

19 FEB 2020

Nombre del curso o unidad curricular: VIROLOGIA FUNDAMENTAL



Licenciaturas: Bioquímica, Ciencias Biológicas

Frecuencia y semestre de la formación al que pertenece la unidad curricular: Se dicta todos los años en semestre impar

Créditos asignados:

Ciencias Biológicas 11 (Tramo Orientación- Área Celular y Molecular)

Bioquímica 11 (Área Electivas)

Nombre del/la docente responsable de la unidad curricular y contacto: Adriana Delfraro
(adelfraro@gmail.com, adriana@fcien.edu.uy)

Requisitos previos: Se requieren conocimientos básicos de microbiología (tipos de microorganismos, organización), genética (estructura y síntesis de ácidos nucleicos y proteínas), fundamentos de biología celular (la célula eucariota, organización, tipos celulares, metabolismo celular)

Ejemplos unidades curriculares de Facultad de Ciencias u otros que aportan dichos conocimientos: Biología Celular, Microbiología (de Facultad de Ciencias o Facultad de Química), Bioquímica

Conocimientos adicionales sugeridos:

Se sugieren conocimientos básicos de inmunología (concepto de sistema inmune, características de la inmunidad innata y adaptativa, inmunidad humoral y celular)

Objetivos de la unidad curricular:

a) Herramientas, conceptos y habilidades que se pretenden desarrollar en la unidad curricular

El curso de Virología fundamental tiene como objetivo acercar al estudiante a los conocimientos actuales sobre los virus y la virología como disciplina, abarcando el estudio de estos agentes infecciosos como patógenos, así como su utilización como herramientas moleculares.



b) En el marco del plan de estudios

El curso pertenece al área biológica del plan de estudios. El curso de Virología Fundamental pretende dar una visión amplia y moderna de la virología, abarcando los conocimientos generales sobre los virus y su interacción con la célula y el organismo como agentes patógenos, así como su uso como herramientas moleculares.

Se pretende brindar una visión actualizada sobre la diversidad y evolución de estos patógenos, así como los desafíos que representan estos patógenos para la salud humana y animal (emergencia viral, vacunas, antivirales). El curso tiene un importante contenido práctico, donde el estudiante se familiarizará con las principales metodologías para el estudio de los virus, abarcando desde los cultivos celulares y el aislamiento viral, cuantificación, análisis serológico y molecular, y vectores virales.

En el marco de la formación profesional, ¿qué herramientas aporta esa unidad curricular en la formación profesional de ese estudiante?

Se pretende dotar al estudiante de herramientas para su posible participación tanto en grupos de investigación en virología (animal, humana, ambiental), grupos de investigación donde los virus puedan ser utilizados como herramientas biotecnológicas o en actividades relacionadas con laboratorios clínicos. Asimismo, se intenta promover una actitud crítica durante el curso que le permita al estudiante discutir los problemas planteados. Destacando además la importancia de esta disciplina en el momento científico actual y su utilización en otras áreas, así como su contribución al conocimiento científico en general.

Temario sintético de la unidad curricular:

En el curso de Virología fundamental se abordarán temas esenciales que brinden una sólida formación en Virología. El curso introduce al estudiante en los aspectos fundamentales de la biología de virus animales, vegetales, bacteriófagos y virus gigantes. Cuenta con un fuerte componente práctico, que acerca al estudiante al trabajo con virus, abordando temas como: aislamiento e identificación viral, cuantificación, caracterización de los componentes moleculares, generación de vectores virales, etc.

Asimismo, se intenta promover una actitud crítica que permita al estudiante discutir los problemas planteados, destacando la importancia de esta disciplina en el momento científico actual y su utilización en otras áreas del conocimiento.

Temario desarrollado:

TEÓRICOS

1. Introducción. Los virus: historia de la virología. Taxonomía viral.
(1 teórico de 2hs.)

Principales características de los virus, ¿pueden ser considerados seres vivos. 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, icosáedrica 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 de los 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. Multiplicación viral

(2 teóricos de 2hs.)

Etapas fundamentales de la multiplicación. Mecanismos de entrada a la célula hospedadora. Estrategias de transcripción y replicación en virus ARN. Modelos: Orthomyxoviridae, Picornaviridae, Paramyxoviridae, Reoviridae, Arenaviridae, Bunyaviridae, Retroviridae, Hepadnaviridae. Estrategias de transcripción y replicación en virus ADN. Modelos: Herpesviridae, Adenoviridae, Papillomaviridae. Maduración y mecanismos de egreso.

6. Respuesta a la infección viral

(2 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. 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.

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. 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 transducentes. Reseña histórica del desarrollo de los virus como vectores: avances y retrocesos. Tipos de vectores virales. Construcción y optimización de un vector viral. Ejemplos de vectores virales y sus aplicaciones.

10. Evolución viral.

(2 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. Análisis filogenético. Fundamentos y métodos: distancia,



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

11. Mimivirus. Mamavirus.

(1 teórico de 2hs.)

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

12. Bacteriófagos.

(1 teórico de 2hs.)

Historia del descubrimiento de los fagos, primeras Microfotografías. Clasificación de los bacteriófagos. Familias. Morfología. Infección de Fagos. Ciclo Lítico y Lisogénico. Aplicaciones de Fagos. Concepto de Virófagos. Evolución y ecología. ¿Por qué fagos? Los fagos como el gran modelo para estudios de evolución viral.

13. 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.

14. Diagnóstico virológico

(2 teóricos de 2hs.)

Bioseguridad. Obtención de la muestra clínica. Fichas epidemiológicas. Métodos directos: aislamiento, 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.

15. 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.

16. Virus en el ambiente.

(1 teórico de 2hs.)

Un enfoque desde la virología ambiental al estudio de los virus, como organismos capaces de sobrevivir en diferentes matrices ambientales. La influencia de los virus presentes en matrices ambientales sobre los ecosistemas a través de la modulación del tamaño de las poblaciones microbianas, afectando los ciclos biogeoquímicos y en el flujo de genes. La 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, así como en la toma de medidas de gestión y el control de dichas matrices.

17. Virus emergentes.

(2 teóricos de 2hs.)

Concepto de emergencia y re-emergencia. 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.

18. El laboratorio de virología.

(10 teóricos de 1hs.)

Aislamiento viral: cultivos celulares, huevos embrionados, animales de experimentación.

Identificación: efecto citopático, inmunofluorescencia, ELISA. Cuantificación viral: plaqueo, Dosis letal / infectante 50, hemoaglutinación. Análisis de los componentes virales: virus ARN. Modelo Rotavirus, hepatitis E. Virus ADN: Modelo papilomavirus. Análisis de secuencias: interpretación de cromatogramas, alineamiento, construcción de árboles filogenéticos. Producción de un vector viral: Modelo HSV-1.

Aislamiento de Mimivirus. Aislamiento de Bacteriófagos.

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 (RTPCR) para amplificar fragmentos genómicos (Modelo Virus de la Hepatitis E).
 - 6.3- Técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar fragmentos genómicos.
 - 6.4- RFLP sobre fragmentos de PCR para genotipificación (Modelo Virus del Papilloma Humano).
7. Bacteriófagos: cultivo, ensayo de lisis en bacterias y titulación (Modelo MS2).
8. Vectores virales: producción de un vector viral defectivo y titulación (Modelo Virus del Herpes Simple tipo 1).
9. Virus gigantes: crecimiento del virus en amebas y observación en microscopio óptico (Modelo Mimivirus).
10. 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 a emplear en el curso práctico corresponden a Nivel de Bioseguridad 2 y serán manipulados de acuerdo a las normas de manejo específico de cada uno de ellos.

Bibliografía

a) Básica:

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

KNIFE DM, Howley PM Griffin DE, et al.. Fields' virology. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams Wilkins. 2 v. (xix, 2456, 82 p.) : Edición 2013 disponible en Biblioteca Facultad de Ciencias.

MACHIDA, CA. (Ed.). 2003. Viral Vectors for Gene Therapy. Methods and Protocols. 1st 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. 1 st edition. Caister Academic Press. I SBN: 978-1-910190-23-4. Disponible en Biblioteca de Facultad de Ciencias

WEBSTER RG, Granoff, A.(Ed.) 1994. Encyclopedia of Virology. London. Academic Press. 3 v : Disponible en Biblioteca Facultad de Ciencias.

CANN A. 2016. Principles of molecular virology. Academic Press. Disponible en Biblioteca Facultad de Ciencias.

CARTER J., SAUNDERS V. 2013. Virology: principles and applications. Disponible en Biblioteca

Facultad de Ciencias.

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



b) Complementaria:

DOMINGO E, Webster R, Holland J. (Ed.) 1999. Origin and evolution of viruses. London. Academic Press. ISBN-10: 0122203607

DOMINGO E. 1994. Virus en evolución. Madrid. Eudema Universidad. ISBN: 9788477541912

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.

Modalidad cursada: Presencial

Metodología de enseñanza: clases teóricas, prácticos de laboratorio con actividades experimentales realizadas por los estudiantes, seminarios de presentación y discusión de artículos científicos

Carga horaria total: 93

Carga horaria detallada:

a) Horas aula de clases teóricas: 54 semestrales

b) Horas aulas de clases prácticas: 39 semestrales

c) Horas sugeridas de estudio domiciliario durante el período de clase:

Sistema de ganancia de la unidad curricular

Tiene examen final: Si

Se exonera: No

Nota de exoneración (del 3 al 12):

a) Características de las evaluaciones:

Para la aprobación del curso se requiere: 1) 75% de asistencia en el práctico; 2) aprobar una evaluación tipo parcial de los contenidos del curso práctico, **en base a preguntas múltiple opción y abiertas. Se aprueba con el 50% del puntaje total.** 3) la participación en al menos una de las actividades de seminarios, y elaboración de un informe escrito a partir de su participación en los seminarios de discusión.

Para la aprobación de la materia se requiere aprobar **un examen final donde se plantean 5 preguntas abiertas. Se aprueba con el 50% del puntaje total.**

b) Porcentaje de asistencia requerido para aprobar la unidad curricular: 75

c) Puntaje mínimo individual de cada evaluación y total: 50

d) Modo de devolución o corrección de pruebas: Según requerimiento de cada estudiante.

Iguá 4225 esq. Mataojo • 11.400 Montevideo – Uruguay
Tel. (598) 2525 0378 • (598) 2522 947 • (598) 2525 8618 al 23 ext. 7 110 y 7 168 • Fax (598) 2525 8617

