



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
BAHIA BLANCA - ARGENTINA

DEPARTAMENTO DE: BIOLOGÍA , BIOQUÍMICA Y FARMACIA

CURSO DE POSGRADO:

Introducción a la investigación en Virología. Cultivo viral y estudios moleculares.

CODIGO

HORAS CLASE		PROFESOR RESPONSABLE
TEORICAS 18	PRACTICAS 20	Victoria Belen Ayala Peña

REQUISITOS

Ser profesionales o graduados del área de Salud (Bioquímicos, Médicos, Lic. en enfermería, Farmacéuticos, Lic. en Ciencias Biológicas, o carreras afines).

FUNDAMENTACIÓN:

Los virus existen en la naturaleza, han acompañado a la humanidad desde hace miles de años y algunos de ellos poseen efectos nocivos para la salud humana. Los avances tecnológicos en reconocimiento viral han permitido la intervención médico-sanitaria en tiempo real para la atención de los problemas virológicos, tanto sean estos individuales, epidemiológicos, de bioterrorismo, etc. Sin embargo, conocer las propiedades particulares de los virus es fundamental, no sólo en el diagnóstico de enfermedades, sino también para testear y perfeccionar antivirales, e incluso para poder utilizar a los propios virus como herramientas en terapias contra otras enfermedades, tal es el ejemplo de algunas vacunas. Dado que los virus son parásitos genéticos intracelulares obligados, es que el cultivo viral constituye un requisito primordial para realizar estudios adecuados, sin embargo otras caracterizaciones pueden prescindir de su uso recurriendo sólo a la biología molecular. Cuando utilizar una u otra será un eje fundamental en este curso. Para poder comprender sus aplicaciones, profundizaremos en las técnicas de cultivo viral, y se compararán con las de biología molecular a las cuales los alumnos o profesionales están más familiarizados. Este curso contará con la presencia de invitados idóneos en las temáticas mencionadas.

PROPÓSITO DEL CURSO

Brindar herramientas para introducir a los alumnos en la investigación básica en virología, con diversas aplicaciones. Formar recursos humanos capacitados en el área Virología.

OBJETIVOS

Los asistentes al curso aprenderán a:

- Identificar elementos relativos al agente viral, al huésped y al medio que intervienen en un determinado proceso infeccioso.
- Interiorizarse en las metodologías para manipulación viral.
- Conocer ventajas y desventajas de los cultivos virales y sus aplicaciones.
- Reconocer técnicas de purificación viral.
- Conocer técnicas de estudio por biología molecular directamente sobre muestras biológicas.

PROGRAMA SINTÉTICO

Se abordarán las siguientes unidades temáticas: Generalidades de los virus. Estructura del virión. Replicación viral. Prevención y terapia antiviral. Enfermedades virales. Quimioterapia de las infecciones virales. Sistemas biológicos para cultivo viral. Cultivo viral. Manipulación viral, bioseguridad. Aislamiento viral, obtención de stock virales. Biología molecular en la investigación virológica.

PROGRAMA ANALÍTICO

1) Generalidades de los virus.

Introducción. Definición de virus. Historia de los virus. Clasificación. Definiciones. Estructura y composición. Elementos de taxonomía viral. Virofera y Viroma.

Los virus en el mundo microbiano.

2) Partículas virales: Estructura del virión. Función y Formación de Partículas virales. Genoma viral: Taxonomía en función del genoma viral, propiedades virales según el tipo de genoma, expresión de información genética. Genética y evolución viral

3) Multiplicación viral.

Etapas tempranas y tardías del ciclo de multiplicación viral. Fases de la replicación. Principios de multiplicación. Mecanismos generales de patogénesis viral. Curvas de crecimiento.

4) Principales síndromes virales en el hombre.

Enfermedades virales del tracto digestivo, del tracto respiratorio, del sistema nervioso central, genito-urinarias, perinatales y congénitas, hepatitis, y en pacientes inmunocomprometidos.

5) Prevención y terapia antiviral.

RNAi. Terapia génica. Vectores virales. Quimioterapia de las infecciones virales.

6) Sistemas biológicos para cultivo viral.

Cultivos celulares, tipos y características. Tropismo y susceptibilidad. Huevos embrionados. Explantos. Animales. Ventajas y desventajas de cada sistema.

7) Cultivo viral.

Herramientas para caracterizar progenies virales, obtención de vacunas, testeos de compuestos antivirales.

8) Virus y su estudio mediante Biología molecular.
Aplicaciones en la investigación virológica, utilidades, ventajas y desventajas.

TRABAJOS PRÁCTICOS

Se implementará el uso de una didáctica participativa: Indagación de saberes previos – Lluvia de ideas – Debates, y seminarios de invitados idóneos en el tema a desarrollar. En la parte práctica se desarrollará la aplicación de los conceptos adquiridos en la teoría, para que el alumno pueda interpretar los conceptos y aplicarlos.

1) Manipulación de virus en el laboratorio.

Descripción: Se reconocen los distintos niveles de Bioseguridad y niveles de riesgo biológico. Se aprenderá sobre las normas a seguir para la manipulación viral, buenas prácticas de trabajo, barreras primarias y secundarias.

Debate: se plantearán diversas situaciones diarias en el laboratorio y el alumno deberá reconocer eventos erróneos y proponer buenas prácticas o soluciones.

2) Cultivo celular e infección viral.

Descripción: Observación de cultivos de células susceptibles y permisivas a la infección viral crecidas en monocapa en botellas planas y microplacas. Infección con HSV-1, coronavirus, etc.

Debate: los alumnos deberán reconocer cultivos infectados o sin infectar. Se debatirán posibles soluciones a inconvenientes con muestras infectadas de las cuales no podemos recuperar el virus. Se propondrán situaciones en las cuales el soporte de cultivo deba ser elegido por el alumno.

3) Efecto citopático.

Descripción: Observación del efecto citopático generado por diversos virus in vitro. Cuantificación del efecto citopático.

Debate: utilidades de la observación del efecto citopático, cuando recurrir a otras técnicas para evidenciar efecto citopático o infección.

4) Obtención de stock viral.

Descripción: Se reconocerán diversas metodologías para obtener stocks virales. Discusión: Se evaluarán las ventajas y desventajas de las diversas metodologías propuestas.

5) Titulación viral.

Descripción: Se reconocerán las técnicas de titulación de infectividad viral (por UFP o TCID₅₀) y se comparará con la cuantificación del título viral por biología molecular.

Discusión: se reconocerán ventajas y desventajas de cada técnica de titulación.

6) Purificación de virus

Debate: Se reconocerán diversos métodos de purificación viral.

Discusión: cómo elegir el método de purificación según el modelo viral con el que se está trabajando y el equipamiento del laboratorio.

A cargo de la Dra. Cybele García.

7) Uso de los cultivos celulares en el diagnóstico de las infecciones virales de los bovinos.

Descripción: Se abordarán los tipos celulares usados en forma rutinaria para el aislamiento de virus de origen bovino, las muestras de origen bovino que se derivan

frecuentemente al Laboratorio de Virología, el procesamiento básico de las mismas para la inoculación en los cultivos celulares y los métodos utilizados para la identificación del agente viral. Se describirá el uso de los cultivos celulares en la técnica de seroneutralización viral, como una técnica de diagnóstico indirecta en las infecciones virales de los bovinos.

Discusión: se discutirá por qué se utilizan dichos cultivos y las alternativas, ventajas y desventajas del uso de cultivos celulares para el diagnóstico viral.

A cargo de la Dra. Sandra Perez.

8) Genómica de los virus de las hepatitis A y E en Argentina: detección de genomas completos y análisis filogenéticos.

Descripción: El estudio de los genomas de HAV y HEV permite aportar a la comprensión de las interacciones biológicas, ambientales y comunitarias de estos virus. Se expondrán los resultados obtenidos del análisis de secuencias genómicas de HAV y HEV de Argentina, obtenidas de diferentes muestras (humanos, animales y ambientales). Se comparará el estudio de distintas regiones genómicas de un mismo virus y las estrategias de secuenciación de genomas completos.

Discusión: se pretende generar una discusión sobre la información que puede obtenerse del estudio de las secuencias virales. En el caso particular de HAV y HEV, realizar inferencias acerca de la evolución de estos virus y la dinámica de circulación en nuestro país (generación de brotes, fuentes de infección, capacidad de mutación, escape a la vacuna, recombinación, etc.).

A cargo de la Dra. Belén Pisano.

9) Producción de vacunas basadas en cultivo celular

Descripción: Las vacunas son preparaciones producidas con el fin de generar inmunidad contra una enfermedad estimulando la producción de anticuerpos. Hasta la actualidad se han desarrollado cientos de ellas para enfermedades tanto humanas como de otros animales. Para producir vacunas en cultivos celulares tenemos que ser capaces de encontrar una línea celular que cumpla una serie de requisitos: Poder ser infectada con el virus de interés, Crecimiento rápido (manteniendo sus características intactas y sin sufrir alteraciones con los sucesivos pases), Ser susceptible de ser escalada para producción industrial en biorreactores, Demostrarse segura, libre de otros patógenos, etc.

Discusión: ventajas y desventajas de las vacunas producidas en cultivos celulares respecto de las nuevas tecnologías de vacunas basadas en ácidos nucleicos tanto para su uso en clínica como en la industria alimentaria ganadera. Desarrollo y aprobación de vacunas de células presentadores de antígenos, para las que también será necesario el uso de “cultivos celulares”, marcarán otro hito en la historia del desarrollo de la vacunación tanto para las enfermedades que existen hoy, como las que surjan en el futuro.

A cargo de la Dra. Karina Salvatierra.

10) Exposición de seminarios por los alumnos.

Los alumnos expondrán oralmente un trabajo científico, seleccionado por el docente, relacionado a las temáticas dictadas en el curso.

MODALIDAD DEL CURSO:**Teoría:**

-Clases teóricas virtuales asincrónicas, con actividades de aplicación. 16 horas totales. Se utilizará la plataforma Moodle-UNS, sobre la cual se dispondrán el programa del curso, el cronograma y materiales educativos digitales especialmente producidos para esta propuesta, tales como los seminarios de los especialistas y guías de lectura y actividades sugeridas.

-Encuentros de consulta y debate de la teoría, sincrónicos vía Zoom o foros de la plataforma Moodle-UNS. 2 horas totales.

Práctica:

-Trabajos prácticos virtuales asincrónicos, con actividades de debate sobre foros de debate y cuestionarios de aplicación. Tanto los foros de debate como los cuestionarios, se implementarán con las herramientas habituales de Moodle-UNS. 18 horas totales.

-Seminarios sincrónicos vía Zoom, para exposición, por parte de los cursantes, del trabajo práctico 10. 2 horas totales.

EVALUACIÓN Y CONDICIONES DE APROBACIÓN DEL CURSO:

Los instrumentos de evaluación consistirán en:

-Entrega de cuestionarios de autocorrección durante los trabajos prácticos (por vía del aula virtual de Moodle-UNS). Los cuestionarios dispondrán de un máximo de dos intentos para su realización, tomándose en cuenta la mejor calificación obtenida.

-Exposición oral sincrónica (por Zoom) del trabajo práctico 10, en la que se valorará la claridad de la exposición, la comprensión de los contenidos transmitidos, las presentaciones de soporte empleadas. Los profesores realizarán una devolución en base a los criterios mencionados, al finalizar cada exposición.

-Examen escrito de opción múltiple sobre la plataforma Moodle-UNS.

Condiciones para aprobar el curso:

Los cursantes deberán:

- Aprobar los cuestionarios que se completen al finalizar cada trabajo práctico (obteniendo el 60% de la calificación máxima dispuesta).
- Aprobar la exposición oral sincrónica, en base a los criterios establecidos.
- Aprobar el examen escrito de opción múltiple (con un mínimo de 60 sobre 100 puntos)

La composición de la calificación final tendrá en cuenta la valoración de cada uno de los ítems mencionados.

DURACIÓN DEL CURSO: 3 semanas

CRONOGRAMA DEL CURSO

DÍA	TEORÍA	TRABAJOS PRÁCTICOS (TP)	CARÁCTER (SINCRÓNICO/A SINCRÓNICO)
1	-PRESENTACIÓN GENERAL DEL CURSO Responsables: Dras. Ayala, García, Perez, Pisano y Salvatierra. -Introducción a la Virología, generalidades. Responsables: Dra. Ayala.	_____	Asincrónico
2	-Genoma viral, genética y evolución viral. Responsable: Dra. Ayala	_____	Asincrónico
3	- Multiplicación viral. Responsable: Dra. Ayala Se abre el foro de preguntas.	TP1. Bioseguridad y manipulación de virus en el laboratorio.	Asincrónicas

	Responsables: Dras. Ayala, García, Perez, Pisano y Salvatierra.	Responsable: Dra. Ayala	
4	- Sistemas biológicos para cultivo viral. Responsable: Dra. Perez.	TP2. Cultivo celular para la infección viral. Responsable: Dra. Ayala	Asincrónicos
5	- Cultivo viral. Responsable: Dra. García	TP3. Efecto citopático. Responsable: Dra. Ayala	Asincrónicos
6	- Prevención y terapia antiviral Responsable: Dra. Salvatierra	TP4. Obtención de stock viral. Responsable: Dra. Ayala	Asincrónicos
7	- Virus y su estudio mediante Biología molecular Responsable: Dra. Pisano	TP5. Titulación viral. Responsable: Dra. Ayala	Asincrónicos
8	-Principales síndromes virales en el hombre. Responsable: Dra. Ayala	TP6. Purificación de virus. Responsable: Dra. García.	Asincrónicos
9	_____	TP7. Producción de vacunas basadas en cultivo celular. Responsable: Dra. Salvatierra.	Asincrónico
10	_____	TP8. Uso de los cultivos celulares en el diagnóstico de las infecciones virales de los bovinos. Responsable: Dra. Perez.	Asincrónico
11	_____	TP9. Genómica de los virus de las hepatitis A y E en Argentina. Responsable: Dra. Pisano	Asincrónico
12	_____	TP10. Seminario A	Sincrónico. Horario a definir
13	_____	TP10. Seminario B	Sincrónico. Horario a definir
14	_____	TP10. Seminario C	Sincrónico. Horario a definir
15	Cierre del foro	TP10. Seminario D	Sincrónico. Horario a definir
			Examen (día a definir)

BIBLIOGRAFÍA

- Principles of molecular virology. Autor: Alan Cann. ISBN 978-0-12-384939-7. Elsevier 2012. https://www.researchgate.net/profile/Akila_Wijerathna_Yapa2/post/Which_is_the_best_book_to_study_molecular_virology/attachment/59d6207c79197b807797ef1d/AS%3A273680301527040%401442261876240/download/Alan_J._Cann_Principles_of_Molecular_Virology.PDF
- Virología: un enfoque integral de las infecciones virales humanas. Autores: Adamo, María Pilar. ISBN: 9789877601756, 9789877601701. Editorial: Editorial Brujas. Año de Edición: 2018 Disponible en la biblioteca central de la UNS. <http://bc.uns.edu.ar/>
- VIROLOGY. Fields, B., Howley, P., Griffin, D., Martin, M., Roizman, B., Knipe, D. 2001. 4th Edition. (Editor) By Lippincott Williams & Wilkins Publishers