

# DIAGNOSTICO VIRAL

## MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

### DIRECTOS

Estudian el agente viral

Aislamiento viral en células, ratones, mosquitos

Detección de genoma: RT-PCR convencional, RT-PCR en tiempo real

Detección de antígeno. Inmunohistoquímica.

### INDIRECTOS

Estudian la respuesta inmune (anticuerpos) del paciente

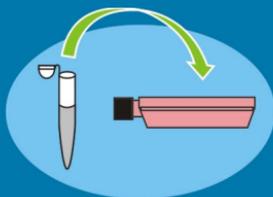
Elisa IgM  
Elisa IgG

IFI (Inmunofluorescencia indirecta)

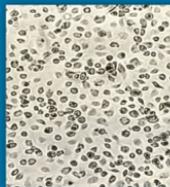
Neutralización en cultivos celulares

## MÉTODOS DIRECTOS

### AISLAMIENTO VIRAL: 1. CULTIVOS CELULARES



Se inocula una muestra sospechosa en una botella con una monocapa de células y se controla todos los días si se observa efecto citopático en las mismas.



Células no infectadas o normales



Células infectadas con virus (efecto citopático)

### 2. EN RATONES

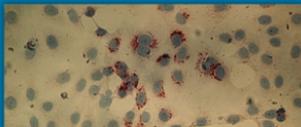


- El ratón lactante se considera huésped universal.
- Inoculación via intracerebral y/o intraperitoneal.
- Se observan si los animales se enferman y se guardan a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

### 3. POR INOCULACIÓN DE MOSQUITOS



## INMUNOHISTOQUÍMICA



- Sobre un corte de tejido fijado en parafina o por congelación.
- Para el diagnóstico de fallecidos.
- Estudios retrospectivos.

## REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA: RT\_PCR

Consiste en amplificar un fragmento del genoma viral:

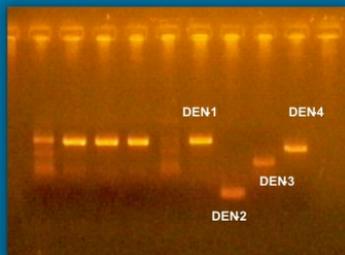
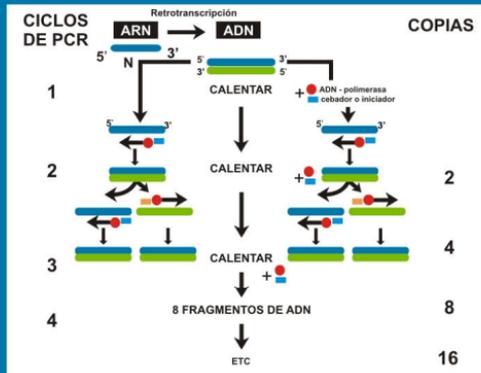
Hay 2 metodologías:

- RT-PCR convencional.
- RT-PCR en tiempo real.

Etapas en común:

- Extracción del RNA viral.
- Síntesis de DNA.
- Amplificación del genoma del virus.

### RT-PCR CONVENCIONAL

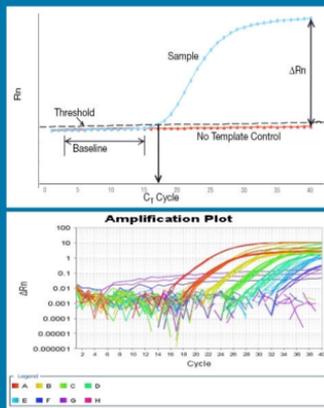


- Se visualiza el ADN amplificado en gel de agarosa (bandas)

### RT-PCR EN TIEMPO REAL

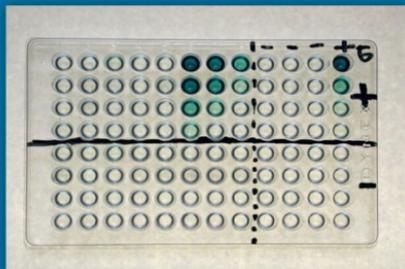
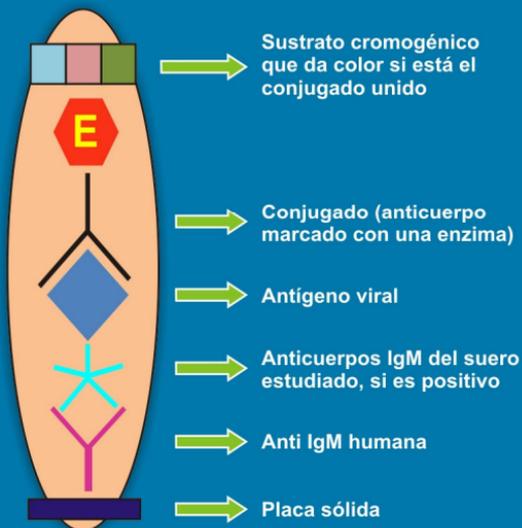
- Permite seguir la reacción en tiempo real.
- Permite el procesamiento de un mayor número de muestras en menor tiempo en comparación a RT-PCR convencional.
- Cuantificación viral.
- Es más rápida y tiene menos probabilidad de contaminación.
- Inconvenientes: costo, equipamiento, no es factible caracterizar genéticamente porque la muestra se agota (no se recupera como en la otra metodología).

## VISUALIZACIÓN DE RESULTADOS

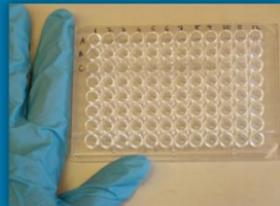
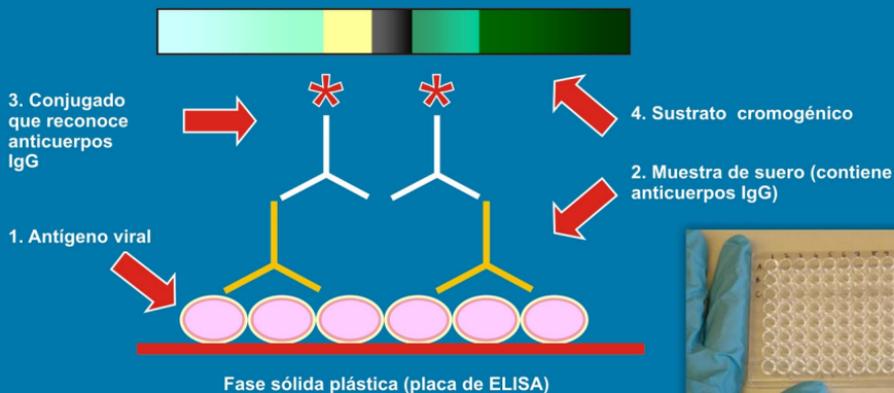


# MÉTODOS INDIRECTOS

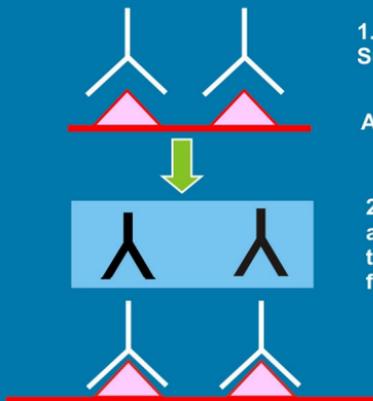
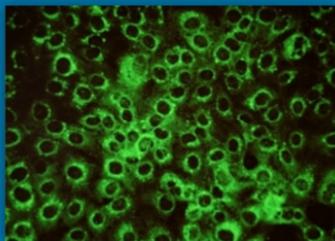
## 1. ESQUEMA DE ELISA IgM



## 2. ESQUEMA DE ELISA IgG



### 3. INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA (IFI)



1. Anticuerpos  
Suero Específicos

Antígeno viral

2. Anticuerpo  
anti-especie (anti Ig  
totales) conjugado con  
fluoresceína

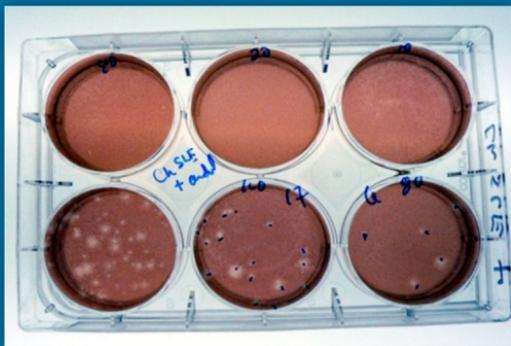
### 4. NEUTRALIZACIÓN

Es la técnica serológica de confirmación.

- Se incuba el suero del paciente en estudio con el virus. Si tiene anticuerpos, éstos neutralizarán el virus y se formaran pocas o ninguna placa de lisis. Si no hay anticuerpos en la muestra, se verán muchas placas de lisis.

- Suero positivo: los anticuerpos impiden formar placas de lisis.

- Suero negativo: no hay anticuerpos por lo tanto el virus formó placa de lisis en la monocapa celular



Instituto Nacional de  
Enfermedades Virales Humanas  
"Dr. Julio I. Maiztegui"



Administración Nacional de  
Laboratorios y Control de Salud



Ministerio de  
Salud  
Presidencia de la Nación

Instituto Nacional de Enfermedades Virales Humanas "Dr. Julio I. Maiztegui"  
Monteagudo 2510 - Pergamino (Bs. As.) - TE: (02477) 429712/14, 433044 / FAX: (02477) 433045  
inevhmaiztegui@anlis.gov.ar / www.anlis.gov.ar/inevh