

Diagnóstico

31/08/2006

Respuesta del Experto a ...

Diagnóstico

Pregunta

Quisiera saber que metodos de diagnostico existen para la identificacion del virus del nilo

Liliana Alvarado

U.A.N.L.

Respuesta del Dr. Juan García de Lomas (30 de junio de 2003)

Diagnóstico de laboratorio del virus de oeste del Nilo (West Nile virus)

La experiencia de EE.UU. ha enseñado que debe incluirse el diagnóstico diferencial de esta infección ante un cuadro febril en verano y ante los casos de encefalitis y meningitis aséptica.

El método convencional de diagnóstico más utilizado es la Serología. La Serología puede realizarse con muestras de suero o de líquido cefalorraquídeo. Existen varios tipos de pruebas serológicas:

ELISA IgM de captura (IgM capture enzyme linked immunosorbent assay). Los anticuerpos de clase IgM aparecen pronto, pero pueden no ser positivos al comienzo del proceso. A los 8 días de evolución suelen ser positivos en el 80% de los casos. El problema es que esta prueba no puede diferenciar entre la infección por los virus del mismo serogrupo: WNV, SLE, JE, MVE.

Seroneutralización: Detecta anticuerpos neutralizantes

específicos de cada uno. El método de seroneutralización más usado es la reducción de placas (Plaque reduction neutralization assay -PRNT-). Requiere disponer de cada uno de los virus y es lento en realizarse.

El aislamiento en cultivo celular con muestras de LCR, suero, o tejido, y para identificar el virus aislado requiere una prueba de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales. Sus limitaciones principales son que puede tardar una semana, se necesita la presencia de virus viable en las muestras y disponer de los anticuerpos monoclonales específicos para realizar el tipado del virus aislado. El virus se desarrolla bien en líneas celulares continuas tanto humanas como de monos, etc. El aislamiento también puede obtenerse mediante inoculación intracerebral en ratón o en hámster.

Los métodos de Microbiología molecular obvian los problemas anteriores. Se han utilizado distintas variantes de RT-PCR. El problema que pueden plantear es la variabilidad genética entre las distintas cepas. Así, la cepa de Uganda de 1937 tiene únicamente un 79% de similitud con la cepa aislada en Nueva York en 1999. Existen métodos publicados que detectan genes de grupo y otros métodos que detectan genes de cepas de virus concretos. El problema de los métodos publicados es que muchos han sido aplicados únicamente a cultivos de virus y por lo tanto la carga vírica es muy superior a la que puede encontrarse en las muestras.

El genoma del virus de unos 11 Kb, se caracteriza por tener una región no-codificante en cada uno de sus extremos 5' y 3' (5'-UTR: Untranslated region, y 3'-UTR). El genoma tiene una única región de comienzo de lectura (Open Reading Frame), y codifica una poliproteína que se traslada y se procesa postraslacionalmente por proteasas víricas y celulares. Así se obtienen tres proteínas estructurales (cápside -C-, premembrana -prM- o membrana -M- y envoltura -E-) y siete proteínas no-estructurales (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b y NS5). Los métodos de Microbiología molecular suelen amplificar

la región del genoma entre las proteínas de la cápside -C- y de la proteína premembrana -prM-, o de la región NS5.

En cualquier caso, el diagnóstico de esta infección es un diagnóstico que debe realizarse en centros de referencia que dispongan de los métodos serológicos citados, o con capacidad para realizar las pruebas de Microbiología molecular citadas o de aislamiento del virus.