

Virología Médica.

Práctica

**Métodos de estudio para el
diagnóstico de las enfermedades
virales**

Objetivos:

- 1.- Mencionar los requisitos de la toma de muestras, su conservación y transporte, para el diagnóstico de laboratorio de los virus.
- 2.- Referir los tipos de exámenes utilizados para el diagnóstico virológico.
- 3.- Interpretar los resultados obtenidos según la marcha técnica utilizada para el diagnóstico de laboratorio.

Pensamiento Científico integrador en virología médica

Vincula elementos :

```
graph TD; A[Vincula elementos :] --> B(Clínicos); A --> C[Epidemiológicos]; A --> D[Datos del Laboratorio de Microbiología]; A --> E[Datos del laboratorio Clínico];
```

Clínicos

Epidemiológicos

Datos del laboratorio Clínico

Datos del Laboratorio de Microbiología

Imágenes de pacientes con enfermedades virales.

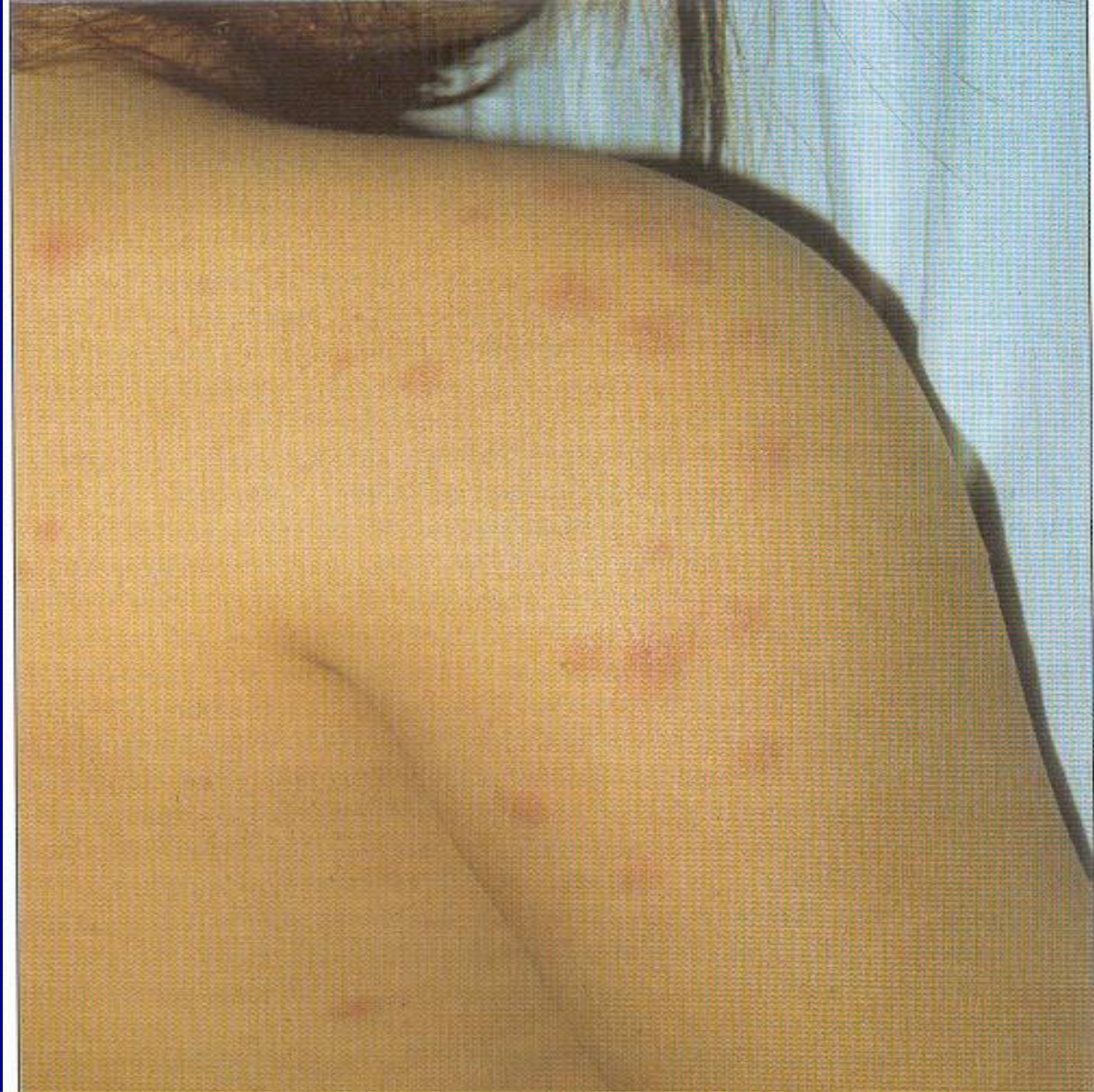
¿HABEIS VISTO?
¡ESTA RABIOSO!

¿Y COMO NO?
SI TIENE EL VIRUS
DE LA RABIA





Herpes labial, vesículas en racimos localizadas en la comisura labial.



**Varicela. Lesiones eritemato-vesiculares
Distribuídas en torax y brazo.**

Cuando estamos frente a un paciente con una enfermedad viral, el diagnóstico microbiológico puede llevarse a cabo por:

- ✓ Identificación del virus.
- ✓ Reconocimiento de una respuesta específica del hospedero a la infección.

! MUY IMPORTANTE !

Muestra

Su conservación

Su traslado

**MUESTRAS,
SU CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE
PARA EL DIAGNÓSTICO DE
LABORATORIO DE LOS VIRUS.**

Muestras frecuentes para estudio virológico

- **Sangre total y suero.**
- **Enjuagues bucales y gargarismos.**
- **Heces.**
- **Lesiones de piel y mucosas.**
- **Secreciones bronquiales.**
- **L.C.R, orina, material de biopsia y necropsia, etc.**

Requisitos de una buena muestra para estudio virológico

- **Que ésta sea representativa del proceso patológico que se investiga.**
- **Colectar la muestra en el momento adecuado en que estén presentes los elementos que se pretenden buscar.**
- **Tomar la cantidad suficiente para realizar un estudio completo**
- **Aplicar las medidas de asepsia para su obtención.**

Conservación y transporte

- Colocar las muestras en refrigeración (4-8 ° C).
- NUNCA congelar las muestras de sangre total ni de material de biopsia y/o necropsia.
- Rotular la muestra con datos suficientes que ayuden en la orientación diagnóstica.

Métodos de laboratorio en el diagnóstico virológico.

- Métodos directos:

- Cultivo e identificación viral.

- Determinación del daño a células y tejidos.

- Determinación de antígenos virales.

- Métodos indirectos:

- Determinación de la respuesta inmune.

Aislamiento viral e identificación

**El aislamiento se puede realizar en
alguno de los diferentes sistemas
biológicos**

**Cultivo
celular**

**Huevos
embrionados**

**Animales de
experimentación**

Imágenes que ilustran los pasos para el cultivo celular



Crecimiento viral en cultivo celular.

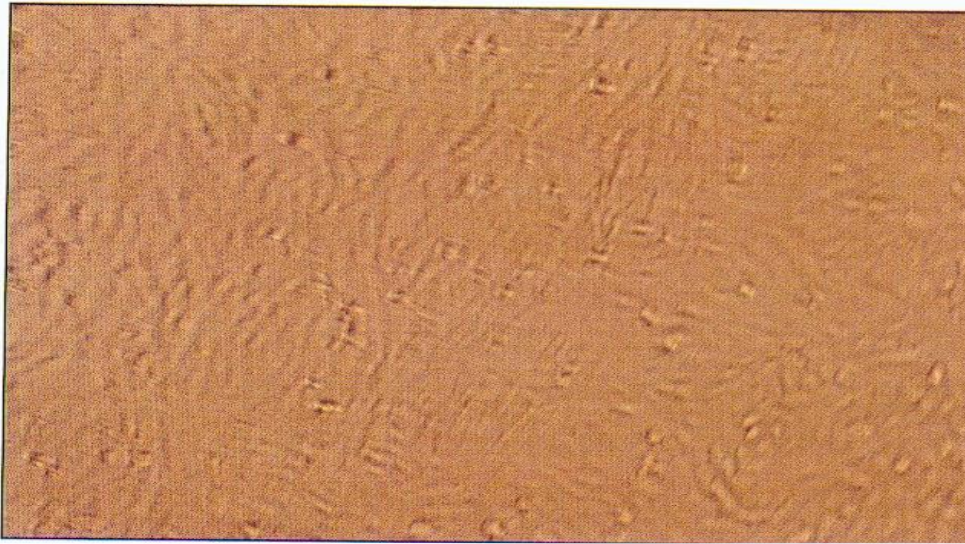
¿Cómo se identifica?

1.- Por la observación de un efecto citopático de las células (ECP).

✓ **Lisis o necrosis (destrucción celular). Ej. *Picornavirus*.**

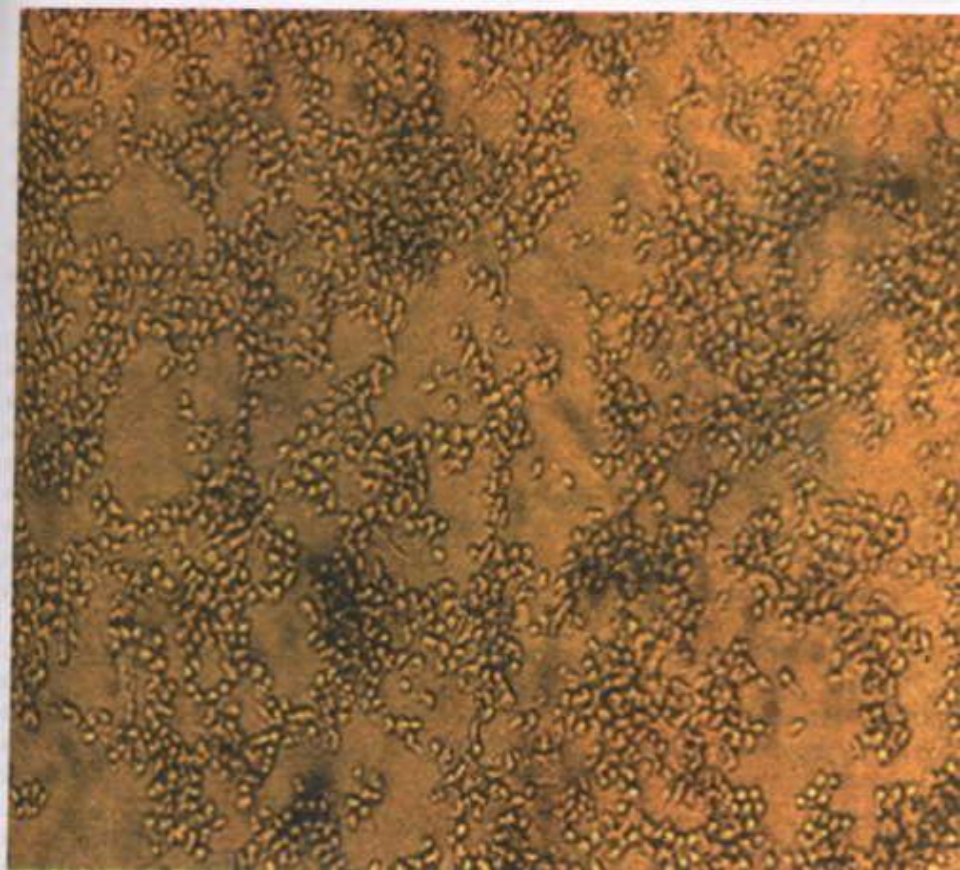
✓ **Cuerpos de inclusión (intranucleares, citoplásmicos o ambos). Ej. *Rabia*.**

- ✓ Citomegalia (agrandamiento de la célula). Ej. *Citomegalovirus* (CMV)
- ✓ Formación de sincitios (células gigantes multinucleadas) Ej. VSR
- ✓ Vacuolización citoplásmica Ej. *Espumavirus*
- ✓ Agrupación de grandes células redondas: Ej. *Adenovirus*



**Células Vero sin infectar.
Observe la disposición de
las células y su morfología.**

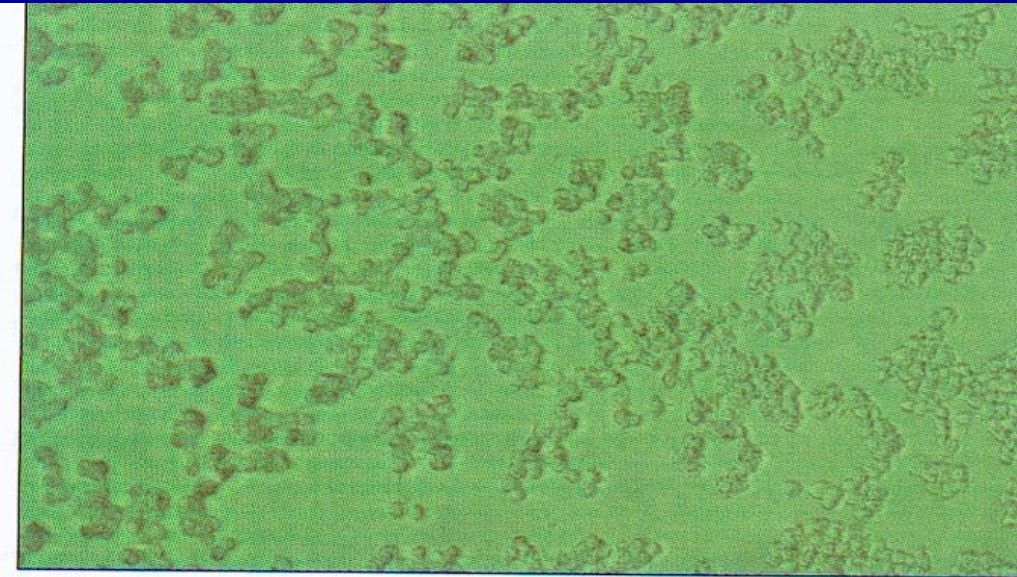
Cultivo de células



**Cultivo celular vero
con efecto citopático
de adenovirus.**

**ECP: redondamiento, agrandamiento,
refringencia y agrupación de células
infectadas que semejan racimos de uvas**

- ✓ Redondeamiento uniforme y difuso de las células. Ej. *Virus herpes simple (HSV)*.



Efecto citopático generalizado producido por herpes simplex.



Cultivo celular con crecimiento de citomegalovirus (CMV). Aprecie la citomegalia.

También se identifica por:

2. Producción de hemaglutinina


3. Transformación morfológica por virus oncógenos. Ej. HSV-2

4. Interferencia viral.

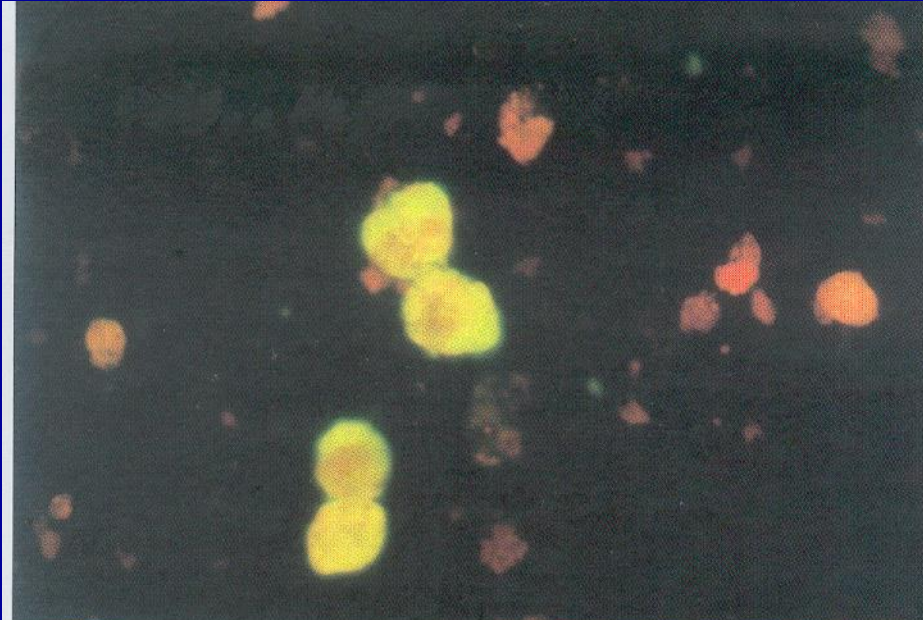
5. Inmortalización. Ej. EBV.

Otros métodos para la identificación viral directa:

- Fijación del complemento (Fc).
- Neutralización (Nt).
- Hemaglutinación e inhibición de la hemaglutinación (IH).
- Inmunofluorescencia (IF).
- Inmunoelectroforesis.
- Ensayos inmunoenzimáticos (ELISA, RIA)



Todos
para
detectar
Antígenos
Virales.



**Tinción Inmunofluorescencia.
Confirmatorio de Adenovirus a
partir de cultivo en Células HEP-2**

Métodos indirectos.

Determinación de anticuerpos.

La detección de anticuerpos específicos y sus títulos en sueros (monosueros o sueros pares), aporta información sobre el tipo de infección y, muchas veces sobre la etapa en que se encuentra.

Métodos para la determinación de anticuerpos

- Inmunofluorescencia.
- Fijación del complemento.
- Radioinmunoensayos.
- Neutralización
- **Inhibición de la hemaglutinación.**
- Ensayos inmunoenzimáticos
- Western blot

Biología molecular.

Diagnóstico virológico.

Estudios de ácido nucleico

- ✓ Análisis de ADN o ARN con enzimas de restricción. (ER).
- ✓ Hibridación de ácidos nucleicos con cualquiera de sus variantes (in situ, en soporte sólido y soporte líquido)
- ✓ PCR (amplificación de fragmentos genómicos).
- ✓ Secuenciación de ácidos nucleicos.

Métodos de diagnóstico rápido.

- 1. Observación directa del virus mediante microscopía electrónica.**
- 2. Observación directa de daño citológico mediante microscopia óptica.**

Diagnóstico rápido. Continuación.

3.- Métodos de detección de antígenos virales:

- ✓ Inmunofluorescencia directa
- ✓ Inmunoperoxidasa
- ✓ Inmunoensayos de fase sólida

Inmunofluorescencia directa para el diagnóstico del virus de la rabia



Método histopatológico que combina rapidez y certeza

Diagnóstico rápido. Continuación.

4.- Tiras reactivas, detecta anticuerpos específicos con fácil interpretación.

5.- Métodos para detectar ácidos nucleicos virales (PCR e hibridación). Diagnóstico rápido y efectivo.

Hemos expuestos, de forma general, los métodos más utilizados para el diagnóstico Viroológico.

Esperamos les haya sido útil para la aplicación futura en el desempeño de su carrera.

Cómo debes presentar tus resultados

- Confecciona un informe donde menciones las principales muestras utilizadas para el diagnóstico virológico.
- Resume las principales pruebas que pueden ser utilizadas para el diagnóstico de los virus.
- Investigue ejemplos de enfermedades infecciosas que pueden ser diagnosticadas a través de las técnicas estudiadas no mencionadas en clase.