

PROCEDIMIENTOS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA (número 8a, 2.ª edición 2005)

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

Diagnóstico microbiológico de las infecciones por herpesvirus

Coordinador: Pérez Sáenz JL^a

Las infecciones por los virus del grupo herpes son muy prevalentes en la población general. Tras la infección primaria, estos virus establecen latencia en diferentes tipos celulares a partir de los cuales, ante la presencia de determinadas condiciones relacionadas con la inmunidad del huésped, se reactivan. Una característica muy importante es que ni la infección primaria ni las reactivaciones se asocian necesariamente con manifestaciones clínicas, lo que es cierto, en especial, en algunos de estos virus. Cuando se presentan éstas, pueden ser muy características (herpes simple, varicela, etc.) o bien completamente inespecíficas (citomegalovirus). Además, el espectro de gravedad oscila entre el compromiso para la vida del paciente y las manifestaciones leves o moderadas. Estos hechos reafirman la necesidad e importancia de un diagnóstico adecuado de laboratorio. En la actualidad se dispone de múltiples técnicas diseñadas para cada uno de estos virus, pero su correcta aplicación depende de las circunstancias clínicas del paciente, del objetivo diagnóstico y de las posibilidades técnicas de cada laboratorio. En este procedimiento eminentemente aplicado, se pone especial énfasis en este aspecto y se somete a una revisión profunda la versión anterior (procedimiento 8, primera edición). Muchos de los conceptos vertidos en el texto encuentran su resumen en un amplio número de tablas, algunas de ellas nuevas con respecto a la versión anterior.

El documento está dividido en apartados dedicados a cada uno de los virus: herpes simple, varicela-zóster, citomegalovirus, Epstein-Barr y herpesvirus humano 6, 7 y 8. Cada uno de estos apartados contiene, de forma explícita en muchos casos, epígrafes dedicados a los fundamentos clínicos básicos que es necesario conocer para orientar adecuadamente el diagnóstico de laboratorio, una descripción de las técnicas disponibles con su correspondiente evaluación sobre ventajas y limitaciones, la interpretación de los resultados y un apartado sobre la aplicación de las herramientas diagnósticas en las diferentes situaciones clínicas. Por último, se ha considerado importante añadir un epígrafe relati-

vo a las pruebas de sensibilidad a los antivirales, fármacos que han experimentado un gran desarrollo en estos últimos años para la profilaxis y el tratamiento de las infecciones por herpesvirus, así como de los mecanismos de resistencia y su detección en el laboratorio.

Aunque todos los apartados del documento han sufrido una profunda revisión y actualización con respecto a la versión anterior, hay que destacar el esfuerzo de puesta al día en los nuevos métodos moleculares, junto con un juicio sobre sus posibilidades reales de aplicación en nuestros laboratorios. Además, el capítulo de algunos virus, como los de Epstein-Barr y herpesvirus humano 8 se han modificado ampliamente, en especial en sus relaciones con la patología tumoral y las posibilidades diagnósticas que, hoy por hoy, puede aportar el laboratorio.

Este procedimiento se completa con siete procedimientos normalizados de trabajo dedicados a los distintos virus del grupo en los que se ha intentado abarcar todas las grandes líneas diagnósticas: cultivo, detección de antígeno, diagnóstico serológico, detección y cuantificación molecular y pruebas de sensibilidad *in vitro*. Se puede consultar en la página web www.seimc.org/protocolos/microbiologia (procedimiento microbiológico SEIMC número 8a: *Diagnóstico microbiológico de las infecciones por herpesvirus*, 2.ª edición 2005).

Gimeno C^b, Navarro D^b,

De Oña M^c y Pérez Sáenz JL^a

Servicios de Microbiología. ^aHospital Universitario Son Dureta. Palma de Mallorca. ^bHospital Clínico Universitario. Valencia. ^cHospital Covadonga. Oviedo. España.

PROCEDIMIENTOS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA (número 18, 2.ª edición 2005)

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

Métodos moleculares de tipificación epidemiológica en bacteriología

Coordinador: Domínguez MA^a

Los métodos de tipificación molecular constituyen una de las aportaciones microbiológicas que han tenido más difusión para realizar estudios epidemiológicos. Estos métodos tienen como objetivo reconocer la relación entre aislamientos vinculados epidemiológicamente y, por tanto, derivados recientes de un microorganismo ancestro común. A la vez, deben ser

técnicas capaces de diferenciar aislamientos no relacionados, independientemente de que pertenezcan a la misma especie microbiológica o taxón. Clásicamente, estos estudios se basaban en el análisis de las características fenotípicas de los microorganismos (propiedades antigénicas, metabólicas o de resistencia antibiótica). Sin embargo, muchos de estos sistemas fenotípicos no son útiles para establecer diferencias o similitudes entre microorganismos. Por ejemplo, la multiresistencia antibiótica común a muchos clones de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina determina que el perfil de sensibilidad y resistencia (antibiograma o resistotipo) sea una técnica con escaso poder de discriminación en el seguimiento epidemiológico de este microorganismo.

Las técnicas moleculares que analizan propiedades o polimorfismos genéticos han ampliado notablemente el campo de la tipificación en microbiología. Los fundamentos de estas técnicas son variables: estudios de restricción del ADN cromosómico bacteriano (electroforesis de campo pulso), análisis del número de copias de determinadas secuencias de inserción o repetitivas a lo largo del cromosoma (REP-PCR); polimorfismo IS6110 en *Mycobacterium tuberculosis* o amplificación arbitraria de fragmentos genéticos (AP-PCR). La mayor ventaja de estos sistemas consiste en la estabilidad de los marcadores genéticos utilizados y en la posibilidad de aplicarlos universalmente a distintos géneros y especies de microorganismos. La disponibilidad de estas técnicas ha mejorado nuestro conocimiento sobre: patogénesis e historia natural de ciertas infecciones; evolución genética de poblaciones microbianas; detección de brotes de infección, identificación de reservorios, mecanismos de transmisión de patógenos y diseño de medidas de control de propagación de la infección.

En este procedimiento se analizan las características de los marcadores moleculares y se exponen los fundamentos y aplicaciones de los métodos moleculares que más se utilizan para analizar la relación epidemiológica entre las bacterias: análisis del ADN mediante procedimientos de restricción-hibridación (incluyendo el análisis del polimorfismo de restricción del IS6110 en *M. tuberculosis*), análisis del ADN cromosómico mediante macrorestricción y electroforesis en campo pulsante, técnicas basadas en la amplificación por PCR de elementos repetitivos en el cromosoma bacteriano, técnicas de secuenciación (*Multilocus Sequence Typing*) y análisis de amplificación-restricción (*Amplification Fragment Length Polymorphism*).

Un apartado que hay que tener en cuenta en los análisis epidemiológicos es el de la transmisión de la resistencia a antibióticos no sólo a través de la diseminación de clones multiresistentes sino también mediante la diseminación de elementos genéticos móviles. En uno de los apartados se recoge el estudio del ADN extracromosómico (plásmidos) y de los elementos genéticos de transmisión horizontal. Así mismo se recogen en forma de procedimientos normalizados de trabajo las técnicas anteriormente detalladas. Todos estos aspectos se detallan en el procedimiento microbiológico SEIMC número 18: *Métodos moleculares de tipificación epidemiológica en bacteriología* (2.ª edición 2005): <http://www.seimc.org/protocolos/microbiología/>.

Coll P^b, Coque TM^c, Domínguez MA^a,
Vázquez J^c y Vila J^d

^aServicios de Microbiología. Hospital Universitario de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat. Barcelona. ^bHospital de la Santa Creu i Sant Pau. ^cHospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. ^dHospital Clínico. Barcelona. ^eCentro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid. España.

PROCEDIMIENTOS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA (número 19, 2.ª edición 2005)

Técnicas rápidas de detección de antígeno

Coordinador: Domínguez JA^a

Disponer de resultados rápidos en el laboratorio de microbiología es de utilidad para el manejo clínico y terapéutico de los pacientes. Las técnicas inmunológicas de detección de antígenos permiten identificar la presencia de microorganismos o de fragmentos de los mismos en las muestras clínicas. Su desarrollo se inició con el propósito de acelerar el diagnóstico de las enfermedades infecciosas tratando de superar algunos de los inconvenientes, especialmente la lentitud, de las técnicas convencionales del cultivo.

Las técnicas de detección de antígeno son especialmente útiles en aquellos casos en los que el microorganismo causal crece muy lentamente o bien no crece en los medios de cultivo convencionales. Además, tienen como ventaja que los resultados no se ven alterados por la administración previa de antimicrobianos. Por el contrario, tienen como inconveniente principal el no ofrecer información sobre la sensibilidad antimicrobiana del microorganismo detectado y, en algunos casos,

no haber alcanzado el grado de sensibilidad y especificidad deseados.

Existe un gran número de técnicas de detección de antígeno disponibles y una enorme cantidad de microorganismos susceptibles de poder ser detectados. El presente procedimiento microbiológico SEIMC número 19: *Técnicas rápidas de detección de antígeno* (2.ª edición 2005) (<http://www.seimc.org/protocolos/microbiología/>) se ha estructurado en síndromes, y se ha destacado en cada caso cuál es el papel de las técnicas rápidas y qué microorganismos se pueden detectar con ellas. Así mismo, para cada síndrome se ha descrito un procedimiento normalizado de trabajo que recoge qué muestras son las más adecuadas para optimizar el rendimiento de las técnicas y cuál es el tratamiento previo y la manipulación que se les debe aplicar a las mismas, su tratamiento y conservación, qué microorganismos podemos detectar, las posibles aplicaciones y las interpretaciones de los resultados obtenidos. También se plantean de una manera práctica las ventajas e inconvenientes de las técnicas en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas. Muchas de las técnicas descritas se encuentran comercializadas por lo que esta información debe complementarse con la que facilitan los correspondientes fabricantes.

Alonso C^b, Bartolomé R^c,
Domínguez JA^a, Matas L^a
y Rabella N^d

Servicios de Microbiología. ^aHospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. ^bHospital de la Creu Roja de L'Hospitalet. Barcelona. ^cHospital Vall d'Hebron. Barcelona. ^dHospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

PROCEDIMIENTOS EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA (número 20, 2.ª edición 2005)

Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón

Diagnóstico microbiológico y control de la legionelosis

Coordinador: Pelaz C^a

La manifestación clínica más importante de la legionelosis es la neumonía, aunque el espectro clínico puede variar desde una enfermedad leve-moderada hasta la enfermedad grave con fallo multiorgánico. La neumonía causada por *Legionella* es clínicamente indistinguible de otras neumonías y, con frecuencia, requiere hospitalización. El patrón radiológico también es similar

al de otras neumonías, por lo que el diagnóstico de la enfermedad debe realizarse por métodos microbiológicos. En este procedimiento se revisan los diferentes métodos utilizados para el diagnóstico microbiológico de las infecciones causadas por *Legionella*, incluyendo cultivo e identificación del microorganismo, detección de la bacteria mediante inmunofluorescencia, diagnóstico serológico, detección de antígeno de *L. pneumophila* en orina y detección de este microorganismo en muestras clínicas mediante técnicas de PCR. Por otra parte, se describen los procedimientos operativos de los métodos de diagnóstico microbiológico más utilizados, así como la interpretación de los resultados y la utilidad de cada uno de ellos en situaciones concretas.

Otro aspecto desarrollado en este documento es el relativo a la prevención y control de la legionelosis. *Legionella* es un bacilo muy distribuido en ambientes acuáticos naturales y artificiales, y además, es un parásito intracelular de amebas y otros protozoos de agua dulce, en los que utiliza un mecanismo de multiplicación intracelular similar al utilizado en las células humanas. La enfermedad se produce cuando individuos susceptibles inhalan la bacteria contenida en aerosoles procedentes de fuentes ambientales contaminadas. El conocimiento del nicho ecológico de *Legionella* proporciona una información de gran utilidad para entender la transmisión de la bacteria. Este es el primer paso para abordar el control de su diseminación a partir de instalaciones contaminadas. En este procedimiento se desarrollan aspectos como la detección de la bacteria en muestras de agua (cultivo e identificación y amplificación genómica con técnicas de PCR) y la investigación de brotes, y se detallan los procedimientos operativos para la prevención y control de la legionelosis en hospitales, el cultivo de la bacteria a partir de muestras de agua y la tipificación molecular mediante la técnica de AFLP.

Esta información está disponible en la página web: www.seimc.org/protocolos/microbiología (procedimiento microbiológico SEIMC número 20: *Diagnóstico microbiológico y control de la legionelosis*, 2.ª edición 2005).

Ausina V^b, Catalán V^c,
Cercenado E^d y Pelaz C^a.

^aLaboratorio de Legionella. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid. ^bServicio de Microbiología. Hospital Universitario German Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. ^cLABAQUA S.A. Alicante. ^dServicio de Microbiología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.