

VIROLOGÍA

Guía de Laboratorio

VISIÓN

Ser la mejor organización de educación superior posible para unir personas e ideas que buscan hacer realidad sueños y aspiraciones de prosperidad en un entorno incierto

MISIÓN

Somos una organización de educación superior que conecta personas e ideas para impulsar la innovación y el bienestar integral a través de una cultura de pensamiento y acción emprendedora.



Presentación

Es importante porque tiene la misión de dirigir y orientar al estudiante durante el desarrollo de la asignatura, las guías ayudan a los estudiantes a solucionar sus problemas que puedan presentarse durante el avance, ella nos señala cada paso que desarrollemos durante el presente semestre académico.

La Guía de Virología es un instrumento de apoyo, para poder desarrollar las practicas guiadas de los estudiantes, el cual nos proporciona los pasos que desarrollaremos en cada procedimiento, esta puede tener vacíos, los cuales se resolverán en el transcurso de las sesiones, es en tanto un instrumento de importancia para nuestros estudiantes.

El estudiante será capaz de procesar e interpretar los resultados microbiológicos de virus patógenos que causan enfermedades en el ser humano; así como de realizar la programación y el mantenimiento de los equipos correspondientes en un laboratorio clínico. Describiendo, infiriendo la estructura y característica de cada uno de ellos, siguiendo pasos a paso en cada sesión y unidad con sus respectivos procedimientos de aislamiento e identificación de cada uno de ellos para poder llegar a un diagnostico adecuado y poderle brindar al clínico los resultados más propicios colaborando con el bienestar de los pacientes.

Durante el desarrollo de las siguientes prácticas, el estudiante deberá llevar consigo siempre la guía, para poder seguir secuencialmente cada uno de los pasos, de esta manera será un soporte durante el desarrollo de su aprendizaje constante y alcanzar el propósito asignado al culminar el ciclo.

El autor



Índice

VISIÓN	2
MISIÓN	2
PRESENTACIÓN	3
ÍNDICE	4
PRIMERA UNIDAD	
Semana 1 – Sesión 2	6
La bioseguridad y el manejo de unidades de concentración en el laboratorio de virología	6
Semana 2 – Sesión 4	1
Obtención, conservación y envío de muestras para análisis virológicos	12
Semana 3 – Sesión 6	19
Medio primario con células embrionarias para aislamiento viral	19
Semana 4 – Sesión 8	25
Anticuerpos neutralizantes antivíricos	25
SEGUNDA UNIDAD	
Semana 5 – Sesión 10	29
Inoculación en huevos embrionados	29
Semana 6 – Sesión 12	30
Hemaglutinación viral	30
Semana 7 – Sesión 14	35
Inhibición de la hemaglutinación viral	35
TERCERA UNIDAD	
Semana 9 – Sesión 18	38
Determinación de anticuerpos anti Rubeola IgM/IgG metodología ELISA	38
Semana 10 – Sesión 20	40
Determinación de antígeno viral (HBsAg) empleando método ELISA	40
Semana 11 – Sesión 22	42



Determinación de antígenos contra adenovirus y rotavirus por inmunocromatográfica – prueba rápida	42
Semana 12 – Sesión 24	44
Determinación de anticuerpos anti virales (Anti – HBcore IgM - metodología ELISA)	44
CUARTA UNIDAD	
Semana 13 – Sesión 26	46
Toma de muestra y procesamiento de sangre total en papel filtro para detección de anticuerpos totales contra virus dengue	46
Semana 14 – Sesión 28	50
Determinación de anticuerpos anti – HIV 1-2	50
Semana 15 – Sesión 30	52
Determinación de anticuerpos anti - virus herpes simple (VHS) 1 Y 2 por el método de ELISA	52
Referencias consultadas y/o enlaces recomendados	55



Primera unidad

Semana 1 – Sesión 1

LA BIOSEGURIDAD Y EL MANEJO DE UNIDADES DE CONCENTRACIÓN EN EL LABORATORIO DE VIROLOGÍA

Sección :

Docente :

Apellidos :

Nombres :

Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad, léelas e introdúzcalas en su memoria, para poderlas recordar durante la estadía en mencionado ambiente, de esa manera se cuidará y también cuidará a sus seres cercanos

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO

Crear conciencia y promover la formación del personal en seguridad y bioseguridad garantizando así la realización apropiada de las técnicas, el empleo adecuado de los equipos y por lo tanto la optimización de los resultados.

2. CONCEPTOS BÁSICOS

En el laboratorio de virología se realizan procedimientos que requieren un especial y cuidadoso manejo ya que hay riesgos de contaminación para el personal que los efectúa y para cultivos estériles y otros medios de cultivo. La seguridad en el desarrollo de estas actividades, por lo tanto, juega un papel primordial para evitar la infección del personal y proteger el material de posibles contaminaciones que pueden invalidar el trabajo.

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.



3. **EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.**

- Guantes de látex
- Guardapolvo o Mandilones
- Mascarilla
- Lentes Protectores
- Jabón Líquido
- Papel toalla

4. **NOTAS DE SEGURIDAD.**

En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambiente prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. **PROCEDIMIENTOS**

CONDICIONES AMBIENTALES: estos no deben influir en resultados del ensayo

1. Entorno adecuado
2. Toma de muestras (discapacidades, privacidad)
3. Equipos laboratorio/otros (fuentes de energía, ventilación, agua, desecho de residuos)
4. Comodidad y seguridad, Seguimiento, control y registro.
5. Separación zonas con actividades incompatibles. Control acceso
6. Sistemas comunicación en laboratorio adecuados. Condiciones almacén correctas (integridad)
7. Orden, mantenimiento y limpieza (procedimientos)
8. Eliminación regulada de sustancias

GARANTIZAR CORRECTO FUNCIONAMIENTO EQUIPOS Y TRAZABILIDAD MEDIDAS REALIZADAS AL "EQUIPO"

1. Instrumentos



2. Materiales de referencia
3. Reactivos
4. Materiales fungibles
5. Sistemas analíticos

ADECUADOS PARA PROVEER SUS SERVICIOS

1. Equipos externos, garantizar requisitos, normatividad.
2. DEMOSTRACIÓN
3. Prestaciones y especificaciones de análisis
4. Planificación seguimiento, calibración regular y funcionamiento (instrucciones fabricante mínimo)

6. RESULTADOS O PRODUCTOS

- El estudiante reconocerá criterios de bioseguridad en el laboratorio de virología.
- Será capaz de identificar un laboratorio de Virología de Nivel 2,3 y4 (BLS -2,, BLS -3, BLS -4,)
- El estudiante desarrolla destrezas cognoscitivas y aplicativas el empleo adecuado de las soluciones desinfectantes en el laboratorio de virología.

7. CONCLUSIONES

-
-
-

8. CUESTIONARIO

1. ¿Cuál es la importancia de aplicar la bioseguridad personal al encontrarse en el laboratorio?
2. ¿Cuál es el mecanismo de acción de las radiaciones electromagnéticas sobre los microorganismos?



3. ¿Por qué la esterilización con radiación ultravioleta no es tan eficaz?
4. ¿Qué ventajas ofrece la campana de flujo laminar al trabajar con microorganismos?



Primera Unidad

Semana 2 – Sesión 1

OBTENCIÓN, CONSERVACIÓN Y ENVÍO DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS VIROLÓGICOS

Sección :

Docente :

Apellidos :

Nombres :

Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Observar las normas de bioseguridad, referente al modo de traslado de muestras. De esta manera se tendrá que cumplir los criterios para garantizar la salud del transportante y la seguridad de la muestra.

1. **PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.**

Brindar conocimientos pertinentes al estudiante sobre la toma, manejo y transporte de muestras o especímenes infecciosos para diagnóstico viral, en las condiciones adecuadas que permitan un resultado de calidad.

2. **CONCEPTOS BÁSICOS**

El diagnóstico virológico puede realizarse por detección e identificación directa del agente o por la detección de la respuesta específica del huésped a la invasión viral. La recolección de las muestras debe garantizar ser representativas del proceso patológico.

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.

3. **EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.**

1. Caja pequeña de Tecnopor o de cartón
2. Gradillas para tubos
3. Gasa 10x10 cm



4. Cinta adhesiva
5. Sobre manila tamaño carta o A4
6. Bolsa plástica de 1 o 2 kilos
7. Plumón indeleble
8. Hielo gel
9. Porta laminas
10. Hojas bond
11. Etiquetas para rotulo
12. Papel craft
13. Couler
14. Tijeras

OBSERVACION:

Cada estudiante debe estar con su Equipo de protección Personal (EPPs) y contar con los materiales para el desarrollo de la práctica.

4. **NOTAS DE SEGURIDAD.**

En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambientes prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. **PROCEDIMIENTOS**

OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

*** FASES PARA EL ENVÍO DE MUESTRAS**

1. Identificación
2. Embalaje
3. Etiquetado
4. Documentos para envío de muestras

Descripción de las fases



1. IDENTIFICACIÓN: La identificación de la muestra se realiza por medio de una etiqueta que debe adherirse al recipiente primario en la que se anota en forma clara y legible, la información básica siguiente:

- Nombre o clave del paciente.
- Sexo.
- Edad
- Fecha de toma de muestra.

2. EMBALAJE: Las formas y procedimientos de embalaje que se describen, se elaboraron tomando como referencia los siguientes documentos y normas:

- Organización Mundial de la Salud. Guía para el transporte seguro de sustancias infecciosas y especímenes diagnósticos. OMS - División para la Vigilancia y el Control de Enfermedades Emergentes y otras Enfermedades Transmisibles, Ginebra, 1997.
- Serie de Normas técnicas N° 15 Manual de Procedimientos de laboratorio para la obtención y envío de muestras, Serie de Normas Técnicas Nro. 15. Instituto Nacional de Salud, Perú, 1997.

Para fines de los servicios que ofrecen el Instituto Nacional de salud (INS) y, con el propósito de tener una referencia de fácil reconocimiento entre el personal Tecnólogo y administrativo al procedimiento que a continuación se detallará se le llamará Sistema Triple Básico de Embalaje.

Sistema Triple Básico de Embalaje

Recipiente primario: El espécimen para diagnóstico (material humano o animal que puede ser sangre o sus componentes, excretas, tejidos o fluidos tisulares) debe depositarse en un recipiente hermético: tubo, frasco, u otros con tapa de rosca FIG. 1 a prueba de filtraciones, que se colocarán en gradillas o con separadores que funcionarán como amortiguadores FIG. 2

Recipiente secundario: Los recipientes primarios uno o varios se colocan en un segundo recipiente también hermético, a prueba de filtraciones, con objeto



de proteger el (los) recipiente(s) primario(s).

Si se colocan varios recipientes primarios se debe usar suficiente material amortiguador y absorbente para proteger a todos los recipientes primarios y evitar que choquen entre ellos.

No olvidar que dentro de estos recipientes se colocarán refrigerantes para mantener las muestras entre (4 – 8 °C) cuando así se requiere. FIG. 3 y FIG. 4

Los recipientes secundarios deben llevar las etiquetas de:

- * Riesgo biológico,
- * Riesgo secundario (según caso),
- * Datos del laboratorio que van referidos
- * Datos de orientación
- * Señal de peligro

Paquete externo de envío: Los recipientes(s) secundario(s) se coloca(n) en un Paquete externo de envío que protege su contenido de los elementos externos del ambiente, a fin de evitar posibles daños físicos y filtración de agua, mientras se encuentra en tránsito.

NOTA: El establecimiento de salud sea de menor o mayor complejidad deberán enviar al INS los siguientes documentos que identifican y describen las muestras:

- a) Oficio de solicitud de diagnóstico
- b) Formato Único de Envío de Muestra Biológica,
- c) Resumen de Historia Clínica
- d) Otros a considerar.

Estos documentos deberán adherirse a la parte interior del Paquete externo de envío. Es importante que los documentos primero se introduzcan en un



sobre de plástico para protegerlos.

El Paquete externo de envío debe llevar las siguientes etiquetas:

1. Riesgo biológico
2. Riesgo secundario (según caso)
3. Datos del remitente
4. Datos del destinatario o receptor
5. Señal de orientación

Etiquetado de recipiente secundario

Los recipientes secundarios deben contener muestras para ser procesadas en un solo laboratorio. En estos casos deberán colocarse en la parte externa del recipiente secundario los siguientes tipos de etiquetas:

a. Etiqueta de Riesgo Biológico para Sustancias Infecciosas.

La figura muestra las características de la etiqueta de Riesgo Biológico:



Nota: Recuperado de <https://img2.freepng.es/20181206/aqe/kisspng-hazmat-class-6-toxic-and-infectious-substances-dan-5c08d0e4179ff7.0067745515440816360968.jpg>

b. Etiqueta de Riesgo Secundario, en su caso.

Si las muestras deben conservarse a baja temperatura con hielo seco (dióxido de carbono sólido), se debe incluir el siguiente tipo de etiqueta, que simboliza



la existencia de riesgo secundario. (Ver en etiquetado de paquete externo)

Símbolo: 7 franjas negras verticales en la mitad superior. Fondo: blanco.
Cifra "9" subrayada, en el ángulo inferior podrá llevar la leyenda



Nota: Recuperado de <http://cursobasicoiva-eebly.com/uploads/4/0/4/9/40499415/6740062.jpg?279>

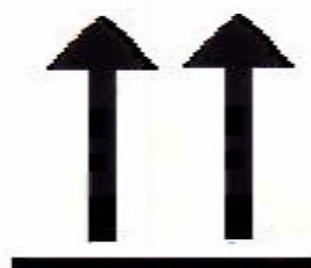
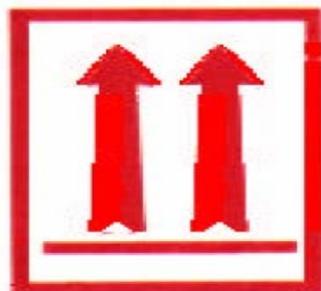
"VARIOS".

En caso de utilizar nitrógeno líquido como refrigerante, se podrán utilizar cualquiera de los siguientes tipos de etiquetas:



Nota: Recuperado de <https://w7.pngwing.com/pngs/43/823/png-transparent-sign-gas-cylinder-combustibility-and-flammability-label-symbol-miscellaneous-angle-label.png>

Etiqueta para Orientación del paquete.



Nota: Recuperado de <https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcQFzOza1Cw0pihgHmTFhivanJVDB6r1wiAHU0p7OhqVePauINBIU6EKIn5yl-xaQghG8&usqp=CAU>



Etiqueta para orientación del embalaje o sobre - embalaje (la dirección de la flecha indica que lado va hacia arriba) cuando contengan sustancias peligrosas líquidas.

Símbolo: dos flechas de color rojo sobre una línea horizontal en un recuadro del mismo color o dos flechas en color negro sobre una línea horizontal del mismo color sin recuadro. Fondo: contrastante, dimensiones mínimas: 74 mm X 105 mm.

Etiqueta con los datos del laboratorio del INS al que vayan dirigidas las muestras.

Los datos deben llenarse con letra legible, para evitar confusiones

Remitente: _____
Destinatario: _____
Tipo(s) de Muestra(s): _____
Procedencia de la Muestra: _____
Microorganismo(s) o agente por confirmar: _____

Etiquetado del paquete externo: El paquete externo contendrá el(los) paquete(s) secundario(s) para su envío a los laboratorios del INS.

Deberán colocarse los siguientes tipos de etiquetas en la parte externa del paquete:

- a) Etiqueta de Riesgo Biológico para Sustancias Infecciosas. (ver etiquetado de recipientes secundarios)
- b) Etiqueta de Riesgo Secundario, en el caso de que las muestras sean conservadas a baja temperatura con hielo seco (dióxido de carbono sólido) o nitrógeno líquido. (ver etiquetado de recipientes secundarios)

c) Etiqueta con los datos del laboratorio del INS al que se dirigen las muestras.
Los datos deben de llenarse con letra legible para evitar confusiones.

Remitente: _____

Etiqueta adicional para transporte aéreo

MERCANCIAS PELIGROSAS EN CANTIDADES EXENTAS
DANGEROUS GOODS IN EXCEPTED QUANTITIES

Este bulto contiene mercancías peligrosas en pequeñas cantidades exentas y en todos los aspectos está de acuerdo con la reglamentación gubernamental nacional e internacional aplicable y con la Reglamentación de IATA sobre Mercancías Peligrosas.

This package contains dangerous goods in excepted small quantities and is in all respects in compliance with the applicable international and national government regulations and the IATA Dangerous Goods Regulations.

Firma del Expedidor – Signature of Shipper

Cargo – Title

Fecha – Date

Nombre y dirección del Expedidor – Name and address of Shipper

Este bulto contiene sustancia(s) de la Clase (marcar con una X la(s) casilla(s) correspondiente(s))

Class/Class: 2 3 4 5 6 8 9

Y los Números NU aplicables son: _____ and the applicable UN Numbers are:

Nota: Recuperado de <https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:AND9GcrBDaLmDj89YIWCCHMjzRlFq87DRQlywSUw&usqp=CAU>

Mercancías peligrosas en cantidades exentas, se imprime con letras negras en fondo blanco y el borde en color rojo. Dimensiones mínimas 100 mm X 100 mm

Dimensiones de las etiquetas:

Las etiquetas deberán considerar las dimensiones mínimas establecidas por la normatividad, como se muestra a continuación:

Todas las etiquetas deberán colocarse en un lugar visible del paquete o recipiente, y de tal manera que se evite su desprendimiento. Asimismo, se deben colocar adecuadamente para evitar que se decoloren y rasguen.



6. **RESULTADOS O PRODUCTOS**

Toma, manejo y transporte de muestras o especímenes.

7. **CONCLUSIONES**

-
-
-
-



Primera Unidad

Semana 3 – Sesión 1

MEDIO PRIMARIO CON CÉLULAS EMBRIONARIAS PARA AISLAMIENTO VIRAL

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Maneja las muestras con cuidado, estando protegido con las EPP que estipula mencionado procedimiento, de la misma forma cuidar de contaminantes las células.

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Obtener un cultivo celular primario (monocapa de células in Vitro) y desarrollar destrezas cognoscitivas y aplicativas en el alumno, promoviendo el empleo adecuado de los medios de cultivo celular en el laboratorio de virología.

2. CONCEPTOS BÁSICOS

Debido a que los virus, como ocurre con los plásmidos, se replican solo dentro de células vivas, la investigación sobre virus requiere el uso de un hospedador apropiado.

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Hígado de pollo o Huevos embrionados de 10 a 11 días
- Estuche de Disección (estéril)



- Matraz
- Caldo BHI (caldo infusión cerebro –corazón)
- Tripsina.
- Pipetas estériles y propipetas
- Placas y frascos estériles
- Solución de alcohol yodado
- Ampolla de estreptomycinina y ampicilina.
- Agitador magnético
- Cámara de New Bauer
- Solución de Hanks (750 ml)
- Hidrolizado de Lacto albumina 5%
- Suero Bovino fetal
- Solución Buffer Fosfato (PBS) – 01 litro.

OBSERVACION: Cada estudiante debe estar con su Equipo de protección Personal (EPPs) y contar con los materiales para el desarrollo de la práctica.

4. **NOTAS DE SEGURIDAD.**

En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambientes prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. **PROCEDIMIENTOS**

1. Observar al Ovoscopio para descartar embriones muertos o defectuosos.
2. Colocar los huevos seleccionados sobre una porta huevos con la cámara de aire hacia arriba.
3. Llevar los huevos embrionados a la cámara de flujo laminar.
4. Limpiar la cáscara en su mitad superior, primera solución de alcohol yodado y después con alcohol.



5. Colocar las pinzas y tijeras en un vaso con alcohol y agua hirviendo.(flameado optativo). Con la tijera larga punta curva estéril recortar el casquete o la cáscara correspondiente a la Cámara de aire (las tijeras se enjuagan con el H₂O hirviendo y vuelven al alcohol para volver a usarlas).
6. Coger las pinzas largas y con la punta retirar la cáscara rota así como la membrana de la cámara de aire (esterilizar las pinzas para volver a usar).
7. Con las pinzas curvas, coger al embrión del cuello y llevarlo a una placa estéril.
 - a. Con una tijera (estéril) eliminar la cabeza, las alas y las patas; abrir el embrión con un corte en cruz y retirar las vísceras.
8. En el caso de tener hígado de pollo cortar en pequeños pedazos con una tijera estéril.
9. Lavar con solución buffer fosfato por un par de veces.
10. Luego, empezar a cortar lo que quede del embrión en pedazos cada vez más pequeños, Hasta formar una especie de papilla.
11. Luego lavar los trocitos en la placa por 2 veces con solución Buffer Fosfato (PBS).
12. Luego, llevar al matraz y se agrega tripsina al 25%: 4 ml. Por embrión y se deja durante 10 minutos con movimientos giratorios, para esto se pone en un agitador magnético. Esto se puede repetir 2 veces.
13. Transcurrido este tiempo el sobrenadante se vierte a un matraz, se guarda en refrigeración (previo agregar solución de PBS).
14. Se vuelve a tripsinizar el sedimento, utilizando igual cantidad de tripsina.
15. Lo que se tiene en refrigeración, se pasa por filtro (capa de gasa y algodón) a otro matraz.
16. El filtrado se centrifuga a 1 000 rpm por 5 min. luego se refrigera.
17. Se elimina el sobrenadante y se queda el sedimento.
18. Lavar células con PBS y luego centrifugar a 1 000 rpm por 2 veces más.
19. Se suspende en el medio de multiplicación (previamente se cuenta células usando la cámara de New Bauer para obtener 2 x 10⁶ células/ml).
20. Se recogen 10 a 15 ml. y se lleva a una placa estéril, luego se agrega el suero de feto bovino (estimulará el crecimiento).



21. Incubamos a 37°C.
22. Las células caen al fondo en la placa, se multiplican por el medio y llenan los espacios vacíos y forma la monocapa.
23. Se elimina el medio de multiplicación.
24. Cuando se tiene la capa de células homogéneas (monocapa), ya está listo para el cultivo e inocular el virus.

6. **RESULTADOS O PRODUCTOS**

El estudiante obtiene un cultivo celular primario (monocapa de células in Vitro)

7. **CONCLUSIONES**

-
-
-
-



Primera Unidad

Semana 4 – Sesión 1:

ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES ANTIVÍRICOS

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Maneja las muestras con cuidado, estando protegido con las EPP que estipula mencionado procedimiento, de la misma forma cuidar de contaminantes las células.

1. **PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.**

Realizar la de tipo viral tras previa inmunización de terminación de anticuerpos neutralizantes como factor protector ante enfermedades.

2. **CONCEPTOS BÁSICOS** (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).

La aparición de los anticuerpos contra el antígeno de superficie del virus de la Hepatitis B (anti-HBsAg), después de la infección viral y una vez que ha desaparecido el HBsAg, confiere inmunidad contra este virus. Esta inmunidad puede ser adquirida por vía natural o por inmunoprofilaxis activa, requiriéndose títulos de al menos 10 UI/L para ser considerados protectores.

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.

3. **EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.**

1. Guantes de látex
2. Guardapolvo o Mandilones
3. Mascarilla, Lentes Protectores
4. Jabón Líquido
5. Papel toalla



6. KIT DE ELISA PARA Anti- HBsAg
7. Punteras universales de color azul y amarillas
8. Micropipetas: 10ul, 50-100ul, 1000ul

OBSERVACION: Cada estudiante debe estar con su Equipo de protección Personal (EPPs) y contar con los materiales para el desarrollo de la práctica.

4. **NOTAS DE SEGURIDAD.**

En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambientes prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. **HIPÓTESIS (O CÁLCULOS).**

No contempla

6. **PROCEDIMIENTO**

Ver inserto adjunto al reactivo a usar. (kit de elisa para anti- hbsag)

7. **RESULTADOS O PRODUCTOS**

El estudiante determina la presencia de anticuerpos neutralizantes.

8. **CONCLUSIONES**

-
-
-
-



Segunda Unidad

Semana 5 – Sesión 1

FAMILIAS DE VIRUS DE INTERÉS CLÍNICO Y DE PREVALENCIA NACIONAL: INOCULACION EN HUEVOS EMBRIONADOS

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Maneja las muestras con cuidado, estando protegido con las EPP que estipula mencionado procedimiento, de la misma forma cuidar de contaminantes las células.

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Practicar las técnicas de inoculación que con más frecuencia se utilizan para la multiplicación de virus en embriones aviares, y Reconocer las diferentes vías de inoculación en huevos embrionados.

2. CONCEPTOS BÁSICOS

En la actualidad, el empleo de los huevos embrionados ha quedado limitado al aislamiento de algunos virus (los poxvirus y sobre todo del virus de la gripe) como para la producción de vacunas, siendo la metodología de elección para el aislamiento de otros virus el cultivo celular.

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA

- MATERIAL BIOLÓGICO
 - Huevos embrionados de 7-11 días
- MATERIAL DE LABORATORIO
 - Solución colorante (Azul de Metileno y safranina)



- Jeringas de tuberculina (2)
- Tubos de ensayo estériles
- Solución fisiológica
- Agujas hipodérmicas N° 18 ,20 y 23 (02 de c/u)
- Recipientes para descarte de residuos
- Guantes
- Mascarillas
- Guardapolvo
- Agua destilada
- Pinzas
- Alcohol de 70°
- Gasa no estéril
- Tijera
- EQUIPOS
 - Ovoscopio (opcional)
- OTROS
 - Vela y/o Vinifan 1cm x 1cm.
 - Lápiz o Plumón marcador.

OBSERVACION: Cada estudiante debe estar con su Equipo de protección Personal (EPPs) y contar con los materiales para el desarrollo de la práctica.

4. **NOTAS DE SEGURIDAD.**

En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambientes



prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. **PROCEDIMIENTO**

A. INOCULACION

1. Determinar la viabilidad de los embriones en el ovoscopio (observar movimientos y plexo sanguíneo)
2. Marcar la cámara de aire y ojo
3. Seleccionar el punto de inoculación (variable de acuerdo a la vía utilizada) libre de vasos sanguíneos.
4. Practicar la inoculación.

Cavidad alantoidea:

Perfore la cascara en el centro del polo mayor del huevo con un taladro eléctrico o aguja N° 18 estéril.

Se llena una jeringa tipo tuberculina con 0.2 ml. de Azul de Metileno y se le coloca una aguja N°21 de ½ pulgada.

Por el orificio que abrimos se introduce totalmente la aguja y se deposita los 0.2 ml. La aguja se debe inclinar un poco por fuera de la vertical con el fin de esquivar el embrión.

Cavidad amniótica:

1. En el ovoscopio determine la vitalidad del embrión y haga una señal sobre la cascara en el sitio donde está situado el ojo, el cual se ve muy bien en forma de un punto negro.
2. Desinfecte con alcohol la superficie que se encuentra en la altura de la cámara de aire y realice en ella una pequeña perforación con un taladro eléctrico o aguja N° 18 estéril (el orificio debe quedar perpendicular a la



señal del ojo). Usando una jeringa tipo Tuberculina de 1ml. con una aguja N° 21 de 1 ½ pulgadas, inocule la cantidad de 0.2 ml de Azul de Metileno. Dicha inoculación se hace introduciendo la aguja por el orificio hecho en la cámara de aire hasta tocar el ojo del embrión (se hace mirando el ovoscopio el huevo para poder observar cuando se toca el ojo) luego se procede a inocular el Azul de Metileno.

3. Sellar con la cera de la vela o el vinifan los orificios practicados.
4. Incubar a 35 °C – 37°C por espacio de 48 – 72 horas.

B. COSECHA

- a) Al finalizar el plazo de incubación, coloque los huevos inoculados durante la noche a 4°C para lograr una vasoconstricción que minimice el sangrado durante la cosecha.
- b) Limpie con alcohol al 70% el área del saco de aire y deje secar y prepare 2 tubos por cada huevo inoculado: uno rotulado con las siglas AMN (amniótica) y el segundo marcado con las siglas ALA (alantoidea).
- c) Rompa la cáscara del huevo que recubre la cámara de aire y con una pinza y una pipeta estéril proceda a romper la membrana alantoidea y aspire el líquido contenido en la cavidad depositándolo en el tubo marcado ALA.
- d) Coseche el líquido amniótico con jeringa de 1 ml. Manipule con la pinza el embrión de modo que no interfiera con la aspiración del líquido, y deposítelo en el tubo AMN.
- e) Una vez terminada la cosecha e inspeccionando que los especímenes cosechados estén en buenas condiciones proceder a su testado por hemoaglutinación para verificar la presencia de virus y determinar su concentración (título).

6. RESULTADOS O PRODUCTOS



El estudiante reconocerá las diferentes vías de inoculación en huevos embrionados y aplicará las técnicas de inoculación que con más frecuencia se utilizan para la multiplicación de virus en embriones aviares,

7. CONCLUSIONES

-
-
-
-



Segunda Unidad
Semana 6 – Sesión 1
HEMAGLUTINACION VIRAL

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Maneja las muestras con cuidado, estando protegido con las EPP que estipula mencionado procedimiento, de la misma forma cuidar de contaminantes las células.

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

- Demostrar la propiedad que tienen algunos virus de aglutinar eritrocitos.
- Interpretar la capacidad que poseen ciertos virus de unirse a glóbulos rojos de una determinada especie produciendo la aglutinación (hemoaglutinación).

2. CONCEPTOS BÁSICOS

La hemoaglutinación es un método donde no se mide la capacidad infecciosa de las partículas virales. Es una técnica indirecta para medir partículas virales, pues en realidad mediante esta técnica se mide la cantidad de partículas hemoaglutinante (proteínas virales) independientemente si estas están incluidas en la partícula viral o libres como antígeno.

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

1. Material Biológico: Vacuna Tri-Avian (vacuna Liofilizada)
2. Sangre Total de (Pollo) o de Humano (Grupo "O" en tubo con anticoagulante citrato de sodio).
3. Solución Buffer Fosfato (PBS) o Solución Salina Fisiológica (SSF)



4. Centrifuga clínica (5000 rpm)
5. Tubos de Ensayo estéril 13x100 mm. ó 12x75 mm.
6. Micropipetas de rango variable de 5ul – 50ul. y de 100ul – 1000ul
7. Matraz de 250 ml.
8. Jeringas de 10 ml y 20ml con aguja (dos de cada una)
9. Microplaca de 96 pozos fondo en “U”
10. Micropipeta de 10-100 µl. y de 100- 1000ul
11. Reloj marcador de tiempo
12. Espejo
13. Pizeta con alcohol al 70%
14. Papel Toalla

OBSERVACION: Cada estudiante debe estar con su Equipo de protección personal (EPPs) y contar con los materiales para el desarrollo de la práctica.

4. **NOTAS DE SEGURIDAD.**

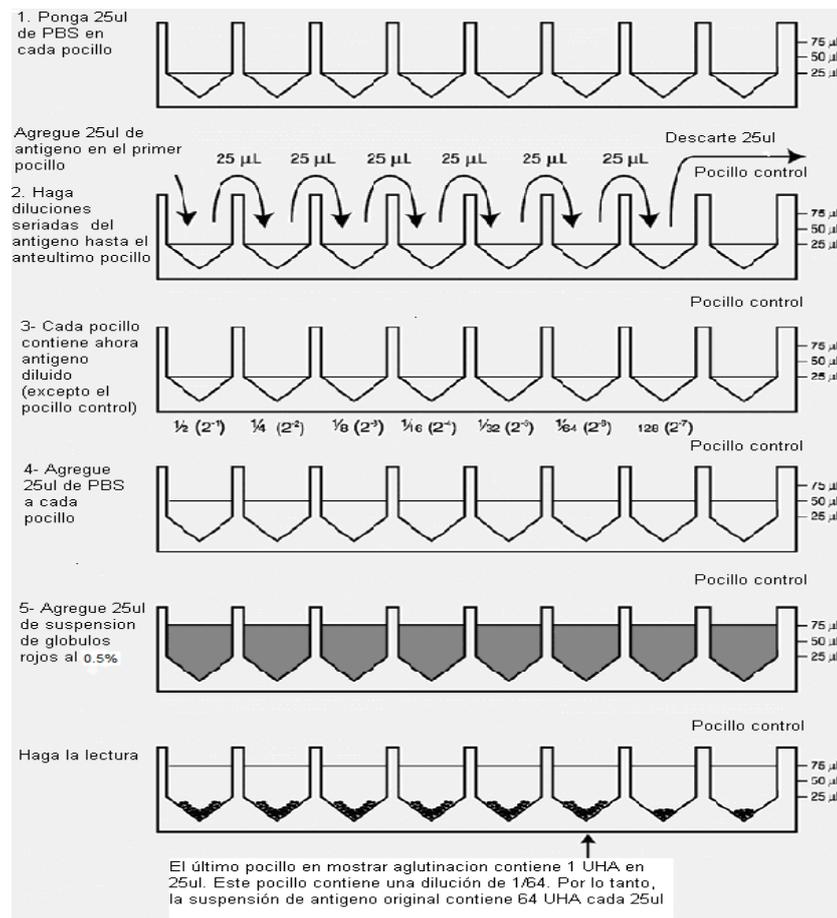
En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambientes prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. **PROCEDIMIENTO.**

A. **Preparación de Glóbulos Rojos Lavados**

- Extraer la sangre de pollo (previamente vacunado) ó de Humano; y conservarla en un tubo con anticoagulante.
- Centrifugar a 1500 rpm por 5 minutos.
- Eliminamos el sobrenadante (plasma).
- Del Paquete Celular trasvasar 1.0 ml en dos tubos de ensayo por separado.
- Agregamos PBS ó SSF a ambos tubos hasta las $\frac{3}{4}$ partes del tubo de ensayo.
- Centrifugar a 1500 rpm por 5 min. ó a 3000 rpm por 2 min.
- Eliminamos el sobrenadante y volvemos a repetir el proceso de lavado 2 – 3 veces más.

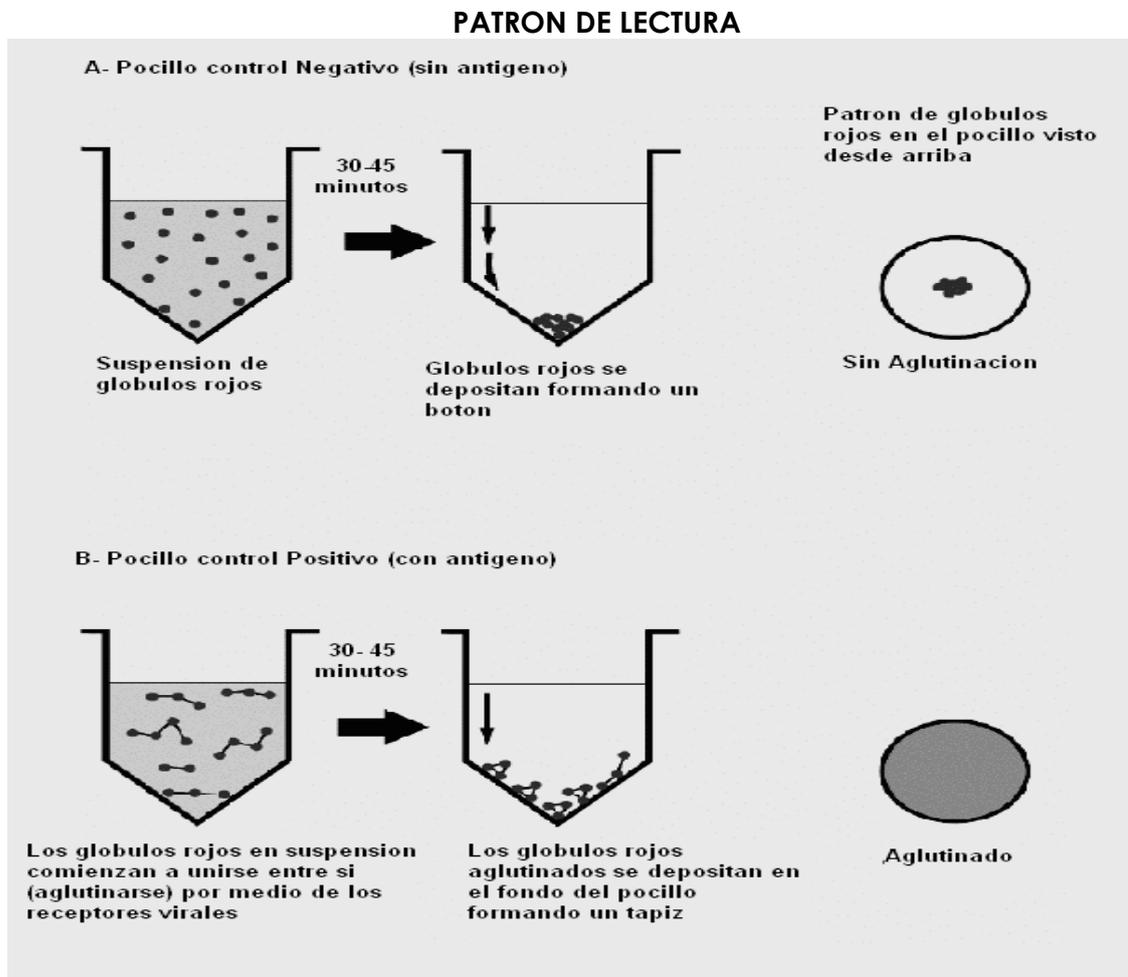
- Luego, tomamos de 0.5 ml. ó 0.75 ml. de glóbulos rojos del paquete celular y lo suspendemos en 100 ml. De PBS o SSF, para obtener el 0.5 % ó 0.75 % de glóbulos rojos lavados respectivamente.
- Luego seguimos los pasos según el esquema que a continuación se proporciona:



Nota: Recuperado de https://encrypted-n0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcR0Mpa8ZMVm_0sSDzb6cVxoVQZBiw2xva5NwZ8D7ZAo4JEhal9w7-IXoR3EufAEJvEJDA&usqp=CAU

- Luego dejamos reposar al medio ambiente por 30 a 45 minutos.
- El referente del momento de lectura es el control negativo de la prueba.
- Pasado el tiempo, colocamos debajo de la gradilla un espejo, para observar si hay "hemoaglutinación positiva" (formación de una malla delgada, gris) o hemoaglutinación negativa (se observa un punto rojo).

- La última dilución en la cual aparece HA es el título del virus (este es el inverso de dicha dilución).



Nota: Recupero de <https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcRWUvwcgvZYojaDc9Yu8KXWkaEz3EyG-xyhw&usqp=CAU>

6. RESULTADOS O PRODUCTOS

- El estudiante demuestra la propiedad que tienen algunos virus de aglutinar eritrocitos.
- Interpretar la capacidad que poseen ciertos virus de unirse a glóbulos rojos de una determinada especie produciendo la aglutinación



7. CONCLUSIONES

-
-
-
-



Segunda Unidad

Semana 7 – Sesión 1

INHIBICIÓN DE LA HEMAGLUTINACIÓN VIRAL

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Maneja las muestras con cuidado, estando protegido con las EPP que estipula mencionado procedimiento, de la misma forma cuidar de contaminantes las células.

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Determinar el título de un suero problema e interpretar los resultados obtenidos al realizar la prueba de inhibición de la hemaglutinación.

2. CONCEPTOS BÁSICOS

Para realizar un diagnóstico definitivo se debe realizar una prueba que demuestre una respuesta específica del huésped hacia este virus, dicha respuesta está representada por la presencia de anticuerpos y la prueba empleada para ello se conoce como Inhibición de la Hemaglutinación (IHA).

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

1. Agente viral
2. Suero o plasma
3. Suspensión de glóbulos rojos de pollo al 1%
4. Solución Buffer Fosfato (PBS) o Solución Salina Fisiológica(SSF)
5. Centrifuga clínica (5000 rpm).
6. Tubos de Ensayo esteril 13x100 mm. ó 12x75 mm.
7. Micropipetas de rango variable de 5ul – 50ul. y de 100ul – 1000ul



8. Matraz de 250 ml
9. Jeringas de 10 ml y 20ml con aguja (dos de cada una)
10. Microplaca de poliestireno con fondo en "U"
11. Micropipeta de 10-100 μ l. y de 100- 1000ul
12. Reloj marcador de tiempo.
13. Papel Toalla.
14. Puntillas para Micropipetas.
15. Vacuna Tri- Aviar (viriones atenuados) , preparada en una suspensión con 4 UHA.
16. Suspensión de glóbulos rojos de pollo al 1%
17. Suero problema
18. Solución de Hipoclorito de Sodio
19. Recipiente de mesa para desechos biológicos

OBSERVACION: Cada estudiante debe estar con su Equipo de protección Personal (EPPs) y contar con los materiales para el desarrollo de la práctica.

4. **NOTAS DE SEGURIDAD.**

En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambiente prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. **PROCEDIMIENTO.**

Con base en los resultados de la práctica anterior, preparar en un tubo una dilución del virus del Newcastle que contenga 4 UHA en un volumen suficiente para realizar la prueba de IHA.

Hacer diluciones al doble del suero problema, desde 1:2 hasta 1:256 de acuerdo al esquema de la figura; incluir un pozo control que no contendrá antisuero ni virus. El proceso se describe a continuación:

- a. Agregar 75 μ l de SSI a los pozos del 1 al 9 de la microplaca.



- b. Colocar en el pozo 1, 75 µl del suero problema y mezclar por aspersion y dispersión de dos a tres veces obteniendo así la dilución 1:2.
- c. Transferir 75 µl de ésta dilución al pozo 2 y mezclar homogéneamente de la misma manera que para el paso b.
- d. Repetir sucesivamente este procedimiento hasta el pozo No. 8 que corresponderá a la dilución 1:256.
- e. Desechar del pozo 8, 75 µl en el recipiente para recolección de desechos.

NOTA IMPORTANTE: No se debe agregar dilución del suero al pozo No. 9 que sirve como control.

- a. Agregar a cada uno de los 8 pozos con suero problema, 4 UHA del antígeno viral en un volumen de 75 µl.
- b. Agitar la microplaca para que reaccionen los substratos y dejar en reposo durante 10 min.
- c. Agregar 75 µl de la suspensión de glóbulos rojos a todos y cada uno de los pozos, agitar y colocar la microplaca a temperatura ambiente hasta que los glóbulos rojos del pozo que no contiene antisuero y sirve como control haya sedimentado.
- d. Determinar el título del antisuero identificando la última dilución que presenta IHA.

6. **RESULTADOS O PRODUCTOS**

El estudiante determina el título de un suero problema e interpretar los resultados obtenidos al realizar la prueba de inhibición de la hemaglutinación.

7. **CONCLUSIONES**

-
-
-



Tercera Unidad

Semana 9 – Sesión 1:

DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTI RUBEOLA IgM/IgG METODOLOGIA

ELISA

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Maneja las muestras con cuidado, estando protegido con las EPP que estipula mencionado procedimiento, de la misma forma cuidar de contaminantes las células.

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Realizar la determinación de anticuerpos IgM/IgG Anti -Rubeola como marcador serológico.

2. CONCEPTOS BÁSICOS

El inmunoensayo enzimático sobre fase sólida (ELISA), está basado en el principio del sándwich. Los pocillos están recubiertos con un antígeno. Los anticuerpos específicos de la muestra que se unen a los pocillos recubiertos con el antígeno son detectados por un conjugado enzimático del segundo anticuerpo (E-Ab) específico para el antígeno humano IgG. La intensidad del color desarrollado por la reacción del substrato es proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos IgG detectados. Los resultados de las muestras se pueden determinar directamente usando la curva estándar.

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

1. Guantes de Látex
2. Guardapolvo o Mandilones



3. Mascarilla, Lentes Protectores
4. Jabón Líquido
5. Papel toalla
6. KIT DE ELISA PARA Anti – Rubeola IgM/IgG
7. Punteras universales de color azul y amarillas
8. Micropipetas: 10ul, 50-100ul, 1000ul.

OBSERVACION: Cada estudiante debe estar con su Equipo de protección Personal (EPPs) y contar con los materiales para el desarrollo de la práctica.

4. **NOTAS DE SEGURIDAD.**

En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambientes prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. **PROCEDIMIENTO**

Ver inserto adjunto al reactivo a usar (kit de ELISA para anticuerpos anti rubeola IGM/IGG)

6. **RESULTADOS O PRODUCTOS**

El estudiante determina la presencia de anticuerpos Anti – Rubeola IgM/IgG como marcador serológico de enfermedad exantemica.

7. **CONCLUSIONES**

-
-
-
-



Tercera Unidad

Semana 10 – Sesión 1:

DETERMINACIÓN DE ANTÍGENO VIRAL (HBsAg) EMPLEANDO MÉTODO ELISA

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Maneja las muestras con cuidado, estando protegido con las EPP que estipula mencionado procedimiento, de la misma forma cuidar de contaminantes las células.

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Determinar la proteína de superficie del virus de la Hepatitis B en suero o plasma de pacientes, como antígeno altamente inmunogénico y útil para el diagnóstico agudo de la enfermedad como del estado de portador.

2. CONCEPTOS BÁSICOS

La infección con el virus de la Hepatitis B (VHB) se acompaña generalmente de la aparición en el suero de su antígeno de superficie (HBsAg). Este marcador no es exclusivo de la fase aguda de la enfermedad, ya que puede persistir durante años en los portadores asintomáticos y en otras hepatopatías crónicas.

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

1. Guantes de Látex.
2. Guardapolvo o Mandilones.



3. Mascarilla, Lentes Protectores.
4. Jabón Líquido.
5. Papel toalla.
6. KIT DE ELISA PARA HBsAg
7. Punteras universales de color azul y amarillas
8. Micropipetas: 10ul, 50-100ul, 1000ul.

OBSERVACION: Cada estudiante debe estar con su Equipo de +

4. **NOTAS DE SEGURIDAD**

En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambientes prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. **PROCEDIMIENTO**

Ver inserto adjunto al reactivo a usar (kit de ELISA para HBSAG)

6. **RESULTADOS O PRODUCTOS**

El estudiante determina la proteína de superficie del virus de la Hepatitis B en suero o plasma humano.

7. **CONCLUSIONES.**

-
-
-
-
-



Tercera Unidad

Semana 11 – Sesión 1:

DETERMINACIÓN DE ANTIGENOS CONTRA ADENOVIRUS Y ROTAVIRUS POR INMUNOCROMATOGRAFÍA – PRUEBA RÁPIDA

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Maneja las muestras con cuidado, estando protegido con las EPP que estipula mencionado procedimiento, de la misma forma cuidar de contaminantes las células.

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Determinar de antígenos contra adenovirus y rotavirus por Inmunocromatografía – prueba rápida,

2. CONCEPTOS BÁSICOS

La gastroenteritis vírica es una infección causada por una variedad de virus que provocan vómitos y diarreas. Diferentes virus pueden ser la causa de una gastroenteritis, tales como rotavirus, norovirus, adenovirus, sapovirus y astrovirus. Los síntomas principales de una gastroenteritis vírica son diarrea acuosa y vómitos.

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

1. Guantes de Látex
2. Guardapolvo o Mandilones
3. Mascarilla, Lentes Protectores
4. Jabón Líquido
5. Papel toalla



6. Prueba rápida de ADENOVIRUS Y ROTAVIRUS
7. Punteras universales de color azul y amarillas
8. Micropipetas: 10ul, 50-100ul, 1000ul.

OBSERVACIÓN: Cada estudiante debe estar con su Equipo de protección Personal (EPPs) y contar con los materiales para el desarrollo de la práctica.

4. **NOTAS DE SEGURIDAD.**

En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambientes prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. **PROCEDIMIENTO**

Ver inserto adjunto al reactivo a usar. (KIT DE Prueba rápida para la detección de antígenos de Rotavirus y Adenovirus).

6. **RESULTADOS O PRODUCTOS**

El estudiante determina la presencia de antígenos para la detección de Rotavirus y Adenovirus.

7. **CONCLUSIONES**

-
-
-
-



Tercera Unidad

Semana 12 – Sesión 1:

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI VIRALES (Anti – HBcore IgM - METODOLOGÍA ELISA)

Sección :

Docente :

Apellidos :

Nombres :

Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Maneja las muestras con cuidado, estando protegido con las EPP que estipula mencionado procedimiento, de la misma forma cuidar de contaminantes las células.

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Realizar la determinación de anticuerpos HBcore IgM como marcador serológico predictor de la Hepatitis B en estado agudo.

2. CONCEPTOS BÁSICOS

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

1. Guantes de látex
2. Guardapolvo o Mandilones
3. Mascarilla, Lentes Protectores
4. Jabón Líquido
5. Papel toalla
6. KIT DE ELISA PARA Anti – HBcore IgM
7. Punteras universales de color azul y amarillas
8. Micropipetas: 10ul, 50-100ul, 1000ul.



OBSERVACION: Cada estudiante debe estar con su Equipo de Protección Personal (EPPs) y contar con los materiales para el desarrollo de la práctica.

4. **NOTAS DE SEGURIDAD.**

En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambiente prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. **PROCEDIMIENTO**

Ver inserto adjunto al reactivo a usar. (KIT DE ELISA PARA Anti – HBcore IgM)

6. **RESULTADOS O PRODUCTOS**

El estudiante determina la presencia de anticuerpos Anti – HBcore IgM como marcador de importancia ante un cuadro agudo de hepatitis B.

7. **CONCLUSIONES.**

-
-
-
-



Cuarta Unidad

Semana 13 – Sesión 1:

TOMA DE MUESTRA Y PROCESAMIENTO DE SANGRE TOTAL EN PAPEL FILTRO PARA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS TOTALES CONTRA VIRUS DENGUE

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Maneja las muestras con cuidado, estando protegido con las EPP que estipula mencionado procedimiento, de la misma forma cuidar de contaminantes las células.

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

- Realizar la toma de muestra de sangre total en papel filtro para pruebas de ELISA e IHA para el virus dengue.
- Adquirir destreza en el procesamiento de muestras obtenidas en papel filtro.

2. CONCEPTOS BÁSICOS

El dengue constituye un serio problema de salud pública en las Américas y en todo el resto del mundo a consecuencia del cambio climático, de la globalización y otros factores que desencadenan la presencia del mosquito *Aedes aegypti* vector del mencionado virus.

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

1. Papel filtro WHATMAN N° 3. (40mm x 25 mm).



2. Lancetas.
3. Bolsas de Plástico para ½ kilo medida 5x10 (01 unidad)
4. Solución Buffer Fosfato (PBS) (6ml).
5. Albumina Bobina.
6. Centrifuga Refrigerada.
7. Tubos Falcon de 25ml.
8. Viales.
9. Parafilm.
10. Micropipetas de 10-100ul y de 100-1000ul, con sus respectivas punteras.
11. Guardapolvo
12. Guantes
13. Mascarilla.
14. Recipiente de mesa para desechos biológicos

OBSERVACION: Cada estudiante debe estar con su Equipo de protección Personal (EPPs) y contar con los materiales para el desarrollo de la práctica.

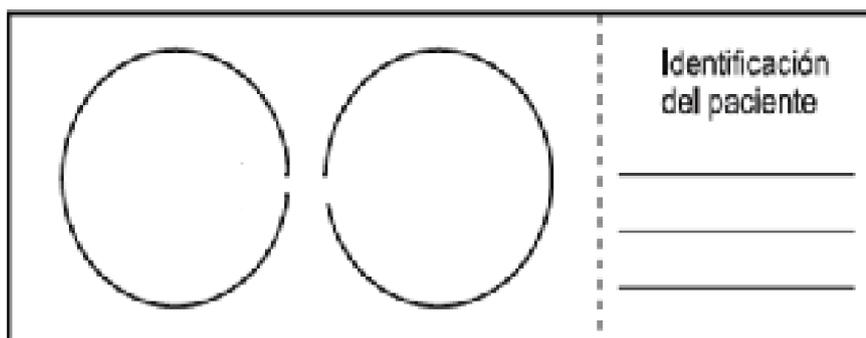
4. **NOTAS DE SEGURIDAD.**

En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambiente prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. **PROCEDIMIENTOS**

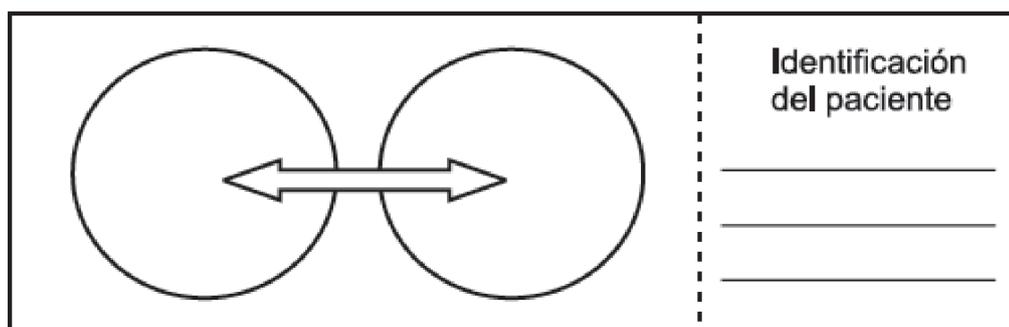
5.1. **OBTENCION DE LA MUESTRA**

1. En el papel filtro, diseñar 02 círculos (16 mm de diámetro cada uno) uno al lado del otro con 5mm de distancia entre ellos , y a un costado dejar espacio para el código y/o identificación del paciente (ver Figura)



i.

2. Punción con lanceta del pulpejo lateral dedo medio de la mano.
3. Dejar fluir la sangre espontáneamente dentro del círculo marcado en el papel filtro, tratando que la muestra cubra el diámetro indicado (volumen aproximado 50uL).



4. Dejar secar al medio ambiente en un lugar protegido de la luz solar directa.
5. Colocar en bolsas de plástico y transportar al laboratorio a temperatura ambiente, junto con al ficha clínico – epidemiológica.

ELUCIÓN DE LA MUESTRA PARA ELISA.

1. Se recortan los círculos de papel filtro absorbidos con sangre total y se colocaron en viales que contenían 2ml de buffer fosfato salino (PBS) con Albumina bovina al 0.5% a 4°C durante toda la noche, obteniendo una dilución de 1:100 como lo requiere el método utilizado.
2. Se elimina el papel filtro.
3. Se procede a centrifugar a 3800 rpm por espacio de 15 minutos a temperatura ambiente, para obtener el eluido.



4. Utilizar el sobrenadante para el procedimiento de ELISA.

ELUCION DE LA MUESTRA PARA INHIBICION DE LA HEMAGLUTINACION.

1. Se recortan los círculos de papel filtro absorbidos con sangre total y se colocaron en viales que contenían 2ml de buffer borato salino 0.5 M a 4°C durante toda la noche.
2. Se elimina el papel filtro.
3. Se procede a centrifugar a 3800 rpm por espacio de 15 minutos a Temperatura ambiente, para obtener el eluido
4. Al eluido se le agrega 500ul de kaolin al 25% con agitación ocasional por 30 minutos.
5. Centrifugar a 2000 rpm por espacio de 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Absorber el sobrenadante con glóbulos rojos de ganso al 50% en solución salina fisiológica a 4°C por 20 minutos con agitación ocasional.
7. Centrifugar a 1500 rpm por 15 minutos a 4°C, para obtener la muestra final para la determinación de anticuerpos totales.

6. **RESULTADOS O PRODUCTOS**

El estudiante realizará la toma de muestra de sangre total en papel filtro para pruebas de ELISA e IHA para el virus dengue, adquiriendo destreza en el procesamiento de muestras obtenidas en papel filtro.

7. **CONCLUSIONES.**

-
-
-



Cuarta Unidad

Semana 14 – Sesión 1:

DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTI – HIV 1-2

Sección :	Apellidos :
Docente :	Nombres :
	Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Maneja las muestras con cuidado, estando protegido con las EPP que estipula mencionado procedimiento, de la misma forma cuidar de contaminantes las células.

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Realizar la determinación de anticuerpos contra el retrovirus HIV 1-2I (Virus de Inmunodeficiencia Humana 1 y 2). Interpretar y reportar los resultados obtenidos de la manera correcta.

2. CONCEPTOS BÁSICOS

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

- Guantes de Látex.
- Guardapolvo o Mandilones.
- Mascarilla, Lentes Protectores.
- Jabón Líquido.
- Papel toalla.
- KIT DE ELISA PARA DETECCION DE : Anti- HIV 1 y 2.
- Punteras universales de color azul y amarillas
- Micropipetas: 10ul, 50-100ul, 1000ul.
- Recipiente de mesa para desechos biológicos



OBSERVACIÓN: Cada estudiante debe estar con su Equipo de protección Personal (EPPs) y contar con los materiales para el desarrollo de la práctica.

4. **NOTAS DE SEGURIDAD.**

En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambientes prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

5. **PROCEDIMIENTO.**

Ver inserto adjunto al reactivo a usar. (KIT DE ELISA PARA Anti- HIV 1 y 2)

6. **RESULTADOS O PRODUCTOS**

El estudiante realizará la determinación de anticuerpos contra el retrovirus HIV 1-2I (Virus de Inmunodeficiencia Humana 1 y 2) , interpretará y reportará los resultados obtenidos .

7. **CONCLUSIONES.**

-
-
-
-



Cuarta Unidad

Semana 15 – Sesión 1:

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI - VIRUS HERPES SIMPLEX (VHS) 1 Y 2 POR EL MÉTODO DE ELISA

Sección :

Docente :

Apellidos :

Nombres :

Fecha : / /..... Duración: 90 minutos

Instrucciones: Maneja las muestras con cuidado, estando protegido con las EPP que estipula mencionado procedimiento, de la misma forma cuidar de contaminantes las células.

1. PROPÓSITO/OBJETIVO/ LOGRO.

Realizar la determinación de anticuerpos contra VHS ½ (VIRUS HERPES SIMPLEX) .
Interpretar y reportar los resultados obtenidos de la manera correcta.

2. CONCEPTOS BÁSICOS (INTRODUCCIÓN O FUNDAMENTO).

El sistema de pruebas ELISA Herpes Simplex Virus-2 (HSV-2) IgG de ZEUS es un ensayo enzimático inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) diseñado para la determinación cualitativa de anticuerpos de tipo IgG contra el virus del herpes simple (VHS) en suero humano.

Para el estudio de la práctica leer el PPT de la sesión que se ubica en la plataforma virtual.

3. EQUIPOS/MATERIALES Y REACTIVOS A UTILIZAR EN LA PRÁCTICA.

1. Guantes de Látex.
2. Guardapolvo o Mandilones.
3. Mascarilla, Lentes Protectores.
4. Jabón Líquido.
5. Papel toalla.



6. KIT DE ELISA PARA DETECCION DE : Anti- HSV
7. Punteras universales de color azul y amarillas
8. Micropipetas: 10ul, 50-100ul, 1000ul.
9. Recipiente de mesa para desechos biológicos

OBSERVACIÓN: Cada estudiante debe estar con su Equipo de protección Personal (EPPs) y contar con los materiales para el desarrollo de la práctica.

NOTAS DE SEGURIDAD.

En el laboratorio, para la obtención y/o procesamiento de muestras, asimismo para exámenes de fluidos corporales, se debe tomar en cuenta el Manual de Bioseguridad, cuidando al paciente, operador, observador y al medio ambientes prácticas necesarias para proteger al paciente, al operador, al observador y al medio ambiente.

4. PROCEDIMIENTOS

Ver inserto adjunto al reactivo a usar. (KIT DE ELISA PARA Anti- HIV 1 y 2)

5. RESULTADOS O PRODUCTOS

El estudiante realizará la determinación de anticuerpos contra VHS 1-2I (virus Herpes simplex 1 y 2), interpretará y reportará los resultados obtenidos .

6. CONCLUSIONES

-
-
-
-
-



REFERENCIAS CONSULTADAS Y/O ENLACES RECOMENDADOS

Carballa IG., Oubiña J. (1998). *Virología Médica*. Ed. El ateneo, Argentina .

Díaz R., Gamazo C. y López Goñi (1999). *Manual práctico de virología*. 2da Edición. Editorial Masson. S.A. Barcelona.

Denis, F., Leonard, G. et al. (1988). *Comparison of 10 enzyme immunoassays for the detection of antibody to human immunodeficiency virus type 2 in West African sera*. J. Clin. Microbiol., 26, 1000.

Guntaghsan, G.A.; Erickson, S.A.; Carbrey, E.A: "*Haemagglutination and Haemagglutination Inhibition Test with Newcastle Diseases Virus*. Microtiter Techniques, Serological Microtitration Techniques".2000.

Fenner-Whitte (1998). *Manual de técnicas de laboratorio de virología y bacteriología médica* Vol. 1. Ed. Prensa Medica 2. InDRE (1995

Gürtler, L.G., Hauser, P.H. et al. (1994). *A new subtype of human immunodeficiency virus type 1 (MVP-5180)*

Human ® Anti-HBc; *Prueba ELISA para la detección de anticuerpos anti-HBc en suero o plasma humano*, Inserto. Ref. 51260. 2002

Kalter SS, Heberling RL & Barry JD. *Detection and titration of measles virus antibody by hemagglutination inhibition and by dot immunobinding*. Insert 1991, 29: 202-204.

Loussert-Ajaka, I., Ly, T.D. et al. (1994). *HIV-1/HIV-2 seronegativity in HIV subtype O infected patients*. Lancet, 343, 1393.



LSBioTM Human Anti-Hepatitis B virus core antibody (IgM) Direct ELISA Kit Catalog No. LS-F10241 User Manual. 2010.

Merz, D.C.; Scheid, A. and Choppin, P.W. "*Importance of antibodies to the fusion glycoprotein of Paramyxovirus in the prevention of spread of infection*". J. Exp. Med. 151, 275-288, 1980.

Mubareka S, Richards H, Gray M, Tipples G. *Evaluation of Commercial Rubella Immunoglobulin G Avidity Assays*. J Clin Microbiol 2007;45(1):231-3.

NCCLS. Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation Anti – HbsAg ; Proposed Guideline. NCCLS document EP17-P [ISBN 1-56238- 000-0].

Van den Haesevelde, M., Decourt, J. et al. (1994). *Genomic cloning and complete sequence analysis of a highly divergent African human immunodeficiency virus isolate*. J. Virol., 68, 1586.

Wandinger K, Saschenbrecker S, Steinhagen K, Scheper T, Meyer W, Bartelt U, et al. *Diagnosis of recent primary rubella virus infections: significance of glycoprotein-based IgM serology , IgG avidity and immunoblot analysis*. J Virol Methods 2011;174:85-93.

<https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/serologia/vhssero.pdf>

<https://www.zeusscientific.com/content/resources/%2528SM%25299Z9751G%2520ELISA%2520HSV-2%2520IgG%2520Spanish%2520Package%2520Insert.pdf>