

DIAGNÓSTICO CLÁSICO DE LAS INFECCIONES VIRALES

Ana E. Arango R. y María F. Gutiérrez

Los virus son la causa más frecuente de enfermedad infecciosa en el hombre. Las enfermedades respiratorias virales son la primera causa de morbimortalidad en el mundo; sin embargo, el diagnóstico de las enfermedades virales por el laboratorio siempre había estado relegado a un segundo plano por diferentes razones: la mayoría de las infecciones son benignas y autolimitadas, no había disponibilidad de drogas para el tratamiento específico de la mayoría de las infecciones, el diagnóstico de laboratorio era costoso, algo lento y requería de pruebas sofisticadas que no estaban disponibles para la mayoría de los laboratorios clínicos de rutina.

El diagnóstico de enfermedad viral, en nuestro medio, se basa principalmente en la clínica pero recordemos que diferentes virus pueden producir un mismo cuadro clínico y el mismo virus también puede causar cuadros clínicos diferentes. Si bien, en la mayoría de los casos la infección viral de un individuo puede ser intrascendente para la persona misma y carecer de importancia epidemiológica, algunas veces sí puede poner en riesgo la vida y la salud de la comunidad. Un caso típico es el del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) cuyas manifestaciones en la fase aguda puede ser tan simples como las de un resfriado común o una enfermedad febril indiferenciada, pero la importancia del caso es indiscutible tanto en el plano individual como en el comunitario. Por lo anterior - a lo cual se podrían agregar ejemplos múltiples - se debe promover el uso racional del laboratorio de virología, tanto desde la academia, como desde los centros de toma de decisiones políticas.

Los adelantos científicos y tecnológicos de la biología molecular han hecho que el diagnóstico viral, si bien complicado, se lleve a cabo en un número considerable de laboratorios. Se han diseñado pruebas cada vez más sensibles y específicas y aplicables a un número todos los días creciente de microorganismos. Sin embargo, algunas pruebas como los cultivos celulares y la neutralización que son las herramientas básicas de un laboratorio de virología y que constituyen los estándares de oro para el diagnóstico, siguen siendo

utilizadas sólo en laboratorios especializados que sirven a su vez como centros de referencia para las enfermedades virales.

Para un diagnóstico viral adecuado es necesario tener en cuenta varios aspectos: tiempo de evolución de la enfermedad, tipo de muestra, la técnica que se utilice, etc, los cuales serán tratados más adelante. La aproximación al diagnóstico puede hacerse de 3 formas: 1) mediante la detección directa del virus; 2) aislando el agente viral y, 3) utilizando pruebas serológicas que detectan las huellas inmunológicas dejadas por la infección con un agente particular. El diagnóstico serológico es el más empleado en los laboratorios clínicos de rutina, mientras que los dos primeros se emplean principalmente en los laboratorios especializados y de salud pública.

En la actualidad, el aislamiento viral puede hacerse para la mayoría de virus, pero persisten algunas excepciones como es el caso de algunos de los virus de hepatitis y varios agentes de gastroenteritis. Los principales inconvenientes para la aplicación rutinaria de este procedimiento diagnóstico, son su alto costo y el tiempo necesario, en algunos casos de semanas, para poder descartar la presencia o no del virus.

La detección directa del virus es equivalente a la visualización microscópica de la partícula viral a través de un microscopio electrónico, al hallazgo de cuerpos de inclusión característicos de un virus en particular a través de un microscopio de luz y, más recientemente, a la detección de antígenos virales libres en diferentes fluidos corporales o en células infectadas mediante reactivos inmunológicos, o a la detección del ácido nucleico viral mediante pruebas moleculares.

La detección de anticuerpos contra un virus, si bien es la prueba más extensamente utilizada en los laboratorios clínicos para confirmar las diferentes infecciones virales, no deja de ser una prueba indirecta y ambigua; más aún, dependiendo de la clase de inmunoglobulina encontrado, su presencia puede significar una infección primaria activa (IgM) o una infección ocurrida en el pasado (IgG).

Las muestras y su recolección

Mientras más virus haya en una muestra, mayor es la probabilidad de detectarlo y el diagnóstico será más eficiente. Por esta razón, las muestras que se emplean para el aislamiento viral o la detección de antígenos, deben recolectarse durante la fase aguda de la enfermedad cuando la excreción viral es mayor. Esto quiere decir que si el paciente acude al laboratorio después de 4 ó 5 días de iniciados los síntomas, la probabilidad de lograr un aislamiento será muy poca, ya que se necesita un número grande de partículas virales viables para lograr infectar un cultivo celular. Sin embargo, las pruebas modernas de

reacción en cadena de la polimerasa (tema de otro capítulo) sí permiten detectar genomas virales en etapas posteriores a la fase aguda, debido a su gran sensibilidad que permite detectar entre 1 y 10 copias del virus en una muestra.

El tipo de muestra es otro punto muy importante a tener en cuenta; es necesario conocer un poco la fisiopatología de la infección que se va a investigar. Generalmente, las muestras se toman del sitio afectado por la enfermedad, pero en ocasiones esto no es posible o puede que haya otro sitio de mayor excreción del virus. Por ejemplo, en la poliomielitis paralítica hay compromiso del sistema nervioso central y por lo tanto se pensaría que la mejor muestra para tomarle al paciente sería un líquido cefalorraquídeo (LCR); sin embargo, esta muestra contiene muy poca cantidad de virus para que sea considerada la muestra ideal para su aislamiento. Los poliovirus son enterovirus que se replican primordialmente en el tracto digestivo durante el período de incubación y los primeros días de la enfermedad; por lo tanto, la mejor muestra es la materia fecal obtenida en tres días consecutivos. También se puede tomar una muestra con escobillón faríngeo en los 2 ó 3 primeros días de la enfermedad. Esto recalca la importancia de tener un diagnóstico presuntivo inicial claro, pues si a un laboratorio llega un paciente con una orden confusa o sin una solicitud clara, no se podrá saber qué muestra se debe tomar, ni qué pruebas se deben realizar. En la tabla 1 se describen las muestras más adecuadas para el diagnóstico de las enfermedades virales más comunes; para profundizar un poco más es conveniente recurrir a la literatura recomendada.

El diagnóstico virológico se complementa, como ya dijimos, con el diagnóstico serológico. En este último se cuantifica la respuesta de anticuerpos contra la infección. Generalmente, los anticuerpos detectados en estas pruebas serológicas son de tipo IgG. En este caso es necesario utilizar 2 muestras de sangre: una en la fase aguda que se toma en los 5 primeros días de la enfermedad y otra a las 2 ó 3 semanas de la primera muestra o en la fase convaleciente. El paciente debe entender la importancia de la segunda muestra, pues el resultado depende de la comparación entre el título de anticuerpos encontrado en la fase aguda y el encontrado en la fase convaleciente. Para que un resultado tenga valor diagnóstico, el alza de anticuerpos en la fase convaleciente debe ser como mínimo cuádruple. Un título de anticuerpos IgG en una sola muestra de sangre sólo indica que el paciente ya estuvo expuesto a ese agente infeccioso, sin poder determinarse el momento del contacto.

Es posible buscar títulos de IgM para algunos agentes virales; esta inmunoglobulina aparece, generalmente, en las primoinfecciones y se detecta sólo por un período de tiempo corto (hasta 3 meses en la mayoría de las enfermedades virales). Sin embargo, en algunas ocasiones, la IgM puede de-

tectarse en infecciones secundarias o en casos de reactivación de infecciones latentes.

Los virus son agentes supremamente frágiles a las condiciones de temperatura y lo ideal sería poder inocular los cultivos celulares inmediatamente se toma la muestra. Como en la mayoría de las ocasiones esto no es posible, la muestra se debe refrigerar a 4°C hasta el momento de su procesamiento. Si esto se va a demorar más de una semana, se debe congelar la muestra a -70°C, preferiblemente. A temperaturas de -20°C, los virus tienden a inactivarse rápidamente. Las muestras de suero para estudios serológicos deben ser también congeladas si las pruebas no se van a realizar en la semana siguiente. Las muestras para la extracción de ácidos nucleicos tienen mayor estabilidad en un rango amplio de temperatura.

Los medios en los que se toman las muestras para el aislamiento viral (solución de Hanks, medio de transporte (VTM), etc.), son enriquecidos con proteínas para tratar de proteger un poco la viabilidad de los virus durante el almacenamiento y el transporte. En caso de no tener estos medios adecuados, las muestras pueden tomarse en solución salina estéril, caldo nutritivo bacteriano o en leche descremada (todos tratados con antibióticos) y se deben enviar inmediatamente al laboratorio. Ninguna muestra debe permanecer seca, todo tipo de escobillones que se utilicen (vesiculares, faríngeos, rectales etc.) deben sumergirse en el medio y enviarse al laboratorio en refrigeración.

Pruebas diagnósticas

Las pruebas tradicionales que se utilizan para el diagnóstico de la infección viral vienen siendo reemplazadas cada día con las nuevas pruebas moleculares, que no sólo pueden ser más sensibles y específicas, sino que dan un resultado rápido sin necesidad de esperar la fase convaleciente del paciente. A continuación se describirán las más usadas, dejando para un capítulo aparte las pruebas de diagnóstico molecular.

Aislamiento viral

El objetivo es aislar o demostrar la presencia de virus viables en la muestra del paciente. El aislamiento viral debe hacerse en células vivas, ya que los virus son parásitos intracelulares obligados. Los virus pueden aislarse en embrión de pollo, o sea en los huevos de gallina embrionados entre 7 y 11 días. También en algunos animales, usualmente en ratones adultos y lactantes de 1 a 3 días de nacidos, y en los cultivos celulares obtenidos de los diferentes órganos y tejidos de animales y humanos. En cuanto al uso de cada uno de estos sistemas de aislamiento, podemos decir que aunque los embriones

de pollo y los ratones se siguen utilizando para el diagnóstico, su uso ha disminuido siendo desplazados cada día más por los cultivos celulares.

Los embriones de pollo se utilizan hoy en día en el diagnóstico de la infección por el virus de la influenza y principalmente en la preparación de la vacuna que es necesario actualizar año tras año contra este virus. Otras vacunas antivirales también son preparadas en embriones de pollo.

Los ratones lactantes y adultos se usan en el diagnóstico de la rabia y para cultivar algunos virus que solamente crecen en este sistema y no en cultivos celulares. Otros usos de estos animales de experimentación es la investigación en el campo de la patogénesis de determinadas enfermedades.

En la técnica de los cultivos celulares se aprovecha la capacidad de las células para adherirse a una superficie de plástico o de vidrio y formar una monocapa o tapete celular. Los cultivos pueden ser de tres tipos: primarios, diploides o semicontinuos, y heteroploides o continuos. Los últimos son los más fáciles de mantener en el laboratorio pues crecen indefinidamente; sin embargo, son menos sensibles a los virus. El crecimiento limitado de los cultivos primarios y diploides, lo mismo que la fuente de los tejidos de los que se obtienen, limitan su uso, pero su sensibilidad a los virus es mayor. Los virus al crecer en estos cultivos producen un efecto característico sobre las células, denominado efecto citopatogénico (ECP); sin embargo, algunos virus no lo hacen y deben ser detectados mediante otras estrategias. En estos casos se recurre, por ejemplo, a la hemadsorción o sea al uso de eritrocitos para detectar virus que poseen hemaglutininas que se expresan en las células infectadas.

Inmunofluorescencia

Una de las pruebas más utilizadas para la detección de antígenos virales es la inmunofluorescencia (IF). Esta puede ser de dos tipos: directa o indirecta. En la directa (IFD), los antígenos virales presentes en las células del paciente o de un cultivo celular, son detectados directamente con el uso de un anticuerpo específico contra el virus, marcado con un colorante fluorescente, que generalmente es el isotiocianato de fluoresceína (FITC en inglés). El anticuerpo marcado puede ser monoclonal contra un epítipo del virus lo que hace la prueba bastante específica; sin embargo, la sensibilidad puede ser poca por la escasa cantidad de virus presente y por otras razones adicionales.

De otro lado, la inmunofluorescencia indirecta (IFI) tiene dos utilidades fundamentales que son la detección de anticuerpos en los sueros de pacientes o la detección de antígenos virales en células. En la detección de anticuerpos séricos debemos tener un sustrato en el cual hacer la reacción, es decir, necesitamos infectar células con el virus que creemos que tiene el paciente.

Luego agregamos el suero del paciente, dejamos que ocurra la reacción entre virus y anticuerpos, lavamos y agregamos un anti-anticuerpo humano marcado con FITC que se pegará al anticuerpo que reaccionó en el paso anterior (si lo había). Si el suero del paciente tenía anticuerpos contra el virus evaluado, la fluorescencia será positiva, observándose una coloración verde manzana brillante en las células. En caso negativo, no habrá fluorescencia.

Para la detección de antígenos virales por IFI, se utiliza un paso adicional a lo mencionado en la IFD y es la introducción de un suero específico o anticuerpo monoclonal para que se pegue a los antígenos virales que pueda haber en la muestra del paciente o en las células de los cultivos. Una vez más ocurre la reacción antígeno-anticuerpo, se hace un lavado y luego se detecta la presencia de los complejos antígeno-anticuerpo mediante un anti-anticuerpo marcado con FITC.

La diferencia entre esta detección de antígeno y la realizada por la IFD, radica en que el anticuerpo específico usado en la IFI amplifica la reacción y permite aumentar la sensibilidad de la prueba, sin embargo, como ocurre generalmente, también se disminuye la especificidad. Esto se ha contrarrestado con el uso de los anticuerpos monoclonales. La otra ventaja de la IFI es que el segundo anticuerpo o sea el marcado con FITC es un reactivo común, independiente del antígeno viral que se esté buscando; y esto es importante desde el punto de vista de los costos.

Neutralización

Esta prueba se ha considerado uno de los estándares de oro de la virología. Los anticuerpos que esta prueba detecta en los sueros de los pacientes se denominan anticuerpos neutralizantes, pues tienen la capacidad de neutralizar la infectividad del virus. Esta neutralización es específica de cada cepa viral, permitiendo diferenciar a cuáles cepas es susceptible o resistente el paciente.

De manera resumida, la técnica consiste en poner en contacto una cantidad determinada de un virus (por ejemplo, el poliovirus) con el suero de un paciente. Si hay los anticuerpos, éstos se pegan al virus homotípico y lo neutralizan. El paso que sigue es visualizar esta reacción, inoculando la mezcla anterior en un cultivo celular. Se espera varios días para que el virus se multiplique en caso de no haber sido neutralizado y se hace la lectura e interpretación. Supongamos que el paciente tiene anticuerpos contra polio tipo 1 pues sufrió una infección asintomática en su infancia. Estos anticuerpos que tiene el paciente van a neutralizar el virus homotípico (o sea polio 1), pero no lo hacen contra los virus polio 2 y polio 3. Al observar los cultivos celulares correspondientes a cada una de las mezclas, veremos que en aquellos

pozos donde hubo la reacción de neutralización (polio 1), los cultivos permanecen intactos y la monocapa está completa. En cambio en aquellos en los que el suero se mezcló con virus de polio 2 o polio 3, la monocapa se encuentra destruida por el efecto citopatogénico del virus, es decir allí no hubo neutralización. Todo esto quiere decir que este paciente es inmune contra el virus polio 1, pero es susceptible para polio 2 y polio 3.

La otra aplicación de la neutralización es la identificación de virus aislados de pacientes, y para esto, se pone en contacto la muestra del paciente con anticuerpos específicos de referencia para cada tipo viral. La reacción de neutralización identificará el tipo de virus que se le aisló al paciente.

Inhibición de la hemaglutinación

Es otra de las pruebas serológicas empleadas en el diagnóstico de las infecciones virales, pero con una aplicación especial y es que los virus empleados en esta prueba deben tener la propiedad de aglutinar glóbulos rojos de alguna especie animal, incluyendo los del hombre. La principal aplicación de esta prueba en este momento es el diagnóstico de la infección por virus de la influenza y por algunos arbovirus. La técnica consiste en mezclar virus conocidos con el suero del paciente, para, más adelante, agregar glóbulos rojos. Si la muestra del paciente contiene anticuerpos contra el virus, se inhibirá la acción hemaglutinante del virus.

La prueba se realiza de la siguiente forma: idealmente se utilizan sueros pareados de un paciente (fase aguda y convaleciente). Se adiciona el virus que se sospeche esté causando la infección, por ejemplo influenza A (H3N2). Se incuba durante un tiempo para que ocurra la reacción antígeno-anticuerpo y finalmente se agregan los glóbulos rojos que pueden ser de pollo o humanos tipo O. Nuevamente se incuba para que ocurra una nueva reacción entre los virus que quedaron libres (que no fueron neutralizados por los anticuerpos) y los glóbulos rojos que tienen el receptor específico para ese virus. En las muestras donde haya anticuerpos se inhibirá la aglutinación de los glóbulos rojos y viceversa. A los sueros del paciente se le hacen diluciones dobles con el fin de ver hasta qué dilución hay anticuerpos capaces de inhibir la hemaglutinación. La última dilución del suero del paciente que sea capaz de inhibir completamente la aglutinación de los glóbulos rojos corresponde al título de anticuerpos. Se comparan los títulos obtenidos para el suero de la fase aguda y el de la fase convaleciente y se considera evidencia de infección reciente si dicho título aumenta por lo menos cuatro veces (alza cuádruple) en la fase convaleciente.

Obviamente, la prueba está estandarizada con cantidades fijas de virus y de glóbulos rojos. También los tiempos y las temperaturas de incubación son

importantes, al igual que las concentraciones iónicas y el pH de las soluciones en las que se hacen las diluciones del virus, suero y glóbulos rojos. Toda la prueba lleva una serie de controles que aseguran su perfecto funcionamiento.

También es posible usar estas pruebas para la identificación de un virus y en este caso se cambia únicamente el suero del paciente por un suero inmune o antisuero específico contra un virus "X" que se sospecha. Se identifica el virus según el antisuero con el que se inhiba la hemaglutinación. La prueba tiene una sensibilidad y especificidad moderadas pero su costo es favorable y es fácil de realizar.

Fijación de complemento

Esta prueba todavía tiene uso en virología y se hace de la siguiente forma: a la muestra problema se le agrega suero con anticuerpos específicos contra el agente que se sospecha y se adiciona complemento. Si el virus está presente reacciona con los anticuerpos y se consume el complemento. De lo anterior nos damos cuenta al agregar el sistema hemofítico que consiste en glóbulos rojos de carnero sensibilizados con anticuerpos específicos contra glóbulos rojos de carnero, en este caso, puesto que el complemento se consumió no ocurrirá la lisis de esos glóbulos rojos que se evidencia a simple vista. La prueba es versátil y puede utilizarse para determinar si un suero tiene anticuerpos contra un agente determinado. Podemos decir que la técnica es barata, específica y rápida, si bien la sensibilidad no es muy alta, principalmente porque no todas las clases de anticuerpos tienen capacidad de fijar complemento.

Radioinmunoensayo

Esta prueba es costosa y engorrosa, sobre todo porque requiere de reactivos marcados con radioisótopos; pero tiene la ventaja de ser muy sensible, específica y cuantitativa. Como en los casos anteriores se pueden detectar antígenos o anticuerpos. Para buscar antígenos se mezcla la muestra problema con una cantidad conocida de antígeno marcado (^{51}Cr es el marcador más utilizado), y luego se agrega una cantidad conocida de anticuerpo (que es capaz de reaccionar con el 100% del antígeno marcado) para poner a competir al antígeno, marcado y sin marcar (caliente y frío, respectivamente) en el caso de que si haya antígeno en la muestra problema - por esa cantidad limitada de anticuerpos. Luego se separan los complejos inmunes mediante centrifugación y se detecta, en el sobrenadante, con la ayuda de un contador de centelleo, la presencia de antígeno radioactivo libre. La cantidad de radioisótopo en el sobrenadante es inversamente proporcional a la presencia del antígeno buscado en la muestra. En otras palabras, si el antígeno

buscado no estaba presente en la muestra, todo el antígeno radioactivo reacciona - sin competencia - con los anticuerpos y por lo tanto la radioactividad se encontrará en la fracción de complejos inmunes y ausente del sobrenadante. Si lo que se busca no es el antígeno, sino el anticuerpo, será el anticuerpo de referencia el que debe marcarse con el radioisótopo y la competencia será entre una cantidad conocida y limitada de antígeno y el anticuerpo caliente (marcado) y el anticuerpo frío (buscado).

Prueba de ELISA (ensayo inmunoenzimático)

Al igual que las pruebas anteriores, el ELISA se puede usar para la detección de anticuerpos o de antígenos virales. Los anticuerpos que se detecten pueden ser de tipo IgG o IgM, dependiendo de las necesidades diagnósticas. Para la detección de la IgM es necesario realizar un tratamiento al suero antes de hacer la prueba, ya que algunos sueros tienen factor reumatoideo que produce falsos positivos, lo que hace necesaria su destrucción previa.

Si lo que se va a detectar son anticuerpos, se procede así: se tiene un soporte sólido (microplato, esferas, etc.) cubierto con un antígeno que puede ser el virus completo o alguna fracción del mismo. Generalmente las muestras se hacen por duplicado. Se agrega el suero del paciente (que supuestamente contiene los anticuerpos) a los pozos del microplato que tienen el antígeno o virus adherido y se hace una incubación. Luego se agrega un anti-anticuerpo (contra el anticuerpo en la muestra), el cual está marcado con una enzima y se incuba nuevamente. Este anti-anticuerpo marcado puede ser una anti-IgG o una anti-IgM humanas, dependiendo del tipo de anticuerpo que se esté buscando. La enzima puede ser una fosfatasa alcalina o una peroxidasa que son las más usadas, pero existen muchas más. Finalmente, se agrega el sustrato específico de la enzima y se espera que ocurra la reacción enzimática para proceder a la lectura visual o mediante un espectrofotómetro. La reacción enzimática produce un color que es visible a simple vista y que puede ser cuantificado con el espectrofotómetro. A mayor cantidad de anticuerpos, mayor intensidad de color. Esta es la forma más sencilla del ELISA, pero existen innumerables variaciones de la técnica, tratando de hacerla siempre más sensible y específica.

Para la detección de antígenos se hace a la inversa; es decir, el soporte tiene adherido anticuerpos específicos contra el virus que se está sospechando en la muestra. Luego de agregar la muestra e incubar, se añade otro anticuerpo marcado con la enzima y se sigue el proceso igual a como se hizo para la detección de anticuerpos.

Mediante modificaciones de estas dos pruebas se han desarrollado muchas otras variantes con diferentes aplicaciones; por ejemplo, ELISA de captura y

ELISA de competencia. Toda prueba de cualquier tipo incluye los controles requeridos positivos y negativos para asegurar su confiabilidad y reproducibilidad.

Prácticamente todas las pruebas serológicas tienen el mismo principio que se ha señalado aquí. La variación está en el sistema de revelado de la reacción: conjugado fluorescente en la inmunofluorescencia, glóbulos rojos en la inhibición de la hemaglutinación, conjugado enzimático en el elisa y conjugado radiactivo en el radioinmunoanálisis (RIA). Por su sensibilidad, especificidad y versatilidad, el ELISA ha ido reemplazando a las otras pruebas mencionadas y hoy en día se encuentra aplicado a un sinnúmero de situaciones clínicas.

Como podemos ver, existe todo un arsenal tecnológico para hacer el estudio y el diagnóstico de las infecciones virales; en todos los casos se trata simplemente de mezclar reactivos en forma ordenada y de conocer el principio de las técnicas para poder hacer la interpretación adecuada de los resultados. En esta oportunidad tratamos, solamente, de presentar un panorama del problema; un tratamiento a fondo de cada una de las técnicas podría ser por sí mismo un tratado de muchas páginas.

Conclusiones

Aunque en años anteriores el diagnóstico viral sólo se hacía en ciertos laboratorios de referencia, hoy en día prácticamente cualquier centro de diagnóstico puede ofrecer una serie bastante completa de pruebas diagnósticas, a precios relativamente favorables. Corresponde entonces a los profesionales de la salud aprender a utilizar este recurso con racionalidad y eficiencia; finalmente debemos recordar que la disponibilidad de nuevas drogas antivirales refuerza la necesidad del diagnóstico oportuno y eficiente.

Bibliografía

- Grist NR, Bell EJ, Follett EAC, et al. Diagnostic methods in clinical virology. Blackwell Scientific Publications. 3rd ed. Oxfor. 1979.
- Lennette EH, Lennette DA, Lennette ET. Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections. 7th ed. American Public Health association. 1995.
- Ardoin P. Virus et diagnostic virilologique. Techniques de base. Maloin SA, ED. Paris. 1983.

Tabla 1. Diagnóstico clásico de las infecciones virales más frecuentes en humanos.

Agente etiológico o manifestación clínica ppal.	Muestra de elección	Otras muestras posibles	Pruebas clásicas más utilizadas
Tracto respiratorio Adenovirus.	Hisopado faríngeo. Aspirado nasofaríngeo esc. conjuntival.	Heces, sueros pareados.	Cultivos celulares (CC), Neutralización. Inmunofluorescencia (IF).
Virus respiratorio sincitial. Influenza.	Aspirado nasofaríngeo. Hisopado nasal. H. nasofaríngeo. Asp. nasofaríngeo.	Sueros pareados. Sueros pareados.	CC, IF, ELISA. CC, IF, Inhibición de Hemaglutinación (IH).
Parainfluenza. Enterovirus.	H. nasofaríngeo. H. nasofaríngeo.	Sueros pareados. Heces, Sueros pareados.	CC, IF, IH, Fijación de complemento (FC). CC, Nt, FC.
Piel y mucosas Herpes Simplex.	Liq. vesicular. Flotís de lesión.	Sueros pareados.	CC, IF, ELISA, Nt, Embrión de pollo (EP).
Varicela zóster. Sarampión. Rubéola.	Liq. vesicular. H. nasofaríngeo.	Sueros pareados. Sueros pareados. Sueros pareados.	CC, IF, ELISA. CC, IH, ELISA. IH, ELISA.
Tracto digestivo Rotavirus. Enterovirus. Norwalk. Hepatitis A.	Heces. Heces. Heces. Suero.	Sueros pareados. Sueros pareados. Heces.	ELISA, Aglutinación látex, CC. Nt, CC. Inmuno-electromicroscopía (IEM). ELISA, Radioinmunoanálisis (RIA), IEM.
Sistema nervioso Enterovirus.	Heces. LCR. H. faríngeo. LCR.	Sueros pareados. Biopsia de tejido. Necropsias. Sueros pareados.	CC, Nt, Inoculación de ratones lactantes.
Herpes simpex.			CC, Nt, ELISA, EP, ratones.

Continuación Tabla 1. Diagnóstico clásico de las infecciones virales más frecuentes en humanos.

Agente etiológico o manifestación clínica ppal.	Muestra de elección	Otras muestras posibles	Pruebas clásicas más utilizadas
Papeiras.	Biopsia de tegido H. nasofaríngeo. LCR.	Sueros pareados.	CC, FC, IH.
Arbovirus.	Orina. Sangre. LCR.	Sueros pareados.	CC, NI, FC, IH.
Rabia.	Biopsia cerebro. Cerebro. Frotis córnea.	Inoculación en ratones, IF, NT.	Inoculación en ratones, IF, NT.
Sistema linfoide y otros			
Dengue.	Sangre.	Sueros pareados. Mosquitos.	CC, IF, IH, inoculación en ratones y mosquitos
Fiebre amarilla.	Sangre. Hígado.	Mosquitos. Siero.	CC, IF, IC
Citomegalovirus.	Orina. Sangre.	Sueros pareados. Tejidos.	CC, ELISA, Antigenemia, Histopatología
Hepatitis B, C, D.	Sangre.	Sueros pareados.	ELISA, RIA.
VIH - SIDA.	Sangre.	Sueros pareados.	ELISA, CC.
Epstein Barr.	Sangre.	Sueros pareados.	ELISA, CC.