

La evolución del diagnóstico virológico, desde lo sindromático a lo etiológico

FRANCISCO BARRERA Q.¹

1. Pediatra-Neonatólogo, Jefe de Servicio de Pediatría, Hospital San Borja Arriarán.

Desde el descubrimiento de los virus en 1899 (Martinus Beijerinck, virus del mosaico del tabaco) y su posterior relación etiológica con diversas enfermedades infecciosas en el ser humano, se han producido profundas modificaciones en la conducta médica clínica y las enfermedades infecciosas. Los estragos causados por la viruela y el sarampión han quedado en el pasado. El último caso de viruela registrado en Latinoamérica se observó en Brasil en 1971 y en el mundo correspondió a Somalia en 1976, declarando la OMS al planeta Tierra, libre de este flagelo en la Asamblea Mundial de la Salud en el año 1980, documento que firmó en representación de Chile el Dr. José M. Borgoño D. En la década posterior a su erradicación, la vacuna antivariólica que aún estaba en uso, fue causa de complicación y muerte, hasta que fue suspendida en 1978, ojalá en forma definitiva. Sin embargo, persiste el riesgo potencial, al existir dos centros autorizados por la OMS para conservar reserva del virus salvaje de viruela. Anecdóticamente en Chile, si bien la viruela desapareció en nuestro país en 1959, se siguió sospechando en algunos casos de individuos con vacunación reciente (casos que correspondieron a enfermedad por vacuna) y en varicela durante la pubertad y adolescencia, edades en que esta enfermedad infectocontagiosa tiene particular virulencia y solió confundirse con viruela, por la intensidad de su fase eruptiva. Nueva-

mente la viruela fue causa de alarma pública, a raíz de los sucesos del 11 de septiembre del año 2001 en Nueva York (atentado a las Torres gemelas), momento en que resurgió el temor de que fuera utilizada como arma de guerra biológica, dada su alta contagiosidad y morbimortalidad.

Respecto a sarampión, la introducción de la vacuna en 1963 se acompañó de una paulatina disminución de la enfermedad en todos los países en que fue incluida en los programas sistemáticos de inmunización, particularmente EE.UU., aunque la vacuna inicialmente usada a virus muerto (cepa Edmonston) tuvo importantes efectos secundarios. La Panencefalitis esclerosante subaguda severa, complicación del sarampión, hoy ya es cosa del pasado e importante consecuencia de la masiva vacunación a virus vivo atenuado. Al igual que en el pasado con viruela, en los últimos años se han producido diversas confusiones con sarampión, siendo un hecho conocido las dificultades en el diagnóstico diferencial con dengue, sobre todo en los países en que esta enfermedad viral infectocontagiosa es endémica, dificultades en su diferenciación con adenovirus cuando este último cursa con exantema (particularmente en la epidemia de 1988 en Chile) y con la Enfermedad de Kawasaki, en aquellos países en que aún coexisten ambas enfermedades. Sin embargo, el año 2010 (post mundial de Fútbol de Sud Africa) se describieron más

Correspondencia a:
Francisco Barrera Q.
E-mail: fbarreraq@gmail.com

de 20 casos de sarampión en Brasil, algunos casos en Argentina y este año 2011, otros 7 casos aparecen en Chile. En estos países estas amenazas de brote fueron "importados" y oportunamente identificados y controlados. Se requiere vigilancia permanente, al igual que en rubéola, pero por riesgos diferentes.

América fue declarada continente libre de poliomielitis por virus salvaje en 1995, habiéndose observado el último caso en la Sierra del Perú en 1990. En Chile, el Dr. Gonzalo Moraga Fuenzalida le dedica su memoria de título en 1913 a este flagelo, reportando su experiencia en 80 casos. Existe vigilancia epidemiológica en todos los casos de Parálisis flácida, dada la persistencia de poliomielitis en otros continentes, su confusión con el Síndrome de Guillén Barré y la ocasional presencia de poliomielitis por virus vacuna, morbilidad que se ha visto aminorada en aquellos países en que se utiliza la vacuna a virus muerto (Salk). De hecho en EE.UU., la poliomielitis paralítica observada, ha sido enteramente atribuible a virus polio vivo atenuado (poliomielitis paralítica asociado a vacuna). Los dos últimos pacientes con poliomielitis por virus salvaje en Chile fueron comunicados en 1975, uno de los cuales tuve oportunidad de conocer en sus controles en el Instituto Nacional de Rehabilitación Pedro Aguirre Cerda. Nuestro país, dentro de sus legítimos orgullos fue el tercer país en el mundo en erradicar la poliomielitis. Entre 1986 y 1992, hubo cuatro casos de poliomielitis paralítica asociado a vacuna, informados por los hospitales Luis Calvo Mackenna y Exequiel González Cortés.

La morbilidad pediátrica condiciona desafíos clínicos vinculados a la oportunidad del diagnóstico virológico en diferentes escenarios clínicos tanto ambulatorios como hospitalarios. Aún cuando la anamnesis, examen físico, laboratorio clínico e imagenológico básico, pueden orientar a diagnósticos sindrómicos, poseen limitaciones, especialmente en lactantes. El avance en la capacidad diagnóstica virológica, la aparición de nuevos antivirales, el abuso de antibióticos, la mejoría de las expectativas de vida en niños y adultos, la prevalencia de enfermedades crónicas, hace imprescindible mejorar el diagnóstico viroló-

gico del médico clínico. Ello ha sido posible inicialmente con la incorporación de métodos inmunológicos de seroconversión específica y en la medida que han aparecido nuevas técnicas diagnósticas, particularmente las referidas a la incorporación de técnicas basadas en biología molecular. Con las técnicas en uso aumenta la sensibilidad y la especificidad y se incluye otros agentes virales, disminuyendo la probabilidad de encontrarnos frente a un caso de etiología incierta.

Desde las iniciales y alarmantes descripciones de Santolaya et al, en el Hospital Luis Calvo Mackenna, que informa de 25 casos fatales de infección por adenovirus observados entre los años 1983 y 1986 y de Wu et al en el Hospital San Juan de Dios, que señala 16 casos fatales, 6 de ellos esporádicos entre 1983 y 1987 y 10 casos con características epidémicas entre agosto y noviembre de 1988, el adenovirus ha seguido causando estragos en los diversos hospitales de la Región Metropolitana y otras regiones, particularmente en Concepción. La mayoría de estos casos fueron interpretados inicialmente como "bacterianos", aunque sin confirmación microbiológica y con múltiples terapias antibióticas. Otros hospitales continuaron ignorando la emergente y fatal etiología, fundamentalmente por escasa capacidad diagnóstica de laboratorio y confusión por las epidemias de sarampión con su característica secuela de complicación bacteriana respiratoria y muerte. Puede hacerse una estimación de mortalidad asociada a adenovirus como causa identificada a partir de 1983, la cual alcanzaría en cifras absolutas a más de 200 fallecidos en Chile. Sin embargo, a ello debe agregarse una cantidad al menos similar de niños fallecidos presumiblemente por adenovirus, pero sin demostración de laboratorio. Si bien se han descrito al menos 41 serotipos de adenovirus, es probable, aunque no confirmado, que dichos adenovirus denominados fatales hayan correspondido a los conocidos serotipos de alta virulencia cuya presencia en América Latina continúa siendo un enigma. Además de estos serotipos, ocasionalmente se ha informado de aparición de otras cepas virulentas, recientemente una mutación del serotipo 14 en EE.UU., con varios casos fatales. El pediatra

debe saber reconocer algunos signos clínicos sospechosos de infección por adenovirus, particularmente la fiebre faringoconjuntival, cuya conjuntivitis inicialmente suele ser unilateral.

La observación que las neumonías en lactantes menores de tres meses eran fundamentalmente provocadas por el virus respiratorio sincicial (VRS), particularmente graves en los pacientes de riesgo (prematuros extremos, inmunodeficiencias congénitas y adquiridas, malformaciones congénitas, especialmente respiratorias y cardíacas, fibrosis quística), los fracasados intentos del uso de rivabirina como antiviral específico y los persistentes y frustrados intentos de lograr una vacuna, mantienen la alta prevalencia estacional de esta infección y su permanencia como problema de salud pública infantil. La virulencia en la presentación clínica de esta infección específica está dada por las características del huésped, especialmente los factores ya señalados previamente y que requieren una hospitalización oportuna.

Todo lo anterior ha contribuido a la imperiosa necesidad de mejorar la capacidad diagnóstica virológica, tanto en las infecciones respiratorias como en las que comprometen otros sistemas, primordialmente digestivo y neurológico, al menos en el paciente pediátrico.

Los esfuerzos iniciales en diagnóstico virológico estaban orientados a las técnicas serológicas en búsqueda de la seroconversión, más lentas en su procesamiento y de un valor menos predictivo, lo que proporcionaba una información etiológica alejada del evento morbido, de utilidad más bien epidemiológica. Sin embargo, tuvieron el valor del aprendizaje y conocimiento de la patología viral y su comportamiento clínico. Al mismo tiempo, ha habido importantes esfuerzos en la investigación clínica para lograr vacunas antivirales específicas, persistiendo aún importantes dificultades particularmente en adenovirus y virus respiratorio sincicial, dada su morbimortalidad.

El avance en el diagnóstico inmunológico a través de técnicas de inmunofluorescencia inicialmente indirecta, permitió mejorar la capacidad diagnóstica, aunque su lento procesamiento y el período de espera del resultado limitaba la oportunidad diagnóstica que permitiera evitar el uso de antibióticos y cor-

ticoides. Inicialmente los pacientes que ameritaban IF indirecta (IFI) eran sugeridos por los especialistas broncopulmonares de acuerdo a un estricto criterio de selección, lo que se tradujo en un muy buen rendimiento. La necesidad de lograr mayor capacidad diagnóstica y el cambio de técnica a Inmunofluorescencia Directa (IFD) se tradujo en mejor oportunidad diagnóstica, logrando incluso los resultados en el mismo día, e incluso dos veces al día en la denominada "Campaña de Invierno"; pero la masificación del examen se tradujo en disminución de la positividad. En los distintos hospitales y clínicas, los resultados derivados de la IFD no eran comparables. Muchas veces en las consultas privadas se pedía IFD sólo cuando se sospechaba Adenovirus. Algunos centros universitarios y particularmente la Universidad Católica establecieron Centros Centinela, con la colaboración del MINSAL, lo que permitió reconocer mejor el comportamiento de las infecciones respiratorias virales tanto en niños como en adultos y la demostración de positividad en VRS en niños mayores incluso adultos, lo que tiene importancia en la cadena de transmisibilidad de este agente (particularmente hacia prematuros y lactantes menores de tres meses). La incorporación del test de ELISA para VRS, permitió mejorar la sensibilidad y acelerar la entrega de resultado, sin embargo, su mayor costo limitó las posibilidades de muchos centros hospitalarios.

En la actualidad, la detección del genoma viral ha favorecido la precocidad del diagnóstico etiológico, ello influido por la epidemia de Influenza A H1N1 observada a inicios de 2009 y que causó alarma pública mundial, y derivado ello de las trágicas experiencias de los años 1918 (gripe española, responsable de 20 a 40 millones de muertos, de los cuales al menos 23 789 fueron en Chile), 1957 (gripe asiática Influenza A H2N2, con muerte de más de un millón de personas) y la de 1968 (gripe de Hong Kong). Técnicas seroarqueológicas han podido demostrar que la cepa del año 1890 fue H2N8; la de 1900 H3N8; la de 1918 H1N1 y la del año 1977 H1N1 y H3N2, estas dos últimas cepas aún en circulación.

Desde otra perspectiva, hasta inicios de la década de 1970, la diarrea aguda era interpre-

tada etiológicamente como bacteriana o parasitaria. Descubierta el virus Norwalk en 1972 y posteriormente el rotavirus, se introdujeron nuevamente profundos cambios en el manejo del síndrome diarreico, particularmente uso y abuso de antibióticos.

El norovirus, descrito originalmente como virus o agente de Norwalk, dada su descripción en el condado de Norwalk, Ohio, pertenece al género de virus ARN y a la familia de los *calicivirus*. Originalmente fue descrito como “fiebre estomacal” o “enfermedad de los vómitos de invierno”, y se caracteriza por dar brotes epidémicos en comunidades cerradas. Recientemente hubo dos brotes en cruceros de turismo, comprometiendo a turistas y tripulación. Se ha insistido en la predisposición genómica para enfermar por este virus. El clínico no dispone de examen confirmatorio para norovirus, existiendo estudios de seroconversión en distintos países, incluso Chile, que señalan la presencia de este virus.

El rotavirus fue descubierto por Bishop en 1973, habiéndose denominado previamente “gastroenteritis aguda provocadora de vómitos de etiología desconocida”. Previo a su descubrimiento, Avery acuñó el término de Protracted Diarrhea, para definir un grupo de niños lactantes menores de 6 meses que tuvieron una mala evolución de su diarrea, con persistencia de esta, desnutrición, diversas complicaciones y muerte. A la ausencia de etiología se agregó un hoy reconocido inadecuado manejo, con ayunos prolongados, múltiples e inconducentes exámenes de laboratorio, y abuso de antibióticos. La demostración de la etiología viral de la diarrea (presumiblemente muchos de ellos rotavirus), la mantención de la alimentación, el no uso de antibióticos y el uso excepcional de otros fármacos (colestiramina, metronidazol), permitieron evitar la evolución del síndrome diarreico hacia la mal denominada “diarrea intratable”. El Profesor Emérito de Pediatría Anibal Ariztía Ariztía insistía que no había diarreas intratables sino diarreas mal tratadas. Hoy se dispone de excelentes técnicas para el diagnóstico de rotavirus.

El adenovirus en sus serotipos 40 y 41 y algunos de comportamiento más sistémico, también es causa de diarrea. Existen estudios

de investigación de serotipificación en Chile que han demostrado su presencia en el 3% de los casos (Aros et al). Desde el punto de vista clínico se dispone de técnicas diagnósticas de adenovirus en deposiciones, aunque sin precisar serotipo. Es indispensable avanzar en este aspecto en capacidad diagnóstica que permita identificar serotipos.

Siendo posible el reconocimiento genómico de los virus se abrió la alternativa de crear técnicas de diagnóstico viral basadas en biología molecular y la detección de ácidos nucleicos, favoreciendo la precocidad del diagnóstico y su confirmación. De ellas, la de mayor utilidad es la basada en reacción en cadena de la polimerasa. Es un hecho conocido el margen de error en el diagnóstico clínico etiológico de una “virosis respiratoria” y la eventualidad de coinfección viral o excepcionalmente virosis múltiple, por ello se hace necesario disponer de kits de diagnóstico virológico múltiple, que dispongan de una alta sensibilidad y especificidad, aunque persista algún grado de latencia en la entrega de resultados. Se agrega a ello el importante rol que tiene la morbimortalidad y hospitalización por causa respiratoria en el niño menor de un año hoy día, siendo de mayor impacto aún si se considera la causa bacteriana. Se espera el mismo positivo impacto observado con la incorporación programática de la vacuna antihaemophilus el 1 de julio de 1997 respecto a la incorporación de vacuna antineumocócica, ya iniciada para todos los niños nacidos desde el 1 de noviembre de 2010.

Nuevos agentes virales identificados recientemente como Metapneumovirus (descrito en Holanda el año 2001) y Bocavirus (descrito en Suecia el año 2005) y la inquietud permanente para identificar un agente tan frecuente como Rhinovirus, han impulsado la investigación de diagnóstico de laboratorio. Como ya se mencionó, se agrega a ello la amenaza del virus influenza A H1N1, surgida en México en abril del año 2009.

La incorporación de nuevas técnicas de diagnóstico virológico basadas en biología molecular, está permitiendo clarificar el diagnóstico de las enfermedades infecciosas en general y la etiología viral en particular. Ello debe traducirse en mayor disminución del uso

de antibióticos y la terapia antiviral específica oportuna.

Entre estas nuevas técnicas destaca la incorporada en el Kit CLART® Pneumo Vir, disponible en Chile al menos en una Clínica privada, que permite la identificación con alto grado de sensibilidad y especificidad de 17 virus que comprometen la vía respiratoria, señalados a continuación: Adenovirus; Bocavirus; Coronavirus; Enterovirus (Echovirus); Influenza virus A, B, y C; Metapneumovirus (subtipos A y B); Parainfluenza virus 1, 2, 3, y 4 (subtipos A y B); Rhinovirus; Virus Sincicial Respiratorio tipo A (VSR-A); Virus Sincicial Respiratorio tipo B (VSR-B).

Sensibilidad y especificidad diagnósticas de la técnica CLART® pneumovir para cada tipo de virus		
Virus	Sensibilidad	Especificidad
Adenovirus	95,5	99,6
Bocavirus	95,5	98,4
Coronavirus	100,0	99,1
Enterovirus (ECHOvirus)	96,0	99,3
Influenza virus A	90,2	99,2
Influenza virus B	100,0	98,5
Influenza virus C	100,0	99,0
Metapneumovirus	95,5	100,0
Parainfluenza virus 1	87,5	98,1
Parainfluenza virus 2*	60,0	99,1
Parainfluenza virus 3	95,8	100,0
Parainfluenza virus 4	93,8	98,5
RHINOvirus	82,7	99,6
Virus sincicial respiratorio A	94,4	99,2
Virus sincicial respiratorio tipo B	92,3	94,0

El procedimiento de toma de muestra respiratoria es similar a la técnica usada en IFD, prefiriéndose el lavado nasofaríngeo o hisopado faríngeo. En algunas condiciones puede

procederse a una toma de muestra de exudado nasofaríngeo, aunque es más molesta para el paciente.

Dicha técnica presenta claras ventajas en relación a otras en uso, destacando su sensibilidad (aunque menor en parainfluenza 2 y rinovirus) y alta especificidad. La técnica permite disminuir la probabilidad de falsos negativos, la posibilidad de diagnosticar infección múltiple (2 o más virus), la demostración de nuevos agentes virales, entre los cuales destaca Bocavirus y Rhinovirus y la facilidad de su ejecución cumplidos los prerrequisitos técnicos. El procesamiento de la muestra toma 8 horas, aunque todavía persiste una latencia en la entrega del resultado, derivado probablemente de que el kit CLART® *PneumoVir* contiene suficientes reactivos para la extracción y análisis de 24 ó 48 muestras clínicas. Una limitación importante es su costo, muy superior a las técnicas de IFD, pero su sensibilidad, especificidad y la posibilidad de diagnosticar virus emergentes permiten considerar dicho examen. En nuestra experiencia, tanto hospitalaria como en medicina ambulatoria, el poder contar con esta alternativa nos ha permitido aclarar dudas diagnósticas especialmente en Adenovirus, Bocavirus y Rhinovirus. La presunción diagnóstica meramente clínica, exceptuando la etiología de adenovirus en fiebre faringoconjuntival y la alta probabilidad de Virus sincicial respiratorio en período de alta prevalencia, tiene un alto margen de error.

Similar capacidad diagnóstica en base a técnicas de biología molecular, ya se encuentra disponible en Chile para enfermedades infecciosas provocadas por virus de la familia *herpes viridae*. Basadas en la amplificación del gen de la enzima ADN polimerasa, que permite la detección de virus herpes simples 1 y 2, virus varicela-zoster, citomegalovirus, virus de Epstein Barr y herpes virus humano 6, que puede estudiarse en forma simultánea. Dicha técnica de muy alta sensibilidad y especificidad (93%) está permitiendo demostrar (al igual que en virus respiratorios), la coexistencia de más de un agente viral de la familia herpes en un determinado paciente, como virus herpes humano 1 y virus varicela zoster en muestras de líquido céfalo raquídeo.

Mucho se ha avanzado desde el diagnóstico presuntivo viral a la precisión diagnóstica actual, sin embargo, al menos en el ámbito de la medicina de hospitales públicos existe una

deuda y una brecha diagnóstica que atenta con la equidad. Es imperioso modernizar nuestras técnicas diagnósticas hospitalarias con visión de futuro.

A LOS AUTORES

Comunicamos a los autores de los artículos presentados para publicación en Revista Chilena de Pediatría, que ha concluido exitosamente el Proyecto Editorial del Fondo de Publicación de Revistas Científicas CONICYT 2008-2009 "Revista Chilena de Pediatría: De las Publicaciones en Papel a un Proceso Editorial On-Line basado en Open Journal System". Por lo tanto, solicitamos a los autores de los artículos presentados a partir de ahora, que ingresen a www.revistachilenadepediatria.cl, se registren e identifiquen de acuerdo a las instrucciones, y procedan a ingresar su contribución al sistema editorial electrónico según se detalla.

La Sociedad Chilena de Pediatría y Revista Chilena de Pediatría se enorgullecen de poner a disposición de nuestros colaboradores esta moderna herramienta editorial, en forma pionera entre las publicaciones biomédicas de nuestro país.

El Editor