la Red Mexicana de Virología**

Selene Zárate Guerra
Martha Yocupicio Monroy
Juan Ludert León
Carlos Sandoval Jaime

Diseño: Alfredo Padilla Barberi