

VIROLOGÍA

VIRUS

Son microorganismos **intracelulares obligados**

No tienen estructura celular (orgánulos/ribosomas)

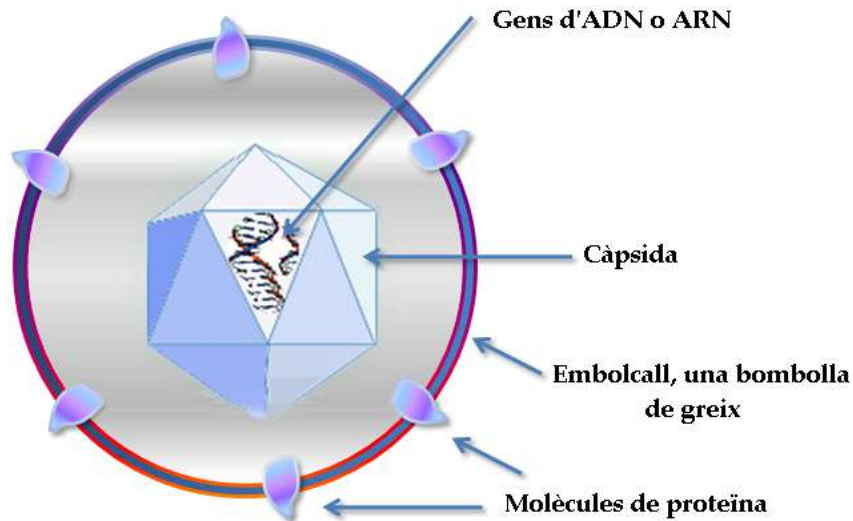
Reproducción: Ensamblaje

Estructura:

- **Genoma:** ácido ribonucleico

- **Cápside**

- **Envoltura** (algunos)



Genoma

ADN o ARN: taxonomía

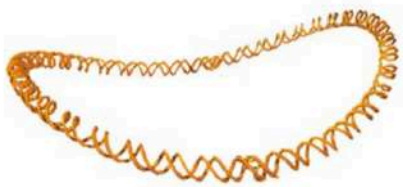
Monocatenario o bicatenario (cadena simple o doble cadena):

- Los ADN suelen ser **bc** (excepto los parvovirus) y los ARN suelen ser **mc** (excepto reovirus y birnavirus)

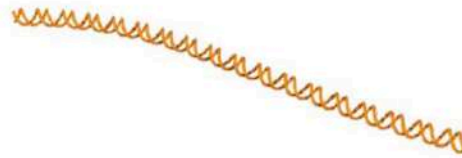
Lineal o circular

Único o segmentado

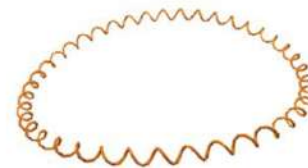
Polaridad positiva o negativa: se refiere a los ARNmc



ADN bicatenario circular
(bacterias, mitocondrias,
cloroplastos y algunos virus)



ADN bicatenario lineal
(eucariotas y algunos
virus)

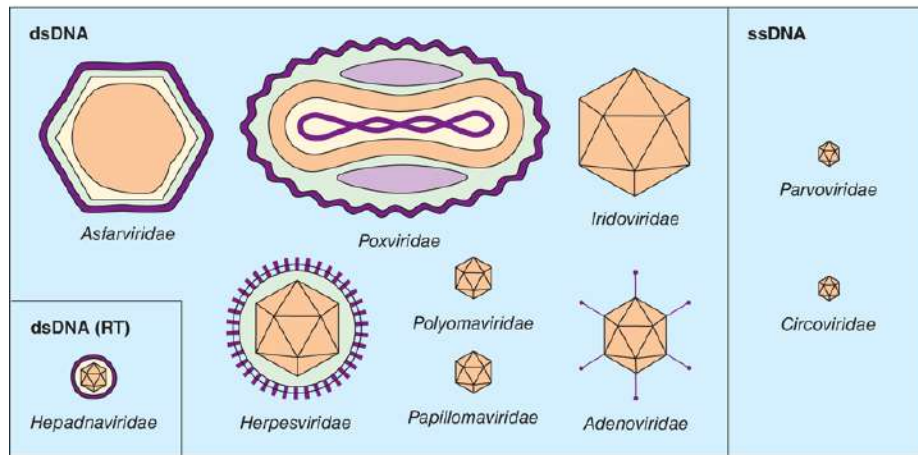


ADN monocatenario
circular (algunos virus)

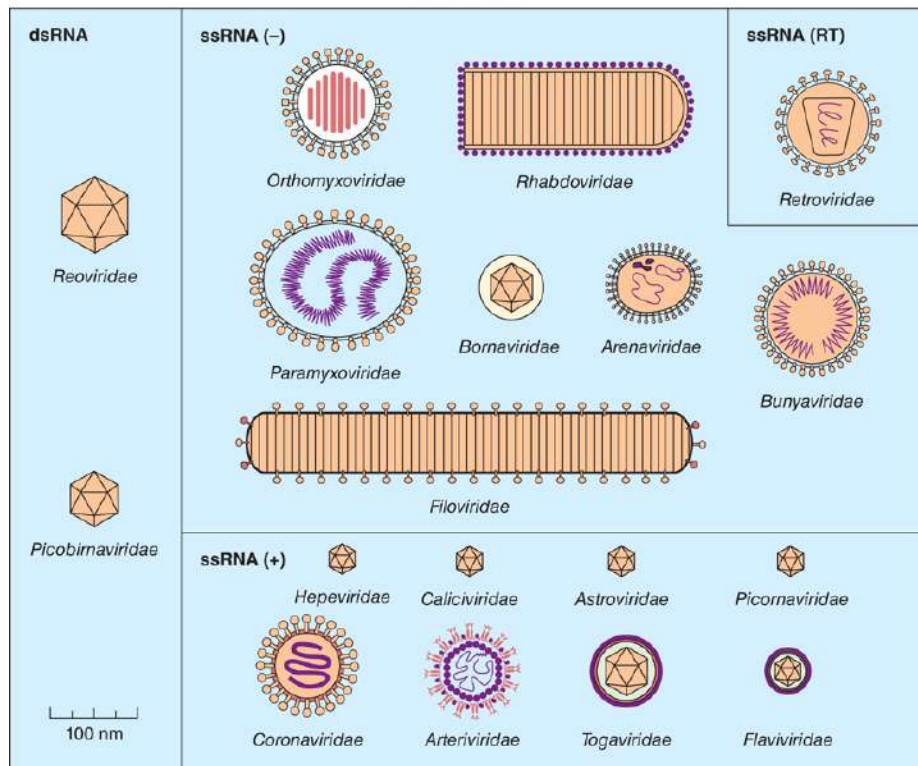


ADN monocatenario lineal
(algunos virus)

DNA virus



Virus del RNA



ds: Bicatenario o cadena doble
ss: Monocatenario o cadena simple

Cápside

Proteínas (capsómeros) que encierra el ácido nucleico (genoma)

Poder antigénico

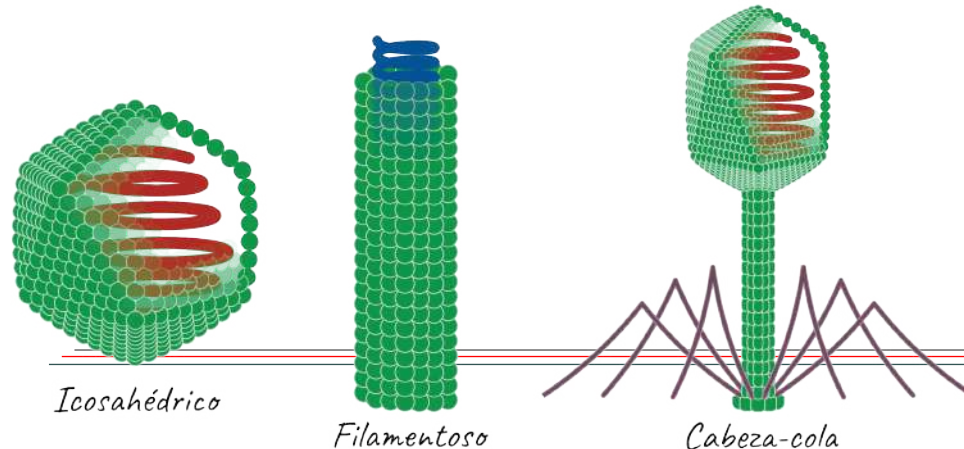
Formas:

-Icosaédrica: 12 capsómeros (cada uno forma pentámero)

-Helicoidal: capsómeros giran alrededor de un cilindro

-Compleja: sin morfología definida

Nueclucápside o core: Cápside + genoma



Envoltura

Algunos virus presentan envoltura (**virus envueltos**)

Lipoproteínas que rodean a la cápside

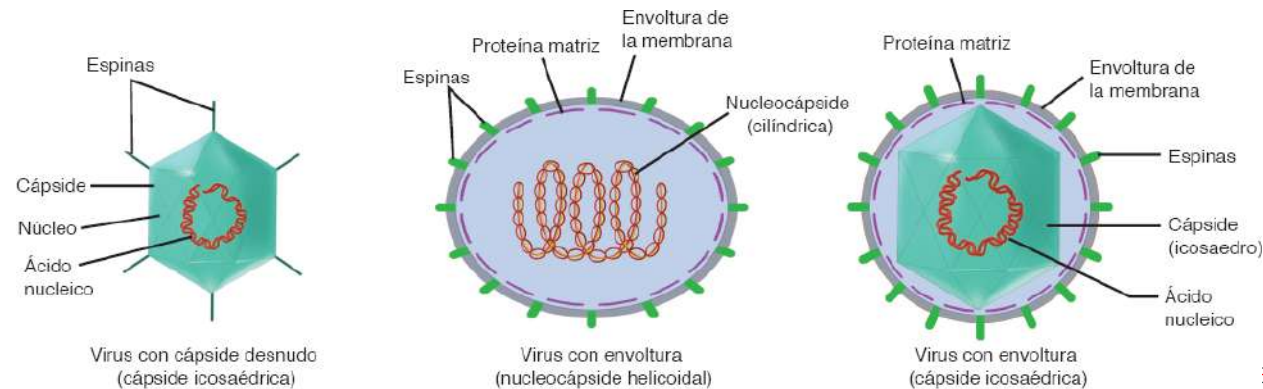
Origen: membrana plasmática de la célula huésped



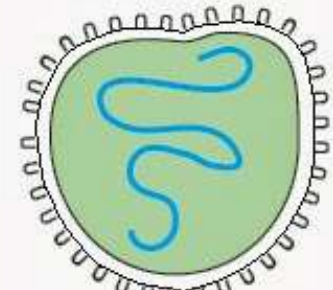



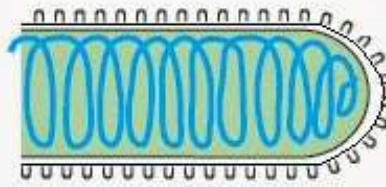
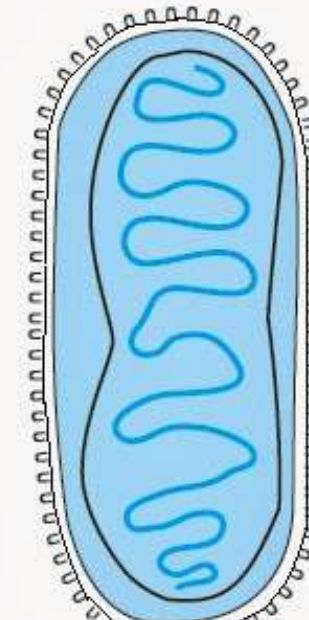

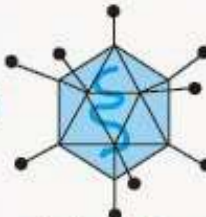
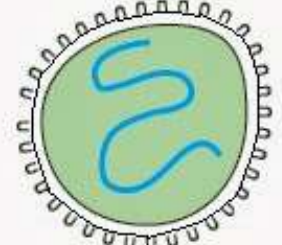
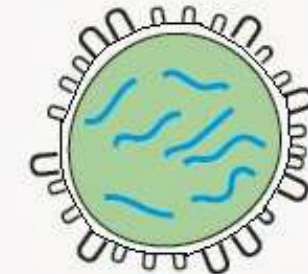

Contiene: glicoproteínas (fusión con célula huésped)

Suelen ser redondos (excepto poxvirus)

Todos los virus ARN cadena negativa poseen envoltura

Son más sensibles que los virus desnudos (disolventes, detergentes, ácidos)



Sin cubierta lipídica	Con cubierta lipídica		
	ARN de cadena (+)	ARN de cadena (-)	ADN de cadena doble
Cadena simple ADN  Parvovirus	 Togavirus	 Paramixovirus	 Herpesvirus
ARN  Picornavirus	 Retrovirus	 Rabdovirus	 Poxvirus
Cadena doble ADN  Papovirus ADN  Adenovirus	 Coronavirus	 Ortomixovirus	
ARN  Reovirus			

En los virus, el soporte de la información genética de la capacidad de replicación y de su potencial infeccioso reside en:

a)El ácido nucleico

b)La cápside

c)Las enzimas

d)La envoltura

PRUEBAS SELECTIVAS PARA EL ACCESO A LA CONDICIÓN DE PERSONAL ESTATUTARIO FIJO POR RESOLUCIÓN DE LA DIRECCIÓN GENERAL DE RECURSOS HUMANOS DEL SERVICIO MADRILEÑO DE SALUD DE 18 DE MAYO DE 2015 (BOCM nº 123, DE 26 DE MAYO DE 2015).

CATEGORÍA: TÉCNICO SUPERIOR ESPECIALISTA EN LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO

ADN MONOCATENARIO

Parvovirus	Parvovirus B19 y Bocavirus	Parvovirus B19: -Eritema infeccioso o 5ta enfermedad - Poliartrosis, anemia hemolítica y abortos
------------	----------------------------	--

ADN BICATENARIO

Papilomavirus		- Verrugas (piel/mucosas): serotipos 6 y 11 - Cáncer cervical : serotipos 16 y 18
Poliomavirus	Virus JC, Virus BK	-JC: Leucoencefalopatía multifocal progresiva en VIH -BK: Nefritis intersticial en trasplante renal
Hepadnavirus	VHB	Hepatitis
Adenovirus		Faringitis, enf. respiratoria, gastroenteritis, meningitis, hepatitis, cistitis hemorrágica, queratoconjuntivitis
Herpesvirus	VHS1, VHS2, VVZ, VEB, VHH8, CMV, VHH6, VHH7	- VHS1: herpes labial , amigdalitis, estomatitis, queratitis; encefalitis - VHS2: herpes genital , infección en r.n - VVZ: Varicela , neumonía, herpes zóster - VEB: Mononucleosis infecciosa , linfoma burkitt, y carcinoma nasofaríngeo - CMV: Diseminada (en inmunodeprimidos): hígado, pulmones, retinitis, colitis, esofagitis. Congénita (pérdida auditiva y retraso mental) - VHH6 y VHH7: Exantema súbito o roseola (fiebre de los tres días) - VHH8: Sarcoma de Kaposi asociado a VIH
Poxvirus	Viruela, M. contagiosum	-Viruela: erradicada - <i>M. contagiosum</i> : verrugas

La mononucleosis infecciosa es una enfermedad que puede ser causada por:

a) *Virus de Epstein-Barr*

b) *Papilomavirus humano*

c) *Rotavirus*

d) *Giardia lamblia*

PRUEBAS SELECTIVAS PARA EL ACCESO A LA CONDICIÓN DE PERSONAL ESTATUTARIO FIJO POR RESOLUCIÓN DE LA DIRECCIÓN GENERAL DE RECURSOS HUMANOS DEL SERVICIO MADRILEÑO DE SALUD DE 18 DE MAYO DE 2015 (BOCM nº 123, DE 26 DE MAYO DE 2015).

CATEGORÍA: TÉCNICO SUPERIOR ESPECIALISTA EN LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO

ARN MONOCATENARIO
POSITIVO

Picornavirus	Enterovirus: polio, coxsackie, echovirus, enterovirus Parechovirus Rinovirus Hepatovirus: VHA	- Polio virus : Poliomelitis - Coxsackie A : Herpangina y enf. boca-mano-pie - Coxsackie B : Pleurodinia - Echovirus : Meningitis aséptica - Enterovirus : Conjuntivitis hemorrágica -Parechovirus: Infecc. Respiratoria y GI - Rinovirus : Resfriado común - VHA : Hepatitis
Astrovirus		Brotos leves de gastroenteritis
Calicivirus	Sapovirus, Norovirus (Virus Norwalk),	Enteritis viral en niños
Togavirus	Alphavirus (chikungunya) y Rubivirus (rubeola)	- Chikungunya : fiebre y dolores articulares (mosquito Aedes) - Rubeola : Enf. exantemática
Flavivirus	Dengue, fiebre amarilla, encefalitis japonesa, encefalitis de Sant Luis, fiebre del nilo occidental, encefalitis europea, zika, hepacivirus (VHC)	- Dengue : Fiebre hemorrágica (mosquito Aedes) - F. Amarilla : Fiebre hemorrágica (mosquito Aedes) - Zika : Fiebre exantemática y microcefalia en r.n (mosquito Aedes) - Demás : Encefalitis
Coronavirus	Virus SARS y Virus MERS	SARS : Síndrome respiratorio agudo severo MERS : Síndrome respiratorio de oriente medio
Retrovirus	Oncornavirus (Virus linfotrópico humano "VLTH") y Lentivirus (VIH)	- VLTH : Infecta Linfocitos T CD4: Leucemia - VIH : SIDA

ARN MONICATENARIO NEGATIVO		Patología
Paramixovirus	Paramixovirus (Virus parainfluenza), parotiditis, Morbillivirus (sarampión), Pneumovirus (VRS y metaneumovirus humano), virus Nipha, virus Hendra	<ul style="list-style-type: none"> -Paraifluenza: Infección vías respiratorias -Parotiditis: Paperas, orquitis, meningitis -Sarampión: Fiebre exantemática, panencefalitis -VRS: Infección respiratoria (<2 años) -Metaneumovirus: similar a resfriado común -Nipha y Hendra: encefalitis
Rhabdovirus	Virus rabia y virus de la estomatitis vesicular	Rabia
Filovirus	Virus Marbug y virus Ébola	Fiebres hemorrágicas
Bornavirus	Virus de la enfermedad de la Borna	Meningoencefalitis (desórdenes psiquiátricos)

Bunyavirus	Bunyavirus, Nairovirus, Phlebovirus (virus toscana, fiebre hemorrágica del valle del Rift), Hantavirus	<ul style="list-style-type: none"> -Bunyavirus: Encefalitis de california -Nairovirus: Fiebre hemorrágica de Crimea-Congo -Virus Toscana: Fiebre benigna -Hantavirus: fiebre hemorrágica
Ortomixovirus	Virus influenza (gripe A,B y C)	Gripe /neumonía
Arenavirus	Virus LCM, virus Lassa, Virus Junin y Machupo	<p>LCM: coriomeningitis linfocítica</p> <p>Junin y Machupo: fiebre hemorrágica más afectación SNC</p>
ARN BICATENARIO		
Reovirus	reovirus y rotavirus	<ul style="list-style-type: none"> -Reovirus: Infecciones respiratorias y gastrointestinales en niños -Rotavirus: diarrea en niños

60.- El virus de la rubéola pertenece a la familia de los:

a) Rhabdovirus.

b) Togavirus.

c) Ortomixovirus.

d) Paramixovirus.

RESOLUCIÓN DEL TRIBUNAL DEL CONCURSO-OPOSICIÓN PARA LA SELECCIÓN Y PROVISIÓN DE PLAZAS DE TÉCNICOS ESPECIALISTAS DE LABORATORIO EN INSTITUCIONES SANITARIAS DEPENDIENTES DE LA AGENCIA VALENCIANA DE SALUD, CONVOCADO POR RESOLUCIÓN DE 27 DE JULIO DE 2008 (DOCV 5613 DE 04/10/2007) POR LA QUE SE HACEN

Diagnóstico viral

Directos:

- **Virus:** Aislamiento viral
- Alguno de sus constituyentes:
 - **Ag virales:** Técnicas inmunológicas
 - **Acido nucleico** viral: Técnicas moleculares
- Partícula viral: Microscopía electrónica

Indirectos:

- **Ac específicos del huésped** (respuesta inmune): Técnicas inmunológicas

Métodos directos

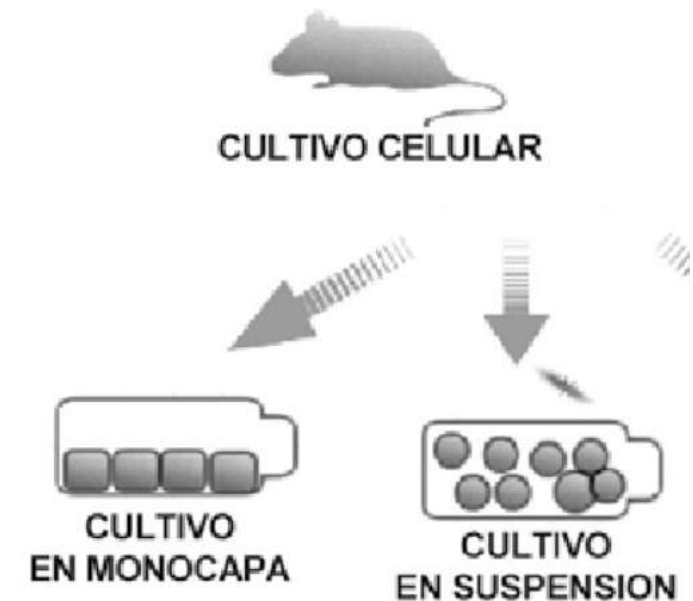
Aislamiento viral: Cultivos celulares

Son biosubstratos: sustrato de **celulas libres** que pueden crecer y mantenerse en **suspensión o en monocapa**

Cultivo celular: suspensión de células + medio de cultivo que contiene albúmina, vitaminas, sales, glucosa, etc.

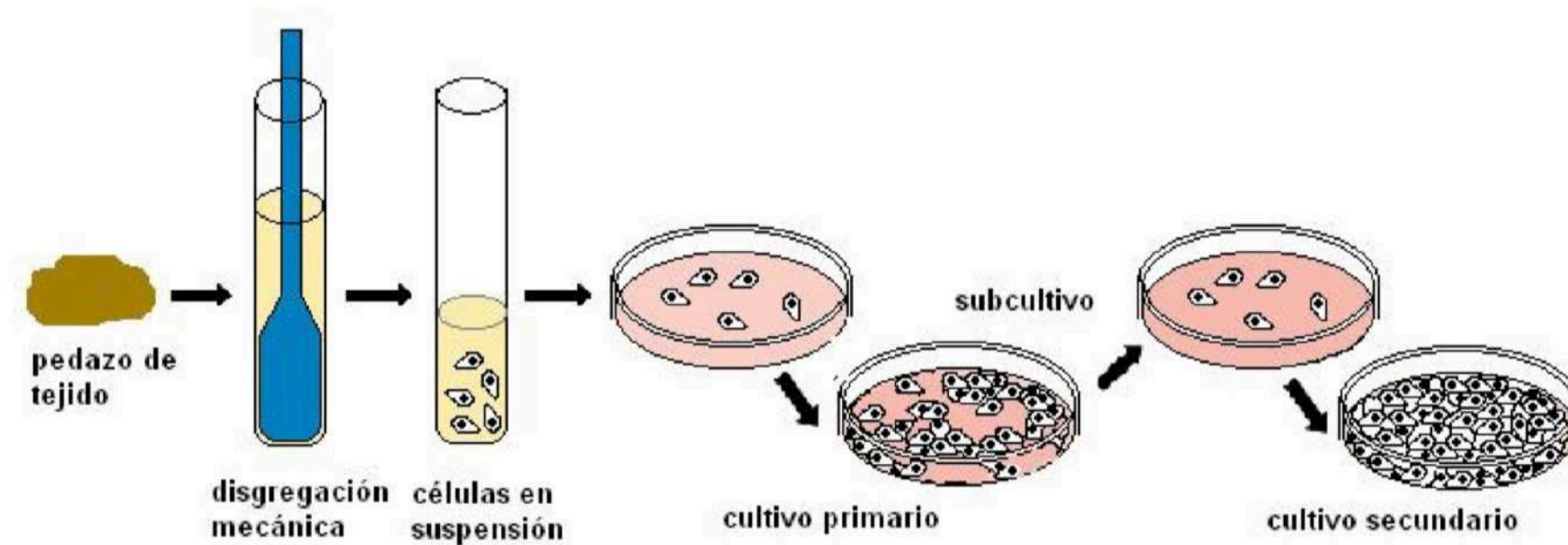
Obtenido de: explantes de órganos o de embriones de animales.

Objetivo: propagación de los virus



Cultivos celulares se dividen en:

Cultivos primarios: preparados directamente a partir de un tejido u órgano. Pueden subcultivarse (pase a un medio fresco) para su mantenimiento (cultivos secundarios). Conservan sus características originales.



Líneas celulares: provienen de un cultivo primario al que se conferirá capacidad ilimitada de multiplicación.

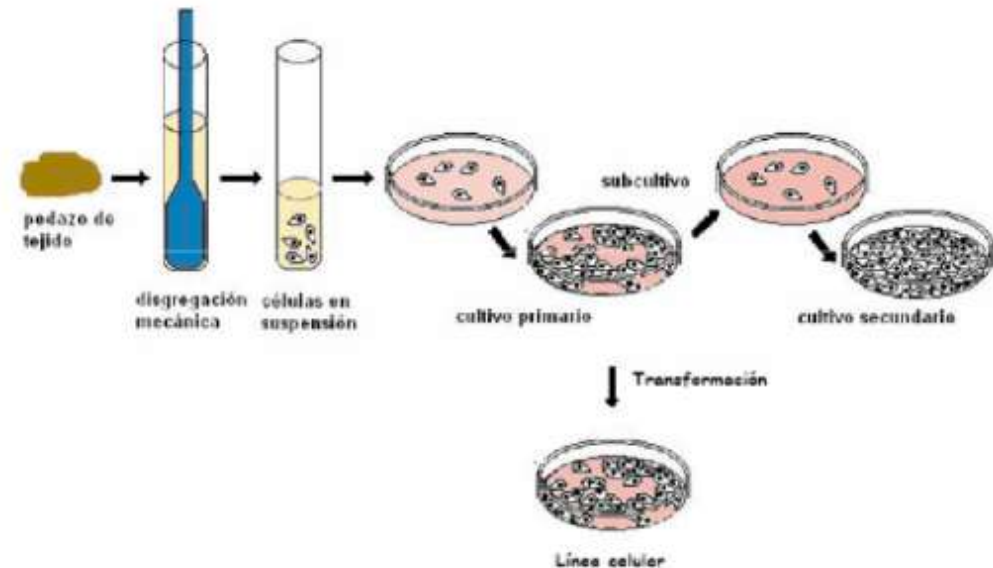
Mediante **proceso de transformación** (hormonas, oncogenes)
Células con gran similitud que las **células pero no son idénticas.**

Objetivo: Mantener un masa viable de células a largo plazo

Pueden ser:

- **Diploides o LC finita:** pases de hasta aprox. 50 subcultivos y que conservan al menos 75% el cariotipo.

- **Heteroploides o LC continuas:** Cultivos donde se debió subcultivar por lo menos 70 veces.



Líneas celulares en virología

LINEA CELULARES	TEJIDO DE ORIGEN	VIRUS QUE PUEDEN SER AISLADOS EN CADA TIPO CELULAR
HEp-2	Carcinoma epidermoide de laringe humana	Herpes simplex, Enterovirus, Poliovirus, Adenovirus.
MDBK	Riñón bovino	Herpes y Adenovirus bovino, estomatitis vesicular.
MDCK	Riñón canino	Influenza, Adenovirus
MRC-5	Pulmón embrionario humano	Citomegalovirus
Vero	Riñón de mono	Herpes y Poliovirus
BHK-21	Riñón de hamster	Estomatitis vesicular y feibre aftosa
HeLa	Carcinoma de cervix humano	Poliovis, Adenovurus
RD	Rhabdomiosarcoma humano	Poliovirus, Herpes simplex
PK 15	riñón porcino	Estomatitis vesicular, Parvovirus porcino.
A. albopictus	Larva de Aedes albopictus	Arbovirus.

Cultivo celular

Incubación: 35-37°C por un período de hasta 14 días

Observar el cultivo al microscopio a las 24, 48, 72hs y luego 2 veces por semana

Interpretación:

-Efecto citopático: cambios morfológicos en las células inoculadas producidas por el virus (toxicidad).

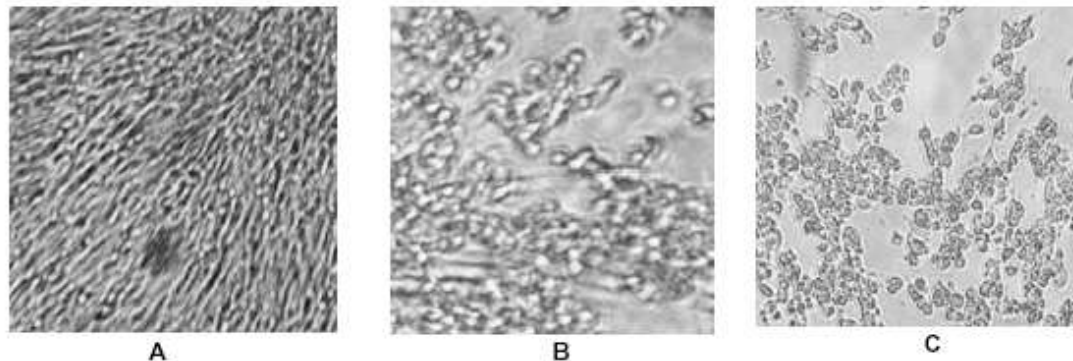


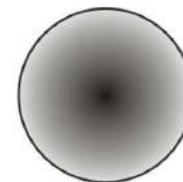
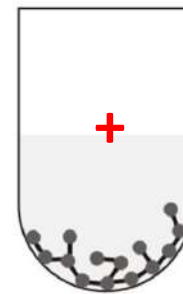
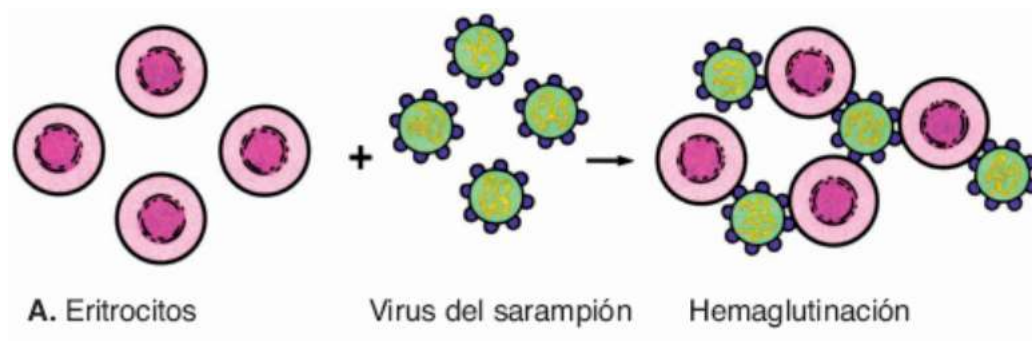
FIGURA 1. Efecto citopático en cultivo primario de riñón de cerdo (RCe) del aislado VB266/03 obtenido de heces fecales 24 horas pi de una cría enferma. A: control de células sin inocular, B: efecto citopático 15 horas pi, C: efecto citopático 24 horas pi. / *Cytopatic effect on pig kidney primary culture by the VB 266/03 isolate from faecal samples at 24 hours post-infection of a sick newborn piglet.*

Cultivo celular

Cuando los virus no producen efecto citopático, se puede recurrir a **técnicas** que ponen en evidencia la presencia de aquel virus en el cultivo:

-Hemadsorción/hemaglutinación: si se agrega glóbulos rojos a un cultivo inoculado, se puede poner en evidencia la infección de esas células a través de la unión de los glóbulos rojos a la superficie celular (evidencia de hemaglutininas)

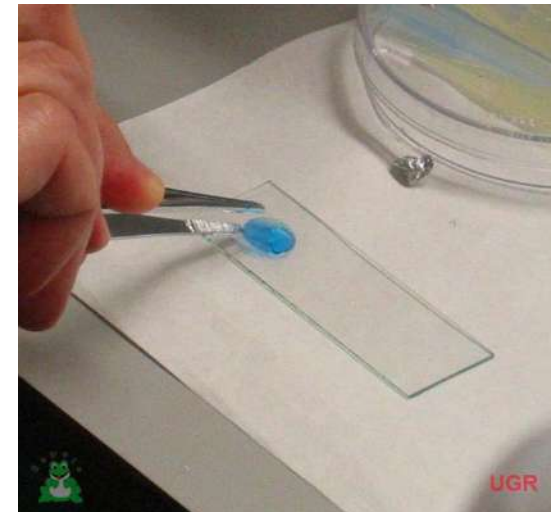
-Tinciones con Ac monoclonales



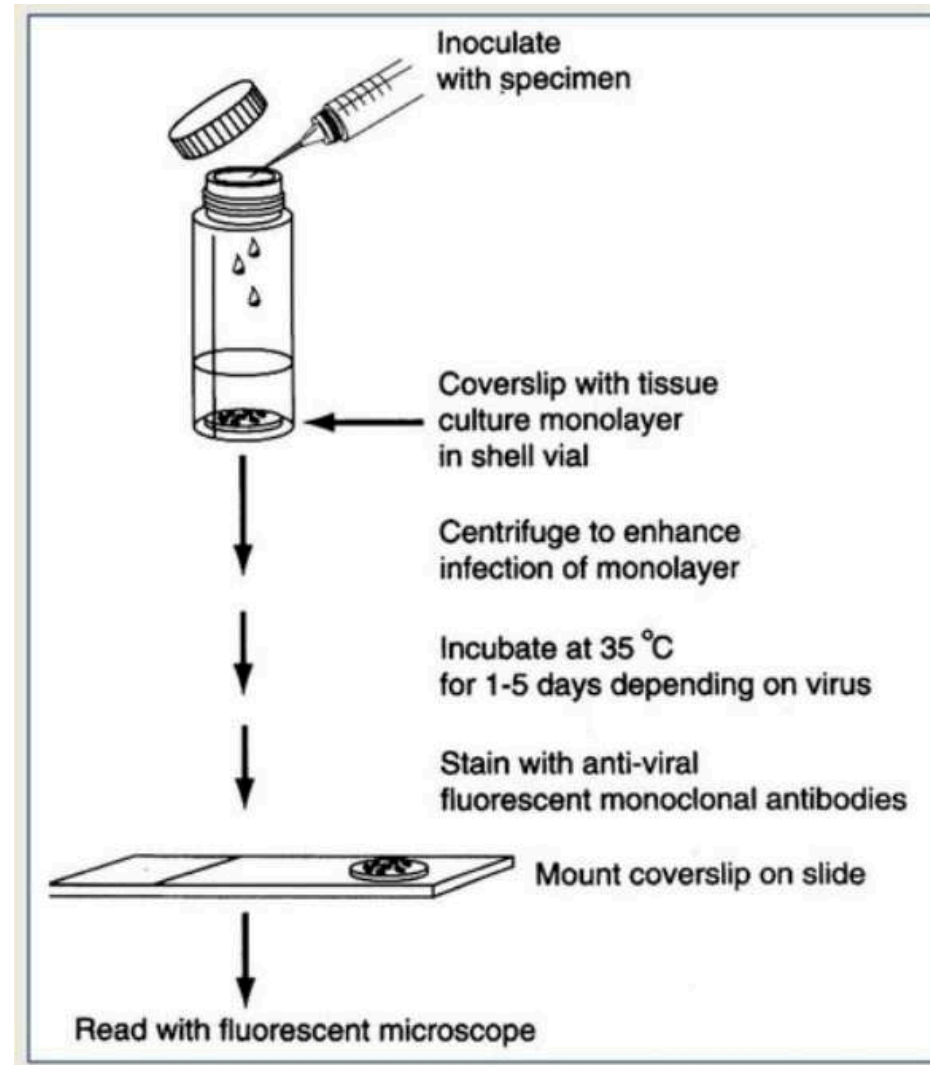
Cultivo en *shell vial*

Se **inocula la muestra sobre** una **monocapa de células en un tubo especial** (sv), seguida de una centrifugación

Tras 24-48 hrs de incubación, se detecta virus mediante tinción con un Ac específico.



Cultivo en *shell vial*



Métodos directos

Detección de Ag:

Se utiliza un Ac específico antiviral (por lo general IgG) que además a sido marcada con una molécula (IF, RIA, EIA) para poder objetivar dicha reacción (Ag-Ac).

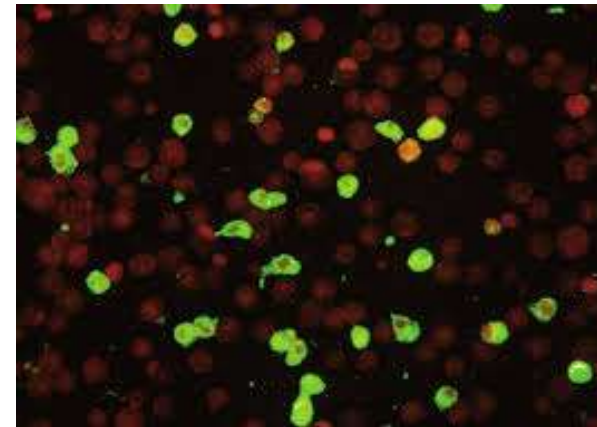
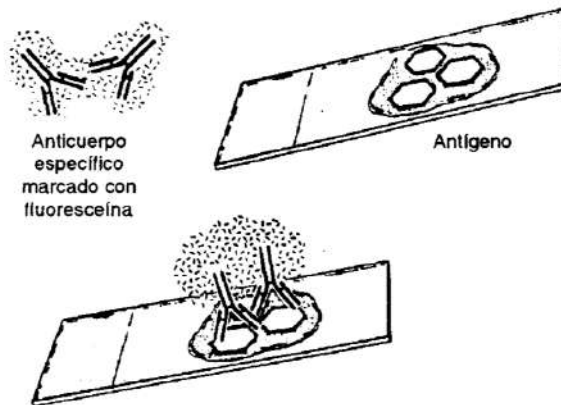


Técnicas inmunológicas

Inmunofluorescencia directa (ID):

Muestras clínicas son colocadas sobre portaobjetos donde se dejan secar y fijar. Luego se agregan Ac específicos marcados con isotiocianato de fluoresceína y se combinan con los Ag víricos en el interior de las células.

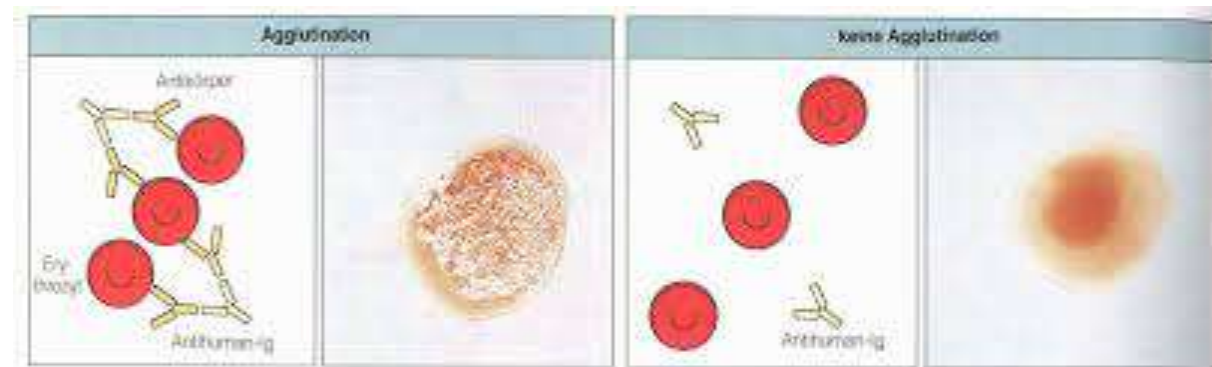
La **reacción Ag-Ac** se visualiza con el **microscopio de fluorescencia**: fluorescencia de **color verde manzana**



Técnicas inmunológicas

Test de aglutinación:

Necesita previa fijación inicial de **anticuerpos antivirales** específicos con **eritrocitos o partículas de látex**.

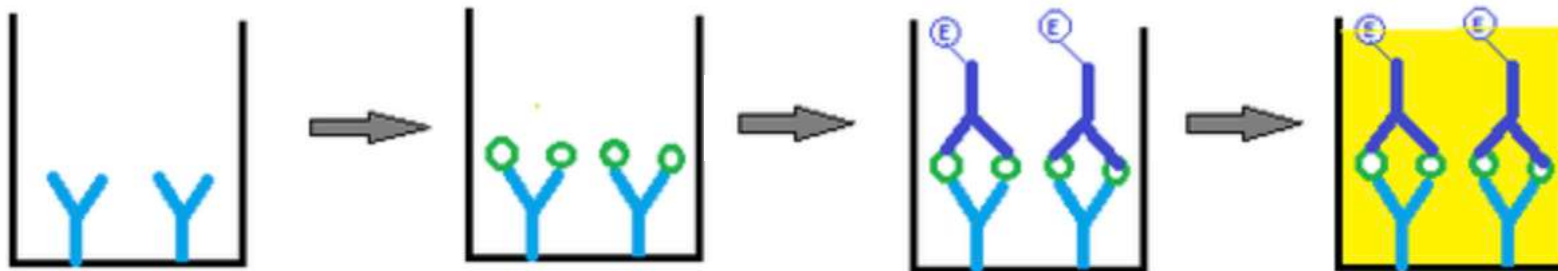


Técnicas inmunológicas

Enzimoimmunoanálisis (EIA):

Captura del antígeno por **Ac específicos unidos a una fase sólida** (pocillo de una microplaca o una pequeña esfera de plástico)

Ag viral presente en la muestra clínica se combina con el Ac fijado a la fase sólida y el Ag viral se detecta mediante la adición de **otro Ac específico conjugado a una enzima: color**



Métodos indirectos

Detección de Ac del huésped (inmunidad):

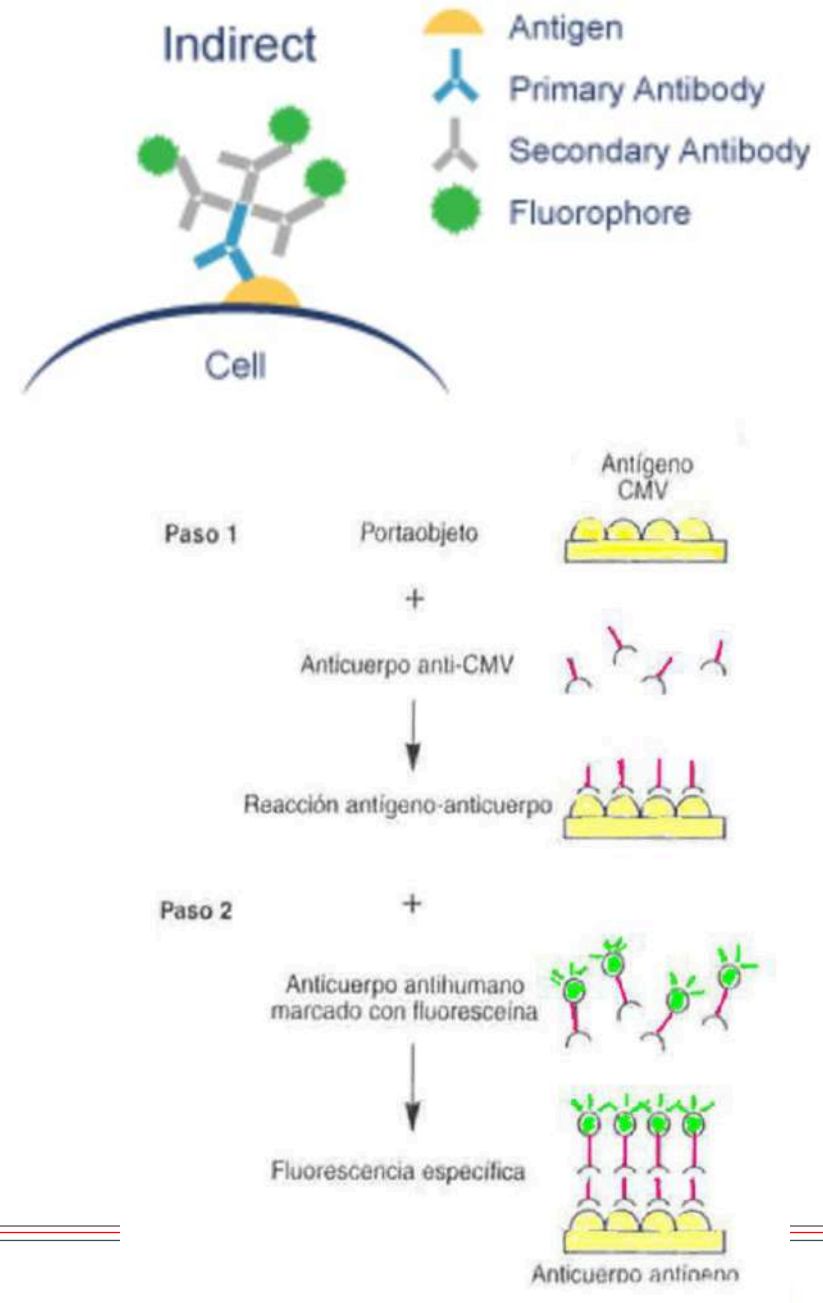
Valorar:

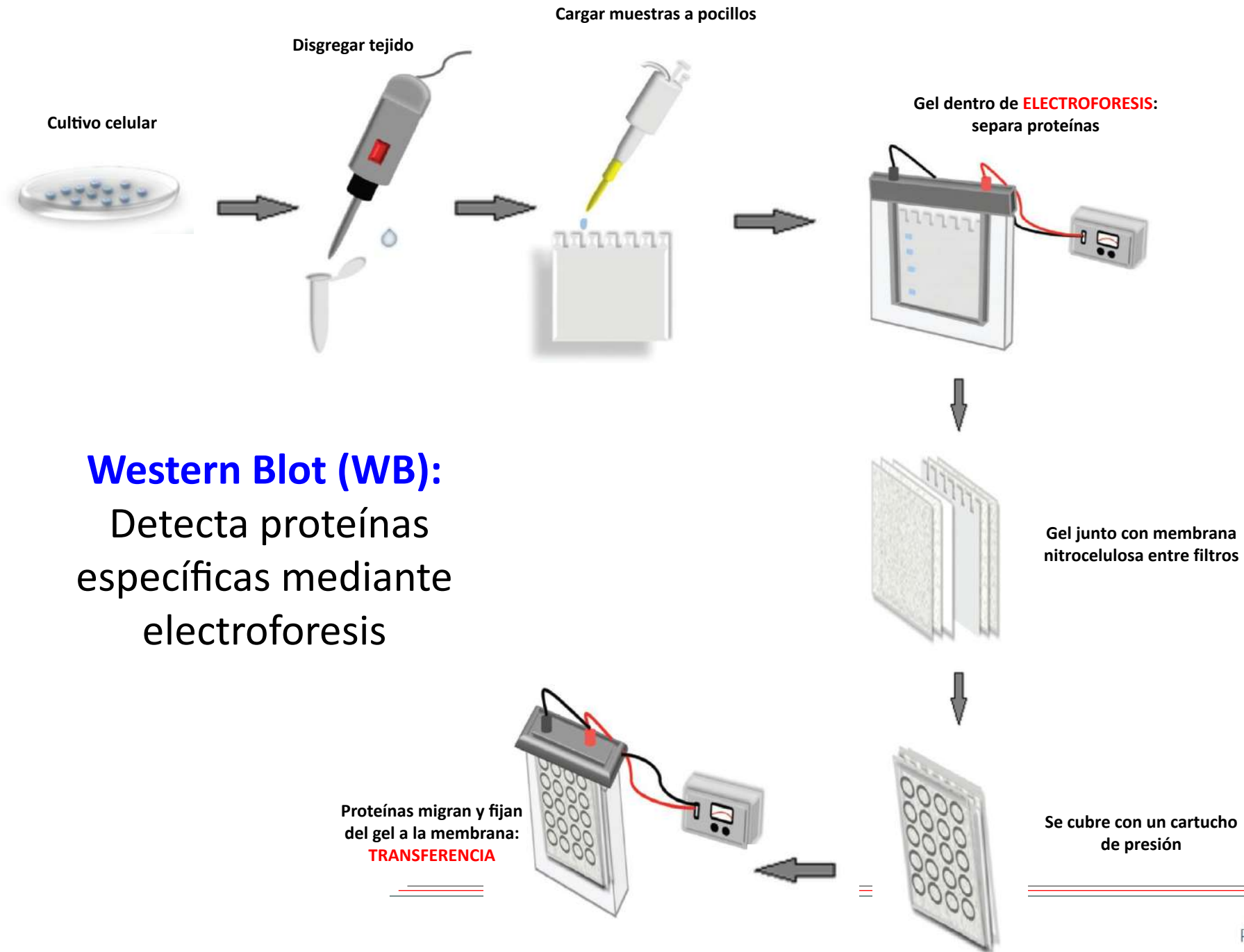
-**Tipo Ac: IgM** (Aguda), **IgG** (pasada/screening)

-**Título de Ac:** Las diferencias de títulos deben ser >4 veces para tener valor estadístico y se debería estudiar ambas muestras simultáneamente. **Seroconversión:** aumento del título de anticuerpos.

Técnicas inmunológicas (indirectos):
Inmunofluorescencia indirecta (IFI):
Unión de Ac antivirales del suero del paciente a los Ag virales en las células infectadas, que han sido fijadas a un portaobjeto de vidrio.

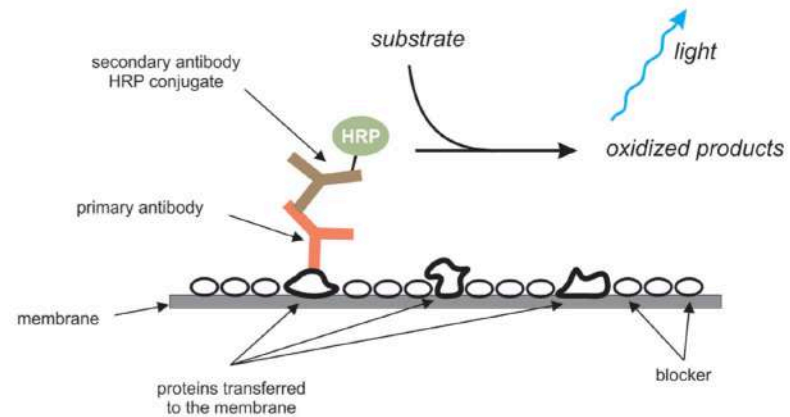
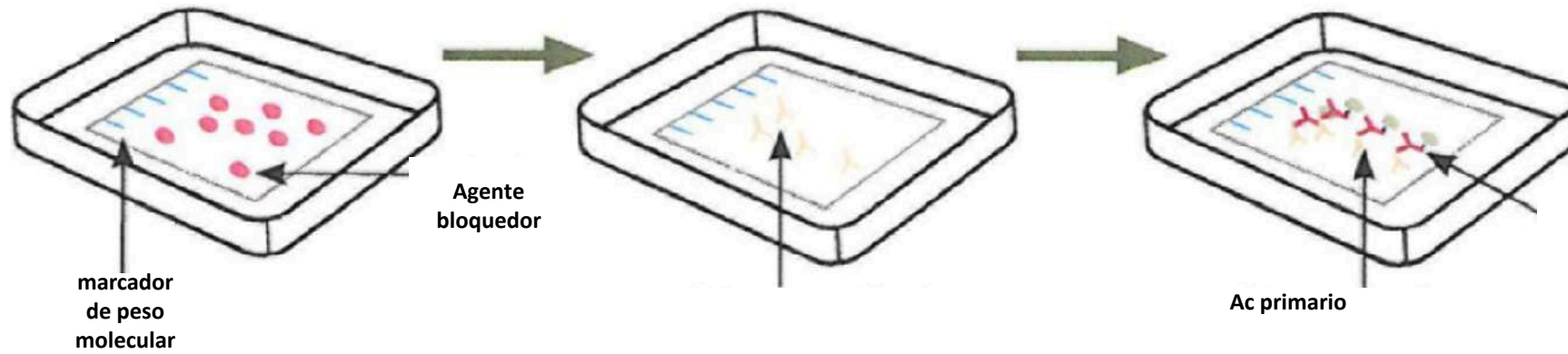
Proceso: Se incuba el suero del paciente con las células infectadas. Luego se agrega Ac anti IgG conjugada con isotiocianato de fluoresceína; que al exponerse a UV emite luz verde.





Western Blot (WB):
Detecta proteínas específicas mediante electroforesis

WB



→ Otras técnicas inmunológicas indirectas:

Métodos ya descritos para el estudio de Ag viral (método directo); PERO: aquí buscamos es detectar anticuerpos antivirales

- EIA:

Los antígenos virales se inmovilizan sobre una fase sólida y se agregan los sueros en estudio. se revela la reacción Ag-Ac por el agregado de una inmunoglobulina antiespecie conjugada

- Test aglutinación:

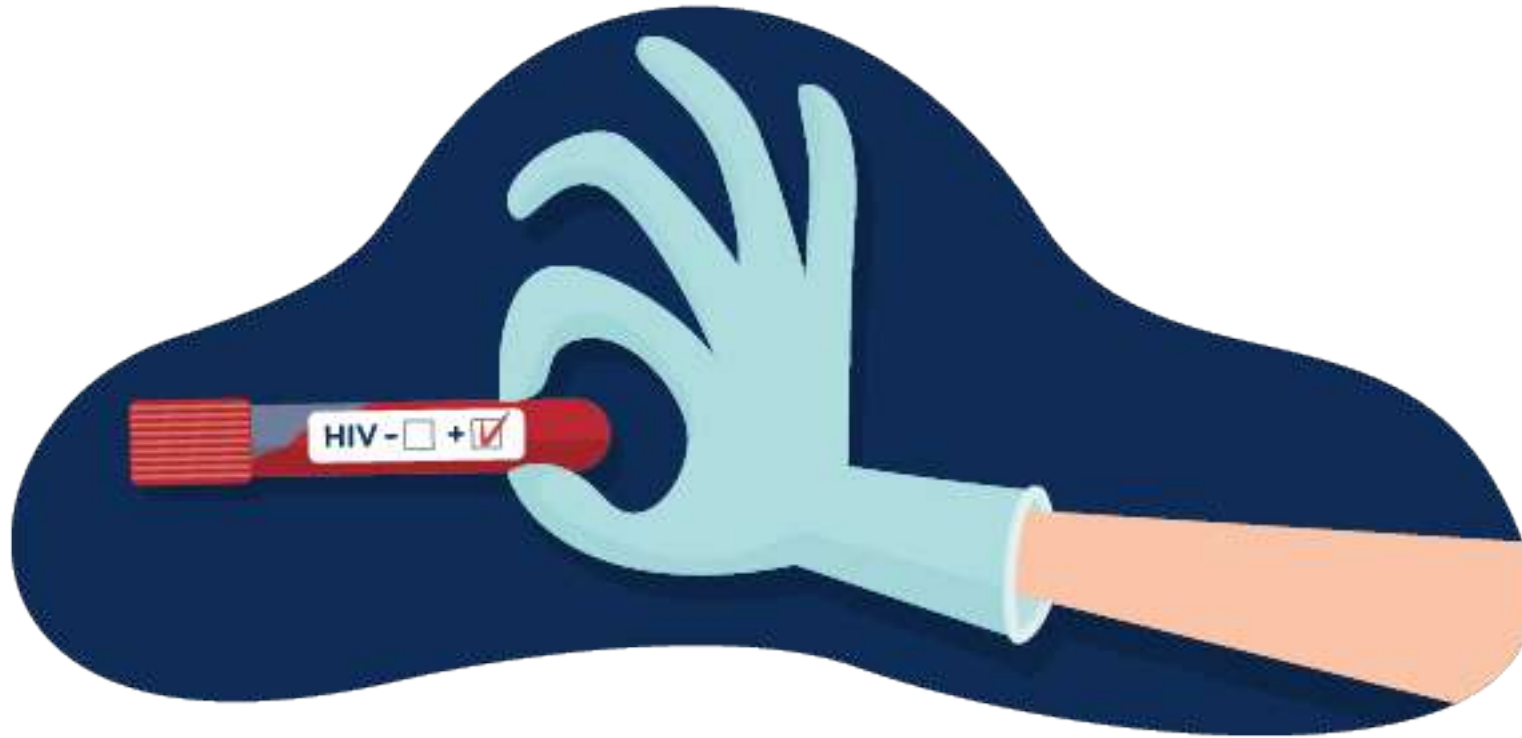
Se usan partículas de látex recubiertas con Ag viral

58. Los métodos serológicos para la detección de virus se basan en:

- a) Detectar el genoma viral mediante sondas genéticas marcadas.
- b) Detectar la presencia de anticuerpos específicos en el suero del paciente.
- c) Utilización de colorantes como la hematoxilina para detección de cuerpos de inclusión.
- d) Inoculación de la muestra en cultivos celulares.

PRUEBAS SELECTIVAS PARA EL ACCESO A LA CONDICIÓN DE PERSONAL ESTATUTARIO FIJO POR RESOLUCIÓN DE LA DIRECCIÓN GENERAL DE RECURSOS HUMANOS DEL SERVICIO MADRILEÑO DE SALUD DE 18 DE MAYO DE 2015 (BOCM nº 123, DE 26 DE MAYO DE 2015).

CATEGORÍA: TÉCNICO SUPERIOR ESPECIALISTA EN LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO



VIH

VIRUS VIH

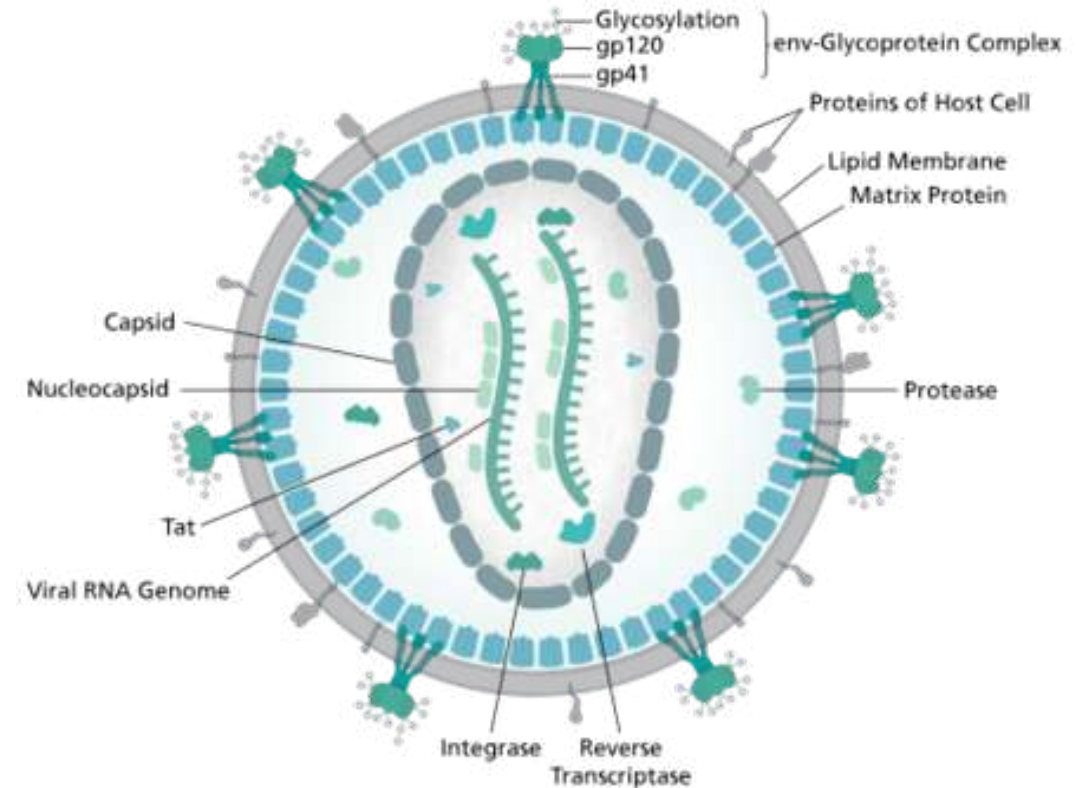
Virus ARN_{mc} (+), **envuelto**

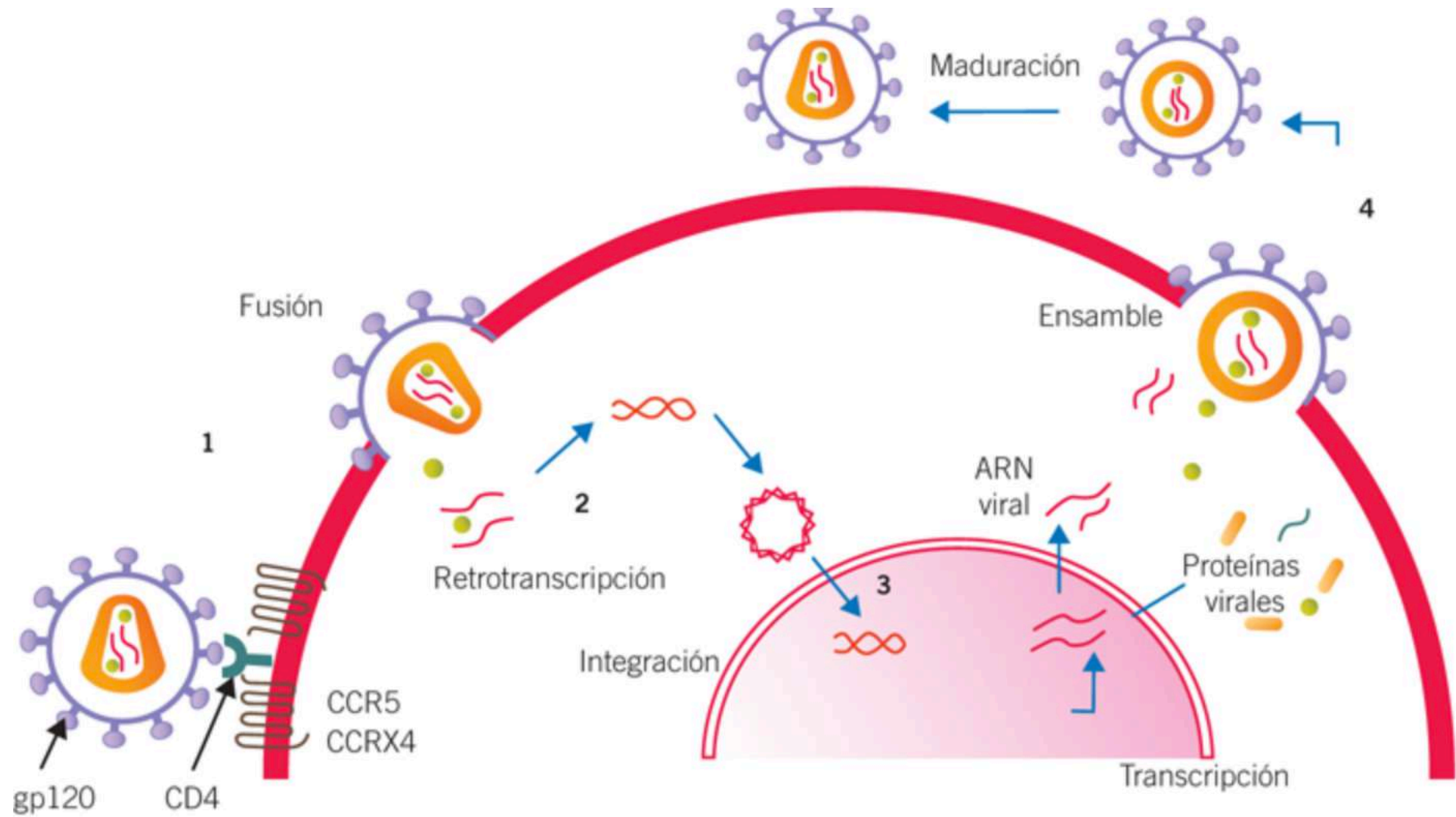
Cápside: **icosaédrica**

2 genotipos: VIH1 y VIH2

Contiene **enzimas**: Transcriptasa inversa, proteasa e Integrasa.

Contiene **proteínas**: gp120 y gp41





57. La simetría estructural de la cápside del virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) es:

- a) Icosaédrica.
- b) Cilíndrica.
- c) Helicoidal.
- d) Esférica.

PRUEBAS SELECTIVAS PARA EL ACCESO A LA CONDICIÓN DE PERSONAL ESTATUTARIO FIJO POR RESOLUCIÓN DE LA DIRECCIÓN GENERAL DE RECURSOS HUMANOS DEL SERVICIO MADRILEÑO DE SALUD DE 18 DE MAYO DE 2015 (BOCM nº 123, DE 26 DE MAYO DE 2015).

CATEGORÍA: TÉCNICO SUPERIOR ESPECIALISTA EN LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Transmisión

Fluidos corporales con alta CV:

→ **Sexual**: contacto secreciones con mucosas (vaginal, anal, oral)

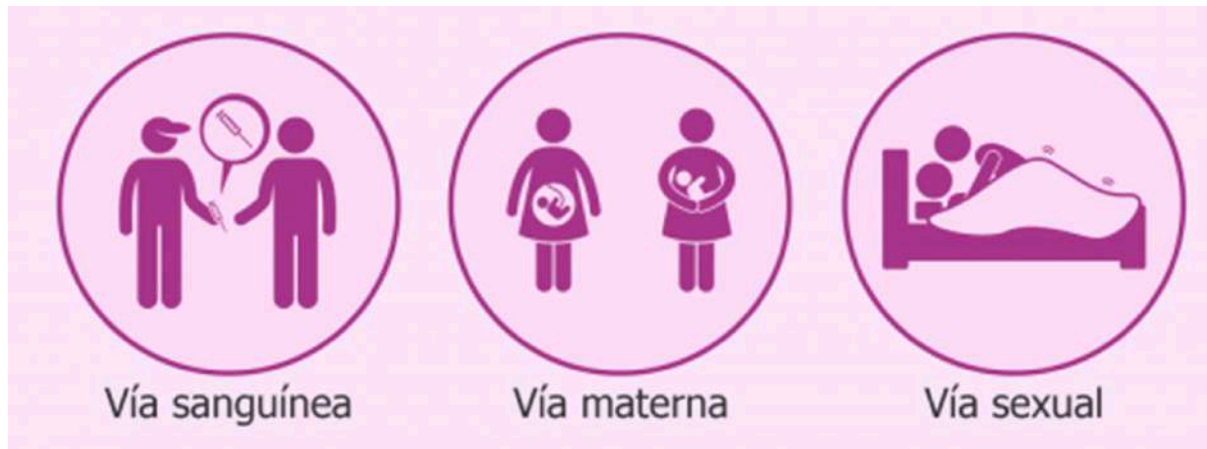
→ **Sangre**/hemoderivados: jeringuillas (UDVP), transfusiones

→ **Vertical** (madre a hijo):

- **Transplacentaria** (en el útero)

- **Trabajo de parto** (canal parto)

- **Leche materna**



Patogenia

Infecta linfocitos T-CD4 (sistema inmunológico)

Fase aguda: Inicia tras el contagio

Sucesos: **VIH infecta** células y **se multiplica** dentro de tejidos

Síntomas: Asintomáticos o cuadro similar a la mononucleosis infecciosa

Duración: días-semanas

Diagnóstico: serología es negativa, pero si CV elevada

NOTA: Cuando hablamos de replicación o multiplicación del virus, en laboratorio hablamos de carga viral elevada

Patogenia

Fase Crónica: Latencia clínica

Suceso: **VIH se multiplica pero es combatido por el sistema inmune**

Clínica: portadores asintomáticos

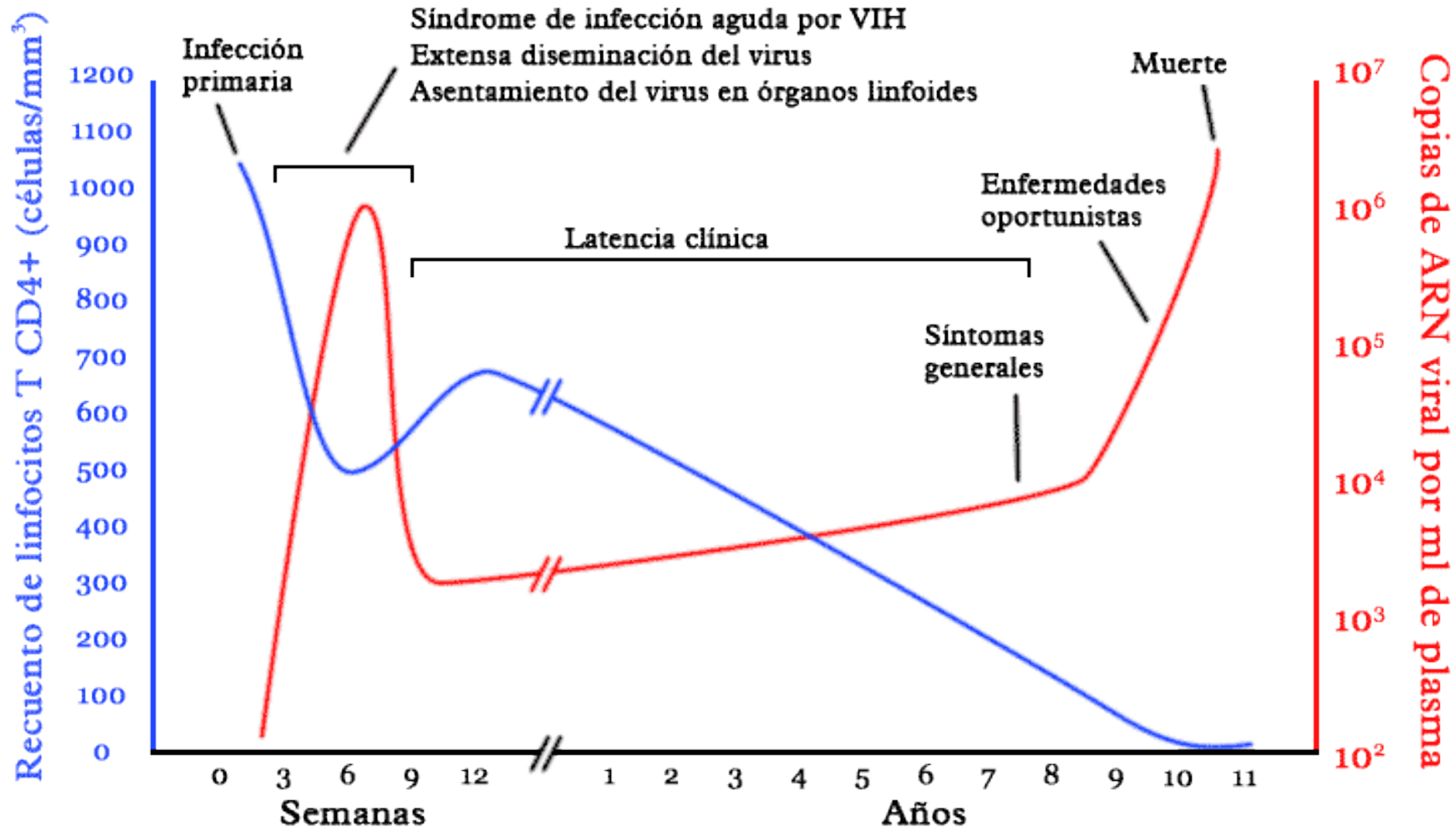
Duración 5-10 años

Fase SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida):

Suceso: VIH termina por desgastar al sistema inmunológico

Clínica: SIDA

NOTA: Cuando hablamos de desgastar el sistema inmune, en laboratorio hablamos disminución de LT CD4



SIDA: Enf. oportunistas

Infecciones fúngicas

<i>Candida</i>	Micosis: muguet, esofágica, pulmonar	Cultivo, calcofluor, gram
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Meningitis	Tinta china, Ag capsular, cultivo
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	Neumonía	Tinción, PCR

Infecciones parasitarias

<i>Toxoplasma gondii</i>	Abscesos cerebrales	Serología, PCR
<i>Cryptosporidium, isospora, cyclospora</i>	Diarrea	Fresco heces, kinyoun
<i>Leishmania</i>	Fiebre prolongada + hepatomegalia	Serología, cultivo, PCR, tinciones

Infecciones bacterianas

<i>Salmonella, shigella, campylobacter</i>	Diarrea	Coprocultivo
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Pulmonar o diseminada	Tinción, cultivo, PCR
<i>Bartonella henselae</i>	Angiomatosis bacilar	cultivo

Infecciones virales

CMV	Retinitis, esofagitis, colitis, mningoencefalitis	PCR, serología
VHS y VVZ	Herpes, meningitis	Serología, IFI, PCR
VEB	Linfoma, neumonía	PCR
VHH8	Sarcoma de Kaposi	Serología, PCR
Virus JC	Leucoencefalopatía multifocal progresiva	PCR
VHC	Hepatitis Crónica	Serología, PCR

Diagnóstico

Cultivo viral: altas medidas de seguridad: inviable en rutina

Detección Ag p24: proteína de cápside viral que coincide con aumento del ARN viral (positivo al 5to-7to día)

Serología: Detección de Ac anti-VIH en el suero del paciente

-ELISA: cribado/screening: porque es muy “S” y poco “E”

-Un ELISA (+) debe ser confirmado por un 2do ELISA

-Dos ELISA consecutivas positivas debe ser confirmado por WB

-Western-Blot: confirmatorio: porque detecta 3 proteínas (Ac) específicas del VIH (gp42, gp120 y gp24)

- Para ser el WB (+) debe detectar al menos 2 de esas bandas

Test rápido

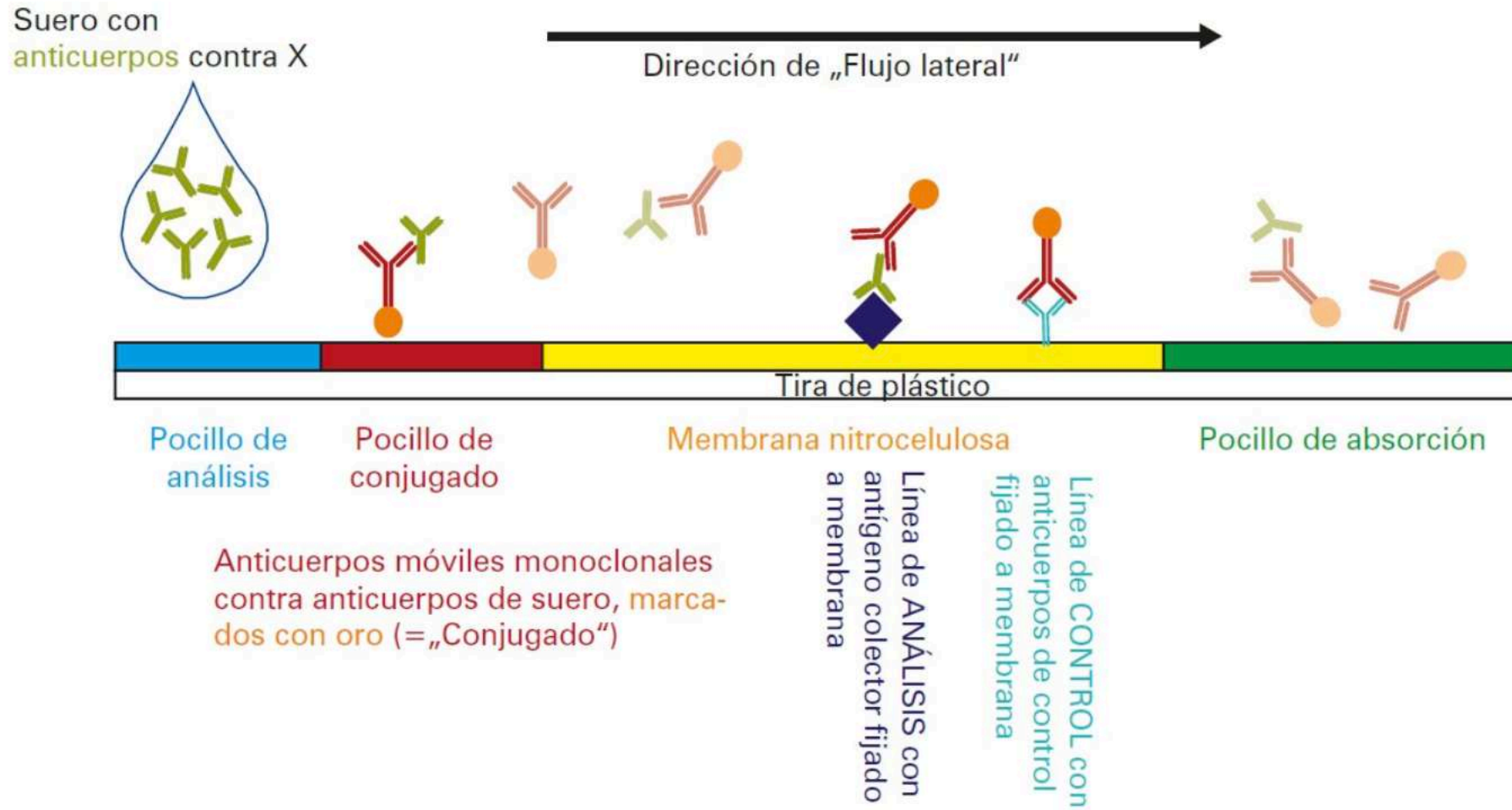
Inmunocromatografía

Los Ac VIH se detectan por un método inmunoenzimático.

Ag está fijado a tiras

Tienen lectura visual





Limitaciones de la serología



Cuando un individuo se primoinfecta (fase aguda) tarda 4-8 semanas en producir Ac frente VIH “**periodo ventana**”, periodo durante el cual las técnicas serológicas no son del todo rentables

Diagnóstico de **infección en el recién nacido**: porque la detección de IgG materna pasa la barrera placentaria: podría tratarse de un falso positivo

Diagnóstico molecular VIH

Reacción de amplificación genómica por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Útil:

-Periodo ventana

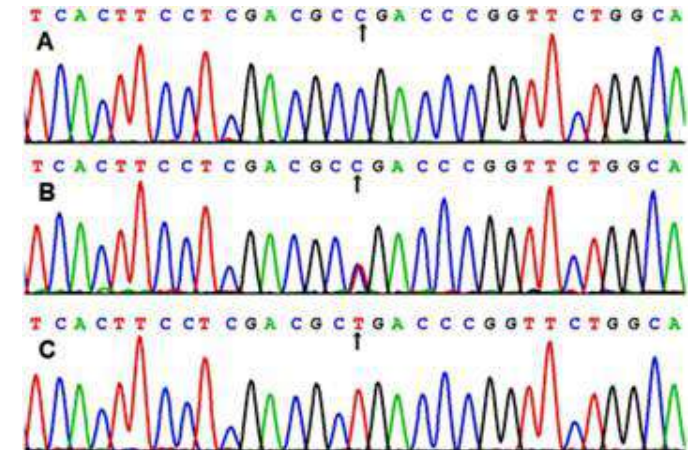
-Recién nacido de madres infectadas

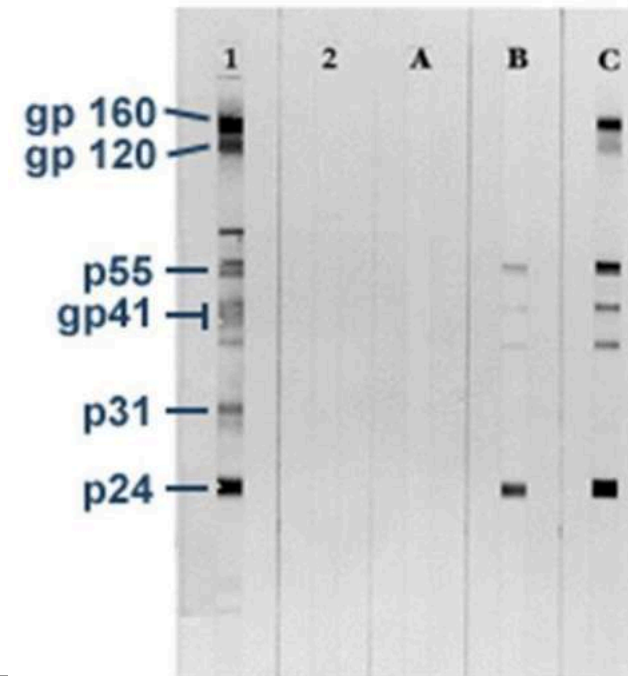
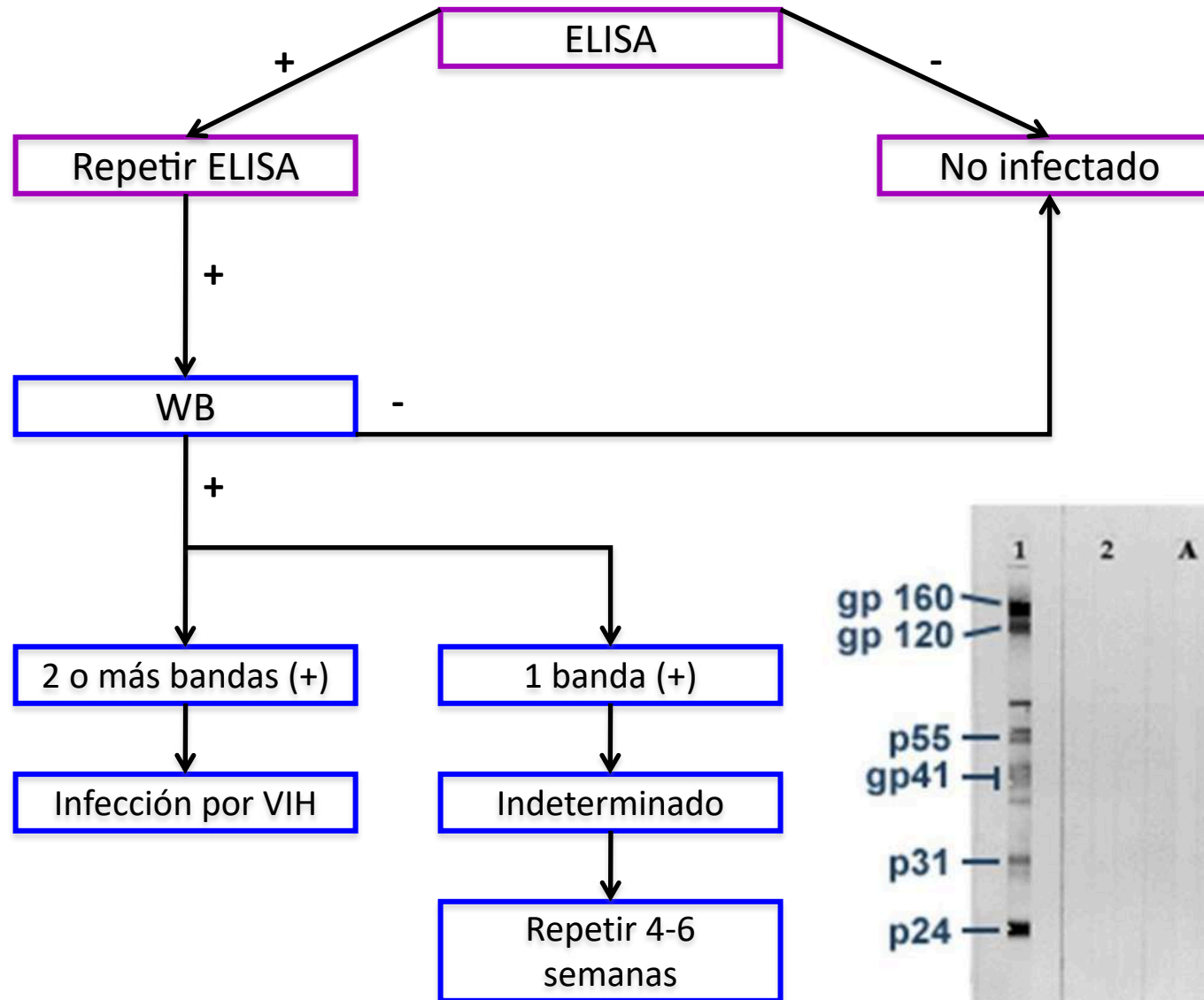
-Serología no concluyente

-Determinar CV

-Infecciones dobles por VIH-1 y VIH-2

-Detección de mutaciones específicas asociada a resistencia a los antivíricos.





Cuál de las técnicas nombradas se emplea como técnica de cribado en el diagnóstico del sida?

- a) Inmunoelectrotransferencia
- b) Inmunofluorescencia indirecta
- c) Radioinmunoprecipitación

d) Elisa

Cuando son positivos los marcadores HBsAg, HBc-Ac IgM, HBeAg, probablemente nos encontremos frente a:

- a) Hepatitis B crónica
- b) Infección por virus Delta
- c) Periodo de ventana de la hepatitis B

d) Infección aguda por hepatitis B

PRUEBAS SELECTIVAS PARA EL ACCESO A LA CONDICIÓN DE PERSONAL ESTATUTARIO FIJO POR RESOLUCIÓN DE LA DIRECCIÓN GENERAL DE RECURSOS HUMANOS DEL SERVICIO MADRILEÑO DE SALUD DE 18 DE MAYO DE 2015 (BOCM nº 123, DE 26 DE MAYO DE 2015).

CATEGORÍA: TÉCNICO SUPERIOR ESPECIALISTA EN LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO

FORMACION TSS

SETSS
SOCIEDAD ESPAÑOLA de
TÉCNICOS SUPERIORES SANITARIOS