

5.4 How is diagnosis done in the lab?

5.4 ¿Cómo se diagnostica en el laboratorio?

Bienvenido al último video del curso sobre Diagnóstico en Virología. Durante estas semanas hemos estado aprendiendo muchas técnicas. Vamos a hacer un poco de repaso:

Primero vimos el manejo de virus en el laboratorio. Luego vimos un par de videos sobre microscopía electrónica y cuantificación vírica. A continuación dedicamos cuatro videos a tecnologías que se centran en los ácidos nucleicos, tanto víricos como celulares. El cuarto bloque lo destinamos a ver cómo evaluar los anticuerpos y las células de la respuesta inmunitaria para determinar si existe infección vírica. Y finalmente, el quinto bloque se ha dedicado a los ensayos biológicos.

Pero te preguntarás: ¿Cómo se procesan habitualmente las muestras en el laboratorio?

Más del 60% de todos los casos de enfermedades infecciosas humanas diagnosticadas por médicos son infecciones víricas. En la práctica clínica, tanto humana como veterinaria, es esencial un diagnóstico rápido y preciso para controlar la enfermedad, bien mediante tratamiento antiviral, o más frecuentemente, implementando las medidas oportunas para evitar su transmisión a otros individuos.

Cada vez se están desarrollando más sistemas que permiten el diagnóstico al pie de la cama del paciente, o POC (que también se llama point-of-care). Idealmente, las pruebas deben ser rápidas, simples, sensibles, específicas y de bajo coste. Para abaratar costes, los tests diagnósticos son cada vez más miniaturizados y automatizables. El análisis de los resultados se suele realizar por ordenador, para eliminar subjetividad y ganar en precisión.

El diagnóstico laboratorial correcto depende de que la muestra se tome en el **momento** y en el **sitio** adecuados. En cuanto al momento, se deben tomar las muestras de los órganos afectados lo antes posible tras la aparición de los primeros signos clínicos, que es cuando hay mayor presencia vírica. Para el diagnóstico serológico es preferible tomar una muestra de sangre tras una semana después de la infección y otra, 3-4 semanas después, para comprobar el incremento de título de anticuerpos.

La elección de la muestra adecuada está en relación con los signos clínicos y el conocimiento de la patogenia de la enfermedad de la que se sospecha. Como regla general, se debe tomar muestra de la superficie epitelial de la puerta de entrada, ya sea la garganta, la conjuntiva, o una herida. En la información adicional encontrarás una tabla en la que se describen las distintas afecciones y los tipos de muestra que hay que tomar.

Si no se realiza el diagnóstico a pie de cama o en la consulta, hay que enviar muestras al laboratorio. Es importante recordar que las muestras tienen que ser de calidad, es decir, libres de contaminantes y representativas del sitio de infección. El virus debe llegar viable al laboratorio por si hay que cultivarlo, por lo que el envío ha de ser **rápido**, en **refrigeración** y en un **medio** adecuado para que no se des sequen (cold and moist).

Una vez en el laboratorio la muestra se debe procesar inmediatamente o conservar refrigerada. En general, hay que homogeneizar y centrifugar a baja velocidad, filtrando a continuación a través de un filtro adaptable a jeringuilla de 0,45 µm para eliminar todos los restos groseros. Se pueden seguir tres enfoques diferentes, de los que ya hemos hablado en videos anteriores: el aislamiento vírico, la detección directa, y la serología.

1. **Aislamiento vírico:** en cultivos celulares, embrión de pollo o en ratones recién nacidos, continuando con técnicas de inmunofluorescencia, PCR u otras técnicas de detección de ácidos nucleicos.
2. **Detección directa:** de los componentes víricos en las células, en los líquidos corporales o en los tejidos infectados. Esto lo haríamos mediante microscopía electrónica, técnicas de inmunofluorescencia o incluso por PCR para detectar los ácidos nucleicos víricos en la muestra.
3. **Serología:** el objetivo es demostrar la presencia de IgM, que es indicativa de que la infección es reciente, o el aumento de al menos cuatro veces el título de IgG. Para esto se pueden emplear técnicas como la inmunofluorescencia indirecta, la seroneutralización, la inhibición de la hemaglutinación o el ELISA.

Con esto finalizamos este curso. Esperamos que te haya sido útil y hayas aprendido con él. No te olvides de realizar el test correspondiente y repasar aquellos aspectos que no te hayan quedado claros. Gracias por tu atención.