

RCCV

Revista Complutense de Ciencias Veterinarias

MASTER DE VIROLOGIA

Facultad de Veterinaria

Universidad Complutense de Madrid (UCM)

RESUMENES TRABAJOS FIN DE MASTER

CURSO 2011/12

REVISTA COMPLUTENSE DE CIENCIAS VETERINARIAS

ISSN	1988-2688
AREA	Ciencias de la Salud
MATERIA	Veterinaria
CENTRO	Facultad de Veterinaria
EDITOR	Servicio de Publicaciones de la Universidad Complutense de Madrid
TIPO	Científica
PERIODICIDAD	Semestral
IDIOMA	español, inglés

CONSEJO ASESOR	Director: Luis Revuelta Rueda (Universidad Complutense de Madrid, España) Consejo Editorial: Adelfa del Carmen García Contreras (Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, México) Arturo Anadón Navarro (Universidad Complutense de Madrid, España) Carlos García Artiga (Universidad Complutense de Madrid, España) Carmen Pérez Díaz (Universidad Complutense de Madrid, España) Cristina Ortiz Díez de Tortosa (Universidad Complutense de Madrid, España) Edgar Carlos Quispe Peña (Universidad Nacional de Huancavelica, Perú) Esther Collantes Fernández (Universidad Complutense de Madrid, España) Gonzalo García de Fernando Minguillón (Universidad Complutense de Madrid, España) Luis Ortiz Vera (Universidad Complutense de Madrid, España) Rosario Martín Ortí (Universidad Complutense de Madrid, España) Teresa García López (Universidad Complutense de Madrid, España) Teresa Miras Portugal (Universidad Complutense de Madrid, España).
---------------------------	---

**DIRECCION
POSTAL** Departamento de Fisiología (Fisiología Animal). Facultad de Veterinaria, UCM. Avda. Puerta de Hierro, s/n. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid.

LUGAR Madrid

Su objetivo es promover la difusión de la investigación básica y aplicada, como integración de las principales áreas de conocimiento adscritas en los diversos campos de las Ciencias Veterinarias y de los Alimentos. También aporta contenidos relativos a la Salud Pública, Seguridad Alimentaria y Medio Ambiente.

CONSTRUCCIÓN DE BACULOVIRUS RECOMBINANTES QUE EXPRESAN CÁPSIDAS VACÍAS (VLPS) DE CALICIVIRUS

Albela Torres, Alberto; Bárcena Del Riego, Juan.

Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA-INIA)

La mayoría de los calicivirus no crecen en cultivos celulares. Pero por otro lado presentan una característica muy importante, y es que la cápsida está formada por una única proteína estructural. Además, la proteína de la cápsida de los calicivirus tiene la capacidad de autensamblarse formando cápsidas vacías (VLPs), que son estructural, antigénica e inmunogénicamente indistinguibles de los virus nativos. Estas características hacen de los calicivirus y de las VLPs que forman que sean estructuras ideales para formar vacunas, así como vectores vacunales para la presentación de epítomos B y/o T heterólogos.

En el laboratorio de Juan Bárcena (CISA-INIA) se ha desarrollado un sistema de producción de VLPs derivadas del virus RHDV basado en la expresión de la proteína VP60 en el sistema de baculovirus. El objetivo del laboratorio es el empleo de dichas VLPs como vectores para la presentación multimérica de epítomos heterólogos.

Durante esta estancia en el laboratorio se ha intentado la optimización del protocolo de purificación de VLPs, así como la generación de VLPs quiméricas intentado insertar un epítomo (una alfa-hélice larga de unos 70 aminoácidos) derivado del virus de la gripe en distintas localizaciones de la VLP, concretamente en el extremo N-terminal (donde quedaría localizado hacia dentro) y en un loop (bucle) expuesto (entre los aminoácidos 306-307).

Palabras clave: VLPs, Baculovirus, Epítomos, RHDV

IMPLICACIÓN DEL GEN PB1-F2 EN LA PATOGENICIDAD DE LA INFLUENZA PORCINA

Álvarez López, Eva; Del Real Soldevilla, Gustavo; Escrig Llavata, Carmen

Departamento de Biotecnología, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Madrid

Tras distintas pandemias a lo largo de la historia y la emergencia del virus porcino A/H1N1 en 2009, el virus Influenza A se considera como uno de los agentes infecciosos con mayor potencial patogénico y pandémico en la naturaleza.

En 2001 se describió una proteína codificada por un marco de lectura alternativo del gen PB1 del virus Influenza A, denominada PB1-F2, como activadora del proceso apoptótico de las células del sistema inmune infectadas en el hospedador, lo que da una idea de la implicación de dicha proteína en el efecto patogénico del virus. Este nuevo factor de virulencia de los virus Influenza A, muestra distintos polimorfismos que comprenden desde cepas que carecen de él, hasta cepas que expresan formas truncadas o con diferentes sustituciones de aminoácidos.

El estudio molecular de diferentes aislados virales responsables de brotes de Influenza porcina en España, ha corroborado ese carácter polimórfico del gen PB1-F2. En este trabajo se aborda, mediante distintas aproximaciones experimentales, la caracterización de las proteínas PB1-F2 de tres de estos aislados, que muestran una configuración diferente, con el fin de evaluar su contribución a la virulencia de dichos aislados.

Palabras clave: Proteína PB1-F2, Apoptosis, Patogenicidad, Citometría de flujo

**ESTUDIO DE GENES CELULARES QUE REGULAN LA INFECCIÓN POR EL
VIRUS DE LA HEPATITIS C: PAPEL DE LA INTERACCIÓN DEL RECEPTOR
INTRACELULAR SIGMA-1 CON LA ENVUELTA VIRAL**

Calvo Gutiérrez, Gema; Gastaminza Landart, Pablo

Centro Nacional de Biotecnología- CSIC

El virus de la hepatitis C (VHC), requiere factores celulares para completar su ciclo vital, muchos de los cuales se desconocen actualmente. Recientemente, se ha demostrado que la proteína celular S1R (receptor sigma-1), una chaperona del retículo endoplasmático, se requiere para la iniciación de la replicación viral. Estudios previos llevados a cabo por microscopía confocal de inmunofluorescencia han revelado que existe una colocalización entre la proteína E2 de VHC y S1R durante la infección. A la vista de estos datos se ha postulado que el complejo E1E2 y S1R interaccionan durante la infección. En el trabajo que se presenta, esta hipótesis ha sido verificada bioquímicamente para dos genotipos distintos de VHC y mediante métodos de inmunoprecipitación y de cromatografía de afinidad. También se ha determinado una región mínima de interacción de S1R con E1E2 mediante el empleo de mutantes con deleciones en distintas regiones de S1R. Este estudio ha revelado que un *loop* citoplásmico de S1R es el responsable de la interacción. Finalmente, se ha estudiado si la sobreexpresión de distintos fragmentos de S1R interfiere con la infección por VHC. Dichos estudios han revelado la existencia de un dominio C-terminal de S1R con capacidad de estimular la infección por VHC.

Palabras clave: Hepatitis C, receptor sigma-1, E1-E2, interacción

CLASIFICACIÓN ANTIGÉNICA DE AISLADOS DEL VIRUS DEL SÍNDROME REPRODUCTOR Y RESPIRATORIO PORCINO DE DISTINTO ORIGEN Y SU CORRELACIÓN CON LA CLASIFICACIÓN GENÓMICA

Carrascosa de Lome, Laura; Prieto Suárez, Cinta.

Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid.

El objetivo de este trabajo ha sido caracterizar la respuesta de anticuerpos neutralizantes (AN) que se produce tras la infección por el virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino (VSRRP) y determinar las relaciones antigénicas existentes entre aislados del virus, estableciendo su posible correlación con la similitud genómica. Para ello se han producido sueros hiperinmunes frente a un total de 25 aislados del virus y se ha enfrentado en ensayos de seroneutralización cruzada estos mismos aislados. Con los resultados obtenidos se ha construido un dendograma que ilustra las relaciones antigénicas. Además, se han secuenciado las ORFs 3, 4 y 5 de los aislados para predecir y estudiar la composición de las correspondientes proteínas y para construir árboles filogenéticos. Los resultados obtenidos indican que los aislados del VSRRP difieren considerablemente en su capacidad para inducir AN con reactividad cruzada. En cuanto a su relación antigénica, los resultados obtenidos indican la existencia de dos grupos antigénicos, uno integrado por aislados de genotipo 1 y otro por aislados de genotipo 2. Sin embargo, la clasificación antigénica se correlaciona con la genómica únicamente cuando se comparan los grupos antigénicos con los genotipos, pero no cuando se consideran relaciones antigénicas más estrechas. Finalmente, no es posible correlacionar la secuencia de los epítomos neutralizantes o los sitios potenciales de N-glicosilación de las proteínas analizadas con las características antigénicas de los aislados.

Palabras clave: Virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino; anticuerpos neutralizantes; grupos antigénicos; correlación genómica y antigénica; epítomos neutralizantes y propiedades antigénicas

EFFECTO DE LAS HORMONAS ESTEROIDEAS Y DEL CORTISOL SOBRE LA EXPRESIÓN IN VITRO DE RETROVIRUS ANIMALES

Crespo Romo, Óscar; Gómez-Lucía, Esperanza; Doménech, Ana

Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid.

Estudios previos sugieren que, al igual que en otras infecciones por retrovirus, las hormonas esteroideas serían capaces de dirigir la expresión del virus de MaediVisna (MVV) mediante la interacción con los Elementos de Respuesta a Hormona (HRE) de la región promotora/reguladora LTR (Repeticiones Largas Terminales) del genoma del provirus.

El objetivo de este trabajo fue la evaluación del efecto del cortisol, progesterona y dehidroepiandrosterona (DHEA) sobre la región LTR de MVV mediante ensayos de transfección en fibroblastos ovinos con plásmidos pAcGFP (que contiene el gen para la GFP, proteína verde fluorescente) en los que se había clonado la región U3-cap del LTR de distintas cepas de MVV (EV1, 496, 258, 697 y KV1772). La actividad transcripcional del LTR se evaluó a través de la cuantificación de la expresión de la GFP por citometría de flujo, con las distintas concentraciones de cada hormona tras 48 horas de incubación.

En la mayoría de los ensayos se observó un claro efecto inhibitorio de la transcripción del LTR a elevadas concentraciones hormonales, que en el caso del cortisol se manifestó prácticamente a todas las concentraciones inferiores a 10^{-7} M. En general no se pudo asociar una diferente respuesta con el origen de la cepa estudiada lo que sugiere que no está relacionado con los distintos orígenes/tropismos de los virus. Estos datos sugieren la presencia de un sitio HRE capaz de responder a estimulación hormonal en el LTR de MVV.

Palabras clave: Virus de Maedi-Visna (MVV), Repeticiones Largas Terminales (LTR), Elemento de Respuesta a Hormona (HRE), hormonas esteroideas

ANÁLISIS DE SECUENCIAS DE LA ENVOLTURA Y DE GENOMAS COMPLETOS DE VIRUS DE UN CLUSTER DE VIH-1 DE SUBTIPO F DE RÁPIDA EXPANSIÓN EN GALICIA: PREDICCIÓN DE USO DE CORRECEPTORES Y FILOGENIA.

Domínguez Palao, Francisco; Pérez Álvarez, Lucía; Thomson Okatsu, Miguel

Unidad de Biología y Variabilidad del VIH, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda, Madrid

La epidemia por VIH-1 en España, al igual que en el resto de Europa occidental, está dominada por el subtipo B. Sin embargo, recientemente se ha descrito la rápida expansión de un cluster de subsubtipo F1 entre hombres que tienen relaciones sexuales con hombres en Galicia. Los objetivos de este trabajo son analizar la secuencia de la envoltura de los virus del mencionado cluster para predicción de utilización de correceptores y presencia de aminoácidos característicos, así como caracterizar secuencias de genomas completos, determinando las relaciones filogenéticas con virus de subtipo F de otros países.

Los análisis filogenéticos permitieron determinar relaciones del cluster F con virus de Brasil, Suiza, Bélgica, Francia y Gran Bretaña. Por otra parte, se han encontrado posiciones características del cluster en la región V3, diferentes de otras cepas F1, así como en otras regiones de la envoltura. Aparte, se han identificado mutaciones características asociadas a tropismo X4.

El cluster de VIH-1 de subtipo F recientemente expandido en Galicia procede de una variante ampliamente diseminada en Europa occidental. Los virus de dicho cluster presentan aminoácidos característicos en la envoltura, identificándose en algunos de ellos mutaciones asociadas a tropismo X4, de potencial relevancia biológica.

Palabras clave: VIH-1, subtipo F, cluster filogenético, envoltura, tropismo

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA PROTEÍNA DE FUSIÓN IN3B EN UN MODELO DE INFECCIÓN DE VIH

Fernández Pineda, Alejandra; Martínez Colon, Alberto; Relloso Cerceda, Miguel; Muñoz-Fernández, M^a Angeles

Laboratorio de Inmunobiología Molecular. Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es responsable del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Según los últimos datos de la UNAIDS desde 1999 ha aumentado un 27% el número de personas que conviven con el VIH/SIDA. Esta pandemia causada por el VIH/SIDA es responsable de muchas muertes. Actualmente, el mayor número de muertes se da en países subdesarrollados que no pueden disponer de tratamientos antirretrovirales. En países desarrollados se ha conseguido disminuir estas cifras debido a la terapia antirretroviral gran actividad, sin llegar a conseguir la erradicación definitiva del VIH debido a su estado de latencia. Por lo que se está trabajando en fármacos anti-latencia y en buscar nuevas e innovadoras terapias para conseguir la eliminación de los reservorios virales. En el laboratorio se diseñó una proteína de fusión formada por el dominio N-terminal de la integrasa viral y el dominio catalítico de la metilasa DNMT3b, cuyo objetivo es metilar las terminaciones largas repetidas o “long terminal repeat” (LTRs) del VIH para inhibir la expresión de los genes del VIH. La Memoria presentada se ha centrado en el estudio de la función de la proteína de fusión en células que la expresan de forma constitutiva durante la infección *in vitro* por el VIH.

Palabras clave: VIH, LTRs, metilación, silenciamiento génico, proteína de fusión.

SEROPREVALENCIA DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO TIPO 16 EN UNA POBLACIÓN DE HOMBRES QUE PRACTICAN SEXO CON HOMBRES EN MADRID

Fraile, Lucía¹; Del Romero, Jorge⁴; Vera, Mar⁴; Hernandez Novoa, Beatriz³; Gonzalez, Cristina²; Benito, Amparo³; Alvarez, María Elena³; Clavo, Petunia⁴; Puerta, Teresa⁴; Rodriguez, Carmen⁴; Del Amo, Julia²; Torres Montserrat¹, Torres; Ortiz, Marta¹.

¹Unidad de Retrovirus y Papilomavirus. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Economía y Competitividad

²Unidad de Investigación en SIDA. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Ministerio de Economía y Competitividad.

³Hospital Universitario Ramón y Cajal. Comunidad de Madrid.

⁴Centro Sanitario Sandoval. Madrid.

El Virus del Papiloma Humano tipo 16 (VPH-16) es la causa principal de aproximadamente el 70% de los cánceres anogenitales. Este cáncer está aumentando en hombres que practican sexo con hombres (HSH). Los estudios de seroprevalencia en estos pacientes son limitados. El objetivo de este estudio es estimar la seroprevalencia de VPH-16 en HSH infectados y no infectados por VIH. Se estudiaron 136 HSH de los cuales 62 eran VIH negativos y 74 VIH positivos. La detección de anticuerpos frente a VPH-16 en suero se realizó mediante un sistema de ELISA directo utilizando como antígeno partículas similares al virus (*Virus Like Particles*, VLPs). La seroprevalencia global de VPH-16 fue del 39%. No se describieron diferencias significativas en la seroprevalencia global de VPH-16 función del estatus VIH, edad, y la detección de ADN de VPH-16. Cuando se estratificó por estatus VIH, los pacientes de origen latinoamericano no infectados por VIH mostraron una seroprevalencia cuatro veces mayor que los pacientes de origen español. La prevalencia global de infección por VPH-16 fue del 30,1%, no observándose diferencias estadísticamente significativas de acuerdo al origen geográfico, edad y estatus VIH.

Palabras clave: Virus del Papiloma Humano (VPH), hombres que practican sexo con hombres (HSH), seroprevalencia, VLPs

INFECCIÓN Y FORMACIÓN DE CÁPSIDAS DEL PARVOVIRUS DIMINUTO DEL RATÓN (MVM) EN CELULAS TRONCALES DEL CEREBELO DE RATÓN (CBSC)

Gallardo Carreño, Ignacio; Almendral José M^a; Gil, Jon

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBMSO). Campus de Cantoblanco,
Universidad Autónoma de Madrid.

La cepa i del parvovirus diminuto del ratón (MVMi) es capaz de causar una pérdida de densidad celular y de alterar la migración de neuroblastos en el cerebelo en desarrollo posnatal del ratón. En este estudio hemos abordado la interacción del MVMi con células troncales del cerebelo (CbSC) aisladas de cerebelo de ratón recién nacido. Mostramos que las CbSC pueden ser consistentemente aisladas y cultivadas en medios selectivos durante varias semanas. La infección de estas células con MVMi lleva a la expresión de proteínas estructurales de la cápsida (VPs) y a su ensamblaje en cápsidas que se acumulan hasta altos niveles en el núcleo de las CbSC. Este hallazgo puede contribuir a entender la neuropatogénesis de MVMi en ratón.

Palabras clave: Parvovirus MVM, Desarrollo de cerebelo, Ensamblaje de cápsidas, Células troncales de cerebelo

DESARROLLO DE NUEVAS FORMULACIONES DE UNA VACUNA RECOMBINANTE FRENTE AL VIRUS INFLUENZA

**García Dorival, Graciela Isabel; Martínez Pulgarín, Susana; Martínez Escribano, José
Ángel**

Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) y Compañía
Alternative Gene Expression S.L. (ALGENEX)

Frente al escalado productivo limitado que tienen las vacunas de influenza convencionales, es necesario desarrollar nuevas técnicas para mejorar la producción de las mismas, así como mejorar su potencia inmunizante. En este trabajo se usó un sistema de expresión denominado IBES® (“Improved baculovirus expression system”) basado en baculovirus y larvas *Trichoplusia ni* para producir cuatro proteínas recombinantes para su uso potencial como vacunas de subunidades contra la influenza. Se generaron cuatro baculovirus que expresaron las dos subunidades o dominios de la hemaglutinina del virus; la cabeza globular o subunidad HA1 y el tallo o subunidad HA2; solas o unidas a la molécula inmunopotenciadora APCH1, la cual dirige los antígenos a las células presentadoras de antígeno, incrementando así la respuesta inmune frente a ellos. Mediante SDS-PAGE/Western blot se comprobó que todas las construcciones eran expresadas de manera eficiente en este sistema. Se inmunizaron ratones con cada una de ellas y se analizó la respuesta humoral frente a hemaglutinina mediante ELISA. Mientras que con HA1 sola se obtuvo una baja respuesta (título de anticuerpos de alrededor de 1/400), cuando se fusionó a APCH1 ésta se incrementó considerablemente, consiguiéndose un título medio de 1/100.000. En el caso de HA2 no se observó el efecto inmunopotenciador de APCH1, induciéndose un elevado título con ambas construcciones (hasta 1/50.000). A pesar de la alta respuesta inmune observada, ninguna de las proteínas confirió protección frente al desafío con el virus, a diferencia de la elevada protección obtenida con la hemaglutinina completa producida mediante el mismo sistema.

Palabras clave: Baculovirus, IBES, APCH1, influenza, vacuna recombinante, hemaglutinina.

ESTUDIO DE MICROSCOPIA DE LAS FACTORIAS DE BUNYAVIRUS EN CELULAS DE MAMIFERO Y DEL MOSQUITO VECTOR

García Serradilla, Moisés; Risco, Cristina

Centro Nacional de Biotecnología, CSIC

Los arbovirus son importantes patógenos para los hombres, pero causan poco daño a sus vectores artrópodos. En sus hospedadores vertebrados, los arbovirus generalmente contrarrestan las defensas innatas y desencadenan una infección altamente citopática que conduce inevitablemente a la muerte celular. Sin embargo, en células de mosquito una fase temprana de síntesis eficiente de la proteína viral y de producción de virus es seguida por una infección persistente con niveles bajos de expresión de la proteína viral y liberación del virus. Hemos estudiado como una línea de células de mosquito derivadas de uno de los vectores relevantes para arbovirus responde al virus Bunyamwera, un arbovirus bien caracterizado. La microscopía de fluorescencia y la microscopía electrónica mostraron que el virus Bunyamwera induce cambios profundos en células BHK-21 y una infección persistente en células de mosquito. En las células de mosquito hay un reclutamiento progresivo de la nucleocápside y de las proteínas de la ARN polimerasa viral en grandes agregados citoplasmáticos (N-bodies), pudiéndose ser este un posible mecanismo de defensa. La caracterización de los mecanismos antivirales que funcionan en células de mosquito puede ser de gran ayuda en la lucha contra los arbovirus patógenos

Palabras clave: Factoría viral, Bunyanvirus, mitocondria, persistente, citopático

ESTUDIO DE LA PRESENCIA Y FRECUENCIA DEL VIRUS DE LA PARÁLISIS AGUDA ISRAELÍ EN COLMENAS DE ANDALUCÍA

Mejía Jiménez, Verónica; Vicente Rubiano, Marina; Sánchez-Vizcaíno, José Manuel

Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria,
Universidad Complutense de Madrid.

Debido a su acción polinizadora, las abejas se sitúan en la base de los ecosistemas, y tienen un enorme valor económico y medioambiental. Por ello las causas del síndrome de despoblamiento de las colmenas (SDC) han sido muy estudiadas en los últimos años. Entre ellas, el virus de la parálisis aguda israelí (IAPV) tiene especial importancia ya que fue relacionado con el SDC en Estados Unidos en 2007. Los objetivos de este estudio son describir la presencia y frecuencia de IAPV en Andalucía, Comunidad Autónoma (CCAA) con mayor censo de colmenas de España, así como analizar filogenéticamente los aislados de IAPV en dicha comunidad y determinar los posibles factores asociados con la presencia de IAPV y su relación con SDC.

Para ello, se llevó a cabo, en primer lugar un muestreo virológico y una encuesta epidemiológica en 88 colmenas de Andalucía. Para el estudio virológico, se empleó la reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscripción (RT-PCR). Cinco de las 88 colmenas (5,68%) resultaron positivas a IAPV y ninguna de ellas presentaba síntomas compatibles con SDC. El análisis filogenético indicó que las muestras se encontraban relacionadas con otros aislados de IAPV descritos previamente en Andalucía y en Francia. Además se dedujo, a partir de los datos epidemiológicos, que la trashumancia podría actuar como un factor de riesgo sanitario en los colmenares.

En este estudio no se ha observado correlación entre IAPV y SDC en Andalucía. Sin embargo, se ha descrito el posible origen del virus en esta CCAA, así como el papel de la trashumancia como factor de riesgo sanitario.

Palabras clave: virus de la parálisis aguda israelí (IAPV), abejas, Andalucía, síndrome de despoblamiento de las colmenas (SDC), trashumancia.

VIH-1 Y ALZHEIMER: ¿UNA CONEXIÓN REAL?

González Montero, Ricardo; Álvarez Losada, Susana; Muñoz-Fernández, M^a Ángeles.

Laboratorio de Inmunobiología molecular del H.G.U. Gregorio Marañón

La infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) causa alteraciones neurológicas que son más graves y frecuentes como consecuencia del envejecimiento de la población. Este daño se asocia a la disfunción neuronal, que patológicamente se caracteriza como una pérdida de sinapsis, acortamiento de neuritas, anormalidades dendríticas, así como pérdida neuronal. A este respecto, varios estudios han observado un aumento significativo de placas amiloides en cerebros de individuos infectados por el VIH en comparación con controles sanos, así como en individuos VIH positivos que habían estado expuestos a la terapia antirretroviral. En este trabajo se ha investigado el efecto de la combinación del péptido β -amiloide e infección por VIH-1 en diferentes células del sistema nervioso. El pretratamiento de las células gliales y neuronales provoca un incremento en la replicación viral, así como el tratamiento combinado virus y formas de oligómeros y fibrillas producen un incremento en las especies reactivas de oxígeno y de la forma activa de la enzima proapoptótica caspasa-3, en astrocitos. Lo que podría traducirse como un incremento de neurotoxicidad y depósitos de β -amiloide en el cerebro infectado.

Palabras clave: VIH-1, beta amiloide, neuropatogénesis, especies reactivas de oxígeno, caspasa-3

INFLUENCIA DE MUTACIONES PUNTUALES EN LA SEGMENTACIÓN DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA

Moreno, Elena; Perales, Celia; Domingo, Esteban

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBMSO), Campus de Cantoblanco,
Universidad Autónoma de Madrid.

El Virus de la Fiebre Aftosa (VFA) es un claro ejemplo de la dinámica de cambio genético de las poblaciones de virus ARN. Al someter un clon biológico del VFA a 260 pases citolíticos seriados, se obtuvieron dos genomas con deleciones internas que resultaron ser infecciosos por complementación en ausencia del genoma estándar. Este salto evolutivo que se puede considerar como la primera etapa en un proceso de segmentación del genoma viral, pudo ocurrir independientemente de mutaciones puntuales acumuladas o gracias a dichas mutaciones. Responder a esta pregunta fue el principal objetivo de este proyecto. Para ello se ha analizado el papel de las mutaciones comparando la expresión de proteínas y la complementación en plásmidos del virus con las deleciones en el contexto del virus inicial (pMT28) y del evolucionado (pMT28p260). Los resultados indican que las mutaciones acumuladas juegan un importante papel tanto en la expresión de proteínas como en complementación. Sustituciones individuales en la proteína 2C participan en el aumento de actividad. Todo esto indica que un cambio genético drástico (salto evolutivo en forma de segmentación génica) pudo ser mediado por cambios graduales (mutaciones puntuales secuenciales) en el linaje evolutivo del virus.

Palabras clave: genomas defectivos, evolución, contexto de secuencia.

LAS CÉLULAS MADRE SON RESISTENTES A LA INFECCIÓN POR PARVOVIRUS CANINO TIPO 2

Puente Poza, Laura; Santurde Sánchez, Gloria; y Simarro Fernández, Isabel

Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid.

Las células madre mesenquimales (CMM) de origen adulto son una potencial herramienta, tanto en la clínica humana como en veterinaria, para realizar terapia celular, ingeniería de tejidos o medicina regenerativa. Sin embargo es mucho lo que no se conoce sobre estas células. En este trabajo se pretende describir parte de su biología mediante la observación de su respuesta ante la infección por Parvovirus Canino tipo 2 *in vitro*. Los resultados obtenidos demuestran que las CMM son resistentes a la infección por este virus. El CPV-2 usa como medio de entrada en la célula el receptor de transferrina, por lo que unos bajos niveles de expresión de esta proteína, como ocurre en las CMM, impiden la infección de la célula.

Palabras clave: células madre, parvovirus canino, receptor transferrina, resistencia.

SITUACIÓN ACTUAL DEL ADENOVIRUS AVIAR GRUPO 1 EN EL SECTOR AVÍCOLA DE CARNE EN ESPAÑA

Sarabia Fragoso, Jaime; García Cabrera, José

Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid.

En los últimos 2 años han aparecido brotes distribuidos por toda España causados por Adenovirus aviar del grupo 1 en granjas de reproductoras pesadas y pollos de engorde. Se ha analizado serológicamente granjas de recría de reproductoras pesadas a 16 semanas de edad. Mediante la técnica de virus neutralización se han analizado muestras hepáticas de pollos de engorde de diferentes brotes para confirmar el serotipo existente. Los análisis serológicos muestran una positividad del 100% al grupo de adenovirus aviar tipo 1 de las granjas de recría estudiadas. Los serotipos predominantes en los brotes de granjas de pollo de engorde en España son el 2 y 12 (Genotipo D) y 8 y 9 (genotipo E). Estos genotipos son similares a los encontrados en los últimos años en Canadá, Korea o Australia, pero difieren de los encontrados en otras regiones como América del sur y Pakistán donde predominó el serotipo 4. El uso de vacunas inactivadas tanto en reproductoras como en pollo de engorde puede ayudar a controlar la enfermedad siempre que se conozca el serotipo de la zona y se apliquen medidas de bioseguridad y planes profilácticos frente a virus inmunodepresores apropiados.

Palabras clave: Adenovirus aviar 1, Hepatitis, diagnóstico, brotes, España.

ANÁLISIS FILOGENÉTICO DEL VIRUS DEL VIH EN MUESTRAS DE DROGADICTOS ESPAÑOLES EN LOS AÑOS 90 EN RELACIÓN A UN GRUPO DE VIRUS NO PROGRESOR

Valero Fernández, Clara Isabel; Casado Herrero, Concepción; López Galíndez, Cecilio

Servicio de Virología Molecular. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.

Recientemente se ha detectado un grupo de virus filogenéticamente relacionado (“cluster”) procedentes de pacientes españoles no progresores controladores para el VIH-1. Estos pacientes comparten un origen geográfico común (Madrid), refieren la infección por VIH al principio de la epidemia en España (años 80) y todos son o eran usuarios de drogas por vía intravenosa (UDIs). Para descartar que el agrupamiento de las cepas fuera debido a su antigüedad o su origen geográfico común, se analizaron secuencias nucleotídicas virales de pacientes con características epidemiológicas similares a los virus que forman el “cluster” pero en los que la infección ha progresado de forma normal. Los resultados confirman la existencia del “cluster” que se ha visto aumentado por la inclusión de una nueva secuencia y también se han observado distintos grados de progresión entre el conjunto de nuevos pacientes sometidos al estudio. En resumen, se observa que la epidemia del VIH-1 en pacientes UDIs parece estar compuesta de varios “clusters” de transmisión.

Palabras clave: VIH-1, LTNP, UDI, cluster, progresión.

ESTUDIO DE PAPILOMATOSIS BOVINAS Y OVINAS: DETECCIÓN MOLECULAR DE PAPILOMAVIRUS

Vázquez Díaz, M^a Rocío; Benítez Rico, Laura

Departamento de Microbiología III de la Facultad de Ciencias Biológicas (UCM)

Los papilomavirus (PVs) animales son virus cuya importancia reside en la capacidad de desarrollar lesiones epiteliales benignas que, en algunos casos, pueden evolucionar a tumoraciones malignas. Por ello, el estudio de estos virus es de gran interés ya que pueden afectar al ganado doméstico, produciendo grandes pérdidas económicas. El descubrimiento de nuevos PVs, en ocasiones, se ha logrado por la técnica de Amplificación del Círculo Rodante (*Rolling Circle Amplification*, RCA), ya que éstos emplean este mecanismo en la naturaleza para propagar sus genomas circulares. En esta técnica, un hexámero al azar amplifica el genoma completo del virus, sin necesidad de conocimiento previo de su secuencia de nucleótidos. Este ensayo fue aplicado a una biopsia de verruga bovina, localizada en la cabeza de un macho de 15 meses de edad de raza Avileña con cruce industrial con Charolesa de una explotación de Madrid. Se consiguió amplificar el DNA vírico, que fue clonado y secuenciado, mostrando elevada homología con *Papilomavirus Bovino tipo 2* (BPV-2). Así mismo, el estudio anatomopatológico realizado confirmó la existencia de un papiloma cutáneo observándose una evidente hiperplasia con acantosis e hiperqueratosis y patente vacuolización nuclear. Cabe destacar que es la primera vez que se diagnostica este tipo de virus en España.

Dado que también se ha descrito la presencia de estos virus en ganado ovino, se investigó la presencia de PVs en biopsias procedentes de potenciales papilomatosis mamarias en ovejas de cruce Manchego y Assaf o Awassi, de dos explotaciones de Madrid, basándonos en RCA y PCR. Se intentó el diseño de una PCR genérica para amplificar todos los tipos descritos hasta ahora de *Papilomavirus Ovino* (OPV1, OPV2, OPV3), y una específica para cada uno de los tipos. La amplificación por RCA no puso de manifiesto la presencia de DNA episomal, y tampoco se obtuvieron resultados positivos en ninguna de las amplificaciones por PCR, ni en la realización de un Southern blot para detectar la posible integración del DNA viral en el genoma ovino. El estudio histológico de las muestras evidenció una dermis de aspecto normal y sólo una moderada acantosis e hiperqueratosis en la membrana basal, sin detección de proceso neoplásico. En paralelo también se investigó la posible existencia de otras infecciones virales de patología similar, como las infecciones originadas por *Capripoxvirus*, utilizando

técnicas ya descritas de amplificación molecular, aunque tampoco se pudo detectar la presencia de DNA viral.

Palabras clave: BPV, OPV, Amplificación por Círculo Rodante, Southern blot, PCR, Anatomía patológica.