

# 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.

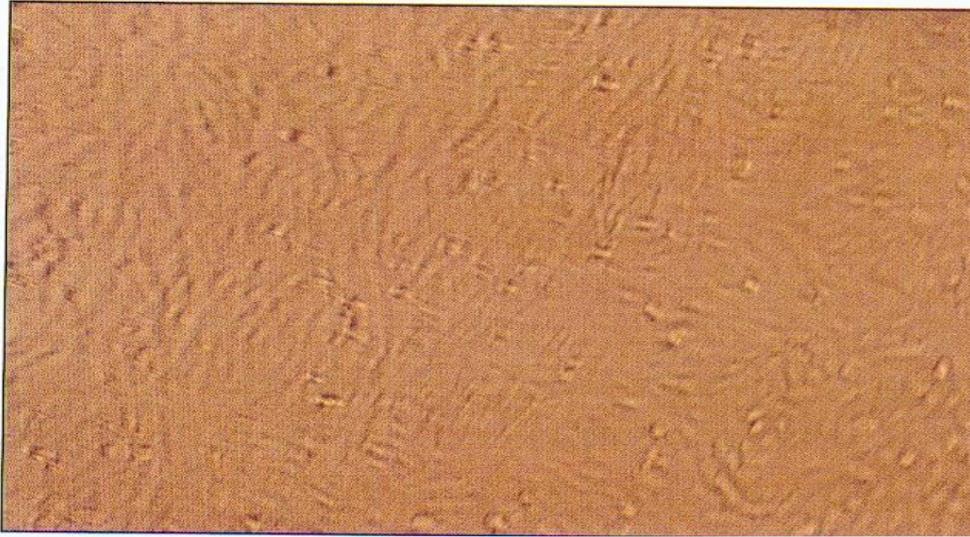
## ¿Cómo se identifica?

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

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

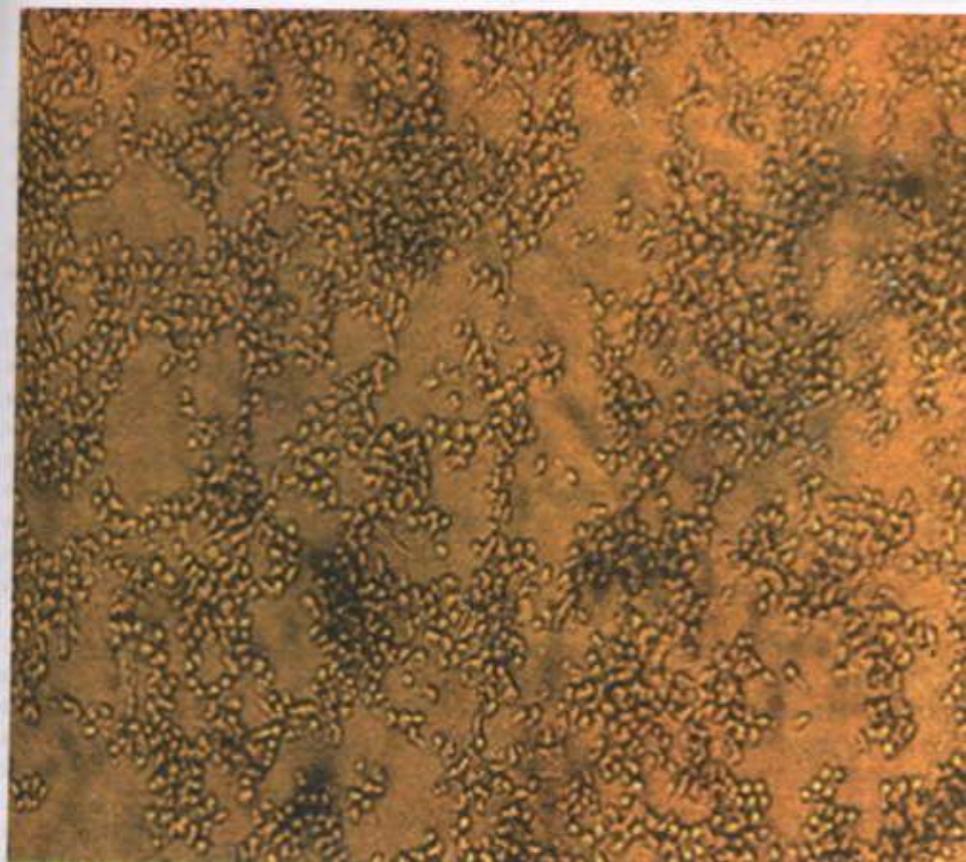
✓ **Cuerpos de inclusión (intranucleares, citoplásmicos o ambos). Ej. *Rabia*.**

- ✓ 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.**

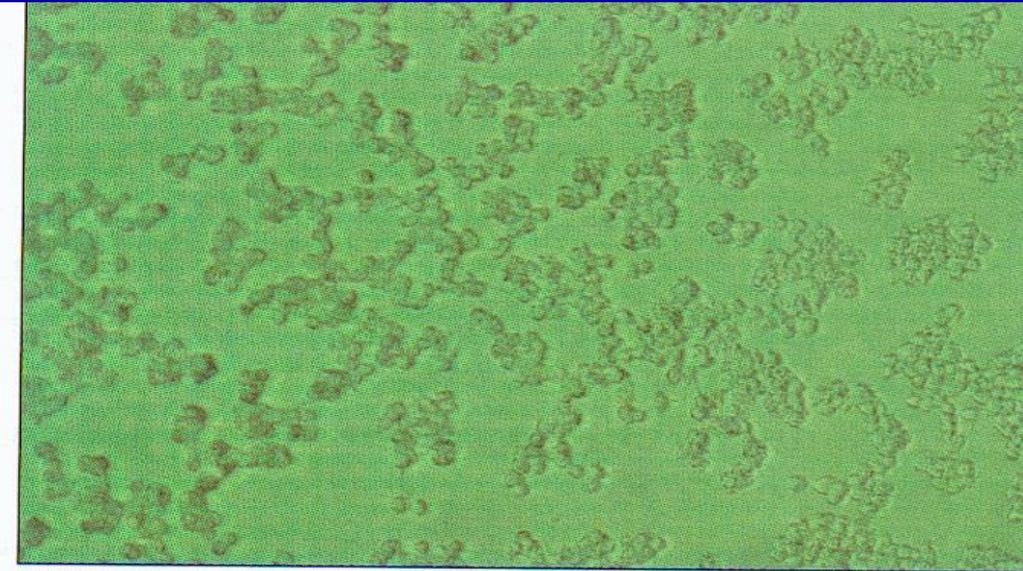
**Cultivo de células**



**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.**

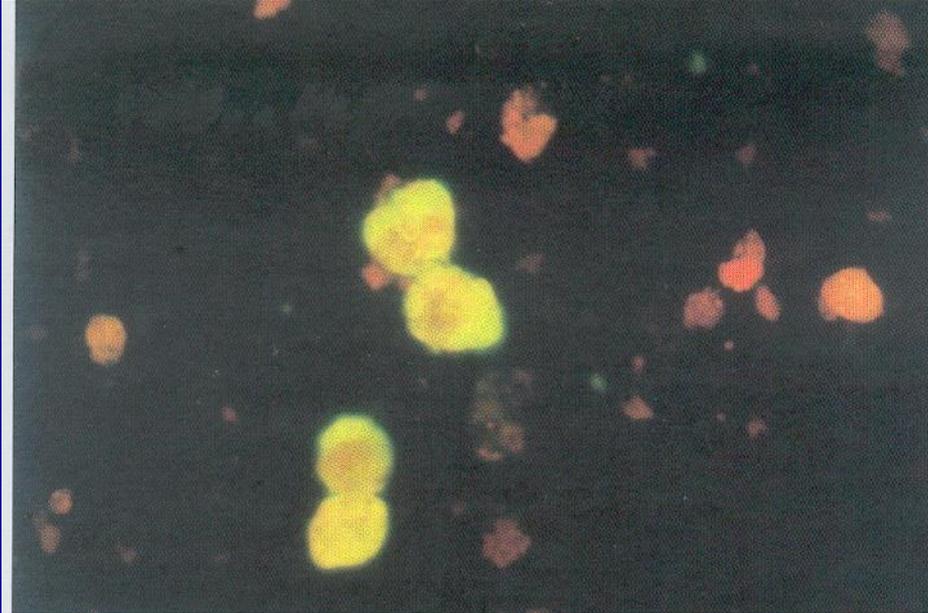
**5. Inmortalización. Ej. EBV.**

# 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.

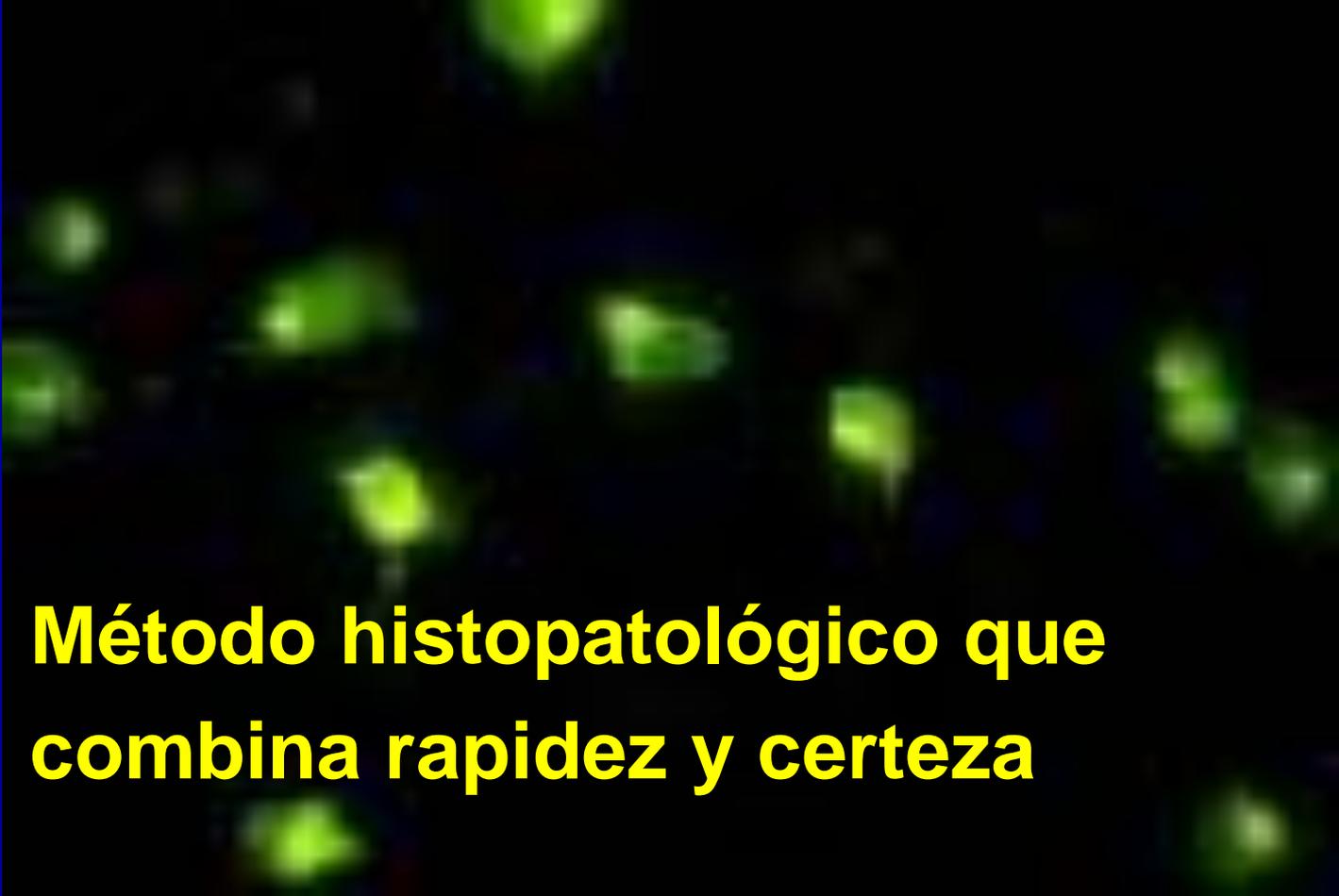
- 1. Observación directa del virus mediante microscopía electrónica.**
- 2. Observación directa de daño citológico mediante microscopia óptica.**

# 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.