



UAEM

Universidad Autónoma
del Estado de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia

Reestructuración, 2015



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia



Manual de Prácticas
Virología

Elaboró

M. en C. Lemuel León Lara

Dra. en C. Celene Salgado Miranda

M. en C. Trinidad Beltrán León

**Fecha de
aprobación**

29/10/2018

H. Consejo Académico

29/10/2018

H. Consejo de Gobierno



ÚLTIMA REVISIÓN

Revisores

Dra. en C. Celene Salgado Miranda

M. en C. Lemuel León Lara

M. en S. A. Trinidad Beltrán León

Fecha de
aprobación

27/junio/2022

27/junio/2022

H. Consejo Académico

H. Consejo de Gobierno



Índice

	Pág.
I. Datos de identificación	4
II. Introducción	5
III. Lineamientos	5
IV. Organización y desarrollo de las practicas	6
Práctica 1	6
Práctica 2	8
Práctica 3	11
Práctica 4	14
V. Bibliografía	16



I. Datos de identificación

Espacio educativo donde se imparte **Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

Licenciatura **Medicina Veterinaria y Zootecnia**

Unidad de aprendizaje **Virología** Clave **L43731**

Carga académica **4** **2** **6** **10**
 Horas teóricas Horas prácticas Total de horas Créditos

Período escolar en que se ubica **1** **2** **3** **4** **5** **6** **7** **8** **9**

Seriación **Microbiología** **Ninguna**
 UA Antecedente UA Consecuente

Tipo de Unidad de Aprendizaje

Curso Curso taller

Seminario Taller

Laboratorio Práctica profesional

Otro tipo (especificar)

Modalidad educativa

Escolarizada. Sistema rígido No escolarizada. Sistema virtual

Escolarizada. Sistema flexible No escolarizada. Sistema a distancia

No escolarizada. Sistema abierto Mixta (especificar)

Formación común

N/A	

Formación equivalente

Unidad de aprendizaje

N/A



II. Introducción

La unidad de aprendizaje cuenta con seis unidades que están organizadas de tal manera que permiten al discente conocer el desarrollo y el avance de la virología como ciencia y parte de la medicina, conocimiento de las enfermedades, su diferenciación y con los conocimientos teórico prácticos le proporcionan la facilidad para controlar y erradicar las enfermedades a través de un diagnóstico específico, la aplicación de vacunas para proteger la salud y mantener el bienestar animal en las unidades de producción en ayuda de otras unidades de aprendizaje en el área clínica y zootécnica.

Analizar la estructura fisicoquímica de los virus y sus biosistemas de replicación.

En las prácticas de laboratorio la inoculación del virus en el sistema huésped le permitirá al alumno comprender los procesos de patogénesis, patogenia y virulencia y le orientaran finalmente plantear estrategias de diagnóstico, prevención, control y vigilancia de las enfermedades virales en los animales domésticos.

III. Lineamientos

Las prácticas se realizarán en el Laboratorio de prácticas multidisciplinario de la Facultad. Cada práctica tiene una duración de dos horas. Se requiere puntualidad y se dará tolerancia de 15 minutos después de la hora, y no podrán entrar al final de este tiempo establecido, tampoco se permitirá la salida de alumnos durante la realización de las prácticas. Los alumnos se integrarán en equipos: estarán conformados de 4 a 6 alumnos por equipo, portarán bata limpia, cubreboca, cofia (con pelo recogido), de ser necesario portar guantes y goggles cuando se requiera, prohibido ingerir líquidos y alimentos ni mascar chicle. Se conducirán con respeto y en silencio, respetando las indicaciones durante el desarrollo de la práctica por parte del instructor. En caso de generar material biológico infeccioso se dejarán las indicaciones de inactivación y en su caso en contenedores para su esterilización y eliminación apropiado. Para la realización de las prácticas se procederá mediante solicitud de acuerdo a los lineamientos de los laboratorios multidisciplinarios de docencia y, para las prácticas 2,3 y 4 se deberá dar aviso al CICUAL – DISP., de la FMVZ.



IV. Organización y desarrollo de las prácticas

Unidad	Número de la practica
1. Introducción en la Virología y en el estudio de los virus.	1
Práctica: Bioseguridad, Medios de Cultivo y Diluciones virales.	

Objetivo o competencia de la práctica:

Para identificar a los virus a nivel del laboratorio, el alumno conocerá las características generales de un laboratorio de Virología, las medidas de protección personal para evitar riesgos de infección, las características para manejar bajo condiciones de “esterilidad” los materiales, reactivos, sustancias y medios de cultivo y la aplicación de las diversas técnicas de estudio aplicables a los virus al inocular estos en huevo embrionado como sistema huésped entre otros y que finalmente emita su concepto de virus como causa de enfermedades y los métodos de su identificación diferencial a través del uso de diferentes sistemas de estudio.

Materiales, reactivos y equipo:

Realización: En el laboratorio de prácticas multidisciplinario de la Facultad.
Material de vidrio estéril: Pipetas graduadas de 10, 5, 2 y 1 ml., matraces de 250 ml., tubos con tapón de rosca de 15x150 mm. Jeringas de 1 ml. para tuberculina, micropipetas, multipipetas, bombillas de seguridad, puntas de plástico estériles, placas de 24 y 96 pozos, agitador Vortex, gradillas y mechero. Soluciones y medios de cultivo estériles. Pizeta con alcohol al 70%, toallas absorbentes, probeta con solución de hipoclorito de sodio al 2%.

Desarrollo:

Diluciones dobles en microplaca:



Columna:

	1	2	3	4	5	6	7	8
Dilución:	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256

Fila A diluyente SSB 50 µl 50 50 50 50 50 50

* Virus µl: 50

Mezclar y diluir pasando 50 µl de la dilución 1:2 a la siguiente y así sucesivamente.

Descartar 50 µl de la última dilución en el desinfectante.

Diluciones logarítmicas en tubo:

Tubo:	1	2	3	4	5	6	7
Dilución	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}

Diluyente SSB ml: 9 9 9 9 9 9 9

* Virus ml: 1

Mezclar y diluir pasando 1 ml de la primera dilución a la segunda y así sucesivamente.

Descartar finalmente 1µl de la última dilución en el desinfectante.

* Ejercicio con colorante.

Resultados:

Interprete el concepto de dilución del virus utilizando el colorante.

La evaluación se realizará con base en lo siguiente:

Uso del equipo personal de bioseguridad.

Comportamiento, participación y respuesta a preguntas realizadas durante la práctica.

Entrega del reporte de la práctica.

Cuestionario:

1. Mencionar las medidas de bioseguridad personales necesarias en un laboratorio de Virología.
2. Características de los medios de cultivo que se utilizan en Virología.



3. Esquematizar las diluciones seriadas y diluciones logarítmicas.

Observaciones: Se debe tener conocimiento en el cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada, así como el llenado de bitácora correspondiente.

Bibliografía:

Básica:

MacLachlan, N.J. and Dubovi, E.J. 2011. Fenner's Veterinary Virology. Fourth edition. Academic Press. Elsevier. USA. ISBN: 9780123751584. Clasificación: SF 780.4.F46 2011.

Mahy, B.W.J. and van Regenmortel, M.H.V. 2010. Desk Encyclopedia of Animal and Bacterial Virology. Academic Press, Elsevier. Ca., USA. ISBN: 9780123751447. Clasificación: QR 358.D475 2010.

FMVZ. 2013. Manual de prácticas de laboratorio de Virología. Segunda edición. FMVZ, UAEM. México.

Manual de prácticas de Virología. Tesis. FMVZ, UAEM. 2004.

Complementaria:

Quinn, P.J.; Markey, B.K.; Leonard, F.C.; Hartigan, P. and Fitzpatrick, E.S. 2011. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Wiley- Blackwell. London. ISBN: 9781405158237. Clasificación: SF 780.2.V48 2016.

Biberstein, E.I. and Zoo, Y.H. 1991. Review of Veterinary Microbiology. Blackwell Scientific Pub. Inc. USA. ISBN: 0-86542-085-8. Clasificación: SF 780.2 R49.

<http://oie.int/es> OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). Paris.

<http://www.sagarpa.gob.mx/quienesomos/datosabiertos/senasica/Paginas/default.aspx> SAGARPA, SENASICA. México.

Unidad	Número de la practica
2. Estrategias de replicación de los virus.	2

Práctica: Inoculación de un virus animal en embrión de pollo y demostrar la replicación del virus del Newcastle e identificar el daño en el hospedador



susceptible mediante la propiedad hemoaglutinante del virus de Newcastle.

Objetivo: Mediante el fenómeno de la replicación viral desde el punto de vista teórico, el alumno conocerá en el huésped susceptible el efecto producido del virus a través de la vía de inoculación y comparar este efecto en las diferentes diluciones inoculadas en el líquido del embrión.

Materiales, reactivos y equipo:

Realización: En el laboratorio de prácticas multidisciplinario de la Facultad.

Material: Tubos con tapón de rosca estériles, pipetas estériles de 1ml., jeringas de tuberculina de 1ml. con aguja, gradilla para tubos, bolsas de plástico, bombilla de bioseguridad, ovoscopio, perforador de huevo, tijeras rectas, pinzas de disección, placa de vidrio, puntas de plástico, lápiz marcador. Solución salina fosfatada (PBS), resistol blanco (sellador). Embrión de pollo libre de patógenos específicos de preferencia, virus del Newcastle, suspensión de eritrocitos al 10%. Agitador Vortex, incubadora a 37 °C, cuarto oscuro. Frasco con torundas en alcohol al 70%, toallas absorbentes, recipiente con hipoclorito de sodio al 2% para las placas de vidrio.

Desarrollo:

- a) Revisar la viabilidad del huevo embrionado.
- b) Identificar las diluciones.
- c) Desinfectar y perforar el huevo.
- d) Realizar la dilución del virus de forma logarítmica.
- e) Inocular de la siguiente forma: iniciando con la dilución mayor a la menor y con la misma jeringa: 0.1ml (200µl) de virus por vía alantoidea del embrión. Utilizando cinco embriones por dilución.
- f) Incubar el embrión inoculado a 37°C por 7 días con humedad alta.

Resultados:

- a) Al final de las 72 horas: abrir el embrión iniciando con la dilución mayor a



la menor.

- b) Con pipeta de seguridad y una punta de plástico: depositar 50 µl de una suspensión de glóbulos rojos al 10% en cada cuadro que corresponderá a cada embrión.
- c) Con pipeta y utilizando una punta por cada embrión: extraer: 50 µl de líquido alantoideo, por cada embrión, y depositarlo en cada cuadro.

	Embrión 1	2	3	4	5
10-1					
10-2					
10-3					
10-4					
10-5					
10-6					

- d) Mezclar los reactivos y mover circularmente por 30 segundos.
- e) Observar: presencia de grumos será positivo, ausencia de estos será negativo.
- f) Registrará los datos y Cuantificar el título del virus en $DIEP_{50}$

Nota: El título del virus obtenido en esta práctica servirá de referencia para la práctica número 4 de la unidad de competencia de diagnóstico.

Cuestionario:

1. ¿Qué es el aislamiento viral?
2. ¿Cómo se puede determinar la replicación de un virus en el embrión de pollo?
3. ¿Por qué un coronavirus aviar provoca la muerte u otros efectos en el embrión de pollo?
4. Determinar el título del virus $DIEP_{50\%}$, por el método de Reed y Muench o Spearman-Karber.



Observaciones: Se debe tener conocimiento en el cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada, así como el llenado de bitácora correspondiente.

Bibliografía:

Básica:

MacLachlan, N.J. and Dubovi, E.J. 2011. Fenner's Veterinary Virology. Fourth edition. Academic Press. Elsevier. USA. ISBN: 9780123751584. Clasificación: SF 780.4.F46 2011.

Mahy, B.W.J. and van Regenmortel, M.H.V. 2010. Desk Encyclopedia of Animal and Bacterial Virology. Academic Press, Elsevier. Ca., USA. ISBN: 9780123751447. Clasificación: QR 358.D475 2010.

FMVZ. 2013. Manual de prácticas de laboratorio de Virología. Segunda edición. FMVZ, UAEM. México.

Manual de prácticas de Virología. Tesis. FMVZ, UAEM. 2004.

Complementaria:

Quinn, P.J.; Markey, B.K.; Leonard, F.C.; Hartigan, P. and Fitzpatric, E.S. 2011. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Wiley- Blackwell. London. ISBN: 9781405158237. Clasificación: SF 780.2.V48 2016.

Biberstein, E.I. and Zoo, Y.H. 1991. Review of Veterinary Microbiology. Blackwell Scientific Pub. Inc. USA. ISBN: 0-86542-085-8. Clasificación: SF 780.2 R49.

<http://oie.int/es> OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). Paris.

<http://www.sagarpa.gob.mx/quienesomos/datosabiertos/senasica/Paginas/default.aspx> SAGARPA, SENASICA. México.

Unidad	Número de la practica
3. Patogénesis viral.	3

Práctica: Inoculación de un coronavirus aviar en el embrión de pollo.

Objetivo o competencia de la práctica:

En esta práctica, el alumno inoculará el virus por la vía específica en el embrión de pollo para que este virus se replique y finalmente demuestre u observe los



efectos inducidos, los interprete y diferencie como los virus utilizan diferentes estrategias o mecanismos de replicación en el huésped susceptible.

Materiales, reactivos y/o equipo:

Realización: En el laboratorio de prácticas multidisciplinario de la Facultad.
Virus de la bronquitis infecciosa aviar. Embrión de pollo libre de patógenos específicos. Diluyente PBS. Cuarto oscuro, ovoscopio, lámpara de luz. perforador de huevo, torundas de algodón con alcohol, tubos con tapón de rosca estériles, pipetas de 1 ml estériles, bombilla de bioseguridad, incubadora a 37 °C, jeringas de 1 ml con aguja, lápiz marcador, sellador (resistol blanco), bolsas de plástico, pinzas de disección, tijeras rectas, recipiente con desinfectante hipoclorito de sodio al 2%, gradilla para tubos.

Desarrollo:

- a) Revisar la viabilidad del huevo embrionado.
- b) Desinfectar, perforar el huevo e identificar las diluciones.
- c) Realizar la dilución del virus de forma logarítmica.
- d) Inocular el virus diluido de la siguiente forma: iniciar con la dilución mayor a la menor y con la misma jeringa: 0. 2ml (200 ml) por embrión.
- e) Sellar el embrión inoculado e incubar a 37°C durante 7 días en presencia de humedad alta.

Resultados:

- a) Al final del tiempo de incubación: extraer cuidadosamente el embrión con pinzas y tijeras.
- b) Colocar el embrión en cada cuadro de la placa de vidrio, iniciando con la dilución mayor a la menor.

	Embrión 1	2	3	4	5
10-1					
10-2					
10-3					



10-4						
10-5						
10-6						

- c) Observará el efecto y los cambios producidos por el virus: hemorragia o muerte del embrión y otras alteraciones será positivo, ausencia de esta será negativo.
- d) Registrar los datos en su cuaderno:

Cuestionario:

1. Describa la patogénesis observada.
2. Mencione otros virus de la familia *Coronaviridae*.
3. Calcular la DIEP_{50%}, por el método de Reed y Muench o Spearman-Kärber.

Observaciones: Se debe tener conocimiento en el cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada, así como el llenado de bitácora correspondiente.

Bibliografía:

Básica:

MacLachlan, N.J. and Dubovi, E.J. 2011. Fenner's Veterinary Virology. Fourth edition. Academic Press, Elsevier. USA. ISBN: 9780123751584. Clasificación: SF 780.4.F46 2011.

Mahy, B.W.J. and van Regenmortel, M.H.V. 2010. Desk Encyclopedia of Animal and Bacterial Virology. Academic Press, Elsevier. Ca., USA. ISBN: 9780123751447. Clasificación: QR 358.D475 2010.

FMVZ. 2013. Manual de prácticas de laboratorio de Virología. Segunda edición. FMVZ, UAEM. México.

Manual de prácticas de Virología. Tesis. FMVZ, UAEM. 2004.

Complementaria:



Quinn, P.J.; Markey, B.K.; Leonard, F.C.; Hartigan, P. and Fitzpatric, E.S. 2011. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Wiley- Blackwell. London. ISBN: 9781405158237.

Clasificación: SF 780.2.V48 2016.

Biberstein, E.I. and Zoo, Y.H. 1991. Review of Veterinary Microbiology. Blackwell Scientific Pub. Inc. USA. ISBN: 0-86542-085-8. Clasificación: SF 780.2 R49.

<http://oie.int/es> OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). Paris.

http://www.sagarpa.gob.mx/quienesomos/datosabiertos/senasica/Paginas/defa_ult.aspx SAGARPA, SENASICA. México.

Unidad	Número de la practica
4. Práctica: Inhibición de la hemaglutinación HI	4

Objetivo o competencia de la práctica

El alumno conocerá el fundamento de la prueba de como los virus con propiedad hemoaglutinante pueden ser neutralizados por los anticuerpos específicos presentes en el suero de los animales, lo que le permitirá diseñar programas de vacunación para protección de la salud animal ante ciertas enfermedades.

Materiales, reactivos y/o equipo:

Ha: Centrifuga clínica 5000 r.p.m., tubos con tapón de rosca estériles de 13x100 mm, pipetas de 10 ml, matraz de 250 ml, jeringas de 10 ml con aguja, microplaca de 96 pozos fondo en “U”, multipipeta de 12 canales de 100 µ., microplaca de 50-100 µl, reloj marcador de tiempo. Anticoagulante Alsever 50 ml, diluyente solución salina fosfatada (PBS) estéril 250 ml, ave de 3-5 semanas de edad. Frasco con alcohol al 70%, toallas absorbentes, recipiente con desinfectante hipoclorito de sodio al 2%.

HI: Reloj marcador, microplaca fondo en “U”, multipipeta y micropipeta de 50-100 µl. Suspensión de eritrocitos de ave 0.75%, sueros de animales a titularse, antígeno estandarizado en unidades Ha, solución salina fosfatada (PBS). Pizeta con alcohol al 70%, toallas absorbentes, recipiente con solución desinfectante de



hipoclorito de sodio al 2%.

Desarrollo:

- a) Ha: Sangrar al ave utilizando el anticoagulante Alsever a partes iguales de sangre.
- b) Lavar los eritrocitos de ave a 1500 r.p.m. por 5 minutos. Repetir este paso tres veces con PB
- c) . Realizar una suspensión de eritrocitos 0.75% en PBS.
- d) En microplaca diluir el virus como se describe:

Columna:

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

Fila: A

B

C

D

E

F

G

H

- e) Depositar en A1 hasta A11: por pozo 50µl de virus con 10 UHa.
- f) Depositar en A1: 50µl de suero.
- g) Diluir el suero y virus de A1, pasar 50µl a A2, mezclar y pasar 50 µl y así sucesivamente hasta A11. Descartar 50 ml de virus en desinfectante.
- h) Depositar en A12: 50 µl de PBS.
- i) Depositar en B1 hasta B12: 50 µl de BS
- j) Depositar en B1: 50 µl de virus.
- k) Incubar 30 minutos a temperatura de laboratorio.
- l) Diluir el virus de B1: y pasar 50 µl a B2, mezclar y pasar a B3 y así sucesivamente hasta B11, descartar 50 ml finalmente en el desinfectante.



- m) Agregar 50 μ l de suspensión de glóbulos rojos al 0.75% a los pozos:
- n) A1 hasta A12; B1 hasta B12.
- o) Incubar de 30 a 45 minutos a temperatura de laboratorio.

Resultados:

Lectura e interpretación:

- a) Presencia de grumos “eritrocitos aglutinados” significa ausencia de anticuerpos. La formación de un “botón” o eritrocitos sedimentados: significa la presencia de anticuerpos en el suero.

Cuestionario:

1. Describir el fundamento teórico de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación.
2. Mencionar el uso y aplicaciones de la prueba.
3. ¿Qué otros virus poseen propiedad hemoaglutinante?.
4. Describirá la aplicación de la prueba de inhibición de la hemoaglutinación.

Observaciones: Se debe tener conocimiento en el cuidado y bienestar animal, descripción del proceso, seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte de quien lo genere, en caso de que sea un producto de la actividad realizada, así como el llenado de bitácora correspondiente.

Bibliografía:

Básica:

- MacLachlan, N.J. and Dubovi, E.J. 2011. Fenner's Veterinary Virology. Fourth edition. Academic Press. Elsevier. USA. ISBN: 9780123751584. Clasificación: SF 780.4.F46 2011.
- Mahy, B.W.J. and van Regenmortel, M.H.V. 2010. Desk Encyclopedia of Animal and Bacterial Virology. Academic Press, Elsevier. Ca., USA. ISBN: 9780123751447. Clasificación: QR 358.D475 2010.
- FMVZ. 2013. Manual de prácticas de laboratorio de Virología. Segunda edición. FMVZ, UAEM. México.
- Manual de prácticas de Virología. Tesis. FMVZ, UAEM. 2004.



Complementaria:

Quinn, P.J.; Markey, B.K.; Leonard, F.C.; Hartigan, P. and Fitzpatric, E.S. 2011. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Wiley- Blackwell. London. ISBN: 9781405158237.

Clasificación: SF 780.2.V48 2016.

Biberstein, E.I. and Zoo, Y.H. 1991. Review of Veterinary Microbiology. Blackwell Scientific Pub. Inc. USA. ISBN: 0-86542-085-8. Clasificación: SF 780.2 R49.

<http://oie.int/es> OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). Paris.

http://www.sagarpa.gob.mx/quienesomos/datosabiertos/senasica/Paginas/defa_ult.aspx

SAGARPA, SENASICA. México.