

RCCV

Revista Complutense de Ciencias Veterinarias

MASTER DE VIROLOGIA

Facultad de Veterinaria

Universidad Complutense de Madrid (UCM)

RESUMENES TRABAJOS FIN DE MASTER

CURSO 2014/15

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) Secretaria de Redacción: María Arias Alvarez (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.

SEROPREVALENCIA DEL VIRUS WEST NILE EN CABALLOS DEL ÁREA CENTRAL DE LA PENÍNSULA IBÉRICA

Abad Cobo, Ana; Llorente de Gracia, Francisco; Jiménez Clavero; Miguel Ángel

Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA-INIA). Valdeolmos. 28130 Madrid

La Fiebre por virus West Nile (WNV) es una zoonosis reemergente de declaración obligatoria que, de acuerdo con los últimos estudios epidemiológicos, se encuentra en continua expansión. En España todos los años se declaran brotes de enfermedad en caballos en provincias del sur de Andalucía. En los últimos meses se han declarado brotes en provincias situadas más al norte, como Ciudad Real y Ávila. Estudios anteriores han puesto de manifiesto la presencia de anticuerpos frente a WNV en aves de la zona central de la Península Ibérica. Por tanto, el objetivo de este trabajo es estudiar la seroprevalencia en años anteriores y posible circulación viral en caballos en esta zona en la actualidad. Para ello se han estudiado muestras tomadas en el año 2013, de una población de 416 caballos procedentes del área central de la Península Ibérica y muestras de una población centinela (PC) tomadas el presente año. Mediante ELISA y posterior confirmación por seroneutralización en placa, se ha detectado la presencia de anticuerpos desde el año 2013, obteniéndose una seroprevalencia del 2,9%, por ELISA, apareciendo muestras positivas a IgM, y del 1,44% por seroneutralización. El estudio de la población centinela nos indica que el virus ha seguido circulando desde el año 2013 hasta el año 2015, donde tenemos circulación reciente en los primeros meses de este año.

Palabras clave: West Nile, seroprevalencia, caballos

IDENTIFICACIÓN DE GENES VÍRICOS IMPLICADOS EN LA MODULACIÓN DE LOS PROCESOS DE MULTIPLICACIÓN CELULAR EUCARIOTA

Arboleya Agudo, Aroa; Lombó Brugos, Felipe

Departamento Biología Funcional. Universidad de Oviedo. 33006 Oviedo

Pese a los avances realizados en el tratamiento del carcinoma colorrectal, la toxicidad de la quimioterapia en tejidos normales y su baja eficacia en fases avanzadas de la enfermedad continúan siendo un problema. Recientemente, el empleo de virus oncolíticos ha resurgido como alternativa a las terapias convencionales. Estos virus pueden atacar a las células tumorales por infección directa, como vectores o mediante la expresión heteróloga de una de sus proteínas capaz de interferir en la proliferación celular anormal de las células tumorales. En este trabajo, se han seleccionado las proteínas víricas E1A de *Human adenovirus F* y ORF2 de *Torque teno midi virus 1* con el fin de estudiar si son capaces de interrumpir el ciclo celular de las células HT-29 de cáncer colorrectal. Se pudo

confirmar que ambas proteínas inducían apoptosis e incluso, se observó que la proteína ORF2 era capaz de provocar un gran incremento de la apoptosis temprana.

Palabras clave: cáncer colorrectal, E1A, ORF2, apoptosis

IMMUNE RESPONSE ELICITED BY DENDRIMERIC PEPTIDES AGAINST CSFV IN DOMESTIC PIGS. A NEW PATH TO DIVA STRATEGY

Bohórquez Garzón, José Alejandro, Ganges Espinoza, Lillianne

Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA). Bellaterra. 08193 Barcelona

El virus de la Peste Porcina Clásica (CSFV, por sus siglas en inglés) es un agente patológico de gran importancia en la industria porcina, causando grandes pérdidas económicas por mortalidad de animales en los países donde es endémico y por costos de control de brotes en los países libres. La vacunación contra esta enfermedad representa un problema, debido a las medidas que se han establecido para su monitoreo. Es por esto que la necesidad de vacunas y técnicas diagnósticas que permitan la diferenciación de animales vacunados de infectados (DIVA) ha aumentado con los planes de erradicación de la enfermedad. En el presente estudio se evalúa la capacidad de cinco péptidos dendriméricos, potencialmente DIVA, con diferentes combinaciones y número de copias de epítomos para inducir una respuesta inmune eficaz contra la enfermedad. Todos los péptidos fueron capaces de inducir protección clínica parcial, anticuerpos específicos anti-péptido y anticuerpos neutralizantes después del desafío con una cepa viral de campo altamente patogénica. Sin embargo, el RNA viral fue detectado en muestras de suero y heces, lo cual indica una protección parcial clínica no esterilizante. Estos hallazgos permiten evaluar la importancia del número de copias antigénicas y los epítomos escogidos en una vacuna DIVA peptídica.

Palabras clave: Respuesta inmune, epítome, péptido, dendrímero, porcino.

CARACTERIZACIÓN DEL CICLO VIRAL DE ADENOVIRUS DE LAGARTO Y SERPIENTE

Carlero Carnero, Diego; San Martín Pastrana, Carmen; Condezo Castro; Gabriela N.

Centro Nacional de Biotecnología (CNB). Campus de Cantoblanco. 28049 Madrid

El adenovirus (AdV) es un virus causante principalmente de problemas respiratorios. Es además uno de los principales virus usados como vectores de transferencia de genes y en creación de vacunas, pero en humanos existe una inmunidad innata contra este virus que le lleva a producir enfermedades solo a personas inmunodeprimidas o en situaciones

especiales. Esto dificulta mucho su efectividad a largo plazo en cuestiones terapéuticas, por lo que se propone el estudio de adenovirus de origen no humano, que pueden llegar a convertirse en buenos sustitutos para este tipo de terapias. En el contexto de este posible uso, se ha llevado a cabo la caracterización del ciclo viral de un adenovirus de lagarto (LAdV-2) y otro de serpiente (SnAdV-1) para conocer su comportamiento dentro de la célula y adentrarse más en el conocimiento de estos nuevos virus. Mediante ensayos cinéticos se ha determinado el tiempo post-infección al que los virus comienzan a producir ADN dentro de las células infectadas; cuándo alcanzan su máximo de producción; y el momento en el que se estabiliza la producción del mismo. Además, se comparó con un adenovirus humano control mostrando las diferencias en la producción de genomas virales en la célula. Se asentaron también las bases para una caracterización de la producción de proteínas virales utilizando anticuerpos que reconocen el polipéptido 11 en todos los virus analizados.

Palabras clave: Adenovirus, ADN, lagarto, serpiente, ciclo infeccioso, cinética.

PAPEL DE LA PROTEÍNA CELULAR LPIN2 EN LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C

Castro Illana, Victoria; Gastaminza Landart, Pablo

Centro Nacional de Biotecnología (CNB). Campus de Cantoblanco. 28049 Madrid

El virus de la hepatitis C (HCV) es la principal causa mundial de enfermedades crónicas del hígado. Existen evidencias claras de que HCV depende del metabolismo lipídico y provoca profundas alteraciones en la homeostasis de los lípidos. En este trabajo, centramos nuestra atención en la familia de las lipinas, que intervienen en la conversión en el citoplasma de ácido fosfatídico a diacilglicerol, y que también pueden traslocarse al núcleo para actuar como coactivadores transcripcionales de genes lipogénicos, algunos de los cuales son relevantes para la patogénesis y el ciclo vital de HCV. Un estudio previo de LPIN1, la lipina mejor caracterizada, determinó que los niveles de expresión de LPIN1 son limitantes en la infección por HCV. Basándonos en estos resultados, analizamos el papel de LPIN2 en la infección por HCV. Mediante estudios de silenciamiento génico (RNAi), determinamos que las células deficientes en LPIN2 presentan una reducción significativa en la susceptibilidad a la infección por HCV. En concreto, LPIN2 parece regular específicamente algunos aspectos de la entrada viral, una etapa de la infección en la que LPIN1 parece no estar implicada. Además, llevamos a cabo experimentos similares con el silenciamiento simultáneo de LPIN1 y LPIN2. Estas células silenciadas mostraron una reducción de susceptibilidad a la infección por HCV, aunque la reducción en la eficiencia de infección no es ni aditiva ni sinérgica en relación con el efecto producido por el silenciamiento individual.

Palabras clave: Virus de la hepatitis C, lipin, LPIN2, RNAi, HCV

TOLERANCIA A SEQUÍA EN PLANTAS INFECTADAS CON VIRUS: BALANCE COMPENSATORIO VIRUS-ESTRÉS ABIÓTICO

Cutrona Sánchez, M^a del Carmen; Tenllado Peralo, Francisco

Centro de Investigaciones Biológicas (CIB). 28040 Madrid

Los virus son simbioses intracelulares obligados y usan los recursos de su hospedador para su multiplicación y diseminación. Las plantas en la naturaleza están expuestas simultáneamente al estrés provocado por los factores bióticos y abióticos, lo que suele relacionarse con pérdidas económicas en agricultura. En este estudio se analizó el balance compensatorio que la infección por virus pudiera tener en la eficacia biológica del huésped bajo condiciones ambientales adversas, tal y como es el déficit hídrico. Plantas de *Arabidopsis thaliana* y *Nicotiana benthamiana* se infectaron con diferentes virus: PPV (*Plum pox virus*), PVX (*Patato virus X*), una quimera de PPV que expresa la proteína P25 de PVX (PPV-P25) y la mezcla PPV+PVX y se sometieron a diferentes tratamientos de déficit hídrico. Las infecciones virales retrasaron la aparición de síntomas asociados a sequía, evidenciado por un mayor contenido en agua en las plantas infectadas. Además se realizaron diferentes análisis de parámetros relacionados con la tolerancia a sequía, como son la velocidad de deshidratación y la modificación del sistema radicular de las plantas sanas e infectadas. De manera reseñable, se constató un efecto compensador de la infección con PPV y PPV+PVX sobre la eficacia biológica, media como producción de semillas por individuo, en las plantas de *A. thaliana* sometidas a déficit hídrico.

Palabras clave: *A. thaliana*, estrés abiótico, déficit hídrico, infección viral, eficacia biológica.

EDICIÓN GÉNICA EN PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS HUMANOS PARA LA INSERCIÓN DE UNA MATRIZ TERAPÉUTICA EN EL GEN *PKLR*

Fañanás Baquero, Sara; Segovia Sanz, José Carlos; Quintana Bustamante, Óscar

**Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas
(CIEMAT). 28040 Madrid**

La aplicación de la Edición Génica para la corrección de numerosas enfermedades humanas supone un reto, y en este caso, se ha desarrollado un sistema para la corrección de la Deficiencia en Piruvato Kinasa (PKD) basado en la edición génica de progenitores hematopoyéticos (HPCs). PKD es una enfermedad eritroide rara, causada por mutaciones en el gen *PKLR* que codifica para la enzima Piruvato Kinasa (RPK). Mediante una estrategia de knock-in, se inserta una matriz que contiene la versión codon-optimized de

los exones 3 a 11 de RPK y un gen de selección de puromicina, en el segundo intrón del gen PKLR, por medio de diferentes nucleasas. La matriz terapéutica y las nucleasas son introducidas por electroporación en células CD34+ purificadas de cordón umbilical sano. Estas HPCs son expandidas y seleccionadas por puromicina para enriquecer la población de células editadas. Pese a la gran toxicidad y baja eficiencia observadas, el 96% de las unidades formadoras de colonias (CFUs) derivadas de las CD34+ supervivientes, mostraron la integración específica de la matriz en el segundo intrón del gen *PKLR*. Además, se han detectado HSCs editados tras haber injertado en ratones NSG cuando se usa PKLR TALEN mRNA. En conclusión, se demuestra que la edición génica en HPCs con capacidad de injerto es factible, aunque se requieren mejoras en el sistema.

Palabras clave: Progenitores hematopoyéticos, deficiencia en Piruvato Kinasa, *PKLR*, TALEN, Edición génica.

DESARROLLO DE UNA VACUNA MULTISEROTIPO FRENTE AL VIRUS DE LA LENGUA AZUL BASADA EN EL VIRUS MVA RECOMBINANTE QUE EXPRESA LA PROTEÍNA NS1

Fernández Retuerto, Borja; Ortego Alonso, Francisco Javier; Marín López, Alejandro.

Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA-INIA). Valdeolmos. 28130 Madrid

El virus de la lengua azul (BTV) es un orbivirus sin envoltura con genoma ARN de doble cadena de la familia *Reoviridae*. Se transmite por insectos del género *Culicoides* infectando a rumiantes, causando fiebres trombo-hemorrágicas principalmente en ovejas. BTV provoca graves pérdidas económicas y repercusiones en la industria ganadera de los países afectados. La vacunación es una medida crítica para controlar la propagación del virus. Actualmente, las vacunas inactivadas son las empleadas en Europa, pero sus desventajas aumentan el interés en la investigación de vacunas recombinantes de nueva generación. Éstas deben ser más efectivas, más fáciles de producir y más baratas, además de ser marcadoras y de generar una protección multiserotipo. En este trabajo se ha desarrollado un candidato vacunal basado en el vector MVA que expresa la proteína NS1 de BTV-4. La vacunación con rMVA-NS1 indujo una fuerte respuesta inmune celular CD8 citotóxica y confirió protección en ratones IFNAR^(-/-) frente a desafíos con dosis letales de BTV-1, BTV-4 y BTV-8 en ausencia de anticuerpos neutralizantes. Los datos obtenidos del estudio sugieren que rMVA-NS1 podría ser una vacuna marcadora prometedora frente a múltiples serotipos de BTV.

Palabras clave: Virus de la lengua azul, vacuna multiserotipo, ratones IFNAR^(-/-), proteína NS1, virus *vaccinia* cepa modificada Ankara.

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE REPLICACIÓN IN VIVO DE AISLADOS DEL VIRUS DEL SÍNDROME REPRODUCTOR Y RESPIRATORIO PORCINO EN SU INMUNOGENICIDAD Y CAPACIDAD PARA INDUCIR PROTECCIÓN

Garza Moreno, Laura; Prieto Suárez, Cinta; Martínez Lobo, Fco. Javier

Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid

Una de las características principales del VSRRP es la débil respuesta inmunitaria tanto innata como adaptativa que induce en el cerdo tras la infección. Esta característica se une a su elevada variabilidad, que hace que exista una gran diversidad de virus, algunos de ellos con comportamientos patogénicos muy diferentes. Los aislados muy patógenos se replican *in vivo* más eficientemente que los avirulentos o las cepas vacunales. El presente estudio se diseñó para determinar si aislados que se replican de manera más eficiente en el hospedador pueden inducir una respuesta inmunitaria más potente que los aislados que se replican pobremente y mejorar así la protección de los animales. Los resultados del estudio indican que los aislados más virulentos inducen una respuesta homóloga de anticuerpos neutralizantes superior a los aislados menos virulentos, debido posiblemente a una mayor exposición antigénica. Sin embargo, esta respuesta superior no mejora la reactividad cruzada y la cantidad de anticuerpos neutralizantes frente a los aislados de desafío fue similar entre grupos, independientemente de la virulencia del aislado de inmunización, lo que conduce a una protección equivalente. Los resultados indican que la variabilidad antigénica del virus juega un papel superior en la protección heteróloga.

Palabras clave: VSRRP, inmunogenicidad, virulencia, protección heteróloga

LA INFLUENCIA DE PARÁMETROS AMBIENTALES EN LAS INTERACCIONES PLANTA-VIRUS DE ARN

Hernández Walias, Francisco Javier; Canto Ceballos, Tomás

Centro de Investigaciones Biológicas (CIB). 28040 Madrid

La capacidad de los virus para afectar cosechas puede depender de factores como la temperatura, CO₂, o estrés hídrico. Hemos estudiado cómo afecta la elevada temperatura o CO₂ ambientales a la interacción de tres tipos de virus de ARN de polaridad positiva con una planta modelo experimental. El aumento de la temperatura redujo la acumulación de dos de ellos, el virus Y de la patata (*Potato virus Y*, PVY) y el virus X de la patata (*Potato virus X*, PVX) desapareciendo los síntomas de infección. En el caso del virus del mosaico del pepino (*Cucumber Mosaic virus*, CMV) los niveles de virus y síntomas se mantuvieron a elevada temperatura. El elevado CO₂ ambiental también afectó, ligeramente, a los niveles de virus. El trabajo abordó también el estudio de posibles

efectos beneficiosos (*trade-offs*) que la infección viral pudiera conferir a las plantas frente a un estrés ambiental, la sequía. Otro aspecto del trabajo ha sido la obtención de clones virales infectivos de PVY y de CMV que expresan sus supresores del silenciamiento génico antiviral (HCP_{ro} y 2b, respectivamente) marcados con proteínas fluorescentes, para su estudio in vivo en un contexto de infección viral.

Palabras clave: PVY, CMV, PVX, agroinfiltración, supresión de silenciamiento.

EVOLUCIÓN DEL VIH-1 DURANTE LAS ETAPAS INICIALES DE LA INFECCIÓN EN DOS PAREJAS DE HOMBRES QUE TIENEN SEXO CON HOMBRES (HSH) INFECTADAS CON VIRUS IDÉNTICOS

Jurado Ruiz, Óscar; López-Galíndez, Cecilio; Casado Herrero, Concepción

Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Majadahonda. 28220 Madrid

OBJETIVOS: Confirmar la hipótesis de que un mismo aislado de VIH-1, en diferentes pacientes (ambientes genéticos diferentes) evolucionará de distinta forma. Lo que se pretende es estimar la contribución de los factores ambientales que causan esta diferente evolución.

PRINCIPALES RESULTADOS: Los resultados de este trabajo han permitido la identificación de diferentes tasas evolutivas del VIH-1 entre los miembros de cada pareja HSH. Se han detectado diferencias en la capacidad replicativa entre las variantes del VIH-1 analizadas. También, se han detectado polimorfismos genéticos en los pacientes analizados que pueden contribuir a diferencias en la tasa de evolución del virus VIH-1 y a la progresión clínica de la infección en los pacientes.

CONCLUSIONES: Las diferencias en las tasas evolutivas identificadas en los virus de los pacientes indican que los factores genéticos del huésped pueden estar condicionando la progresión clínica de la enfermedad.

Palabras clave: VIH-1, cuasiespecie, tasa de evolución, factores genéticos.

CARACTERIZACIÓN DE LA PROTEÍNA HA PROCEDENTE DE UN VIRUS DE LA GRIPE PH1N1 DE 2009 AISLADO DE UN PACIENTE FALLECIDO

López Hernández, Pablo; Falcón Escalona, Ana

Centro Nacional de Biotecnología (CNB). Campus de Cantoblanco. 28049 Madrid

El virus de la gripe es una de las principales causas de infecciones respiratorias agudas en el mundo. Anualmente se suceden epidemias estacionales y ocasionalmente se dan pandemias provocadas por cepas del virus altamente patogénicas. La gripe pandémica del año 2009 causó síntomas leves en la mayoría de los pacientes infectados. Sin embargo,

hubo una alta tasa de casos graves en adultos jóvenes sanos sin comorbilidades, indicando que podían estar co-circulando virus con diferente patogenicidad. En el laboratorio se caracterizaron dos virus aislados de pacientes sin comorbilidades asociadas, uno de ellos de un caso leve (virus M) y otro de un caso fatal (virus F). Los resultados indicaron que el virus F era más virulento en cultivo celular y más patogénico en un modelo murino *in vivo* que el virus M. La caracterización genética de estos virus indicó que las mutaciones PB2-A221T, PA-D529N y HA-S127L pueden ser considerados como posibles determinantes de patogenicidad. Este trabajo se centró en el estudio de la mutación HA-S127L evaluando su efecto en el proceso de unión y entrada a la célula. Este proceso se analizó de manera independiente del ciclo de replicación del virus de la gripe mediante el uso de partículas retrovirales pseudotipadas, y en el contexto del ciclo viral mediante la infección con virus de la gripe recombinantes. Se ha observado que la mutación HA-S127L no afecta significativamente al proceso de unión y entrada en la célula en ambos modelos sugiriendo que no es la responsable del incremento de patogenicidad del virus F.

Palabras clave: Virus de la gripe, pH1N1, hemaglutinina, patogenicidad.

PAPEL BIOLÓGICO DE LA PROTEÍNA TERMINAL DE LOS BACTERIÓFAGOS Phi29 y Bam35

Martínez Alonso, Diego; Salas Falgueras, Margarita; Redrejo Rodríguez, Modesto
Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBMSO). Campus de la Universidad
Autónoma. 28049 Madrid

Algunos virus, como los bacteriófagos Φ 29 y Bam35 llevan a cabo la replicación de su genoma utilizando una proteína terminal (TP) como cebador. Recientemente, se han asignado papeles adicionales a estas proteínas en el ciclo infeccioso de diversos fagos. En el presente trabajo se han caracterizado las interacciones entre la TP de Φ 29 y proteínas de su hospedador natural, *Bacillus subtilis*, con el objetivo de profundizar en los mecanismos que permiten a la TP llevar a cabo su función biológica. Aquí se muestra que al menos una proteína bacteriana podría interactuar con la TP de Φ 29. En el caso del fago Bam35, no se conoce en detalle el papel biológico de la TP. En el presente trabajo se ha estudiado la localización subcelular de la TP del fago Bam35 en su hospedador natural, *Bacillus thuringiensis*. La TP localizó de forma homogénea por toda la bacteria. Además, produjo una pérdida de la morfología celular y la desestructuración del nucleóide con independencia de otras proteínas virales. Estos resultados sientan la base para el estudio de la replicación de Bam35 *in vivo*.

ANÁLISIS VIROLÓGICO Y DE SUPERINFECCIÓN POR VIH-1 EN UNA PAREJA DE HSH NO PROGRESORES

Martínez Arbas, Susana; Pernas Escario, María; López Galíndez, Cecilio

Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Majadahonda. 28220 Madrid

Los pacientes no progresores a largo plazo (L TNP) constituyen un grupo de pacientes infectados por VIH-1 que no presentan síntomas clínicos por un período superior a 10 años en ausencia de terapia antiretroviral. La doble infección (DI), o infección por dos o más virus distintos de VIH-1, en L TNP se ha descrito sólo en casos esporádicos y no hay estudios sobre la evolución viral en este grupo de pacientes. También se ha descrito la superinfección en parejas seroconcordantes, ya sea con el virus de la pareja o uno externo. En este trabajo se analiza la evolución viral y las características biológicas de las variantes virales de la pareja con el objetivo de determinar si ambos se infectaron con el mismo virus y la posibilidad de la superinfección en un miembro de la pareja.

Palabras clave: VIH-1, superinfección, L TNP, respuesta neutralizante.

ESTUDIO DEL EFECTO ADYUVANTE DE UN RNA SINTÉTICO EN LA VACUNACIÓN DE CERDOS FRENTE AL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA

Monzón López, Felipe; Borrego Rivero, Belén

Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA-INIA). Valdeolmos. 28130 Madrid

Para proteger al ganado del Virus de la Fiebre Aftosa se utilizan adyuvantes que estimulan la respuesta inmune innata y adaptativa, junto con la vacuna convencional inactivada químicamente. En este estudio se ensaya el efecto de un transcrito sintético de RNA en la inmunización de cerdos durante tres meses en la etapa previa y 14 días en la posterior al desafío. Para el desafío se utilizó un virus análogo al vacunal. También se estudió la capacidad de neutralización frente a ambos virus, además de una cepa genéticamente distinta a estos. Los resultados indican que dicha molécula produce un aumento del título de anticuerpos y lo mantiene durante más tiempo, mejora la capacidad de neutralización *in vitro* frente a una cepa heteróloga a la vacunal y afecta positivamente a la protección frente a la enfermedad de los animales de campo.

Palabras clave: VFA, IRES, Cerdos, RNA.

CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANTIGÉNICAS E INMUNOGÉNICAS DE LA NUCLEOPROTEÍNA N DEL VIRUS DE LA FIEBRE DEL VALLE DEL RIFT

Moreno Fernández, Sandra; Brun Torres, Alejandro

**Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA-INIA). Valdeolmos. 28130
Madrid**

En este trabajo se han evaluado las propiedades antigénicas e inmunogénicas de la nucleoproteína N del virus de la fiebre del Valle del Rift (RVFV) empleando antisueros y anticuerpos monoclonales, así como ensayos de inmunización de ratones con proteínas recombinantes (*wild type* y mutante) o con vacunas ADN. Para ello se generaron plásmidos de expresión que codificaban el gen de la proteínas N de RVFV en su versión *wild type* y/o mutante. Se introdujeron mutaciones en dos zonas adyacentes (R1 y R2) que habían sido previamente identificadas como importantes para la unión de anticuerpos monoclonales anti-N. También se generaron varios plásmidos que codificaban la sustitución de ambas regiones por epítomos heterólogos, con el objeto de valorar la capacidad de inducción de anticuerpos frente a los mismos y su importancia en el reconocimiento antigénico. Los resultados obtenidos mostraron que las mutaciones introducidas influyen en el reconocimiento por anticuerpos monoclonales o por sueros policlonales. Además se observó una gran diferencia en la capacidad de inducción de anticuerpos por parte de las dos proteínas, siendo mayor en la *wild type* que en la mutante. Este resultado confirma la influencia de las mutaciones en R1 en las propiedades antigénicas e inmunogénicas de la nucleoproteína y sugiere la posibilidad de mejorar la discriminación entre animales infectados y vacunados con vacunas basadas en virus atenuados. Al contrario de lo esperado, no se detectó inducción de anticuerpos específicos frente a los epítomos heterólogos insertados en N y los ratones inmunizados con estas construcciones no mostraron protección frente a un desafío letal, disminuyéndose los tiempos de supervivencia. Este último hecho justifica la necesidad de llevar a cabo estudios adicionales.

Palabras clave: RVFV, nucleoproteína, inmunogenicidad

PRODUCCIÓN DE ANTÍGENOS DEL VIRUS ÉBOLA DE INTERÉS DIAGNÓSTICO Y VACUNAL EN INSECTOS BIOFACTORÍA

Ríos Rocabert Sergio; Martínez Escribano, José Ángel; Martínez Pulgarín, Susana

Instituto Nacional de Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). 28040 Madrid

El virus Ébola, en especial su variedad Zaire, es un patógeno de alta mortalidad que afecta de forma frecuente a la zona central del continente africano y frente al cual no se posee actualmente una vacuna o tratamiento aprobados. La búsqueda de una vacuna y un método de diagnóstico rápido, económico y eficaz son objetivos primordiales actualmente. El desarrollo de anticuerpos neutralizantes frente a la glicoproteína del virus ha demostrado ser clave para la supervivencia a la enfermedad, mostrándose este antígeno como un elemento esencial para la formulación vacunal. Asimismo, la presencia de

anticuerpos frente a la nucleoproteína en los individuos infectados otorga a esta proteína gran valor en el desarrollo de kits diagnósticos. En este trabajo se produjeron de forma eficaz la nucleoproteína y la glicoproteína del virus Ébola Zaire, así como un fragmento altamente inmunogénico de esta última (MFL) en larvas y crisálidas del insecto *Trichoplusia ni* utilizando baculovirus mejorados mediante la tecnología Top-Bac®. Se analizaron diferentes dosis de baculovirus y tiempos de infección en ambas estadías para optimizar las condiciones para su producción. Con las condiciones óptimas se obtuvieron 3,37 mg de nucleoproteína, 5,37 mg de glicoproteína y 2,61 mg del fragmento MFL por cada gramo de insecto.

Palabras clave: Ébola, glicoproteína, nucleoproteína, baculovirus Top-Bac®, insectos biofactoría.

RETROVIRUS ENDÓGENOS FELINOS Y VIRUS DE LA LEUCEMIA FELINA

Riveros Zalamea, Juan Diego; Gómez-Lucía Duato, Esperanza; Doménech Gómez, Ana

Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid

Las secuencias homólogas al virus de la leucemia felina (enFeLV) son retrovirus endógenos presentes en el genoma de los gatos domésticos que no pueden producir virus infecciosos pero que sin embargo, son capaces de recombinarse con virus de la leucemia felina (FeLV), lo que permite plantear que enFeLV desempeñe un papel en la evolución de la infección por FeLV. En este trabajo, se secuenciaron nueve genes *pol* de provirus enFeLV y FeLV obtenidos de gatos no infectados e infectados por FeLV. Las secuencias *pol*, conservadas en ambos virus, se detectaron utilizando una técnica de PCR anidada, previamente desarrollada en el laboratorio, y se amplificaron por PCR utilizando varias combinaciones de los 22 cebadores diseñados en este trabajo. Las secuencias obtenidas se alinearon frente a una secuencia completa de enFeLV A2 (acceso GenBank número AY364319.1) y otras secuencias de enFeLV y FeLV de la base de datos GenBank, y se realizaron análisis filogenéticos con todos ellos. Se observó una alta homología (95-99%) entre todas las secuencias estudiadas. No se observaron diferencias claras entre las secuencias exógenas y endógenas en los análisis filogenéticos; así, dos secuencias endógenas (12, 34) y una secuencia FeLV (96) fueron las más estrechamente relacionadas con enFeLV A2, lo que sugiere algunos eventos de recombinación entre genes *pol* exógenos y endógenos. Se detectaron mutaciones puntuales, algunas deleciones e inserciones en las secuencias de FeLV, principalmente en las correspondientes a la transcriptasa inversa, lo que podrían afectar a la función de la proteína. La alta homología entre las secuencias de FeLV y enFeLV detectada en este trabajo sugiere que enFeLV podría interactuar con secuencias exógenas para incrementar la diversidad de nuevas cepas recombinantes de FeLV. Estas nuevas cepas emergentes de FeLV podrían suponer nuevos desafíos para todos los clínicos veterinarios felinos.

Palabras claves: FeLV, enFeLV, enFeLV A2, *pol*, recombinación

CARACTERIZACIÓN GENÓMICA DE LOS VIRUS DENGUE IMPORTADOS A EUROPA

Rojas Neyra, Aldo Stanlee; Franco Narváez, Leticia; Vázquez González, Ana

Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Majadahonda. 28220 Madrid

El dengue es causado por 4 virus diferentes relacionados (DENV-1, 2, 3, 4), transmitido a los humanos por la picadura de mosquitos *Aedes*. La enfermedad es endémica en más de 100 países de Asia, América, África y Oceanía. En el 2010, el dengue re-emergió en Europa, en la Riviera francesa y Croacia, con brotes pequeños. Dos años más tarde, en octubre del 2012, una epidemia apareció en el archipiélago de Madeira. Sin embargo, en Europa la mayor carga de notificación de dengue se debe todavía a los casos importados por viajeros. El presente estudio tiene como objetivo la detección y tipificación molecular de serotipos y genotipos del DENV obtenidos de viajeros infectados, que regresaron de diferentes continentes con infecciones por DENV. Se diagnosticaron 120 casos agudos de viajeros europeos infectados con los cuatro serotipos del DENV. Además, el análisis filogenético de las secuencias de 220 nucleótidos de la unión de E/NS1, resultó una herramienta muy importante para la vigilancia epidemiológica, ya que sus resultados fueron validados correctamente con el análisis del genoma completo de DENV-2 procedentes de cinco casos que representaron a cada uno de los genotipos.

Palabras clave: Dengue, RT-PCR nested, serotipo, genotipo, genoma

ESTUDIO DE LA DINÁMICA POBLACIONAL DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN CULTIVOS CELULARES

Sánchez Martín, Irene; Perales Viejo, Celia; Domingo Solans, Esteban

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBMSO). Campus de la Universidad Autónoma. 28049 Madrid

El sistema de cultivos del virus de la hepatitis C está permitiendo entender la dinámica de cuasiespecies que se sabe muy relevante para las infecciones *in vivo*. En este trabajo se ha demostrado por primera vez que un clon biológico de una población altamente evolucionada mantiene un espectro de mutantes con una complejidad limitada y parecida a la del virus parental no pasado. Además, clones biológicos muestran una capacidad de producir progenie y un patrón de resistencia parcial a múltiples drogas semejante a las correspondientes poblaciones no clonadas.

Palabras clave: Cuasiespecies, Virus de la Hepatitis C, clon biológico, población, cultivo celular.

AISLAMIENTO Y PURIFICACIÓN DE VLPS EXPRESADAS EN CRISÁLIDAS DE *Trichoplusia ni* PARA EL DESARROLLO DE UNA VACUNA CONTRA EL VIRUS DE LA ENFERMEDAD HEMORRÁGICA DEL CONEJO

Santiago Hernández, Aránzazu; Reytor Saavedra, Edel; Alvarado Fradua, Carmen; Gómez Sebastián, Silvia

Alternative Gene Expression S.L. (ALGENEX). Parque Científico y Tecnológico Universidad Politécnica de Madrid. 28223 Pozuelo de Alarcón. Madrid

La EHC (Enfermedad Hemorrágica del Conejo) es una de las patologías más contagiosas y letales para el conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*). Está producida por un Calicivirus del género *Lagovirus*, el VEHC (virus de la enfermedad hemorrágica de conejo). Este virus, presenta una variante clásica frente a la que existe vacuna (AST89) y una variante emergente (N11) en proceso de investigación. En los últimos años, las estrategias de vacunación están enfocadas en la producción de proteínas recombinantes, en concreto, la VP60, proteína que conforma la cápside viral en diferentes sistemas de producción como bacterias, levaduras y células de insecto. De esta manera, se intentan sustituir los actuales métodos de inmunización que utilizan homogenizado de hígado de los individuos infectados. Sin embargo, estos sistemas de producción de VP60 al igual que el método actual, presentan unos costes de mantenimiento muy elevados. Aquí se propone un novedoso mecanismo de obtención de VP60 de reducido coste, tiempo y alta eficiencia productiva. Este sistema ha sido patentado por la empresa Algenex (Alternative Gene Expression S.L), recibiendo el nombre de *CrisBio*. Esta tecnología está basada en la utilización de crisálidas de *Trichoplusia ni* como biofactoría para la generación de múltiples copias de VP60. Haciendo uso de ella, se consigue por primera vez aislar, purificar y visualizar mediante el uso del microscopio electrónico VLPs (virus-like particle).

Palabras clave: VEHC, VP60, CrisBio, VLPs

DETECCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN PICORNAVIRUS ENTÉRICO PORCINO IMPLICADO EN UN PROBLEMA DE FALLO REPRODUCTIVO EN GANADO PORCINO

Susanna González-Bueno, Gabriela; Prieto Suárez, Cinta; Martínez Lobo, Francisco Javier

Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid

Este estudio describe el diagnóstico etiológico de un proceso clínico caracterizado por un aumento anormal en la tasa de fetos momificados en una explotación porcina. Se realizó el diagnóstico diferencial de los virus más frecuentemente asociados al proceso incluyendo parvovirus porcino (PPV), circovirus porcino tipo 2 (PCV-2), virus de la encefalomiocarditis (EMCV), virus del síndrome reproductor y respiratorio porcino (PRRSV) y picornavirus entéricos Porcinos (PEV). Únicamente se obtuvieron resultados positivos para PEV en las muestras de líquido torácico y pulmón de fetos momificados y nacidos muertos. El hecho de que se hayan obtenido resultados positivos en la RT-PCR de diagnóstico para PEV en la mayoría de las muestras clínicas, mientras que no se han detectado ninguno de los otros patógenos analizados, indica que los PEVs podrían estar involucrados en el fallo reproductivo observado. Aunque no se pudo realizar el aislamiento del virus en cultivo celular, se demostró la viabilidad del mismo en algunas muestras mediante la realización de un bioensayo. La caracterización molecular del virus detectado confirmó que se trataba de un Teschovirus que se agrupaba filogenéticamente con cepas pertenecientes al serotipo 3, siendo la primera vez que se describe este serotipo en España.

Palabras clave: Picornavirus entérico porcino, PEV, fallo reproductivo, análisis filogenético

INHIBICIÓN DE LA INFECCIÓN DEL VIRUS DE LA PESTE PORCINA AFRICANA POR LA EXPRESIÓN TRANSITORIA DE LOS FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN FOXO

Tamayo Caro, Miguel; Alonso Martí, Covadonga; Galindo Barreales, Inmaculada

Instituto Nacional de Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA). 28040 Madrid

El Virus de la Peste Porcina Africana (VPPA) es un virus ADN de doble cadena que pertenece a la familia *Asfarviridae*. Este virus es capaz de inhibir tanto la autofagia como la apoptosis celular mediante su proteína A179L, un homólogo vírico al Bcl-2 celular evitando así que las células infectadas puedan hacer frente a la infección. Es posible que la activación de la autofagia celular pueda inhibir la replicación de las partículas víricas en la célula infectada. Con el objetivo de conocer su efecto sobre la inducción de autofagia y la infección por VPPA, se procedió a la expresión transitoria de dos factores transcripcionales reguladores de la autofagia y apoptosis, FOXO1 y FOXO3. Su estudio en la infección por el VPPA podría permitirnos conocer mejor el papel de la autofagia en el ciclo vírico y su importancia en la inmunidad innata frente al virus. Nuestros resultados sugieren que los genes FOXO son capaces de reducir la eficiencia de infección activando la autofagia en las células que van a ser infectadas. Futuros estudios que investiguen la compleja regulación de los genes FOXO podrían tener aplicaciones terapéuticas en enfermedades neurodegenerativas y en infecciones virales relacionadas con la autofagia.

Palabras Clave: VPPA, FOXO1, FOXO3, autofagia.

CARACTERIZACIÓN DE LOS ENTEROVIRUS ASOCIADOS A INFECCIONES RESPIRATORIAS. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DEL EV-D68

Taravillo Cañete, Irene; Cabrerizo Sanz, María

Instituto de Salud Carlos III (ISCIII). Majadahonda. 28220 Madrid

El enterovirus D68 (EV-D68) pertenece a la especie D del género *Enterovirus* (familia *Picornaviridae*). En 2014 se describieron varios brotes en Norteamérica, con numerosos casos de niños ingresados con patologías respiratorias graves. El EV-D68 también se asoció a casos de parálisis. En España no había datos de prevalencia, por lo que los objetivos de este estudio fueron identificar el serotipo de los EV detectados en infecciones respiratorias pediátricas y estudiar la epidemiología y clínica asociada a las infecciones por EV-D68. Lo primero fue diseñar y validar una RT-PCR específica para el tipado de EV-D68. Se caracterizó el serotipo de EV en 67 muestras de niños hospitalizados con infección respiratoria (octubre 2014-abril 2015). EV-D68 fue el EV detectado con más frecuencia (15%, 6 de los 41 EV confirmados). Clínicamente, los 6 pacientes EV-D68-positivos presentaron neumonía (1 caso), broncoespasmos y dificultad respiratoria (2 casos) y síntomas catarrales (3 casos). El análisis filogenético indicó que las secuencias identificadas pertenecían al mismo clado que agrupa a la mayoría de cepas circulantes durante 2014 en USA y Europa. En conclusión, este trabajo confirma la circulación de EV-D68 en España asociado a infección respiratoria, aunque es necesario realizar más estudios para conocer mejor su epidemiología y patogenia.

Palabras clave: Enterovirus D68, RT-PCR, infección respiratoria, análisis filogenético.

CARACTERIZACIÓN DE DENDRONES CATIONICOS COMO VEHÍCULOS DE ANTI-miARNs EN LA REACTIVACIÓN DEL VIH

Verger Salom, Elena; Muñoz Fernández, M^a Ángeles; Martínez Bonet, Marta

Hospital Universitario Gregorio Marañón. 28007 Madrid

A pesar del éxito de la terapia antirretroviral de combinación, no es posible la completa eliminación del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) debido al establecimiento de reservorios. Los micro-ARNs (miARNs) 17, 28, 29a, 29b, 125b, 150, 223 y 382 contribuyen al estado de latencia que establece el VIH en linfocitos T CD4⁺. Inhibidores específicos (anti-miARNs) de estos miARNs contrarrestan sus efectos y pueden medirse a través de la expresión de las proteínas diana o por la producción de virus. Otros compuestos que han demostrado su eficacia en la reactivación de la latencia del VIH son los inhibidores de histona-deacetilasas (iHDAC). Primero se caracterizaron dendrones catiónicos estables para valorar su capacidad de vehiculizar anti-miARNs y reactivar el

VIH en modelos de células latentemente infectadas y también en combinación con los iHDAC. Los resultados demuestran buena biocompatibilidad de los dendrones catiónicos en células mononucleares de sangre periférica y su capacidad de formar dendriplexes con los miARNs mostrando un elevado potencial en aplicaciones biomédicas.

Palabras clave: VIH, estrategias de reactivación, dendrones, miARNs, iHDAC