



**UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. FACULTAD DE MEDICINA
II CÁTEDRA DE MICROBIOLOGÍA, PARASITOLOGÍA E INMUNOLOGÍA**

Profesor Titular Consulto: Dr. Norberto Sanjuan

**MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA I
SEMINARIO N° 12:**

GENERALIDADES DE VIROLOGÍA

2024

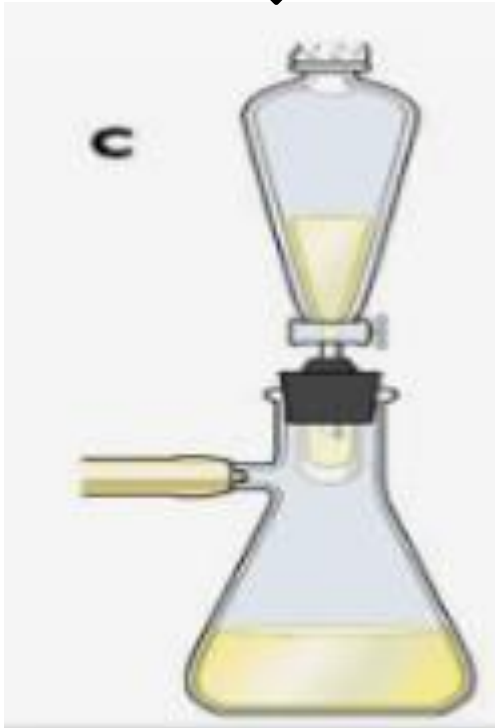
DEFINICIÓN:

**«AGENTES INFECCIOSOS, PARÁSITOS INTRACELULARES
OBLIGADOS».**

NO SON SERES VIVOS PORQUE:

- a. NO TIENEN METABOLISMO PROPIO.**
- b. NO SE REPRODUCEN SINO QUE REPLICAN.**
- c. PUEDEN SER CRISTALIZADOS.**

EL DESCUBRIMIENTO



IVANOVSKY (1872) Y BEIJERINCK (1878) DESCUBREN EL VIRUS DEL MOSAICO DEL TABACO

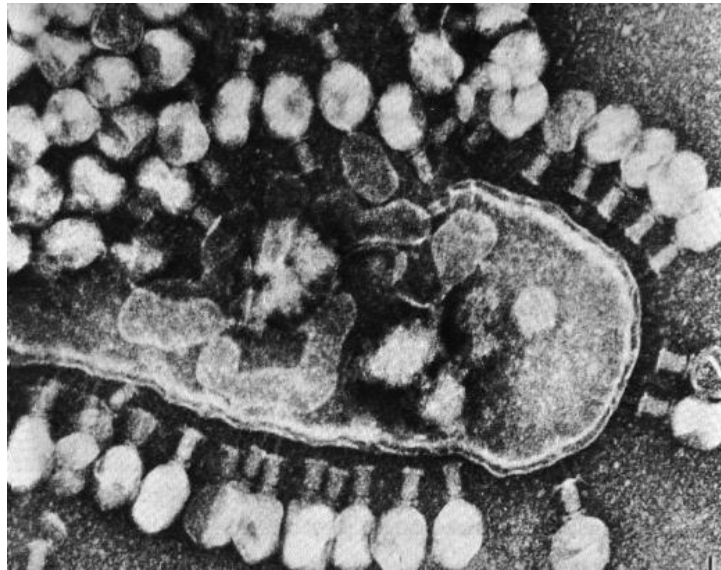
VIRUS DE LAS BACTERIAS: LOS BACTERIÓFAGOS. 1917



FREDERICK TWORT



FELIX D'HERELLE



BACTERIÓFAGOS INFECTANDO UNA BACTERIA. M.E. TINCIÓN NEGATIVA

METODOLOGÍA DEL ESTUDIO DE LOS VIRUS: **ULTRAESTRUCTURA**

ESTRUCTURA VIRAL. LOS VIRUS SE OBSERVAN POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA



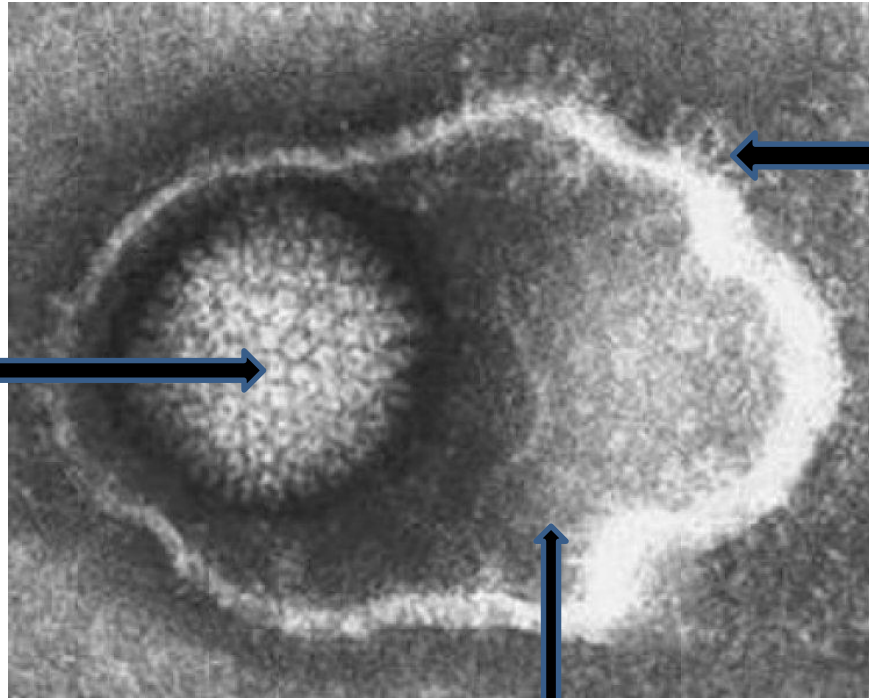
MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE TRANSMISIÓN.

CORTE ULTRAFINO: SE CORTAN CON ULTRAMICRÓTOMO CORTES MUY DELGADOS DE TEJIDOS EMBEBIDOS PREVIAMENTE EN RESINAS EPOXI. SE TIÑEN CON SALES PESADAS. SE OBSERVA EN BLANCO Y NEGRO. EL M.E. NO PERMITE VER EN COLOR.

TINCIÓN NEGATIVA: LA SUSPENSIÓN DE VIRUS SE COLOCA SOBRE GRILLAS (PORTAOBJETOS DEL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO) Y SE CONTRASTAN CON SALES DE METALES PESADOS. NO SE LOS CORTA SINO QUE SE VE POR CONTRASTE.

ESTRUCTURA VIRAL

NUCLEOCÁPSIDE
(CÁPSIDE
RECUBRIENDO AL
ÁCIDO
NUCLEICO)



ENVOLTURA CON
ESPÍCULAS
GLICOPROTEICAS

TEGUMENTO. ES EXCEPCIONAL. SÓLO
PRESENTE EN LOS VIRUS HERPES

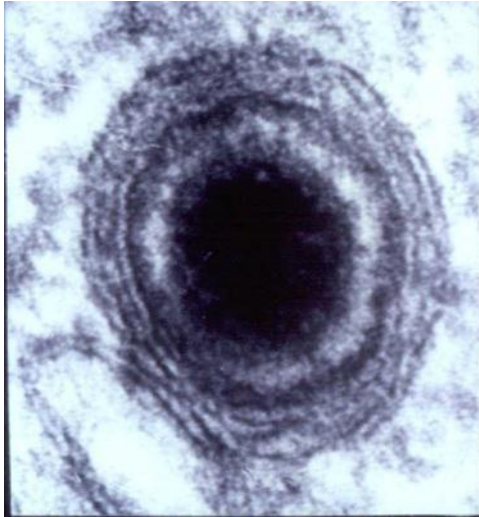
TAMAÑO: DESDE 20 nm (PARVOVIRUS) HASTA 280 nm (POXVIRUS). MEDIA: 100 nm (RETROVIRUS). UN nm (NANOMETRO) ES LA MILÉSIMA PARTE DE UN MICRÓMETRO (o Micrón).

ALGUNAS DEFINICIONES

- a. TIENEN UN SOLO ÁCIDO NUCLEICO, ADN ó ARN.**
- b. PUEDEN PARASITAR ANIMALES, VEGETALES O BACTERIAS.**
- c. LOS MÍNIMOS COMPONENTES QUE DEBE TENER UN VIRUS PARA SER VIABLE SON EL ÁCIDO NUCLEICO Y LA CÁPSIDE QUE LO RECUBRE.**
- d. CUANDO UN VIRUS ES COMPLETO E INFECTIVO SE LE DENOMINA «VIRIÓN».**
- e. EL PROCESO DE REPLICACIÓN ES MUY INEFICIENTE, PUDIENDO GENERARSE PARTÍCULAS VACÍAS O QUE CONTIENEN ADN CELULAR Y NO VIRAL. SON LAS «PARTÍCULAS DEFECTIVAS».**

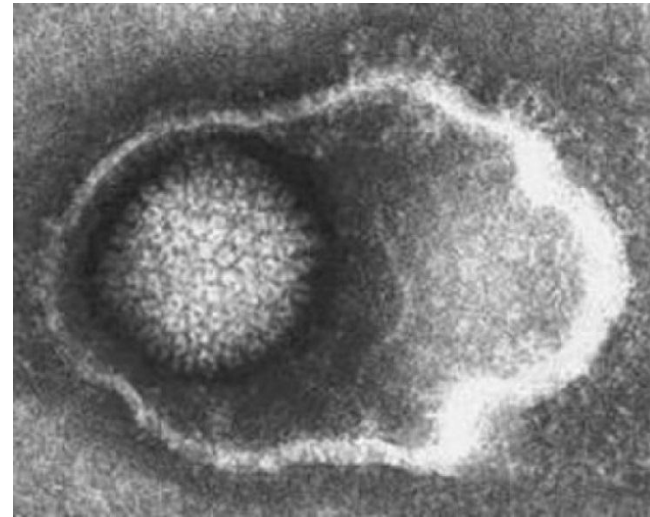
VIRUS ENVUELTOS Y VIRUS DESNUDOS

CORTE ULTRAFINO

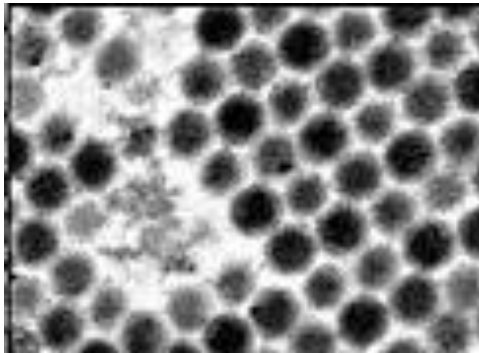


Sanjuan, N et al. 1986

TINCIÓN NEGATIVA



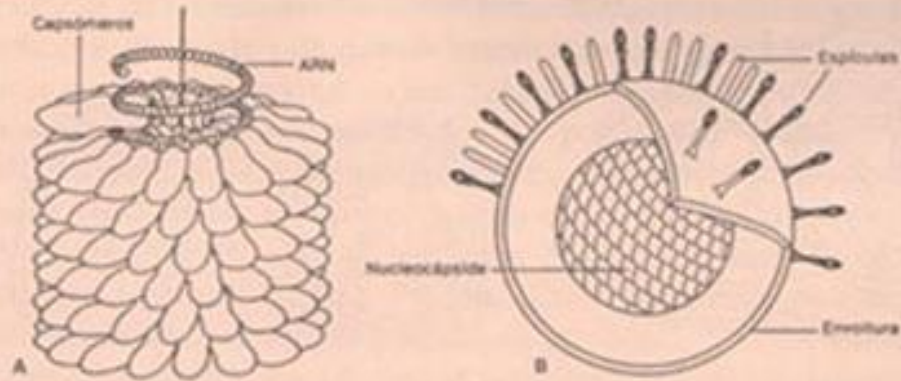
Fuller, O. et al, 2005



**ARRIBA: VIRUS HERPES SIMPLEX 2. ABAJO: ADENOVIRUS.
LAS IMÁGENES DE ARRIBA TIENEN IGUAL AUMENTO; NO ASÍ LAS INFERIORES**

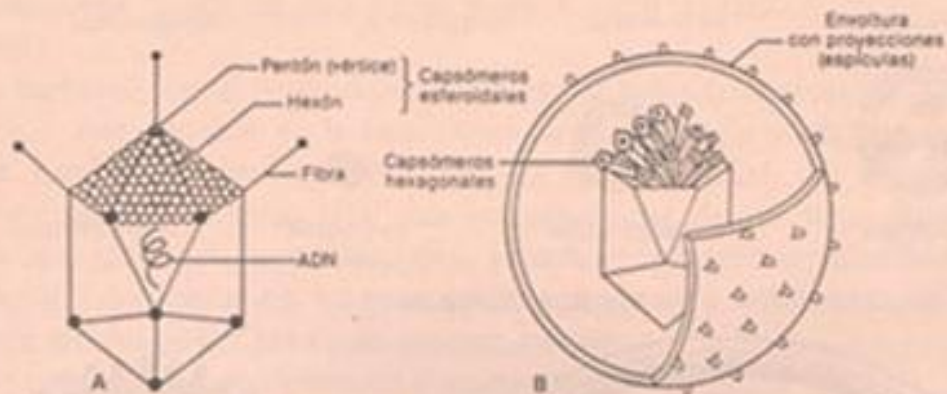
SIMETRÍA

SIMETRÍA HELICOIDAL



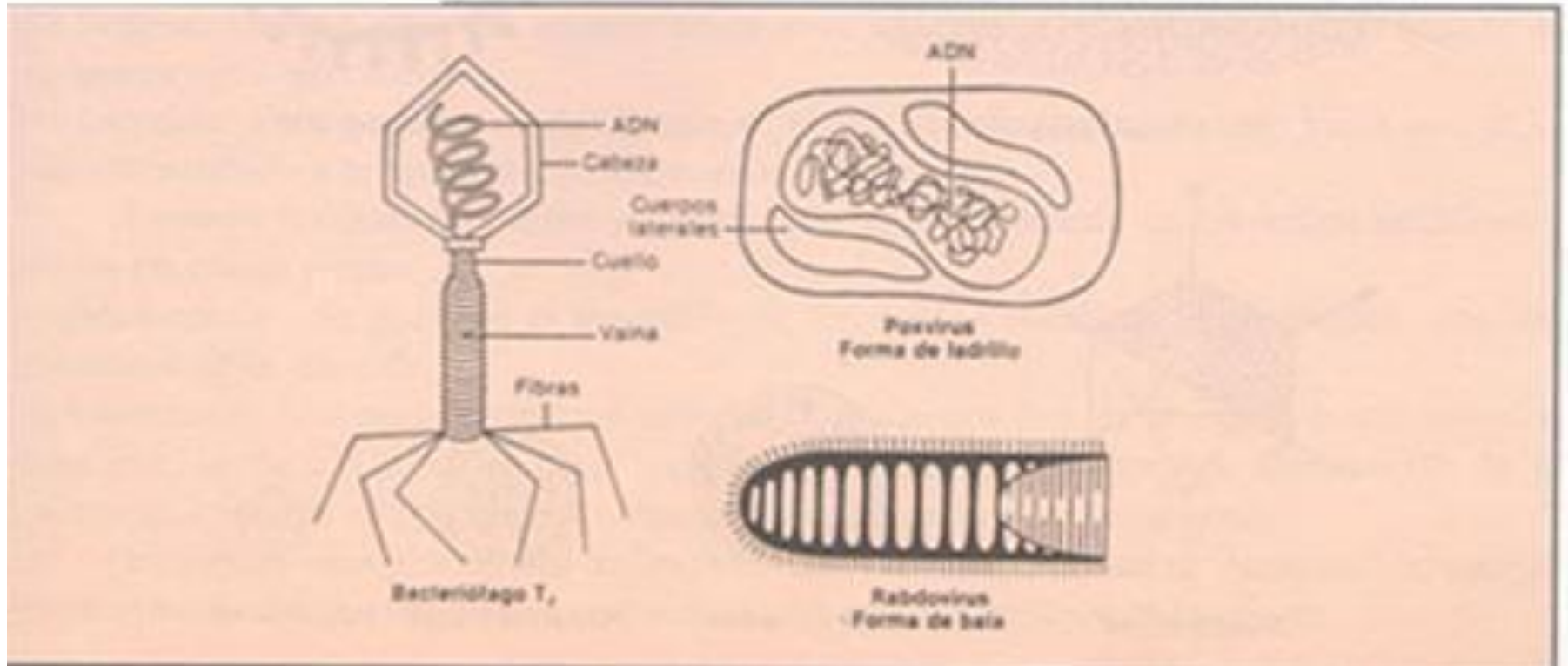
A. desnuda, virus del mosaico del tabaco; B. envuelta, ortomixovirus

SIMETRÍA ICOSAEDRICA



SIMETRÍA

SIMETRÍA COMPLEJA



A LA IZQUIERDA, BACTERIÓFAGO. ARRIBA: VIRUS POX. ABAJO: VIRUS RABIA

SISTEMAS DE CULTIVO

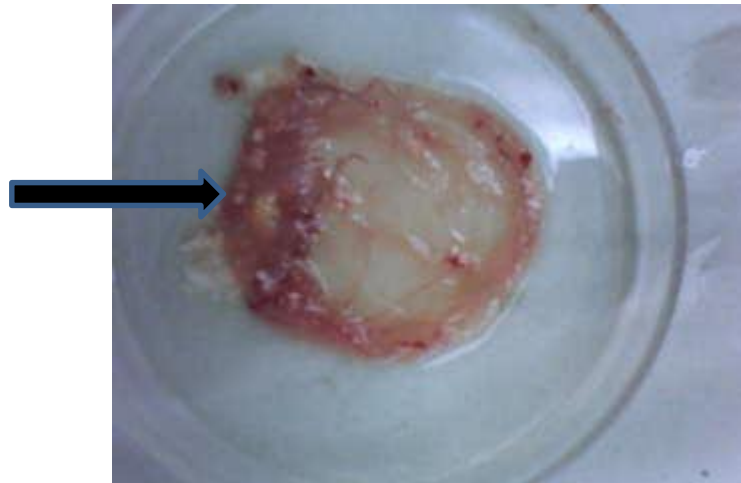
SISTEMAS DONDE LOS VIRUS PUEDEN REPLICAR

- **HUEVOS EMBRIONADOS**
- **ANIMALES DE LABORATORIO**
- **CULTIVOS CELULARES : ACTUALMENTE ES EL ÚNICO SISTEMA PARA EL CULTIVO DE VIRUS.**

HUEVOS EMBRIONADOS



OBSERVACIÓN DE LOS VASOS DE LA MEMBRANA CORIOALANTOIDEA CON EL OVOSCOPIO



**LESIONES EN LA
MEMBRANA
CORIOALANTOIDEA
DISECADA.**

**INYECCIÓN EN LA MEMBRANA CORIOALANTOIDEA, EN EL SACO VITELINO
O EN EL EMBRIÓN. OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA DE LAS LESIONES.**

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

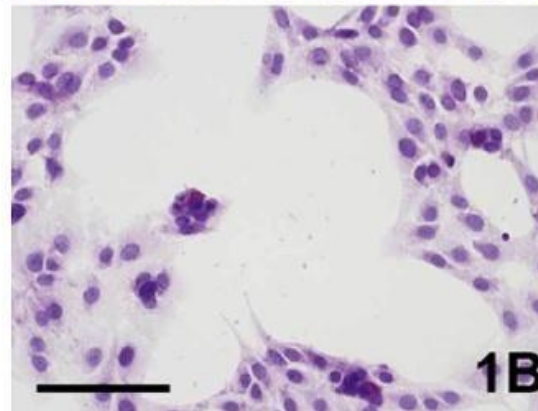
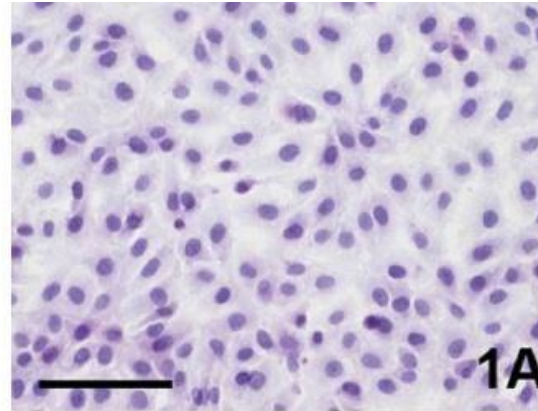
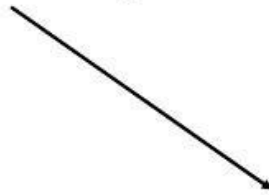


FUNDAMENTALES EN EL ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA PATOGÉNESIS VIRAL. NO SE LOS EMPLEA EN EL DIAGNÓSTICO VIROLÓGICO. SE LOS TRATA HUMANITARIAMENTE DE ACUERDO A PROTOCOLOS ERICTOS

CULTIVOS CELULARES

EFFECTO CITOPÁTICO:

Lisis de la monocapa



EFFECTO CITOPÁTICO: ALTERACIÓN MORFOLÓGICA DE LAS CÉLULAS, CONSECUTIVAS A UNA INFECCIÓN VIRAL Y OBSERVABLE CON EL MICROSCOPIO ÓPTICO. PUEDE OBSERVARSE LISIS, REDONDEAMIENTO, FORMACIÓN DE SINCICIOS O CUERPOS DE INCLUSIÓN, DEPENDIENDO DEL VIRUS.

CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y **MOLECULAR**

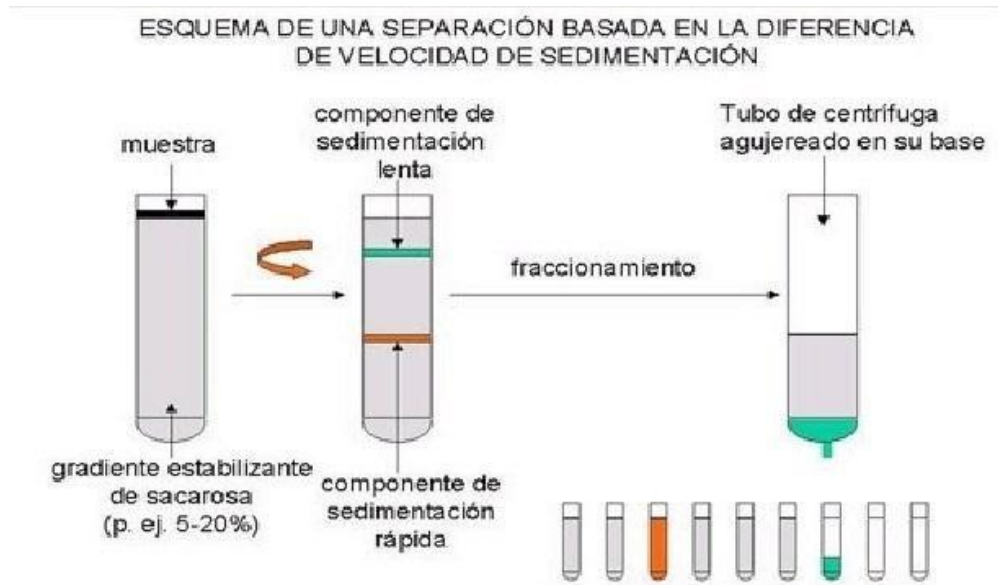
ANTE UN EVENTUAL VIRUS NUEVO:

- **CULTIVARLO EN GRANDES CANTIDADES Y PURIFICARLO.**
- **ESTUDIAR SU ESTRUCTURA POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA.**
- **CARACTERIZAR SUS PROTEÍNAS ESTRUCTURALES POR ELECTROFORESIS EN GELES DE POLIACRILAMIDA.**
- **CARACTERIZAR SUS PROTEÍNAS TEMPRANAS.**
- **CARACTERIZAR SU ÁCIDO NUCLEICO.**
- **ESTUDIAR SU PATOGENIA A NIVEL EXPERIMENTAL.**

PURIFICACIÓN DE PARTÍCULAS VIRALES

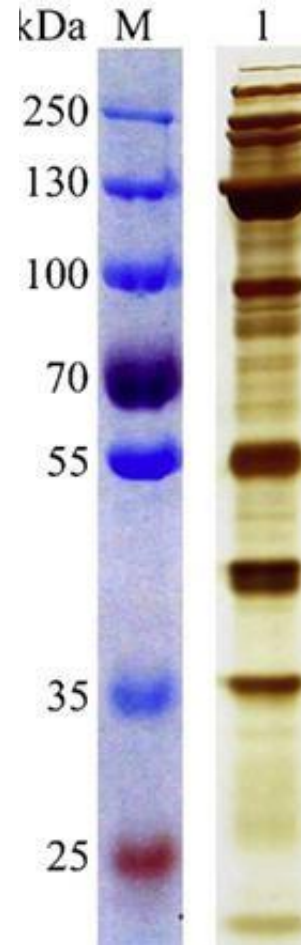


1. OBTENCIÓN DE UNA GRAN CANTIDAD DE VIRUS EN CULTIVOS CELULARES



2. OBTENCIÓN DE VIRUS PUROS POR GRADIENTE DE SACAROSA Y ULTRACENTRIFUGACIÓN

CARACTERIZACIÓN DE PROTEÍNAS ESTRUCTURALES



SDS-PAGE DE VIRUS ENTEROS. A LA IZQUIERDA, MARCADORES DE PESO MOLECULAR. A LA DERECHA, LAS PROTEÍNAS VIRALES.

CARACTERIZACIÓN DEL ÁCIDO NUCLEICO VIRAL

- **1. TRATAMIENTO CON DNAsa Y CON RNAsa.**
- **2. TRATAMIENTO CON ENZIMAS DE RESTRICCIÓN.**
- **3. CLONACIÓN Y SECUENCIACIÓN.**

ESTUDIO DE LA PATOGÉNESIS VIRAL

ESTUDIO DE LA PATOGÉNESIS VIRAL

- **EMPLEO DE CULTIVOS CELULARES (ESTUDIO DE RECEPTORES, MECANISMOS DE ENTRADA Y SALIDA DEL VIRUS, EFECTO CITOPÁTICO, ETC).**
- **USO DE MODELOS ANIMALES EXPERIMENTALES (ESTUDIOS DE PROGRESIÓN DE LA INFECCIÓN, RESPUESTA INMUNE, PATOLOGÍA, EXPRESIÓN DE ANTÍGENOS E INTERACCIÓN MOLECULAR CON LAS PROTEÍNAS DEL HUÉSPED).**

CO-INMUNOPRECIPITACIÓN

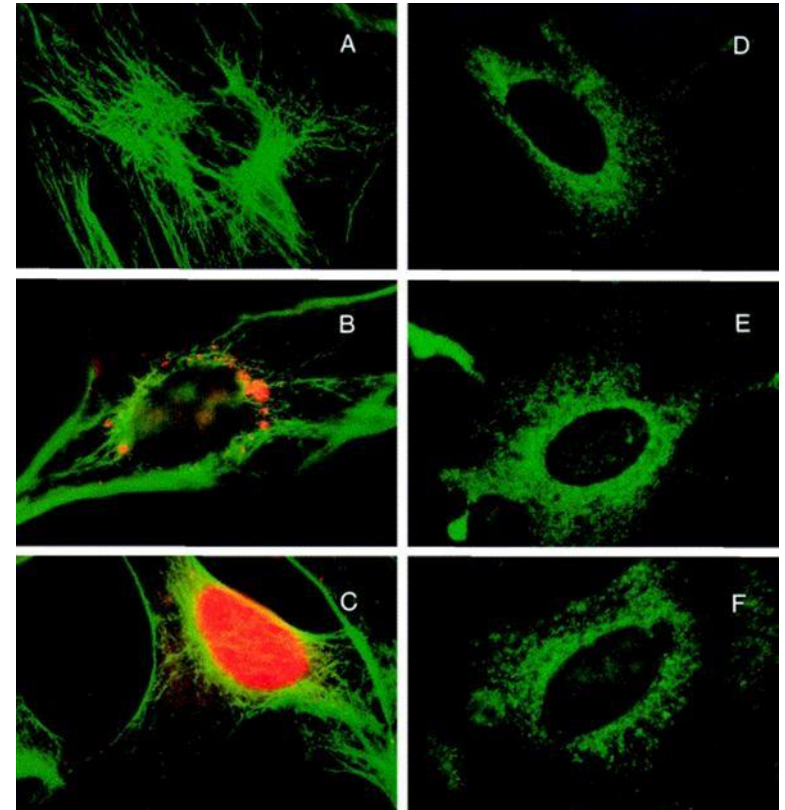
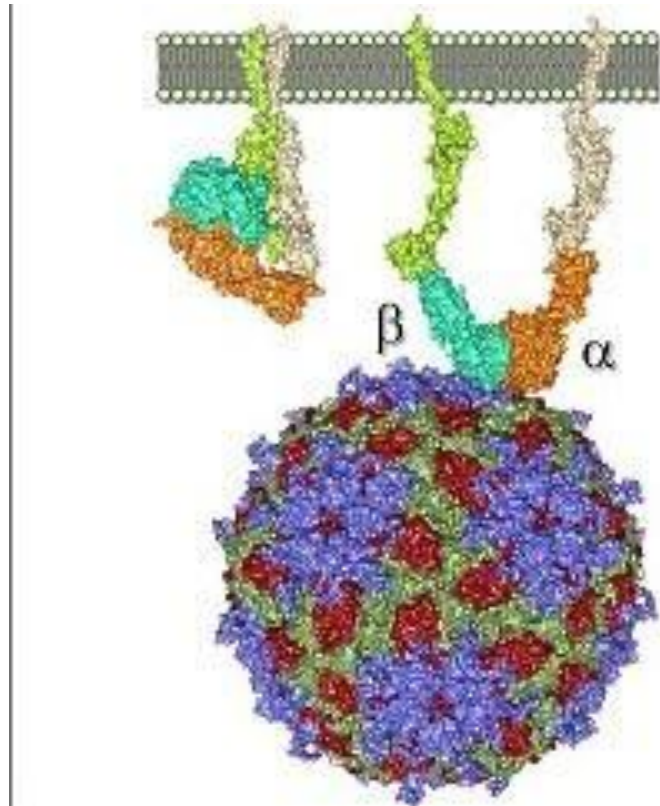
- **SE DESEA SABER CON QUÉ PROTEÍNAS CELULARES INTERACTÚA UNA PROTEÍNA VIRAL DETERMINADA.**
- **A UN CULTIVO CELULAR INFECTADO CON EL VIRUS SE LE EXTRAEN LAS PROTEÍNAS.**
- **A ESE EXTRACTO ACUOSO SE LE AGREGA UN SUERO CONTRA LA PROTEÍNA VIRAL.**
- **LUEGO LE AGREGA PROTEÍNA «A» DE ESTAFILOCOCOS CONJUGADA CON BOLITAS MICROSCÓPICAS DE SEFAROSA.**
- **SE CENTRIFUGA. SE OBTIENE ASÍ LA PROTEÍNA VIRAL UNIDA A LAS PROTEÍNAS DESCONOCIDAS.**
- **SE LAS SEPARA POR SDS-PAGE.**
- **LUEGO SE CARACTERIZA A LAS PROTEÍNAS DESCONOCIDAS.**

REPLICACIÓN VIRAL

RECEPTORES CELULARES PARA VIRUS

- **NO ESTÁN DESTINADOS PARA COMBINARSE CON VIRUS SINO CON OTRAS MOLÉCULAS DE IMPORTANCIA EN LA BIOLOGÍA DE LA CÉLULA.**
- **LOS VIRUS SE ADAPTARON A LOS MISMOS, TOMÁNDOLOS COMO PROPIOS A LO LARGO DE LA EVOLUCIÓN BIOLÓGICA.**
- **DETERMINAN LA ESPECIDAD DE UN VIRUS POR UNA ESPECIE ANIMAL DADA Y POR UN ÓRGANO DADO.**
- **SI NO HAY RECEPTORES NO HABRÁ INFECCIÓN VIRAL PRODUCTIVA.**

UNIÓN AL RECEPTOR CELULAR, INVASIÓN Y AVANCE HACIA EL NÚCLEO POR EL CITOESQUELETO

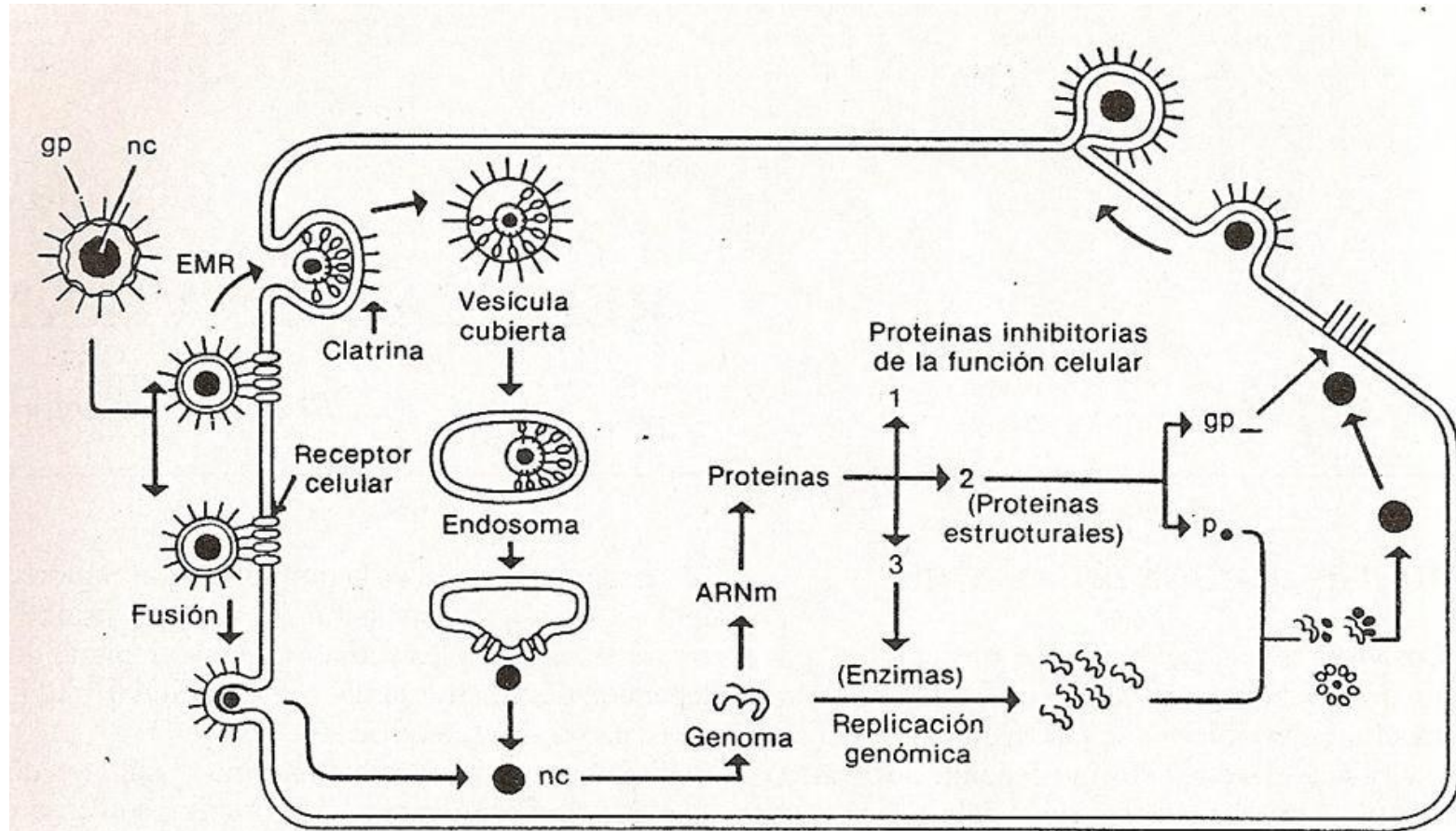


IZQUIERDA: VIRUS AFTOSA UNIDO A UNA INTEGRINA DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA CELULAR (*Bell et al; 2017*). **DERECHA:** AVANCE DE POLIOMAVIRUS HACIA EL NÚCLEO CELULAR POR MICROTÚBULOS (*Sanjuan et al; 2003*). A, B Y C: AVANCE DEL VIRUS (NARANJA) POR MICROTÚBULOS (VERDES). ESTO NO OCURRE SI SE DESPOLIMERIZAN LOS MICROTÚBULOS (D, E Y F)

TIPOS DE GENOMAS VIRALES

- **ADN DE DOBLE CADENA**
- **ADN DE CADENA SIMPLE**
- **ARN DE CADENA SIMPLE**
- **ARN DE DOBLE CADENA**
- **ARN Y TRANSCRIPCIÓN INVERSA**
- **ARN SEGMENTADO**

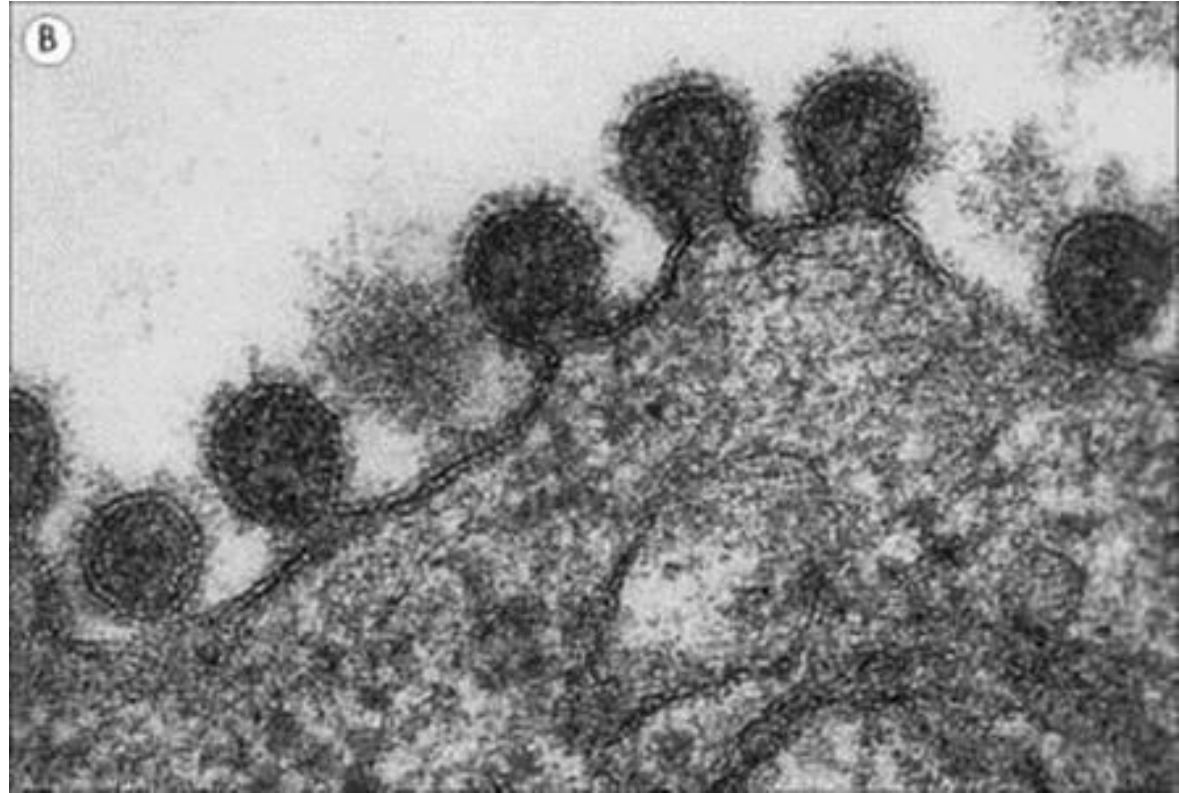
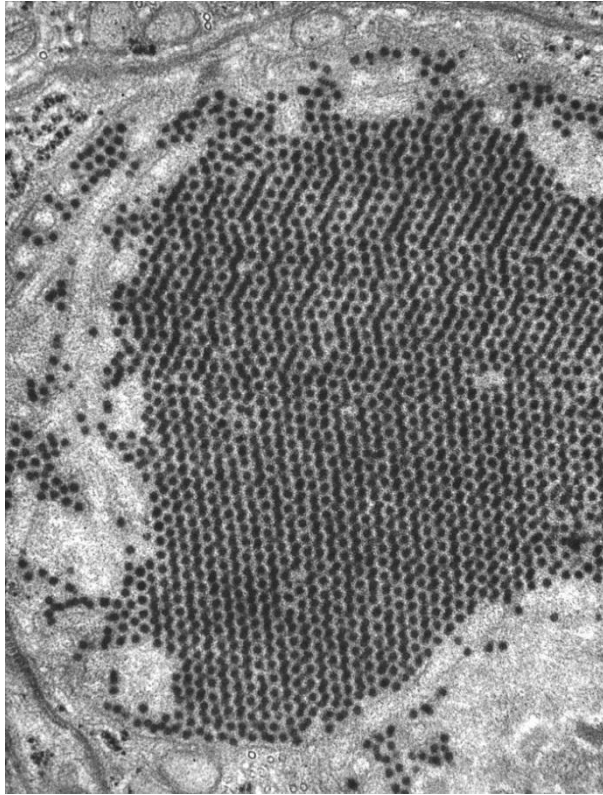
REPLICACIÓN VIRAL



gp: Glicoproteína (Antirreceptor)
 n: Nucleocápside
 EMR: Endocitosis mediada por receptor

Fig. 2. Representación esquemática de la multiplicación viral.

SALIDA DE LA CÉLULA



IZQUIERDA: VIRUS DESNUDOS FORMAN CRISTALES INTRACELULARES Y LLEVAN A LA CÉLULA A LA LISIS POR ESTALLIDO. DERECHA: VIRUS ENVUELTOS BROTAN DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA. LOS AUMENTOS EN EL M.E. SON DISTINTOS.

POLARIZACIÓN DE LA SALIDA DE VIRUS ENVUELTOS

INFLUENZA

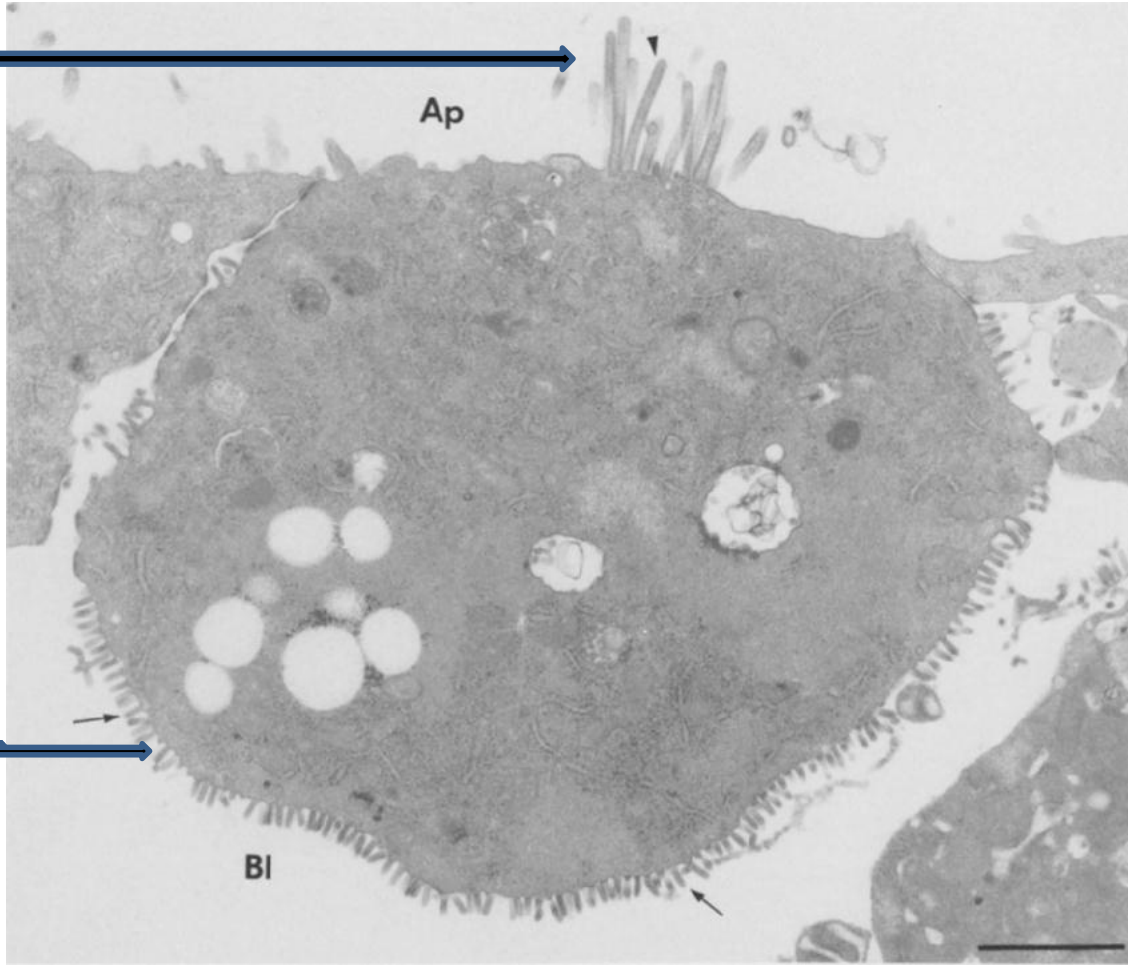


Ap

VSV



Bl



LA POLARIDAD CELULAR DETERMINA LA DISEMINACIÓN POSTERIOR DE LOS VIRUS ENVUELTOS: EL VIRUS INFLUENZA BROTA POR EL BORDE APICAL, MIENTRAS QUE EL VSV LO HACE POR LA MEMBRANA BASOLATERAL. EL PRIMERO NO PRODUCIRÁ VIREMIA MIENTRAS QUE EL SEGUNDO SÍ LO HARÁ. (Sabatini et al; 1984)

PATOGÉNESIS

VÍAS DE ENTRADA

- **TRANSCUTÁNEA (CONTACTO DIRECTO ó ARBOVIRUS)**
- **RESPIRATORIA**
- **FECAL-ORAL (DIGESTIVA)**
- **TRANSPLACENTARIA**
- **CONNATAL**
- **TRANSFUSIONAL**

TIPOS DE INFECCIONES VIRALES

- **PRODUCTIVAS:**
 - **EN GENERAL DE CURSO AGUDO (EN POCO TIEMPO). REPLICACIÓN VIRAL CON ALTOS TÍTULOS Y RESPUESTA INMUNE EFECTIVA. EJEMPLOS: GRIPE, SARAMPIÓN, ROTAVIRUS.**
- **PERSISTENTES:**
 - **a. CRÓNICAS: LOS VIRUS REPLICAN A TÍTULOS BAJOS Y LA RESPUESTA INMUNE EXISTE PERO ES INEFICIENTE PARA ERRADICARLOS DEL TODO. Ejemplos: Hepatitis B ó C; HIV.**
 - **b. LATENTES: LUEGO DE LA INFECCIÓN LOS VIRUS REPLICAN PERO LUEGO SE ACANTONAN EN EL INTERIOR DE LAS CÉLULAS COMO MECANISMO DE EVASIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE. ÉSTA ES EFICIENTE. PERIÓDICAMENTE SE REACTIVAN. EJEMPLO: VIRUS HERPES.**
 - **c. LENTAS: RARAS. ALGUNOS VIRUS ESTABLECEN INFECCIONES DE MUY LARGA DURA LUEGO DE LA PRIMOINFECCIÓN, CON POCAS RESPUESTA INMUNE. EJEMPLO: PAN ENCEFALITIS ESCLEROSANTE SUBAGUDA MUCHO TIEMPO DESPUÉS DE HABER TENIDO SARAMPIÓN. ACTUALMENTE SE ACEPTA QUE LAS DENOMINADAS «ENFECALOPATÍAS ESPONGIFORMES» NO SON PRODUCIDAS POR «VIRUS LENTOS» SINO POR PRIONES.**
- **TRANSFORMANTES: LUEGO DE UN CICLO DE REPLICACIÓN LOS VIRUS SE INTEGRAN AL GENOMA CELULAR. CON POCAS RESPUESTA INMUNE. SON COFACTORES EN LA INDUCCIÓN DE CÁNCERES.**

CONCLUSIONES: FACTORES DETERMINANTES DE UNA INFECCIÓN VIRAL

- **EXISTENCIA DE RECEPTORES CELULARES PARA EL VIRUS EN EL ORGANISMO.**
- **TAMAÑO DEL INÓCULO.**
- **ESTADO GENERAL DEL PACIENTE (NUTRICIÓN, PATOLOGÍAS PREVIAS, EDAD, FACTORES SOCIOAMBIENTALES Y LABORALES)**
- **FUNCIONALIDAD DE LA RESPUESTA INMUNE (INMUNIDAD INNATA E INMUNIDAD ADQUIRIDA)**
- **EL CURSO DE UNA INFECCIÓN (VIRAL O DE CUALQUIER OTRO TIPO) DEPENDERÁ DE UN EQUILIBRIO ENTRE LA MAGNITUD Y VELOCIDAD DE LA INFECCIÓN Y LA RAPIDEZ Y EFICIENCIA DE UNA RESPUESTA INMUNE ADECUADA.**

BIBLIOGRAFIA DE REVISION

- Caobi A, Nair M, Raymond A. Extracellular Vesicles in the Pathogenesis of Viral Infections in Humans. *Viruses* **12:1200**, 2020.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7589806/pdf/viruses-12-01200.pdf>