

## DIAGNOSTICO DE LAS ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR VIRUS

CARLOS CAMPILLO SÁINZ  
Académico de número

En patología humana, las enfermedades causadas por virus son muy numerosas. Clínicamente forman un grupo en extremo heterogéneo, integrado por miembros que pueden dar la nota sintomática dominante en cualquiera de los aparatos y sistemas de la economía. Figuran aquí procesos del aparato digestivo, del génito-urinario, del respiratorio, del sistema nervioso, etc. Algunos se caracterizan por el predominio de las lesiones tegumentarias; otros atacan de manera selectiva un solo órgano, como el ocular; los más, presentan manifestaciones septicémicas que denotan claramente su naturaleza infecciosa.

Cuadros tan disímbolos no pueden encerrarse dentro del marco que impone la misma clasificación. Enfocado desde el ángulo clínico, este panorama tan vasto puede desmembrarse como sigue:

1. Cuadros sintomáticos más o menos bien individualizados, de etiología conocida.
2. Síndromes en cuya producción intervienen diversos virus y otros factores causales.
3. Cuadros indeterminados en los que se presume la etiología por virus.

En el primer caso, el grado de exactitud alcanzado por el diagnóstico clínico es muy variable y depende de la diferenciación sintomática de la entidad nosológica que se considere. Según esto, algunas veces tendrá gran precisión y otras el margen de error será más amplio. La participación del laboratorio estará eventualmente sujeta a esas mismas variaciones. Así por ejemplo, rara vez el médico solicitará la ayuda del laboratorio para diagnosticar la varicela; pero en cambio, tendrá que hacerlo ante la sospecha de pleurodinia por virus del grupo coxsackie.

En la segunda eventualidad, el médico se limita a identificar el síndrome sin prejuzgar la naturaleza del agente etiológico. Tal ocurre en las neumonías atípicas, en donde el concurso del laboratorio es obligado. En las enfermedades de la tercera categoría se busca un virus general, no determinado virus. El problema diagnóstico se convierte en tema de investi-

gación, semejante al que plantean algunas gastroenteritis agudas epidémicas.

A este propósito surge la cuestión de averiguar cuáles son los datos que inducen a sospechar la etiología por virus en un padecimiento. La existencia de rasgos clínicos comunes a todas las enfermedades por virus, es muy discutible. Suelen mencionarse tanto la ausencia de lesiones inflamatorias supurativas (que la biometría hemática refleja por la falta de respuesta leucocitaria con neutrofilia) como la resistencia a la acción terapéutica de las sulfadrogas y antibióticos. En realidad, ninguno de los dos atributos tiene valor absoluto, dado que no se presentan en todas las afecciones originadas por virus y, en cambio, pueden encontrarse en procesos de distinta etiología, v.gr., las micosis.

Más allá del terreno clínico, nos encontramos también con dos criterios de índole distinta: el primero, "epidemiológico" es la contagiosidad; el segundo —de laboratorio— se refiere a la ausencia de agentes patógenos distintos del virus mismo. Nuevamente un carácter positivo y otro negativo que, al conjugarse, resultan de cierta utilidad práctica. Los diagnósticos llamados de "exclusión" se basan precisamente en las informaciones suministradas por los criterios señalados. Pero el diagnóstico específico es del dominio estricto del laboratorio de virología. Este último requiere personal y equipo especializados así como la utilización de métodos propios que todavía no han sido incorporados al trabajo de rutina y, sin embargo, la ayuda que el laboratorio de virus ofrece al médico en la solución de los problemas diagnósticos es cada vez más importante. En efecto, la mayoría de las enfermedades producidas por virus pueden actualmente diagnosticarse en dicho laboratorio. De donde la conveniencia de que organismos de este género existan en nuestro medio.

Para establecer el diagnóstico específico por medio del laboratorio pueden seguirse esquemáticamente dos caminos: identificar el virus causal, o demostrar las reacciones inmunológicas específicas del huésped.

#### AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL VIRUS.

El aislamiento del virus, que es el primer paso para llegar a su identificación, está indicado en los casos siguientes:

1. Cuando no se dispone de técnicas serológicas más sencillas que puedan ponerse en juego.
2. Cuando interesa conocer la cepa responsable de una epidemia a fin de poder utilizarla en la elaboración de la vacuna homóloga.
3. Cuando, en ausencia de diagnóstico clínico nosológico, existen razones para presumir la etiología por virus de una enfermedad.

Inóculos adecuados y animales susceptibles, son los elementos del problema. La selección correcta del inóculo tiene primordial importancia y se basa en el conocimiento de las vías de penetración, distribución y eliminación del virus. Así por ejemplo, el virus de la poliomielitis se busca, tanto en las secreciones nasofaríngeas, como en la sangre y materias fecales de los enfermos. Pero la probabilidad de encontrarlo en cada uno de esos productos varía de acuerdo con la etapa de la enfermedad. En otras palabras, la naturaleza del inóculo depende del momento en que se recoge el producto.

Por regla general —y esto es particularmente cierto, en tratándose de muestras de sangre— el inóculo debe tomarse en los primeros días de la enfermedad, ya que a medida que ésta progresa, se forman anticuerpos específicos de acción neutralizante sobre el virus. El hecho se observa en la influenza, la parotiditis, la encefalitis y otras enfermedades. Sin embargo, en algunos padecimientos, como la viruela, existe la misma probabilidad de aislar el agente a partir de todas las lesiones dermatológicas; desde las máculas hasta las costras.

Parece obvio indicar que el material sospechoso habrá de transportarse, almacenarse y manipularse en forma tal que no interfiera con la actividad del virus.

Por lo que respecta a los animales se da preferencia, en igualdad de circunstancias, a los de costo más reducido. Los ratones y embriones de pollo son los más adecuados para el trabajo de rutina. Entre los factores que hacen variar la susceptibilidad de los animales de la misma especie para el mismo virus deben señalarse la edad y la vía de inoculación. Sólo los ratones de unos cuantos días de nacidos son susceptibles a los virus coxsackie y los pollos de un día a los agentes de las encefalitis equinas.<sup>1</sup>

La vía intranasal de inoculación es la única recomendable para aislar el virus de la influenza en los hurones, hámsters (*Cricetus auratus*) y ratones.

La edad del embrión de pollo condiciona la vía de inoculación y por tanto, la receptividad a los distintos virus. Los embriones que tienen de 10 a 12 días son aptos para inocularse en la membrana corioalantoidea, lugar donde se multiplican los virus del grupo de la viruela-vacuna.

En los últimos años el aislamiento e identificación sistemáticas de los virus ha recibido enorme impulso por la aplicación de las técnicas de cultivo de tejidos que están llamados a difundirse cada vez más. La mayor parte de los virus patógenos para el hombre que se conocen en la actualidad ya han sido propagados en cultivo de tejidos. Es el único medio de que se dispone para aislar los virus del sarampión<sup>2</sup> y la varicela;<sup>3</sup> e indis-

cutiblemente el procedimiento de laboratorio de elección para diagnosticar la poliomielitis.

La existencia de virus en el material de estudio puede sospecharse por la aparición de ciertas manifestaciones clínicas e histopatológicas en los animales y por las alteraciones citológicas que se observan en los tejidos cultivados. En todos los casos dichas manifestaciones han de ser reproducibles por pases sucesivos; pero teniendo en cuenta que rara vez son específicas; la identidad de los agentes aislados se establece, en último término, mediante pruebas serológicas realizadas con antisucros prototipos.

Una vez que el estudio del laboratorio ha llegado a este punto, el problema del diagnóstico etiológico se plantea alrededor del caso particular. Porque la mera presencia del virus en un organismo no implica su acción patógena. Desde la generalización de las técnicas de cultivo de tejidos se refieren, a diario, aislamiento de virus todavía no clasificados que aparentemente son inocuos para el ser humano. Algunos virus del grupo coxsackie representan buenos ejemplos de agentes saprófitos del hombre.

Se sabe también que durante las epidemias de poliomielitis el virus se encuentra en las materias fecales de gran número de individuos sanos. En ellos, dicho virus actúa como simple contaminante sin desencadenar respuesta clínica o inmunológica alguna. Son sujetos en los cuales el estado inmunitario previamente adquirido es de tal magnitud que permanece inalterable con motivo de exposiciones subsecuentes. Es en extremo interesante la observación de que un virus patógeno, como el de la poliomielitis, resulte inofensivo en tales circunstancias. De ahí que el poder patógeno de los virus deba apreciarse, no en abstracto, sino frente a las condiciones individuales de resistencia de cada organismo. Únicamente entonces podrá ser interpretada la significación que tiene el aislamiento de un virus en un momento dado y a partir de un huésped determinado. El papel etiológico del virus aislado queda fuera de duda siempre que en presencia de la respuesta inmunitaria específica, su hallazgo explique la sintomatología observada. Cuando esta última falta, no obstante que concurren el virus y la elevación del título de los anticuerpos, se justifica afirmar la existencia de infección inaparente causada por el virus aislado.

La observación microscópica, en sus diversas modalidades, se utiliza también para identificar los virus y las lesiones, más o menos características, a que dan lugar en los tejidos.

El microscopio ordinario descubre las llamadas "inclusiones celulares". Aunque son más frecuentes en las enfermedades originadas por virus se observan, asimismo, en algunos procesos tóxicos y aun en las células de organismos normales. Sin embargo, su hallazgo tiene especial valor en los

padecimientos ocasionados por virus de partícula grande, entre los cuales figuran: los de la psitacosis y ornitosis, el del linfogranuloma venéreo, el virus del tracoma y los de la conjuntivitis y uretritis por inclusión; así como los del grupo de la viruela-vacuna.

La presencia de dichas inclusiones es el único dato que proporciona el laboratorio en el diagnóstico del tracoma y de las conjuntivitis y uretritis por virus. El cuerpo del Negri es patognomónico de la rabia.

Por razones obvias, las aplicaciones diagnósticas del microscopio electrónico son muy restringidas en la práctica. Finalmente, todos los procedimientos que toman como base la morfología, deben supeditarse a métodos capaces de revelar el dinamismo causal.

#### DETERMINACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNITARIA DEL HUÉSPED.

Las pruebas serológicas que se utilizan con este objeto son: fijación del complemento, neutralización, inhibición de la hemoaglutinación y aglutinación.

#### PRUEBA DE FIJACIÓN DEL COMPLEMENTO.

La mejor prueba diagnóstica del laboratorio de virus y la más difundida, es la fijación del complemento. Después de los trabajos de Cox<sup>4</sup> con rickettsias, se utilizó el embrión de pollo para obtener antígenos de virus. Habel<sup>5</sup> preparó el del virus de la parotiditis y Rake<sup>6</sup> el del linfogranuloma venéreo. Howitt<sup>7</sup> y Casals<sup>8</sup> describieron las primeras técnicas para purificar los antígenos elaborados con tejido nervioso. Utilizaron cerebros de ratones inoculados con los virus de las encefalitis epidémicas. Svedmyr y Enders,<sup>9</sup> trabajando con virus de la poliomiélitis, fueron los primeros en aplicar el cultivo de tejidos a la obtención de antígenos. Con la mayoría de los virus patógenos para el hombre se preparan actualmente antígenos concentrados y purificados. La fijación del complemento se lleva a cabo esencialmente con las mismas técnicas que se siguen en Bacteriología. En algunas ocasiones, en lugar de aplicarla a la determinación de anticuerpos se invierten los términos, en forma tal, que la incógnita queda entonces representada por el antígeno. Este procedimiento se emplea con frecuencia en el diagnóstico de la viruela: con el material procedente de las lesiones se prepara el antígeno que se hace reaccionar después con antisucros conocidos.

Las más de las veces, la reacción de fijación del complemento se limita a descubrir antígenos de grupo, sin llegar a establecer las diferencias específicas que existen entre las cepas. La característica anterior, si bien re-

dunda en perjuicio de la sensibilidad, tiene, en cambio, la ventaja de simplificar la ejecución de las encuestas serológicas habituales que no requieren mayor precisión. En tales circunstancias, las pruebas de la fijación del complemento se prefieren a todas las demás.

Los anticuerpos correspondientes aparecen 2 ó 3 semanas después del principio de la enfermedad y desaparecen al cabo de algunos meses.

#### PRUEBA DE NEUTRALIZACIÓN.

El material de estudio se pone en contacto *in vitro* con suspensiones de virus conocidos.

La mezcla se incuba a temperaturas y durante lapsos de tiempo que varía de acuerdo con la técnica empleada. A continuación se inoculan con ella animales, embriones de pollo o cultivos de tejidos. En todos los casos se busca suprimir algún efecto ostensible y específico del virus: la muerte en los animales; esta misma o la aparición de lesiones características, en los embriones de pollo; la degeneración de las células en los cultivos. Hay un acuerdo unánime sobre la ventaja de utilizar la misma concentración del virus frente a diluciones variables del suero problema, en lugar de proceder a la inversa. Las pruebas de neutralización son las más específicas aunque su empleo en gran escala adolece de algunos inconvenientes. Ellos son, por una parte, la necesidad de disponer de un número crecido de animales de laboratorio o de tubos de cultivo, y por otra, la duración misma de la prueba, que requiere varios días para efectuarse. Los anticuerpos neutralizantes aparecen también alrededor de la segunda semana de la infección y persisten varios años después de ella.

#### PRUEBA DE LA INHIBICIÓN DE LA HEMOAGLUTINACIÓN.

Descrita por Hirst en 1941<sup>10</sup> a propósito de la influenza, es la más sencilla de las pruebas serológicas. Los virus de la influenza, parotiditis, viruela y varicela, tienen la propiedad de aglutinar los glóbulos rojos de varios animales, especialmente los de pollo y cobayo y también los del hombre. Recientemente, Sabin<sup>11</sup> y Casals<sup>12</sup> han encontrado que muchos agentes de la encefalitis poseen factores hemoaglutinantes que pueden demostrarse por medio de técnicas complejas. Como consecuencia de la infección por los virus citados, se desarrollan en la sangre sustancias inhibidoras de la acción hemoaglutinante de aquellos. Dichas sustancias se comportan como verdaderos anticuerpos dotados de gran especificidad.

En efecto, la prueba de inhibición de la hemoaglutinación puede ser

muy útil para revelar la constitución antigénica de las cepas de un virus. Pero, en razón de esa misma sensibilidad, está contraindicada en algunos estudios epidemiológicos. Así, por ejemplo, se requerirían muchas reacciones y gran número de cepas "prototipo" para determinar el agente responsable de un brote de influenza.

#### PRUEBA DE AGLUTINACIÓN.

Muy poco se emplean en el diagnóstico por las grandes cantidades de antígeno que se requieren para efectuarla. Las reacciones microscópicas de aglutinación son vistas con desconfianza, en virtud de que llevan consigo el error propio de los métodos de microscópicos cuantitativos. Las pruebas microscópicas de aglutinación se aplican únicamente en las enfermedades producidas por los virus grandes, sobre todo, en la viruela y la psitacosis.

#### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LAS PRUEBAS SEROLÓGICAS.

En la sangre de las personas normales existen anticuerpos contra diversos virus, debido a infecciones o vacunaciones previas. El propósito de las pruebas serológicas es demostrar que, con motivo de la enfermedad actual, ha tenido lugar la aparición de los anticuerpos específicos o la elevación del título de los mismos. Para ello se necesitan dos muestras de sangre: la primera debe tomarse tan pronto como sea posible después del principio de la enfermedad; la segunda, dos o cuatro semanas después. Muestras adicionales pueden eventualmente necesitarse en algunas enfermedades caracterizadas por la aparición tardía de los anticuerpos; la coriomeningitis linfocítica, por ejemplo.

Cualquiera que sea la prueba que vaya a efectuarse, el estudio de las dos muestras de referencia deberá conducirse en forma simultánea utilizando los mismos reactivos y las mismas técnicas.

El diagnóstico es concluyente siempre que se compruebe que el título inicial de anticuerpos aumenta por lo menos cuatro veces. Si no se dispone de la primera muestra como punto de referencia, y el título de la segunda está significativamente por encima de las cifras que suelen encontrarse en la población general, el diagnóstico de la infección actual o reciente podrá establecerse con carácter de hipótesis. La interpretación de otras situaciones que surjan deberá hacerse de acuerdo con los datos clínicos y epidemiológicos.

## OTRAS PRUEBAS.

Las pruebas de sensibilidad cutánea han sido ampliamente usadas en dos enfermedades: la parotiditis<sup>13</sup> y el linfogranuloma venéreo<sup>14</sup>. En ésta se utiliza como prueba diagnóstica, en aquella se aplica a descubrir la susceptibilidad individual.

Por último, a título de auxiliares del diagnóstico etiológico, figuran pruebas de laboratorio inespecíficas. La búsqueda de aglutininas al frío y para el estreptococo M. G. en les neumonías atípicas; la prueba de Paul Bunnell en la mononucleosis infecciosa, y otras más, caen dentro de esta categoría.

## RESUMEN.

Se hacen breves consideraciones generales sobre el diagnóstico clínico de los padecimientos por virus, y se subrayan dos puntos: 1) la diversidad sintomática de ese vasto grupo de padecimientos; y 2) la ausencia de rasgos clínicos comunes que pudieran ser el índice de su etiología por virus.

Se aborda a continuación el tema relativo al diagnóstico de las virosis por medio del laboratorio, y se hace referencia a las técnicas que se usan en la actualidad, a propósito de las cuales se señalan sus indicaciones respectivas y la interpretación que debe darse a los resultados obtenidos.

## SUMMARY

Clinical diagnosis of virus diseases is briefly considered and stress is laid upon two points: 1) the symptomatic diversity of this large group of diseases and 2) the absence of any common clinical features which might point to their viral etiology.

The laboratory diagnosis of viral infections is then considered, and reference is made to the techniques actually used; their indications are presented as well as the interpretation of their results.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 Chamberlain, R. W., R. K. Sikes, and R. E. Kissling: Use of chicks in eastern and western equine encephalitis studies. *Jour. Immunol.* 73: 106-115. 1954.
- 2 Enders, J. F., and F. C. Peebles: Propagation in tissue cultures of cytopathogenic agents from patients with measles. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 86: 277-286. 1954.
- 3 Weller, T. H., and M. B. Stoddard: Intranuclear inclusion bodies in cultures of human tissue inoculated with varicella vesicle fluid. *Jour. Immunol.* 68: 311-319. 1952.

<sup>4</sup> Cox, H. R.: Use of yolk sac of developing chick embryo as medium for growing rickettsiae of Rocky Mountain Spotted fever and typhus groups. *Pub. Health Rep.* 53: 2241-2247. 1930.

<sup>5</sup> Habel, K.: Cultivation of mumps virus in the developing chick embryo and its application to studies of immunity to mumps in man. *Pub. Health Rep.* 60: 201-212. 1943.

<sup>6</sup> Rake, G., and H. P. Jones: Studies on lymphogranuloma venereum: I Development of agent in yolk sac of chicken embryo. *Jour. Exper. Med.* 1942.

<sup>7</sup> Howitt, B. F.: The complement fixation reaction in experimental equine encephalomyelitis, lymphocytic choriomeningitis and the St. Louis type of encephalitis. *Jour. Immunol.* 33: 235-250. 1937.

<sup>8</sup> Casals, J., and R. Palacios: The complement fixation test in the diagnosis of virus infections of the central nervous system. *Jour. Exper. Med.* 74: 409-426. 1941.

<sup>9</sup> Svedmyr, A., J. F. Enders, and A. Holloway: Complement fixation on with the three types of poliomyelitis viruses propagated in tissue culture. *Am. Jour. Hyg.* 57: 60. 1953.

<sup>10</sup> Hirst, G. K.: The agglutination of red cells by allantoic fluid of chick embryos infected with influenza virus. *Science.* 94: 22-23. 1941.

<sup>11</sup> Sabin, A. B., and E. L. Buescher: Unique physico-chemical properties of Japanese B encephalitis virus hemagglutinin. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* 74: 222-230. 1950.

<sup>12</sup> Casals, J., and L. V. Brown: Hemagglutination with arthropodborne viruses. *Jour. Exper. Med.* 99: 429-451. 1954.

<sup>13</sup> Enders, J. F., L. W. Kane, E. P. Maris, and J. Jr. Stokes: Immunity in mumps. V. The correlation of the presence of dermal hypersensitivity and resistance to mumps. *Jour. Exper. Med.* 84: 341-364. 1946.