

## PROGRAMA del curso de VIROLOGÍA FUNDAMENTAL 2024

**Equipo docente:** Mabel Berois, Adriana Delfraro, Sandra Frabasile, Natalia Ramos, Lucía Moreira, Germán Botto

**Docentes invitados:** Alvaro Pittini, Sabina Vidal, Virginia Bengochea, Pablo Fagundez y Natalia Olivero.

**Coordinación:** Sandra Frabasile

### TEMAS.

#### 1. Introducción. Los virus: historia de la virología. Taxonomía viral.

(1 teórico de 2hs.)

Principales características de los virus. Diferencias con otros agentes infecciosos. Historia de la virología y principales métodos utilizados para su descubrimiento. Definición de virus. Ejemplos de enfermedades virales erradicadas y problemática actual de emergencia viral. Principios de taxonomía viral.

#### 2. Morfología y estructura viral.

(1 teórico de 2hs.)

Concepto de Virión, viroides y priones. Elementos básicos de la estructura viral: Unidad estructural, capsómero, cápside, nucleocápside. Estructuras basadas en simetría que utilizan los virus: Helicoidal, icosaédrica y compleja. Morfología de virus desnudos y envueltos.

#### 3. Relación virus célula.

(1 teórico de 2hs.)

Receptores virales y celulares. Interacción a nivel de receptores en virus envueltos y virus desnudos. Conceptos de células permisivas y no permisivas. Interacción con distintas etapas de la maquinaria celular; transcripción y traducción celular. Tipos de infección.

#### 4. Genética de virus.

(1 teórico de 2hs.)

Principales conceptos vinculados a la estructura de los genomas virales y la función de sus genes. Características singulares del genoma del virus comparado con otros organismos. Ruptura de dogmas. Diversidad de los genomas virales. Mecanismos que actúan sobre el genoma viral y su efecto en la evolución e interacción del virus con el huésped. Mutación. Recombinación. Reordenamiento.

#### 5. Generalidades de la multiplicación viral

(1 teóricos de 2hs.)

Etapas fundamentales de la multiplicación. Mecanismos de entrada a la célula hospedadora. Estrategias de transcripción y replicación en virus ARN. Maduración y mecanismos de egreso.

## **6. Respuesta a la infección viral**

(1 teóricos de 2hs.)

Mecanismos de defensa antiviral. Mecanismos no celulares. Compuestos químicos con acción antiviral en las distintas etapas del ciclo replicativo. Mecanismos celulares: apoptosis, ARN interferente, autofagia. Síntesis de elementos de defensa antiviral: síntesis y acción de interferón, mecanismos virales anti-interferón.

## **7. Patogénesis viral.**

(1 teórico de 2hs.)

Determinantes de patogenicidad. Determinantes de enfermedad. Puerta de entrada de la infección, dispersión (neural, hemática), invasividad, excreción y diseminación. Eventos estocásticos y cuellos de botella del hospedero en la patogénesis de las infecciones virales. Inmunopatología.

## **8. Transformación celular por virus.**

(1 teórico de 2hs.)

Conceptos generales. Propiedades de las células transformadas. Mecanismos de transformación celular por Retrovirus y por virus ADN tumorales. Virus del papiloma humano como ejemplo de virus oncogénico, su situación mundial y local en la era de una vacuna disponible.

## **9. Vacunas virales.**

(1 teórico de 2hs.)

Introducción y breve reseña histórica. Casos emblemáticos en el progreso de las vacunas virales. Tipos de vacunas virales. Proceso de desarrollo de una vacuna viral. Ejemplos de desarrollo de vacunas virales.

## **10. Virus emergentes.**

(1 teóricos de 2hs.)

Concepto de emergencia y reemergencia. Factores involucrados en la emergencia de patógenos virales. Principales virus emergentes de los últimos 20 años. Reseña histórica. Virus zoonóticos y de transmisión vectorial. Situación actual en las Américas.

## **11. Evolución viral.**

(1 teóricos de 2hs.)

Teorías sobre el origen de los virus. Evolución de virus ADN y ARN. Concepto de cuasiespecie. Variabilidad antigénica y genética. Mutación, recombinación, reordenamiento. Modelos evolutivos en virus ARN: Virus Respiratorio Sincicial Humano, VIH, Influenza A, Hantavirus. Virus emergentes. Factores que influyen en la emergencia viral.

## **12. Diagnóstico virológico**

(1 teóricos de 2hs.)

Bioseguridad. Obtención de la muestra clínica. Métodos directos: detección de antígenos virales, microscopía electrónica. Métodos indirectos: detección de anticuerpos por ELISA IFI, PRNT. Biología molecular como herramienta de diagnóstico, RT-PCR, qPCR, hibridación, secuenciación aplicada al diagnóstico.

### **13. Modelos de replicación viral**

(1 teórico de 2hs)

Replicación de virus ARN: Orthomyxoviridae, Picornaviridae, Paramyxoviridae, Reoviridae, Arenaviridae, Bunyaviridae, Retroviridae, Hepadnaviride. Estrategias de transcripción y replicación en virus ADN. Modelos: Herpesviridae, Adenoviridae, Papillomaviridae.

### **14. Inmunología viral.**

(1 teóricos 2hs)

Fases de la respuesta inmune a la infección: inmunidad innata: elementos de la respuesta inmune innata acción y mecanismo virales de defensa. Inmunidad adquirida: elementos de la respuesta y mecanismos virales de defensa.

### **15. Vectores virales**

(1 teórico de 2hs.)

Genomas virales como vectores de genes para expresión. Características de los virus para su uso como una herramienta. Conceptualización de los virus como unidades transductantes. Tipos de vectores virales y sus aplicaciones. Construcción y optimización de un vector viral.

### **16. Virus en el ambiente.**

(1 teórico de 2hs.)

Estudio de los virus, como organismos capaces de sobrevivir en diferentes matrices ambientales y su influencia sobre los ecosistemas a través de la modulación del tamaño de las poblaciones microbianas, afectando los ciclos biogeoquímicos y en el flujo de genes. Transmisión de virus patógenos a través de matrices ambientales y alimentos, su impacto en estado sanitario de las poblaciones y en la emergencia de enfermedades.

### **17. Virus gigantes.**

(1 teórico de 2hs.)

Descubrimiento, estructura morfológica, comparación del tamaño con otros agentes infecciosos, la nueva idea de virus que se pueden visualizar al microscopio óptico. Replicación.

### **18. Virus Vegetales: Características Generales e Interacción con sus plantas hospedadoras.**

(1 teórico de 2hs.)

Virus de plantas: Importancia. Características generales y clasificación. Transmisión. Sintomatología y diagnóstico. Dispersión en la planta. Estrategias de replicación. Interacción virus-planta: mecanismos de resistencia a virus. Inducción de silenciamiento génico mediado por virus. Viroides: características generales, replicación y dispersión.

### **19. Virus con impacto en producción animal.**

(1 teórico 2hs)

Emergencia de virus que afectan a la producción animal, centrada en infecciones en piaras de cerdos y en fauna silvestre.

### **20. Análisis filogenético.**

(1 teórico 2hs)

Fundamentos y métodos: distancia, parsimonia, máxima verosimilitud, bayesianos. Métodos de alineamiento. Confidencialidad estadística: bootstrap, Jackknife, likelihood ratio test.

### **21. Modelado de enfermedades infecciosas**

(1 teórico 2hs)

Introducción a modelos matemáticos aplicados a los estudios de conectividad de virus en fauna silvestre como modelado de enfermedades infecciosas y ecología viral.

### **22. Técnicas aplicadas a la búsqueda de herramientas para combatir las infecciones virales y procesos de escalamiento y desarrollo de kits diagnósticos**

(1 teórico de 2hs.)

Se abordarán temas referentes a nanotecnología aplicada al estudio de virus (desde la mesada) y el escalado en la producción de kits de diagnóstico virológico (a la producción).

### **23. Seminarios**

(2 seminarios de 2 hs c/u)

Los estudiantes presentan el análisis de trabajos científicos y problemas de virología de temas abordados en el curso.

### **24. El laboratorio de virología.**

(9 teóricos de 1hs.)

1. Aislamiento viral: cultivos celulares, huevos embrionados, animales de experimentación.
2. Identificación: efecto citopático, inmunofluorescencia (modelo Dengue virus), ELISA.
3. Cuantificación viral: plaqueo, Dosis letal / infectante 50, hemoaglutinación.
4. Análisis de los componentes virales: virus ARN doble cadena. Modelo Rotavirus
5. Análisis de ácidos nucleicos virus ARN simple cadena : modelo RT-PCR modelo RSV
6. Análisis de ácidos nucleicos virus ARN simple cadena: modelo nested PCR modelo Alfavirus.

7. Análisis de secuencias: interpretación de cromatogramas, alineamiento,.
8. Taller de construcción de árboles filogenéticos modelo Hantavirus.
9. Aislamiento de virus gigantes : modelo Mimivirus.

### PRÁCTICO

1. Reconocimiento de principales equipos para trabajar en virología.
2. Sustratos Biológicos. Cultivos celulares y requerimientos para trabajar con los mismos. Preparación de cultivos celulares de línea.
3. Aislamiento de virus. Infección de cultivos celulares. Inoculación de huevos embrionados con azul de metileno.
4. Identificación de virus. Observación de Efecto Citopático (ECP) producido por diferentes virus. Técnicas serológicas: Inmunofluorescencia, ELISA. (Modelo Virus Respiratorio Sincitial).
5. Titulación de virus. Métodos de titulación. Técnica de Hemoaglutinación (Modelo Virus Influenza) Cálculo del título viral en ensayo de plaqueo viral (Modelo Virus del Herpes Simple tipo 1).
6. Análisis molecular de los componentes virales: Ácidos Nucleicos.
  - 6.1- Extracción de ARN viral y análisis en gel de agarosa (Modelo Rotavirus).
  - 6.2- Técnica de retrotranscripción y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) para amplificar fragmentos genómicos.
  - 6.3- Técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar fragmentos genómicos.
7. Virus gigantes: crecimiento del virus en amebas y observación en microscopio óptico (Modelo Mimivirus).
8. Análisis de secuencias: interpretación de cromatogramas, alineamiento, construcción de árboles filogenéticos.

**Observación:** En cada una de las actividades se trabajará con modelos virales de uso rutinario en el laboratorio de la Sección Virología. Todos los virus que se trabajan en el curso práctico corresponden a Nivel de Bioseguridad 2 y serán manipulados de acuerdo con las normas de manejo específico de cada uno de ellos.

### BIBLIOGRAFÍA

- DOMINGO E. 1994. Virus en evolución. Madrid. Eudema Universidad. ISBN: 9788477541912
- DOMINGO E, Webster R, Holland J. (Ed.) 1999. Origin and evolution of viruses. London. Academic Press. ISBN-10: 0122203607
- DOMINGO, E. 2016. Virus as populations : composition, complexity, dynamics, and biological implications. Waltham, MA : Elsevier, xvi, 412 p. : il.. Disponible en Biblioteca Facultad de Ciencias. ISBN: 978-0-12-800837-9
- FIELDS B, KNIPE D, Virology. Volúmenes 1 y 2. Raven Press. New York.

- FLINT SJ, et al. 2015. Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control (4th edition). Washington D.C.: ASM Press. Disponible en Biblioteca Facultad de Ciencias.
- KNIPE DM, Howley PM; Griffin DE, ... [et al.].(Ed.) 2013. Fields' virology. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. 2 v. (xix, 2456, 82 p.) Disponible en Biblioteca Facultad de Ciencias.
- MACHIDA, CA. (Ed.). 2003. Viral Vectors for Gene Therapy. Methods and Protocols. 1<sup>st</sup> edition. Humana Press. ISBN: 978-1617373084. Disponible en versión electrónica en sitio EVA del curso.
- WEAVER S., Denison M., Roossinck M and Vignuzzi M.(Ed.). 2016. Virus Evolution: Current Research and Future Directions. 1st edition. Caister Academic Press. ISBN: 978-1-910190-23-4. Disponible en Biblioteca de Facultad de Ciencias.
- YAMASHITA M, Kristal M, Fitch W. and Palese P. 1988. "Influenza B virus evolution, cocirculating lineages and comparison of evolutionary pattern with those of Influenza A and C viruses". Virology, 163: 112 – 122. Disponible en versión electrónica en sitio EVA del curso.