

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO

GUÍA DE PRÁCTICA DE LABORATORIO			
PERIODO ACADEMICO	2025-1S		
ASIGNATURA	Micología	SEMESTRE: 5	PARALELO: A
NOMBRE DEL DOCENTE	Dra. Maria del Carmen Cordovéz Martínez		
FECHA	02/06/2025		
NÚMERO DE PRÁCTICA	8 y 9	HORA: 16:00-19:00	DURACIÓN: 3 horas
	Alban Jaya Katerin Geovana		
	Asqui Sinchiguano Emilia Katerine		
	Choro Medina Angelica Abigail		
	Chuquin Guatemal Melany Karina		
	Colcha Chulli Lesly Anabel		
	Fuentes Coloma Gloria Margarita		
	Huaraca Guashpa Karen Magaly		
	Leon Quizhpe Liza Valeria		
	Medina Lopez Domenica Jailyn		
	Morales Copo Brisa Dayana		
	Morocho Garcia Marilyn Cayetana		
	Moyon Moyon Lizeth Gabriela		
	Pazmiño Verdezoto Karla Salet		
	Puente Pancho Roger Daniel		
	Telenchana Moposita Pamela Michelle		
	Villa Lema Katy Marcela		
Villamizar Varela Wendy Andrea			
LUGAR DE LA PRÁCTICA	Laboratorio microbiología		
TÍTULO DE LA UNIDAD	Virus de interés clínico		
TEMA DE LA PRÁCTICA	Toma de muestra y métodos diagnósticos de los virus		
RESULTADO DE APRENDIZAJE. Distinguir las características de los virus, así como la clasificación, transmisión y técnicas del diagnóstico de las virosis e identifica la importancia del estudio de la virología médica.			
OBJETIVO GENERAL	Aplicar la enseñanza y aprendizaje de los conocimientos teóricos de virus de interés clínico		
Objetivos específicos	Toma de muestra y métodos diagnósticos de los virus		
FUNDAMENTO TEÓRICO:			
os virus son los agentes infecciosos más pequeños varían de 20 a 300 nm de diámetro aproximadamente contienen un tipo de ácido nucleico (ARN o ADN) como genoma unidad infecciosa íntegra se denomina <i>virión</i>. son partículas inertes que adquieren vitalidad y se reproducen cuando entran a una célula de un huésped susceptible. el ácido nucleico está recubierto y protegido por la cápside, estructura formada por capsómeros y algunos presentan una envoltura de lipoproteínas y contiene la información necesaria para programar a la célula infectada del huésped a sintetizar las macromoléculas específicas del virus necesarias para producir la progenie viral. urante el ciclo replicativo se produce un gran número de copias del ácido nucleico viral y de las proteínas específicas con diferentes funciones a infección por el virus puede tener efecto sobre la célula del huésped : escaso o nulo provocar daño o muerte celular			

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

DEFINICIONES ÚTILES EN VIROLOGÍA

Cápside	Cubierta proteica o envoltura que encierra el genoma de ácido nucleico. Las cápsides vacías pueden ser subproductos del ciclo replicativo de los virus con simetría icosaédrica
Capsómeros	Unidades morfológicas observadas al microscopio electrónico sobre la superficie de las partículas virales icosaédricas. Los capsómeros representan grupos de polipéptidos, pero las unidades morfológicas no corresponden necesariamente a las unidades definidas químicamente
Nucleocápside	Complejo proteína-ácido nucleico que representan la forma de presentarse el genoma viral. Por lo general, este término se utiliza cuando la nucleocápside es una subestructura de una partícula viral más compleja
Envoltura	Membrana que contiene lípidos y rodea algunas partículas virales. Se forma durante la maduración viral mediante un proceso de gemación a través de una membrana celular. Las glucoproteínas codificadas por el virus están expuestas sobre la superficie de la envoltura. Estas prolongaciones se denominan peplómeros
Virión	Partícula viral completa. En algunos casos (adenovirus, parvovirus), el virión es idéntico con la nucleocápside; en viriones más complejos (<i>flavivirus</i> , <i>paramixovirus</i>), incluye la nucleocápside y la envoltura que la rodea. Esta estructura, el virión, sirve para transferir el ácido nucleico de una célula a otra.

Estructura primaria, secundaria y terciaria del ácido nucleico

1. Primaria se refiere a la secuencia de bases en la cadena del ácido nucleico.
2. Secundaria se refiere al arreglo espacial de la cadena completa del ácido nucleico, ya sea que tenga conformación circular o linear, de tira aislada o doble tira.
3. Terciaria se refiere a otros elementos de fino detalle espacial en la hélice, por ejemplo, la presencia de superenrollado, puntos de rupturas, regiones de separación de las tiras

REACCIONES A LOS AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS

Los virus son inactivados por muchos compuestos químicos :

- ✓ agentes oxidantes
- ✓ sales de metales pesados
- ✓ muchos reactivos que interactúan químicamente con las proteínas

Agentes químicos

Detergentes:

Detergentes no iónicos

(como Nonidet, P-40, Tritón X-100):

solubilizan los componentes lipídicos de las envolturas virales, liberando así las espículas glucoproteicas y componentes internos desnaturalizados, que entonces pueden ser mejor examinados en relación a la morfología, constitución antigénica, y actividad enzimática.

Detergentes aniónicos,

más importantes (sulfato dodecil sodio):

no sólo solubilizan las envolturas virales, sino que también disocian las cápsides en sus polipéptidos constitutivos.

Detergentes catiónicos:

hasta ahora se ha encontrado poca aplicación en virología.

Solventes de proteínas:

La guanidina, urea y fenol

son poderosos solventes de proteínas que se usan ampliamente para disociar cápsides virales en sus cadenas polipépticas componentes.

Fenol es el reactivo más comúnmente usado para liberar ácidos nucleicos virales

Formaldehído

Suprime la infectividad sin afectar en forma significativa la antigenicidad y por ende ha sido utilizado ampliamente para preparar vacunas con virus inactivados

Éter

La susceptibilidad al éter puede distinguir un virus que posee cubierta del que no la posee

Agentes físicos

Existe gran variabilidad en la termoestabilidad de los diferentes virus

Calor y frío

virus icosaédricos

tienen a ser más estables y pierden de 2-4 veces su infectividad durante 6 h a 37 °C el título de infectividad permanece estable por meses a 4 °C

virus envueltos

son muy termolábiles, su vida media a 37°C no es > 1 h el título de infectividad almacenados a -70 °C o en nitrógeno líquido son particularmente sensibles a congelación y descongelación

Radiaciones

virus son inactivados por radiaciones electromagnéticas (rayos X, rayos gamma y radiaciones ultravioletas).

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

Antibióticos y otros antibacterianos

antibióticos y sulfonamidas de uso común como antibacterianos no tienen efecto sobre los virus
fármacos que tienen acción antiviral (Ribavirin, amantadina, acyclovir, etc)

Métodos comunes para inactivar virus con diferentes propósitos

Los virus pueden inactivarse con diferentes propósitos:

- ✓ desinfectar superficies o piel
- ✓ esterilizar instrumentos de laboratorios
- ✓ asegurar la pureza del agua
- ✓ producir vacunas a base de inactivación del virus
- ✓ producción de reactivos biológicos para el diagnóstico en el laboratorio.

se emplean diferentes métodos y sustancias químicas como

Esterilización, vapor a presión, calor seco, cloruro de etileno, y radiaciones

Desinfección de superficie hipoclorito de Na, glutaraldehído, formaldehído, ácido peracético

Desinfección de piel: clorhexidina, etanol al 70 %, yodóforos

Producción de biológicos: formaldehído, β -propiolactona, psoraleno + irradiación ultravioleta, detergentes, calor 56 °C durante 30 min

Transmisión viral

Transmisión directa de una persona a otra.

1. Respiratoria gotitas o aerosoles infectantes (por ejemplo influenza, sarampión)
2. Vía fecal oral (enterovirus, hepatitis infecciosa A)
3. Contacto sexual (VIH, hepatitis B)
4. Contacto mano-boca, mano-ojo, o boca-boca (herpes simple, virus *Epstein-Barr*, enterovirus 70)
5. Intercambio de sangre contaminada (VIH, hepatitis B)
6. Vía transplacentaria (VIH, hepatitis B)

Transmisión de un animal a otro con el ser humano como huésped accidental

Por mordedura (rabia)

Por aerosol infectantes en sitios contaminados (arenavirus, hantavirus)

Transmisión por medio de un vector artrópodo (flavivirus, togavirus)

Principales tipos de muestras biológicas para diagnóstico virológico

Aparatos	Muestras
Sistema nervioso	Líquido cefalorraquídeo (LCR)
Aparato respiratorio	Biopsia cerebral*
	Exudado nasal
	Exudado faríngeo
	Exudado nasofaríngeo
	Gargarismos
	Saliva
	Espustos
	Lavado bronquial
	Aspiración bronquial
Aparato ocular	Líquido pleural
	Exudado o raspado conjuntival
	Lágrimas
	Exudado o biopsia corneal*
Sistema cardiovascular	Líquido pericárdico
Sistema digestivo	Heces fecales
	Exudado rectal
	Líquido ascítico
	Biopsia hepática*
Aparato genitourinario	Orina
	Exudado o raspado endocervical
	Exudado vaginal
	Exudado y líquido de vesículas
	Raspado de la base de lesiones
	Semen
Piel	Exudado y raspado de lesiones cutáneas
Sangre	Total
	Suero
	Sangre del cordón umbilical
SOMA	Líquido articular

AISLAMIENTO VIRAL E IDENTIFICACIÓN

Una vez tomada la muestra se intenta el aislamiento viral en alguno de los diferentes sistemas biológicos:

- ✓ cultivo celular
- ✓ huevos embrionados
- ✓ animales de experimentación

Existen variantes de cultivo celular:

- ✓ cultivo primario
- ✓ líneas celulares diploide y continua que se diferencian entre sí en múltiples aspectos y son susceptibles de ser infectadas por tipos diferentes de virus.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

El crecimiento viral en cultivo puede ser identificado por una de las siguientes manifestaciones de la interacción virus-célula:

1. **Efecto Citopático (ECP).**
 - a) **Lisis o necrosis.** Ejemplo: *Picornavirus* excepto HAV.
 - b) Formación de cuerpos de inclusión (intranucleares, citoplasmáticos, ambos), que representan:
 - Sitio de desarrollo del virión.
 - Masas virales en replicación.
 - Productos residuales de la multiplicación.**Ejemplo: Virus rábico.**
 - c) **Citomegalia.** Ejemplo: *Citomegalovirus* (CMV).
 - d) Formación de sincitios (células gigantes multinucleadas). Ejemplo: Virus sincitial respiratorio (RSV).
 - e) **Vacuolización citoplasmática.** Ejemplo: *Espumavirus*.
 - f) Agrupación de grandes células redondeadas. Ejemplo: *Adenovirus*.
 - g) Redondeamiento uniforme y difuso de las células. Ejemplo: Virus del herpes simple (HSV).
 2. **Interferencia Viral.**

Algunos virus no producen cambios citopáticos directos, sino que su presencia en el cultivo puede ser demostrada por su interferencia con el ECP que causara otro virus inoculado en el mismo cultivo celular. Ejemplo: Virus de la rubéola interfiere con el ECP lítico de los Echovirus.
 3. **Producción de hemaglutinina.**

Algunos virus maduran en la membrana celular y producen una enzima llamada hemaglutinina, de modo que si se adicionan eritrocitos a un cultivo celular infectado por tales virus, estos se adsorberán a la superficie celular (hemadsorción). También se pueden detectar libres mediante su aglutinación con eritrocitos (hemaglutinación), proceso que puede inhibirse usando antiseros específicos (inhibición de la hemaglutinación).
 4. Transformación morfológica por virus oncogénicos.
 5. Varios virus provocan pérdida de los mecanismos celulares de inhibición por contacto y formación de focos en los cultivos en que se inoculan. Ejemplo, HSV-2.
 5. Inmortalización. Ejemplo; EBV causa inmortalización de linfocitos.
- Por otra parte, la inoculación de virus en huevos embrionados: membrana corioalantoidea, sacos amniótico, alantoideo, vitelino, o el propio embrión, permite la multiplicación viral. Posteriormente, se extraen los líquidos y tejidos y se examinan en busca de un aumento del título viral y lesiones.

También los animales (ratones, hámsters, cobayos, conejos, monos, mosquitos) constituyen un sistema para aislamiento de virus, al ser inoculados por diferentes vías: intracraneal, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, intranasal, intratorácica.

Luego el animal es observado, estudiado y se examinan sus tejidos cuando se le sacrifica

Pruebas serológicas:

1. fijación del complemento (FC)
2. neutralización (Nt)
3. Hemaglutinación
4. inhibición de la hemaglutinación (IH)
5. inmunofluorescencia (IF)
6. Inmunolectroforesis
7. ensayos inmunoenzimáticos (ELISA, RIA)
8. *Western blot*

Biología Molecular

Los métodos diagnósticos basados en el estudio de los ácidos nucleicos han revolucionado la virología moderna al permitir la detección de genes virales en muestras de un individuo infectado aún en ausencia de manifestaciones clínicas.

Técnicas como:

- ✓ el análisis del ADN o ARN con enzimas de restricción (ER)
- ✓ la hibridación de ácidos nucleicos en cualquiera de sus variantes (*in situ*, en soporte sólido y en soporte líquido)
- ✓ la amplificación de fragmentos genómicos virales mediante reacción en cadena de la polimerasa (RCP)
- ✓ la secuenciación de ácidos nucleicos

Diagnóstico Viroológico Rápido

En ocasiones se necesita conocer con urgencia el agente causal de la patología que se presenta, ya sea porque constituya un peligro para la vida o porque se disponen de soluciones que, tomadas oportunamente, pueden modificar su evolución y pronóstico y ayudar al control de la enfermedad.

La **observación directa del virus** puede intentarse mediante microscopía electrónica.

Aunque poco práctica porque los procedimientos de preparación de las muestras con este fin, son engorrosos y requieren de un personal altamente calificado y entrenado

La **microscopía óptica** permite observar los daños citológicos que provocan algunos virus en tejidos específicos.

Para ello, se realiza tinción histoquímica con colorantes específicos como:

- el de Tzank (HSV)
- Giemsa (CMV)
- Papanicolaou (*papillomavirus*).

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLOGICO

Diagnóstico Viroológico Rápido

Varias técnicas para detección de Ags virales, garantizan obtener un diagnóstico en solo pocas horas.

Ejemplos de ellas:

- ✓ inmunofluorescencia directamente aplicada a células epiteliales o a líquidos de vesículas
- ✓ técnica de la inmunoperoxidasa en la que las células fijadas se tiñen con un conjugado enzima-anticuerpo monoclonal específico (ejemplo, detección de CMV en linfocitos de sangre periférica)
- ✓ inmunoensayos de fase sólida (aplicable a múltiples virus: HBV, VIH, HSV, adenovirus, virus de la influenza A, SRV, rotavirus)
- ✓ uso de tiras reactivas de fácil interpretación basado en la detección de anticuerpos específicos en respuesta a la infección viral
- ✓ métodos para la detección de ácidos nucleicos virales (RCP e hibridación) brindan también un diagnóstico rápido y efectivo

MATERIALES Y MÉTODOS

Equipos	Materiales	Reactivos
Table, laptop, celulares	Cuadernos, esferos	

PROCEDIMIENTO / TECNICA:

Ingreso al aula virtual

Leer detenidamente la información.

Ante un paciente sospechoso de una virosis de origen respiratorio como el SARS-CoV-2 que acude al laboratorio para confirmación del diagnóstico pues presenta tos y mucho dolor de garganta, usted debe de tomar la muestra.

Describe:

- ✓ Qué muestra biológica obtendría
- ✓ Cómo realiza esta recogida de la muestra
- ✓ Qué métodos diagnósticos pudiera emplear en este caso
- ✓ Describa las características de este virus.

Realizar en documento aparte y subir al aula virtual en PDF

RESULTADO (Gráficos, cálculos, etc.)

OBSERVACIONES

CONCLUSIONES

RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFÍA:

Microbiología Médica Brooks Geo. F. Editorial El Manual Moderno
Microbiología Médica. Patrick R. Murray. Elsevier. 2007.

Msc. Verónica Cáceres
DIRECTOR/A DE CARRERA

Dra. Maria del Carmen Cordovéz
DOCENTE

Ing. Eliana de la Torre
RESPONSABLE DE LABORATORIO