ISSN 1852-771X
Rev. med. vet. (En línea) 2023, 104(1): 17 – 80

AAIV 2022

XIV Jornadas de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria

II Reunión de la Red Latinoamericana de Inmunología Veterinaria

27 y 28 de octubre de 2022

Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires

Tandil – Buenos Aires – Argentina

LIBRO DE RESÚMENES

COMITÉ ORGANIZADOR LOCAL

Dra. Nora Lía Padola (UNCPBA)
Dra. Silvia Estein (UNCPBA)
Dra. Analía Etcheverría (UNCPBA)
Dra. Paula Lucchesi (UNCPBA)
Dra. Silvina Gutiérrez (UNCPBA)
Dra. Vanesa Fernández (UNCPBA)
Dr. Daniel Fernández Fellenz (UNCPBA)
Dra. Carolina Vélez (UNLPam)

COMITÉ CIENTÍFICO

Dra. Silvia Estein (UNCPBA)
Dra. Silvina Gutiérrez (UNCPBA)
Dra. Paula Lucchesi (UNCPBA)
Dra. Nora Lía Padola (UNCPBA)
Dra. Alejandra Capozzo (INTA)
Dra. Cecilia Dogi (UNRC)
Dr. Eduardo Mórtola (UNLP)
Dra. Leticia Peralta (UNR)
Dra. Carina Porporatto (UNVM, Córdoba)
Dra. Adriana Soutullo (Min. Producción Santa Fe, FBCB-UNL)
Dra. Carolina Vélez (UNLPam)
Dra. Delia Williamson (UNLPam)
Dra. Lidia Gogorza (UNCPBA)

COMITÉ COLABORADOR

Dra. Alejandra Capozzo (INTA)
Dr. Eduardo Mórtola (UNLP)
Dra. Carina Porporatto (UNRC)
Dra. Adriana Soutullo (Min. Producción Santa Fe, FBCB-UNL)
Dra. Cecilia Dogi (UNRC)
Dra. Sandra Núñez (UNNE)
Dra. Ana Jar (UBA)
Dra. Cecilia Greco (AAIV)
Dra. Estela Vera (UNL)
Dra. Leticia Peralta (UNR)

*El Comité Organizador de las XIV Jornadas de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria agradece la colaboración de los siguientes profesionales en la **evaluación** de los resúmenes presentados:*

Fabricio Alustiza, Celina Baravalle, Carolina Bianchi, Celina Cabrera, Nancy Cardoso, Noelia Cariddi, Mariángeles Clauzure, Bibiana Dallard, Silvia M. Estein, Gisela García, Lidia Gogorza, Cecilia Greco, Silvina Gutiérrez, Ana Jar, Guillermo Meglia, Eduardo Mórtola, Silvia Mundo, Sandra Nuñez, Carina Porporatto, Andrea Racca, Maria Sol Renna, Emilce Rojo, Maria Laura Soriano Perez, Adriana Soutullo, Carolina Velez y Delia Williamson.

ISSN 1852-771X

AUSPICIANTES

El Comité Organizador de las XIV Jornadas de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria agradece a aquellas personas e instituciones que han brindado apoyo a su realización.

Elanco

CDV
DIAGNÓSTICO Y VACUNAS
PARA LA SANIDAD ANIMAL

TECNOVAX
Sanidad Animal

BIOTANDIL®
CIENCIA Y EXPERIENCIA
EN SANIDAD ANIMAL

Biogénesis Bagó

BIO-OPTIC S.R.L
Excelencia tecnológica y calidad de servicios

DISTRIBUIDORA GAMMA

SCH SOUBEIRAN CHOBET
ESPECIALIDADES MEDICINALES DESDE 1912

Colegio de Veterinarios
de la provincia de Buenos Aires

ISSN 1852-771X

JUNTA DIRECTIVA DE LA AAIV – PERÍODO 2022-2025

Directora: Alejandra Capozzo (INTA Castelar)

Subdirectora: Adriana Soutullo (Min. Producción Santa Fe, FBCB-UNL)

Secretaria: Leticia Peralta (UNR)

Tesorera: Carolina Vélez (UNLPam)

Vocal 1º: Eduardo Mórtola (UNLP)

Vocal 2º: Dra. Nora Lía Padola Padola (UNCPBA)

Vocal 3º: Dra. Carina Porporatto (UNVM)

Vocal 4º: Dra. Silvia Estein Padola (UNCPBA)

Vocal 5º: Dra. Silvia Colavecchia (UBA)

Vocal 6º: Dra. Delia Williamson (UNLPam)

Representantes Institucionales:

Estela Vera (UNL)

Sandra Núñez (UNNE)

Cecilia Dogi (UNRC)

Ana Jar (UBA)

JORNADAS CIENTÍFICAS ANTERIORES DE LA AAIV

- Primeras Jornadas y Reunión Anual. 2008, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Sociedad de Medicina Veterinaria).
- Segundas Jornadas y Reunión Anual. 2009, Rosario - Santa Fe (Colegio de Médicos Veterinarios de la Provincia de Santa Fe, 2ª Circunscripción).
- Terceras Jornadas y Reunión Anual. 2010, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Sociedad de Medicina Veterinaria).
- Cuartas Jornadas y Reunión Anual. 2011, Río Cuarto - Córdoba (Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto).
- Quintas Jornadas y Reunión Anual. 2012, Esperanza - Santa Fe (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral).
- Sextas Jornadas y Reunión Anual. 2013, Casilda - Santa Fe (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional Rosario).
- Séptimas Jornadas y Reunión Anual. 2014, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires).
- Octavas Jornadas y Reunión Anual. 2015, Tandil - Buenos Aires (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires).
- Novenas Jornadas y Reunión Anual. 2016, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Sociedad de Medicina Veterinaria).
- I Simposio Internacional y Décimas Jornadas y Reunión Anual. 2017, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires).
- Undécimas Jornadas y Reunión Anual. 2018, Salta (Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta).
- Duodécimas Jornadas y Reunión Anual. 2019, La Plata (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata).
- Décimo terceras Jornadas y Reunión Anual. 2021. Primer Reunión de la Red Latinoamericana de Inmunología Veterinaria. General Pico (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa).

ISSN 1852-771X

Jueves 27 de octubre de 2022

9:00 h **ACREDITACIÓN**

9:30 h **CONFERENCIA INAUGURAL**

El interferón lambda bovino recombinante como biofármaco antiviral:aplicación en diarrea viral bovina y COVID-19
Dra. Alejandra Capozzo
Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas -INTA- CONICET

10:45 h **MESA REDONDA HERPES VIRUS BOVINO**
Influencia de los receptores tipo Toll en la neuropatogenia de los alfa-herpesvirus bovinos
Dra. Sandra E. Pérez
Facultad Ciencias Veterinarias-CIVETAN- UNCPBA

Rol de los péptidos antimicrobianos catelicidinas en la patogenia de los alfa-herpesvirus bovinos y su interacción con receptores tipo toll (TLRs)
Dra. Maia Marín
Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el DesarrolloSostenible -CONICET - Mar del Plata

Estrategias vacunales actuales contra herpesvirus bovino
Dra. Alejandra Romera
Instituto de Virología, CNIA INTA Castelar.

12:15 h **ALMUERZO**

13:15 h **SESIÓN DE POSTERS**

14:00 h **PRESENTACIONES ORALES**

14:45 h **MESA REDONDA INMUNOLOGÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA**

Modulación de la respuesta inmune innata en la glándula mamaria bovina:conceptos generales y compuestos inmunomoduladores
Dra. Bibiana Dallard
Centro Científico Tecnológico CONICET-Santa Fe. Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral. Universidad Nacional del Litoral. Facultad de Ciencias.Veterinarias

Vacunas contra la infección intramamaria por Escherichia coli y Staphylococcus aureus: Inmunógenos actuales y desafíos futuros
Dr. Luis Calvinho
INTA Rafaela

Evasión de la respuesta inmune por los biofilms bacterianos: estrategiasde intervención en la glándula mamaria bovina
Dra. Carina Porporatto
Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (CONICET-UNVM). Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María. Villa María, Argentina.

16:15 h **ASAMBLEA AAIV**

ISSN 1852-771X

Viernes 28 de octubre de 2022

9:00 h **RECEPCIÓN**

9:20 h **MESA REDONDA: INMUNOLOGÍA DE LOS TUMORES**

Oncoinmunologia en la complejidad del proceso neoplásico
Dra. Laura Denzoin
Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA. Sociedad Argentina de Oncología Veterinaria

10:00 h ***Oncoinmunologia de la electroporación en Veterinaria***
Dr. Matías Tellado
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Sociedad Argentina de Oncología Veterinaria

10:45 h ***Respuesta inmune en la electrotransferencia génica. Medicina traslacional***
Dr. Felipe Maglietti
CONICET-Hospital Italiano de Buenos Aires

12:00 h **ALMUERZO**

13:15 h **SESIÓN DE POSTERS**

14:00 h **PRESENTACIONES ORALES**

14:45 h **TALLER DE DOCENCIA UNIVERSITARIA**

Propuestas de transversalización de la Inmunología en la Enseñanza de las Ciencias Veterinarias
Dr. Antonio Felipe
Secretario Académico. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA

16 h **CONFERENCIA DE CIERRE**

Parásitos helmintos: Maestros de la inmunoregulación
Dra. Teresa Freire
Universidad de la República, Montevideo, Uruguay
Departamento de Inmunobiología de la Facultad de Medicina, UdelaR

ISSN 1852-771X

CONFERENCIAS

ISSN 1852-771X

El interferón lambda bovino recombinante como biofármaco antiviral: aplicación en diarrea viral bovina y COVID-19

Recombinant bovine interferon lambda as a biopharmaceutical antiviral: application in bovine viral diarrhea and COVID-19

Dra. Alejandra Capozzo

Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas -INTA- CONICET, Buenos Aires, Argentina.

capozzo.alejandra@inta.gob.ar

La administración de IFN como biofármacos antivirales constituye una medida efectiva para el tratamiento de varias infecciones virales. Tradicionalmente en terapias desarrolladas para humanos se han utilizado IFN de tipo I (IFN-α) que están siendo actualmente reemplazados, dada su toxicidad hematológica, por los IFN de tipo III (IFN-λ), cuyo efecto antiviral es idéntico al IFN-α pero localizado en epitelios, principalmente en mucosas, sin efecto sobre las células sanguíneas. En este trabajo desarrollamos un IFN-λ bovino recombinante modificado producido en células HEK-293. Comprobamos el efecto antiviral del IFN-λr sobre cepas de campo y de referencia del BVDV *in vitro*, como así también su inocuidad y eficacia en bovinos infectados experimentalmente con una cepa de campo Argentina del genotipo 2, biotipo NCP. Ninguno de los terneros tratados con IFN-λr desarrolló sintomatología. No se detectó viremia ni excreción viral en ninguno de estos animales. El IFN-λr impidió la infección por SARS-CoV-2 de células VERO, con una concentración inhibitoria 50 % (IC50) entre 30 y 50 veces menor que la del IFN de tipo I humano. También demostramos la ausencia de toxicidad de rbIFN-λ en PBMC humanas y la falta de actividad proinflamatoria en estas células. Este trabajo constituye la primera evidencia experimental del potencial bioterapéutico del IFN-λ bovino contra el BVDV in vivo y contra el SARS-CoV-2 *in vitro*, abriendo una nueva perspectiva enfocada en el uso de antivirales biológicos económicos, biodegradables y seguros para reducir la incidencia de las infecciones virales. La aplicación de esta herramienta podría impactar indirectamente en la disminución del uso de antibióticos al decrecer la tasa de infecciones bacterianas que devienen de las infecciones virales inmunosupresoras.

ISSN 1852-771X

Parásitos helmintos: maestros de la inmunorregulación

Helminth parasites: masters of immunoregulation

Dra. Teresa Freire

Laboratorio de Inmunomodulación y Vacunas, Departamento de Inmunobiología, Facultad de Medicina, UdelaR, Montevideo, Uruguay

tfreiregard@gmail.com

Las helmintiasis en animales de producción representan un importante problema socio-económico, ya sea por su implicación en salud pública dado su potencial zoonótico o por las pérdidas productivas que ocasionan en el ganado. Estas parasitosis ocasionan una disminución de la producción, aumento de los costos productivos y muertes de ganado. La mortalidad causada por las parasitosis es la forma de presentación clínica más extrema, pero la disminución de la producción de lana, carne y leche generada por las presentaciones clínicas agudas, crónicas y subclínicas (asintomáticas), son de gran importancia. Dentro de las infecciones causadas por helmintos de mayor importancia en el ganado regional se encuentran *Fasciola hepatica* en el sector bovino y *Haemonchus contortus* en ovinos. En esta presentación discutiremos los aspectos inmunomoduladores que caracterizan a los parásitos helmintos, focalizándonos en los dos mencionados anteriormente. Por otro lado, discutiremos cuáles pueden ser las consecuencias de la inmunorregulación inducida por la infección parasitaria, como la susceptibilidad a infecciones secundarias, influencia en los resultados de tests diagnósticos y en la inmunidad inducida por vacunas.

ISSN 1852-771X

MESA REDONDA HERPES VIRUS BOVINO

ISSN 1852-771X

Influencia de los receptores tipo Toll en la neuropatogenia de los alfa-herpesvirus bovinos

Influence of Toll-like receptors in bovine alpha-herpesviruses neuropathogenesis

Pérez, Sandra Elizabeth, PhD

Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Facultad Ciencias Veterinarias, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN)(UNCPBA-CICPBA-CONICET), Tandil, Buenos Aires, Argentina.

seperez@vet.unicen.edu.ar

Los receptores tipo toll (TLR) son componentes de la inmunidad innata que reconocen estructuras conservadas en distintos microorganismos y desencadenan vías de señalización que culminan en la expresión de IFN tipo I y III y citoquinas pro-inflamatorias. Los alfa-herpesvirus bovinos (BoHV) 1 y 5 son virus estrechamente relacionados que pueden causar cuadros neurológicos en bovinos. La participación de los TLRs ha sido analizada en algunas encefalitis virales y se ha demostrado que si bien los TLR pueden asociarse con actividad antiviral también pueden desencadenar una respuesta neuroinflamatoria. En tejido nervioso de animales inoculados experimentalmente con BoHV-1 o 5 se detectó un incremento en la expresión de ARNm de los TLR3, 7 y 8 durante la infección aguda ($p \leq 0,05$), mientras que en la etapa de latencia y reactivación se observó una disminución de los niveles de expresión ($p \leq 0,05$) de todos los TLR, excepto del TLR3 en sistema nervioso infectado con BoHV-5. La expresión de TLR9 no se afectó en ninguno de los estadios. En un estudio inicial para evaluar los TLR en relación a la infección por BoHV se utilizaron leucocitos de sangre periférica (PBLs) estimulados con agonistas de los TLR3, 7-8 y 9 por 6 y 24 h, luego los sobrenadantes se adicionaron a células MDBK infectadas con BoHV-1 o 5 por distinto tiempo y a las 24 h se evaluaron los títulos virales en sobrenadante. En ambas infecciones virales solo Imiquimod (agonista de TLR7) tuvo efecto antiviral. Los restantes agonistas indujeron un aumento de la replicación viral. Por otro lado, en células neurales pre-tratadas con agonistas de TLR3 (poli (I:C)) o TLR7 (Imiquimod) e infectadas con BoHV-1 o 5 tampoco se observó un efecto negativo sobre la replicación viral. Por lo tanto, estos resultados preliminares sugieren que la activación de los TLR3 y 7 conduciría a una mayor replicación y diseminación viral en tejido nervioso, lo cual contribuiría potencialmente al desarrollo del cuadro neurológico.

ISSN 1852-771X

Rol de los péptidos antimicrobianos catelicidinas en la patogenia de los alfa-herpesvirus bovinos y su interacción con los receptores tipo Toll (TLRs)

Role of cathelicidin antimicrobial peptides in the pathogenesis of bovine alpha-herpesviruses and their interaction with toll-like receptors (TLRs)

Dra. Maia Solange Marin

Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS Balcarce), INTA-CONICET, Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

marin.maia@inta.gob.ar

Los resultados del grupo de investigación sugieren un papel relevante de la respuesta inmune innata, principalmente a partir de la activación y/o modulación de las vías de señalización de los receptores tipo Toll (TLRs) en el desarrollo de cuadros clínicos agudos y de la reactivación de herpesvirus bovino (BoHV) tipo 1 y 5. Las catelicidinas son pequeños péptidos antimicrobianos que, en los últimos años, han generado un gran interés como moléculas efectoras y moduladoras de la inmunidad innata. La expresión de catelicidinas está estrechamente regulada a través de diferentes mecanismos implicando principalmente la activación de los TLRs. Sin embargo, una respuesta exacerbada a los estímulos microbianos resulta en una respuesta inflamatoria en la cual los elevados niveles de citoquinas y mediadores inflamatorios provocan daño tisular. Se ha observado que las catelicidinas podrían modular la expresión de diferentes TLRs sugiriendo un circuito de retroalimentación ya sea negativa o positiva. Sin embargo, los mecanismos de cooperación que subyacen a ambos, TLRs y catelicidinas, induciendo defensas innatas en tejidos bovinos permanecen indefinidos. El objetivo general de nuestra línea de trabajo es generar conocimientos sobre los mecanismos de interacción entre catelicidinas de la defensa inmune innata y TLRs en tejidos bovinos y cultivos celulares *in vitro* y determinar su rol en las infecciones por BoHV-1 y BoHV-5. Para la caracterización y comparación de la expresión génica de los distintos componentes inmunes innatos en tejidos bovinos se utilizó material de bovinos infectados experimentalmente con BoHV-1 o BoHV-5 durante las distintas etapas de infección. La infección por BoHV moduló principalmente la expresión de BMAP28, una catelicidina clave en bovinos, tanto en aparato respiratorio como en sistema nervioso. Las catelicidinas están implicadas en las infecciones por alfa-herpesvirus en el tracto respiratorio y tejido nervioso bovinos con una respuesta diferencial durante las distintas etapas del ciclo infeccioso. Además, se observó que las infecciones por alfa-herpesvirus regulan diferencialmente otros componentes de la respuesta inmune innata como IFNβ y TNFα, posiblemente influyendo en su patogénesis. Para determinar si las expresiones de los componentes inmunes innatos en el bovino están relacionadas se realizó un análisis de regresión lineal, utilizando los niveles relativos de expresión génica de las catelicidinas BMAP28 o BMAP27 como variable independiente y los niveles relativos de expresión génica de TLRs, TNFα e IFNβ o títulos virales como variable dependiente. Se observó una regulación positiva de BMAP28 durante la infección aguda de ambos virus con respecto a los niveles de expresión de IFNβ en sistema nervioso y aparato respiratorio, TLR3 en aparato respiratorio y TLR7 en sistema nervioso. Por otro lado, el análisis en conjunto de los resultados *in vitro* sugiere que Poly I:C e Imiquimod (agonistas del TLR3 y TLR7, respectivamente) poseen una acción antiviral en células respiratorias bovinas, mediada por la inducción de la expresión de catelicidinas y citoquinas (TNFα e IFNβ) ante la activación de un TLR específico previa a la infección. Estos hallazgos sugieren un papel protagónico de las catelicidinas en la patogénesis y su potencial empleo para el control de las enfermedades por alfa-herpesvirus.

ISSN 1852-771X

Estrategias vacunales para controlar infecciones de herpesvirus bovinos

Vaccine strategies to control bovine herpesvirus infections

Dra. Sonia Alejandra Romera

Instituto de Virología-Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas. INTA Castelar, Provincia de Buenos Aires, Argentina

romera.alejandra@inta.gob.ar

El control de IBR-IPV causada por herpesvirus bovinos (BoHV) asume importancia internacional debido a la distribución mundial del virus y la multiplicidad de transacciones comerciales nacionales e internacionales de animales y semen las cuales no son siempre estrictamente supervisadas. Una seria desventaja es la falta de un programa consensuado internacionalmente para el control de la infección, difiriendo los planes de control entre países. Europa comenzó un plan de erradicación de BoHV-1 y fijó barreras a la importación de animales desde zonas infectadas pudiendo transformarse en una barrera para-arancelaria. En países con alta prevalencia de BoHV-1 como Argentina donde en promedio el 55 % de los animales son serológicamente positivos a este agente, la vacunación se plantea como una importante estrategia de control contra la excreción viral. En el Instituto de Virología del INTA Castelar se ha demostrado que diferentes vacunas convencionales contra BoHV-1 inducen buena inmunidad y confieren protección contra los signos clínicos, sin embargo la respuesta de anticuerpos es indistinguible de la inducida por exposición al virus circulante en el campo en una infección natural. En 1986, en investigación conjunta entre Instituto de Virología, el CONICET y Laboratorios San Jorge Bagó, se obtuvo una vacuna inactivada para la enfermedad. Los animales infectados, una vez superada la etapa aguda, no presentan signos aunque el virus permanece latente, por tanto con el uso de este tipo de vacunas a virus completo inactivo es imposible diferenciar con un análisis, cuáles son los animales vacunados de aquellos infectados que portan el virus siendo potencial fuente de contagio para el resto del rodeo ya que ambos presentan los mismos anticuerpos. Por ello resultó relevante el desarrollo y utilización de vacunas marcadoras denominadas DIVA (*differentiating infected from vaccinated animals*) que permiten diferenciar animales vacunados de infectados. Se han desarrollado vacunas a subunidades (gD expresada en tabaco), vacunas génicas que se fueron optimizando con adyuvantes, en liposomas con Man-L y con moléculas como el CD40L. También se desarrolló una vacuna contra el BoHV-1 deleteada en el gen gE (BoHV-1DgEbgal), que fue probada experimentalmente en bovinos resultando marcadora y protectiva, quedando los animales luego de la vacunación protegidos a un posterior encuentro con el virus infeccioso que circula en el campo. Un programa de control y limpieza, únicamente se puede llevar a cabo si la vacunación se realiza con vacunas marcadoras porque en caso contrario los controles serológicos no aportan información acerca de la diseminación del virus ni de la recirculación, por lo que se limita la monitorización para proteger animales sanos. Un hecho a tener en cuenta es la aparición de sistemas de producción mixtos búfalo-bovino por el gran crecimiento del área sembrada de soja en Argentina por el potencial riesgo de salto de patógenos interespecies y de generación de recombinantes tal como tres aislamientos naturales entre BoHV1 y BoHv5 que recientemente describimos. En 2014 reportamos el primer aislamiento de herpesvirus bubalino 1 (BuHV1) de Argentina y demostramos experimentalmente en 2016 la susceptibilidad de bovinos a este virus así como la susceptibilidad de los búfalos a los herpesvirus bovinos (BoHV-1 y BoHV-5). En conclusión, es fundamental la aplicación de protocolos que reduzcan el estrés en distintos manejos y sistemas de producción sumado a un racional y eficiente control sanitario para reducir el riesgo de aparición de enfermedades infecciosas en la interfase humano animal ecosistema bajo el enfoque de una salud.

ISSN 1852-771X

MESA REDONDA INMUNOLOGÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA

ISSN 1852-771X

Modulación de la respuesta inmune innata en la glándula mamaria bovina: conceptos generales y compuestos inmunomoduladores

Modulation of the innate immune response in the bovine mammary gland: general concepts and immunomodulatory compounds

Dra. Bibiana Elisabet Dallard

Departamento de Ciencias Morfológicas, Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), Universidad Nacional del Litoral (UNL). Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (UNL-CONICET). Esperanza, Santa Fe, Argentina.

bdallard@fcv.unl.edu.ar

El sistema de defensa de la glándula mamaria (GM) bovina contra patógenos causantes de mastitis está mediado por factores inmunológicos innatos y adquiridos, que actúan en forma coordinada, siendo la eficiencia de estos mecanismos la que determina la resistencia a nuevas infecciones intramamarias (IIM). La inmunidad innata es la primera línea de defensa en las etapas tempranas de la interacción con el microorganismo, considerándose un factor clave en el establecimiento, progresión y severidad de la infección, así como en el desarrollo de la respuesta inmune adaptativa. Ciertos mecanismos de defensa innatos preexisten en la GM, mientras que otros se activan rápidamente después de la exposición al microorganismo y sus productos. Asimismo, la magnitud y duración de la respuesta inmune que se desencadena en la GM luego de la invasión dependerá de las características del patógeno y de la carga microbiana. En bovinos lecheros, la mayor proporción de nuevas IIM se produce durante las dos semanas posteriores al inicio del periodo de involución y en las dos semanas previas al parto. En los últimos años, la necesidad de prevenir IIM ha motivado la búsqueda de nuevas alternativas de control dirigidas a reforzar los factores protectores naturales de la GM bovina en los periodos de mayor susceptibilidad, tendiendo a un menor uso de antimicrobianos. Una de ellas, es la utilización de modificadores de la respuesta inmune (MRI) o inmunomoduladores capaces de interactuar con el sistema inmune y modular la respuesta del hospedador. Estos agentes activan factores protectores de la GM que determinan la resistencia a las infecciones. Los MRI actúan a diferentes niveles del sistema inmune, inhibiendo o intensificando selectivamente poblaciones o subpoblaciones de células, como linfocitos, macrófagos, neutrófilos, células *Natural Killer* (NK), o la producción de mediadores solubles como citoquinas. Sin embargo, el mecanismo por el cual ejercen su acción en la mayoría de los casos no está totalmente dilucidado. Diferentes compuestos han sido utilizados durante el periodo de involución y de transición en vacas como potenciales MRI, entre ellos: citoquinas (IL-2 recombinante bovina, Interferón-γ, Factor Estimulante de Colonias de Granulocitos-GMC-SF, entre otras); productos farmacéuticos (levamisol, tiabendazol); microorganismos (*Propionibacterium acnes, Parapox ovis*); productos microbianos (β-1,3 glucanos, mananos, muramil dipéptido de *Nocardia* spp., extractos de pared celular de *Mycobacterium* spp., lipopolisacáridos (LPS de *Escherichia coli*); polisacáridos provenientes de crustáceos, hongos e insectos (quitosano); nutracéticos (arginina, betacaroteno, isoflavonas, ácidos grasos poliinsaturados, minerales, vitaminas) y extractos provenientes de plantas medicinales (*Panax ginseng*, *Aloe vera*, *Azadirachta indica*, *Tinospora cordifolia*, *Echinacea* spp., *Quillaja saponaria*). La potencialidad de los MRI puede ser explotada a través de un claro entendimiento del sistema inmune debido a que estos agentes actúan modificando la respuesta normal del hospedador. Si bien los mecanismos de defensa de la GM han sido estudiados ampliamente en los últimos años, la coordinación y regulación precisa a nivel celular no ha sido completamente dilucidada, limitando la potencialidad del uso de los MRI en la GM. Por otra parte, otra limitación sobre el uso de inmunomoduladores en las condiciones de producción actuales se relaciona con la escasa disponibilidad de productos comerciales que hayan sido evaluados a campo con pruebas de eficacia.

ISSN 1852-771X

Vacunas contra infecciones mamarias por *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*: inmunógenos actuales y desafíos futuros

Vaccines against Escherichia coli and Staphylococcus aureus intramammary infections: currently available immunogens and future challenges

Luis Calvinho, PhD

Cátedra de Enfermedades Infecciosas. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Prov. Santa Fe. Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (INTA-CONICET), Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Provincia de Santa Fe, Argentina.

lcalvinho@inta.gov.ar

La mastitis bovina es la enfermedad que más pérdidas económicas causa a los productores y la industria láctea. Si bien existen programas de control de la enfermedad basados en higiene y terapia antibiótica, el fortalecimiento de la respuesta inmune a través de la vacunación contra los patógenos mayores más prevalentes se ha propuesto como una medida complementaria a las actualmente existentes.

A fines de la década del 80 se comenzó a utilizar la cepa mutante rugosa de *Escherichia coli* (cepa J5) inactivada para inmunizar bovinos, observándose la generación de protección cruzada contra infecciones causadas por varios géneros de organismos Gram negativos que comparten antígenos comunes presentes en la cepa vacunal. La vacunación con *E. coli* J5 reduce la incidencia y severidad de las mastitis clínicas causadas por coliformes aunque no evita las infecciones intramamarias (IIM). Sin embargo, el mecanismo de acción de la vacuna no ha logrado ser elucidado, lo que impide contar con una base racional para optimizar las vacunas J5 actualmente disponibles. Además, se han realizado estudios de vacunación con subunidades proteicas de sideróforos (FepA y FeCA) de *E. coli* y de *Klebsiella pneumoniae* (SRP), sin lograr efectos concluyentes sobre la multiplicación bacteriana, la duración de las IIM y los recuentos de células somáticas.

En los últimos 40 años, se han realizado numerosos desarrollos de inmunógenos experimentales contra *Staphylococcus aureus*, de los cuales unos pocos han llegado a la fase de comercialización. Si bien la eficacia de los mismos ha sido evaluada de distintas formas, considerando que las IIM por *S. aureus* son principalmente subclínicas, una vacuna eficaz debería disminuir significativamente la tasa de nuevas IIM. Las vacunas disponibles comercialmente están compuestas por lisados bacterianos conteniendo polisacáridos capsulares (Lyigin®) o un complejo antigénico asociado al *slime* (Startvac®). Estas vacunas han sido evaluadas en estudios de eficacia a campo, utilizando distintos esquemas de vacunación, mostrando resultados variables. Desde el punto de vista experimental se han realizado desarrollos con vacunas de subunidades de antígenos involucrados en distintos estadios de las IIM formulados con diferentes adyuvantes; así como también vacunas a ADN.

Las razones por las cuales se han obtenido resultados de eficacia variables son múltiples, teniendo relación tanto con las bacterias como con el hospedador. La elección de los antígenos adecuados para incluir en las vacunas, el conocimiento incompleto de aspectos claves de la respuesta inmune de la glándula mamaria y de las interacciones de factores de virulencia del organismo con elementos del hospedador, han dificultado la obtención de vacunas más eficaces. Puntualmente dentro de la respuesta del hospedador, la mayoría de las investigaciones se han sesgado al estudio de la respuesta inmune humoral, quedando enormes incógnitas a develar dentro del estímulo de la respuesta inmune celular. La disponibilidad de tecnologías tales como genómica, proteómica y análisis de proteómica sérica abren nuevas fronteras para la selección de antígenos y el desarrollo de nuevos inmunógenos. Asimismo, la incorporación de adyuvantes de última generación podrá contribuir a generar respuestas inmunes más equilibradas, intensas y duraderas para mejorar la performance de nuevas vacunas.

ISSN 1852-771X

Evasión de la respuesta inmune por los *biofilms* bacterianos: estrategias de intervención en la glándula mamaria bovina

Evasion of the immune response by bacterial biofilms: strategies of intervention in the bovine mammary gland

Dra. Carina Porporatto

Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (CONICET-UNVM). Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María. Villa María, Argentina.

cporporatto@bioclin.fcq.unc.edu.ar

Una de las mayores preocupaciones en la ganadería de leche en la actualidad se asocia a las patologías que afectan la salud de los animales productores como la mastitis bovina, que resulta principalmente de la colonización bacteriana de la glándula mamaria. Los antibióticos son la estrategia más utilizada para su prevención y tratamiento, pero el uso excesivo ha provocado una creciente resistencia a los antimicrobianos. Los patógenos han desarrollado otros mecanismos para persistir en la ubre, como la formación de biopelículas (o *biofilms*) y la internalización en las células epiteliales bovinas. Las infecciones crónicas por *biofilms* son difíciles de erradicar con antibióticos y la formación de biopelículas podría ser una posible explicación para los casos de mastitis que no se resuelven con el tratamiento estándar. Si bien las células y los mediadores inmunológicos ofrecen una amplia variedad de estrategias para prevenir la invasión microbiana por patógenos, los microorganismos que viven en *biofilms*, así como los componentes moleculares y estructurales de estos, tienen la capacidad de modular y evadir las respuestas inmunitarias del huésped. Algunos de los principales mecanismos que contribuyen a esta regulación inmune incluyen el deterioro de la actividad de las células inmunes innatas como macrófagos, la inducción de un perfil alterado de secreción de citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias, la modulación del reconocimiento por parte de receptores tipo Toll, la alteración de la opsonización, la fagocitosis y la activación del complemento y la secreción de proteasas que contribuyen a la degradación de componentes inmunológicos, entre otros. En base a esta problemática surge la necesidad de desarrollar nuevas terapias para reducir o reemplazar las terapias con antibióticos mediante el empleo de nuevos agentes antimicrobianos con capacidad de modular las respuestas inmunes, a fin de aumentar la inmunocompetencia y disminuir la resistencia a las terapias. Nuestros estudios tienen como objetivo caracterizar y evaluar distintas estrategias terapéuticas destinadas a la prevención de infecciones intramamarias en bovinos basadas en compuestos naturales potencialmente inmunomoduladores para evitar el uso de antibióticos. Para ello, se evaluó el rol de los *biofilms* bacterianos en la patogenia de las infecciones intramamarias en las granjas lecheras de nuestra región. Determinamos la resistencia a antibióticos frecuentemente usados durante el período de secado y la respuesta inmune inducida por estos patógenos cuando crecen en forma de *biofilms*, en comparación al crecimiento en forma planctónica o de vida libre. Como posible terapia, caracterizamos el efecto antimicrobiano y anti-*biofilm* del polisacárido quitosano sobre estos patógenos, como así también la capacidad de estimular a las células inmunes y de la glándula mamaria bovina. A fin de mejorar la disponibilidad del biopolímero a nivel intramamario, desarrollamos nanopartículas de quitosano que mejoraron los efectos antimicrobianos del polímero nativo, demostrando así la posible aplicación como terapia para el tratamiento de las infecciones intramamarias. Además, evaluamos el potencial biotecnológico anti-*biofilm* de compuestos peptídicos y polisacarídicos producidos por bacterias de la microbiota autóctona aisladas de la glándula mamaria bovina. Estas investigaciones plantean una estrategia innovadora para superar la resistencia antibiótica y la evasión de la respuesta inmune por los *biofilms* microbianos, proporcionando una posible estrategia de lucha contra las infecciones intramamarias persistentes causadas por *Staphylococcus* spp. en bovinos.

ISSN 1852-771X

MESA REDONDA: INMUNOLOGÍA DE LOS TUMORES

ISSN 1852-771X

La inmunología en la complejidad del cáncer

Immunology in the complexity of cancer

MV Dra. Laura Denzoin

Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Provincia de Buenos Aires, Argentina. MEVET, Hospital Escuela, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Centro de Oncología Veterinaria Tandil.

laura@vet.unicen.edu.ar

El cáncer es una enfermedad compleja de alteraciones en el genoma. La secuenciación del genoma humano, hizo posible secuenciar el genoma de los principales tumores que afectan al humano, esto ha permitido la identificación de los genes *drivers* que conducen el proceso tumoral. La inestabilidad genética, un sello distintivo del cáncer, es un generador primario de antígenos específicos del tumor. Los tumores malignos, sobreexpresan cientos de genes en relación con sus contrapartes normales. Los genes sobreexpresados en las células tumorales son objetivos atractivos para las inmunoterapias. Los anticuerpos contra CTLA-4 y PD-1 se utilizan como tratamientos de bloqueo del punto de control inmunitario para revertir la supresión de la inmunidad y el escape tumoral al sistema inmune. Sin embargo, no todos los pacientes responden a estas terapias, lo que indica la complejidad de la alteración inmune inducida por el tumor. Una minoría de mutaciones somáticas en el ADN tumoral puede dar lugar a neoantígenos pero no todos los neopéptidos presentados en la superficie celular son inmunogénicos. Sin embargo, es importante destacar que cuantas más mutaciones somáticas tenga un tumor, más neoantígenos es probable que este forme. Los avances en el conocimiento de la enfermedad han generado la aparición de una generación de drogas más específicas, dirigidas a blancos moleculares que se encuentran alterados en la enfermedad neoplásica. La biopsia líquida es una nueva herramienta de diagnóstico que permite seleccionar a los pacientes elegibles para estos tratamientos y consiste en la detección de ADN tumoral circulante por ensayos de secuenciación de última generación. Esta nueva herramienta de diagnóstico brinda la oportunidad de estudiar la heterogeneidad del tumor, detectar mecanismos de resistencia complejos y adaptar estrategias de tratamiento con solo una muestra de sangre del paciente. La biopsia liquida incluye, entre tantos otros, dos biomarcadores específicos para tratamiento con inmunoterapia, ambos están aprobados por la FDA: la carga de mutación tumoral (TMB) y la inestabilidad de microsatélites (IMS). La TMB hace referencia al número total de mutaciones, sustituciones de bases y errores de inserción o eliminación detectados por millón de bases y se utiliza como un biomarcador útil en muchos tipos de cáncer para la identificación de pacientes que se beneficiarán de la inmunoterapia. La IMS se origina cuando el sistema de reparación de mal apareamiento del ADN, conocido como sistema MMR, es disfuncional, lo cual conlleva a la acumulación de mutaciones originadas por la ADN polimerasa, como mutaciones puntuales, deleciones e inserciones. En los últimos veinte años hemos visto avances muy significativos en cuanto al diagnóstico y el tratamiento del cáncer, si bien las alteraciones en el sistema inmunológico son solo una parte de las miles de alteraciones que se producen en el genoma tumoral, los tratamientos actuales basados en los puntos de control inmunológico han prolongado la vida de pacientes con cánceres en estadios avanzados. Si bien aún no se cuenta con estas moléculas en medicina veterinaria, ya se encuentran en desarrollo como así también la puesta a punto y validación de la biopsia liquida.

ISSN 1852-771X

Oncoinmunología de la electroporación en veterinaria

Oncoimmunology of electroporation in veterinary medicine

Vet. Matías Tellado

VetOncologia Servicio de Oncología Veterinaria, CABA, Argentina. PetSalud Oncología Radiante CABA, Argentina

mtellado@vetoncologia.com

El veterinario clínico puede comprender con más facilidad los mecanismos involucrados en la muerte de un tumor por radiación, quimioterapia, ablación térmica o criocirugía, sin embargo, la electroquimioterapia (ECT) tiene particularidades que se desarrollan a continuación. Cuando las células son sometidas a un campo eléctrico específico resultan ser electroporadas. Si en este momento se encuentran en presencia de un agente farmacológico como la bleomicina, esta ingresa a las células a través de poros transitorios de la membrana. Rápidamente la bleomicina se transloca al núcleo para ejercer su actividad endonucleasa, cortando la molécula de ADN. Hasta este momento, la célula se mantiene viva. En el momento de la replicación la célula muere cuando es requerida la molécula de ADN intacta, por lo cual se define al proceso como muerte mitótica. Este fenómeno primario ocurre en un lapso de 3-6 semanas. El procedimiento detallado se encuentra publicado en las guías para realización de electroquimioterapia en veterinaria 2022. Interesantemente, en el momento que las células se electroporan no solo ingresa la bleomicina, sino que salen del citosol al intersticio una serie de moléculas como ATP, GTP, calreticulina y HMGB-1, que actúan como señales de peligro activando una respuesta inmunológica y favoreciendo el reclutamiento de linfocitos T citotóxicos y células dendríticas a la zona peritumoral. A esto se le suma un rol importante al IFNγ que se libera y cumple la función de ser atractante de linfocitos. Ya es sabido que, por diversas razones, los individuos inmunocomprometidos responden de forma menos eficiente a la terapia oncológica, obteniendo tasas de respuesta y sobrevidas menores. Cuando se pretende analizar los mecanismos de muerte del tumor, resulta que el rol del sistema inmune del huésped es crucial para generar una respuesta local eficiente. Lamentablemente, cuando se pretende analizar los efectos sistémicos de la ECT, en términos de reducción de metástasis ya presentes o de evitar el desarrollo de nuevas lesiones, no se han logrado respuestas beneficiosas.

La respuesta inmune antineoplásica sistémica tampoco es suficiente para poder observar el efecto abscopal o la remisión de metástasis más que en casos anecdóticos.

Finalmente, las células dendríticas, macrófagos y fagocitos destruyen a las células mediante un mecanismo conocido como muerte celular inmunogénica.

Por otro lado, los tratamientos de inmunoterapia solos tienen problemas relacionados a la inmunosupresión local, e incapacidad de generar una respuesta inmune adecuada en un microambiente predominantemente inmunosupresor. En la práctica oncológica nos encontramos con pacientes que tienen respuestas inferiores a lo esperable, y por tal motivo el enfoque actual es la combinación de tratamientos, uno para reducir la carga tumoral de forma poco traumática y tolerable para el paciente (Cirugía, ECT) y otro relacionado con promover la respuesta inmune sistémica de las metástasis o tejidos imposible de ser abarcados con la terapia primaria. Los últimos desarrollos se centran en la asociación de ECT o cirugía con anticuerpos monoclonales o con Electrogenterapia. Todo indica que el futuro nos permitirá entender las nuevas formas de terapia oncológica en las que el huésped aportará mucho más de lo que imaginamos.

ISSN 1852-771X

Respuesta inmune en la electrotransferencia génica, y medicina traslacional

Immune response in gene electrotransfer and translational medicine

Felipe H. Maglietti

Médico, Doctor en Medicina. Instituto Universitario de Ciencias de la Salud, Fundación HA Barceló - CONICET, Buenos Aires, Argentina.

felipemaglietti@gmail.com

La electrotransferencia génica (GET) es una nueva herramienta terapéutica que consiste en inducir la expresión de determinados agentes mediante el uso de un campo eléctrico. El campo eléctrico induce una permeabilización transitoria de la membrana celular, que no compromete la sobrevida de la célula. Esto permite el ingreso de un plásmido, es decir una cadena de ADN circular, con la consecuente expresión de diferentes moléculas.

Los usos de esta tecnología son muy variados. En oncología se utiliza para producir la expresión de interleuquinas, u otras moléculas, buscando generar una respuesta inmune efectiva contra el tumor y las metástasis. Un aspecto importante de la GET, es que los plásmidos no se integran al ADN, eliminando el riesgo de mutagénesis insercional. En oncología tanto humana como veterinaria, uno de los usos más difundidos en investigación es la transfección del gen de la IL-12. Esta interleuquina interviene en la formación de una respuesta inmune de tipo Th1, citotóxica, la cual puede ser efectiva contra las células tumorales. Particularmente, la electroquimioterapia, una modalidad terapéutica basada en la electroporación, tiene una tasa de respuesta local muy alta (superior al 80 % dependiendo del tipo y tamaño del tumor), depende en gran medida de la respuesta inmune del paciente. Pacientes inmunosuprimidos muestran respuestas marcadamente menores que los inmunocompetentes. Sin embargo, esta respuesta inmune es de tipo humoral, y carece de la potencia necesaria para producir un efecto sobre lesiones no tratadas. Por esto, resulta natural la combinación de la electroquimioterapia con la GET. Este enfoque ha mostrado resultados alentadores en medicina veterinaria, pero aún se encuentra muy atrás respecto de los resultados obtenidos en medicina humana. En el caso de la medicina humana, el uso de GET sola con plásmidos de IL-12 ha mostrado resultados muy prometedores en estudios en fase I y fase II en pacientes con melanoma en estadio IV, llegando a obtenerse curaciones en alrededor del 20 % de los pacientes tratados. Otra terapia novedosa en medicina humana son los *immune checkpoint inhibitors*, anticuerpos monoclonales que funcionan bloqueando la inhibición de la respuesta inmune que produce el tumor. Esta terapia administrada de forma sistémica logra respuestas sistémicas en alrededor del 30 % de los pacientes. La combinación de este tipo de inmunoterapia con la electroquimioterapia, permite duplicar las respuestas obtenidas, así como el tiempo libre de enfermedad y la sobrevida de los pacientes. Pacientes veterinarios y humanos actúan como modelos de medicina traslacional en ambas direcciones.

Actualmente las próximas líneas de investigación, tanto en veterinaria como en medicina humana van en esta dirección, buscan la combinación de electroquimioterapia con plásmidos que codifican simultáneamente la IL-12 y alguno de los anticuerpos monoclonales mencionados. De esta forma, se busca aprovechar el estímulo inmunológico que provoca la electroquimioterapia, junto con la potenciación y redirección de la respuesta inmune hacia una respuesta celular, y al mismo tiempo impedir que el tumor bloquee dicha respuesta. El campo de la GET en breve mostrará los resultados de estas líneas de investigación que serán aplicados al tratamiento los pacientes tanto humanos como veterinarios.

ISSN 1852-771X

COMUNICACIONES ORALES

ISSN 1852-771X

INMUNOGENICIDAD Y CAPACIDAD PROTECTIVA DE UNA VACUNA RECOMBINANTE DE TIPO DIVA EVALUADA EN VAQUILLONAS EXPERIMENTALMENTE INFECTADAS CON *NEOSPORA CANINUM* DURANTE LA PREÑEZ

IMMUNOGENICITY AND PROTECTION CONFERRED BY A RECOMBINANT DIVA VACCINE IN HEIFERS EXPERIMENTALLY INFECTED WITH NEOSPORA CANINUM DURING PREGNANCY

Mendoza-Morales, L.F.[1*]; Morrel, E.[2]; Ramos Duarte, V.A. [3]; Campero, L.[2]; Corigliano, M.G. [3]; Fiorani, F.[2]; Scioli, V.[2]; Sosa, E. [2]; Clemente, M.[3]; Moore, P.D. [2]; Sander, V.A.[1]

[1]Laboratorio de Biotecnología Bovina y Ovina. Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECh), CONICET/UNSAM. Chascomús, Buenos Aires, Argentina. [2] Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS), INTA. Balcarce, Buenos Aires, Argentina. [3] Laboratorio de Molecular Farming y Vacunas. Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECh), CONICET/UNSAM. Chascomús, Buenos Aires, Argentina

* lfmendozam@intech.gov.ar

Actualmente no existen vacunas contra la neosporosis, principal causa de abortos bovinos. Decidimos determinar la capacidad DIVA (diferenciar animales vacunados de infectados), inmunogenicidad y efectividad de una vacuna recombinante en vaquillonas inmunizadas y desafiadas experimentalmente con *Neospora caninum* durante la preñez. Los animales fueron inmunizados s.c. previo al servicio, los días 0 y 30 post-inmunización (dpi): VACUNA: 500µg del Antígeno Mayor de Superficie 1 de *N. caninum* (rNcSAG1) + 1500µg de la proteína de choque térmico de 90 KDa de *Arabidopsis thaliana* (adyuvante) (rAtHsp81.2), (n=6) y CONTROL+:1500µg de rAtHsp81.2 (n=9). Se realizó un refuerzo 154 dpi (90 días de preñez) y la infección experimental con *N. caninum* 30 días después. Se colectaron muestras de suero los días 0, 30, 60,184 (pre-desafío) y 235 (post-desafío). Se realizó la eutanasia de todos los animales el día 235 dpi, colectándose muestras fetales. Los sueros de los animales VACUNA mostraron altos títulos de IgGt anti-rNcSAG1 y anti-rAtHsp81.2 los días 30, 60 y 184 dpi (pre-desafío), mientras que no se encontraron IgGt anti-rNcGRA7 (antígeno de *N. caninum* no presente en la vacuna), los que sí se detectaron en sueros post-desafío (235 dpi), confirmando la capacidad DIVA de la vacuna. Al momento de la eutanasia todos los fetos resultaron viables; sin embargo se detectó ADNg del parásito en el 50 % (3/6) y el 67 % (6/9) de los animales VACUNA y CONTROL+, respectivamente, sin diferencias en la carga parasitaria (evaluada por qPCR). La mayoría de los tejidos fetales presentaron lesiones leves o moderadas en ambos grupos, mientras que en la base del cerebro se detectaron lesiones severas en 17 % (1/6) y 44 % (4/9) de los animales VACUNA y CONTROL+, respectivamente. En conclusión, la vacuna permite distinguir animales vacunados de infectados y genera una importante respuesta inmune humoral; sin embargo sólo otorga protección parcial contra la transmisión vertical del parásito y sus efectos deletéreos en el feto.

ISSN 1852-771X

NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANO COMO AGENTE MODULADOR DE LA INMUNIDAD DE GLÁNDULA MAMARIA BOVINA

CHITOSAN NANOPARTICLES AS IMMUNOMODULATOR AGENTS IN THE BOVINE MAMMARY GLAND

Rodríguez Berdini, L.*[1]; Breser, M.L.[1,2]; Bohl, L.P.[1,2]; Orellano, M.S.[3]; Falcone, R.D.[3]; Porporatto, C.[1,2]

[1]Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (IMITAB, CONICET – UNVM). [2]Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas (IAPCByA), Universidad Nacional de Villa María (UNVM), Villa María, Argentina. [3]Departamento de Química, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina

*luciarodriguezberdini@gmail.com

La administración de antibióticos es la primera opción en la prevención y tratamiento de la mastitis bovina, patología que representa uno de los limitantes económicos y sanitarios más importantes en el sector lechero. Los microorganismos que la provocan desarrollan mecanismos de evasión de la respuesta del huésped y elevada tasa de resistencia a los antimicrobianos. Por ello, resulta relevante la búsqueda de nuevas herramientas que complementen a los sistemas convencionales de control de la mastitis. El biopolímero quitosano presenta actividad antimicrobiana y propiedades inmunomoduladoras. Dichas funciones se ven limitadas por sus características químicas y baja solubilidad en condiciones fisiológicas, por ello desarrollamos partículas nanométricas de quitosano (NP-Qs) utilizando el sistema de micelas inversas con AOT como surfactante y glutaraldehído como entrecruzador. Las NP-Qs obtenidas mostraron efecto antimicrobiano frente a la cepa hiper-formadora de *biofilms Staphylococcus aureus* V329, aislada de un bovino con mastitis subclínica, con una CIM de 400 µg/mL. Dado que nuestros estudios se enfocaron principalmente en la generación de inmunocompetencia del huésped, evaluamos la producción de especies reactivas de oxígeno (sonda fluorescente DCFDA, citometría de flujo) y de óxido nítrico (método de Griess) en la línea celular Raw (macrófagos murinos). Demostramos que, frente a la infección, el tratamiento con NP-Qs promueve un aumento del 40 % en la producción de especies reactivas de oxígeno y del 25 % en la de óxido nítrico, indicando una activación de estas células. Además, evaluamos la viabilidad celular utilizando el ensayo de MTT y observamos que el tratamiento con NP-Qs no resultó citotóxico para células epiteliales mamarias bovinas MAC-T. Estos resultados alientan el estudio de la utilización de quitosano en forma de nanopartículas como posible estrategia de modulación de la respuesta inmunológica del huésped en el tratamiento y/o prevención de la mastitis bovina, logrando una mejor vía de administración y biodisponibilidad de dicho biopolímero.

ISSN 1852-771X

EXPRESIÓN DE COX-2 EN YEGUAS SUSCEPTIBLES A ENDOMETRITIS PERSISTENTE POST-COITAL BAJO ESTÍMULO BACTERIANO Y TRATAMIENTO CON INMUNOMODULADOR

COX-2 EXPRESSION IN MARES SUSCEPTIBLE TO PERSISTENT POST-BREEDING ENDOMETRITIS UNDER BACTERIAL STIMULATION AND IMMUNOMODULATION TREATMENT

Herrera, M.[1]*; Herrera, J. M.[1]; Rodríguez, M.[2]; Aguilar, J.[3], Bianchi, C.[4,5]

[1]Laboratorio de Histología y Embriología, Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, Argentina. [2]Área de Bioestadística, Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva (SAMP), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, Argentina. [3]Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba. [4]Laboratorio de Endocrinología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Tandil, Argentina. [5]CONICET. Buenos Aires, Argentina.

*mherrera@vet.unicen.edu.ar

La endometritis post-coital equina es una respuesta fisiológica de fase aguda para la remoción del semen. Sin embargo, en un 15 % de las yeguas, el proceso inflamatorio persiste por más de 48 h y se convierte en patológico, denominándose Endometritis Persistente Post-coital (EPP). La fracción de pared celular de *Mycobacterium* (MCWF) es un inmunoestimulante biológico utilizado terapéuticamente para EPP. Por otro lado, la COX-2 es una enzima limitante en la síntesis de prostaglandinas, factores fundamentales en la reproducción. El objetivo de este estudio fue evaluar la distribución de COX-2 en endometrio de yeguas susceptibles a EPP luego de un tratamiento con MCWF. Al inicio del estro, todas las yeguas se sometieron a inoculación experimental intrauterina de *Streptococcus zooepidemicus* (estímulo antigénico), y luego se administró placebo (Grupo A, n=8) o MCWF (Grupo B, n=8). Se realizaron biopsias uterinas en estro (pre-estímulo) y diestro (día 7 post-ovulación, post-tratamiento), que fueron procesadas histológicamente y tratadas mediante la técnica inmunohistoquímica de avidina-biotina-peroxidasa. Se evaluó la tinción en los epitelios luminal, y glandulares superficial y profundo, y en células estromales superficiales y profundas. Se utilizó un sistema de *score* que relaciona el porcentaje de células positivas y la intensidad de tinción. No se observaron diferencias significativas en la expresión de COX-2 entre GA y GB (p-valor=0,4). Teniendo en cuenta la totalidad del tejido endometrial, se observó que la expresión de la enzima fue mayor en diestro en ambos grupos y, en ambas fases, mayor en GB que en GA (p-valor<0,05). En relación al tipo celular, sólo se observaron diferencias en el estroma profundo, con menor expresión en estro (43 vs 87 %) (p-valor<0,05). Estos resultados no permiten inferir que el tratamiento de MCWF modifica la expresión de COX-2, ya que el grupo tratado tuvo mayor expresión tanto en estro (pre-tratamiento) como en diestro (post-tratamiento).

ISSN 1852-771X

DETECCIÓN DE ADN DE *LEPTOSPIRA* SPP. EN ESMEGMA PREPUCIAL DE TOROS CON TÍTULOS BAJOS O SIN ANTICUERPOS SISTÉMICOS

DETECTION OF LEPTOSPIRA SPP. DNA IN PREPUTIAL SMEGMA FROM BULLS WITH LOW TITRE OR WITHOUT SYSTEMIC ANTIBODIES

Videla Y.P.[*1,2]; Quintana S.[3,4]; Sanz Y.[4]; Soto P.[5]; Scialfa E.[1,6]

[1]Centro Regional de Estudio Sistémico de las Cadenas Agroalimentarias (CRESCA). Facultad de Agronomía. UNCPBA. Azul, Buenos Aires, Argentina. [2]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina. [3]Instituto de Investigaciones en Producción, Sanidad y Ambiente - IIPROSAM (CONICET-UNMDP). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-UNMdP Centro Científico Tecnológico Mar del Plata-CONICET Centro de Asociación Simple CIC-PBA. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. [4]Fares Taie Biotecnología, Mar del Plata, Argentina. [5]Laboratorio Biológico de Tandil (BIOTANDIL), Tandil, Buenos Aires, Argentina. [6]Departamento de Zoonosis Rurales. Ministerio de Salud Provincia de Buenos Aires. Azul. Buenos Aires. Argentina

*yvidela@azul.faa.unicen.edu.ar

La leptospirosis bovina es una zoonosis de amplia distribución mundial que afecta tanto al hombre como a animales silvestres y domésticos, entre ellos el ganado bovino. Recientemente, se ha sugerido que la infección del tracto genital no debería considerarse como consecuencia de la infección renal, sino como un síndrome específico: la leptospirosis genital bovina. La característica principal es la baja performance reproductiva (sub-infertilidad, repetición de estro). En hembras se ha demostrado la presencia de ADN de *Leptospira* spp. en mucus cérvico vaginal y útero, con bajos títulos sistémicos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la relación entre la presencia de ADN de *Leptospira* spp. en el tracto genital del toro y detección de anticuerpos en sangre. Se estudiaron muestras de sueros sanguíneos y esmega prepucial de 109 toros de 11 establecimientos de cría bovina. Para el estudio serológico se utilizó la técnica de microaglutinación (MAT) con título de corte 1:100. Se estudió la presencia de ADN de *Leptospira* spp. patógena por qPCR. Se observó una prevalencia del 42 % y reacción predominante a los serogrupos Sejroe y Hebdomadis. El 35 % de los animales positivos presentó títulos > 1:200. Se detectó la presencia de ADN de *Leptospira* spp. patógena en el 15 % de las muestras de esmegma prepucial. De dichos animales, sólo el 19 % presentaron títulos de anticuerpos mayores a 1:200. Si bien se requieren mayores estudios en esta especie, principalmente en los machos, estos resultados indicarían que la presencia de anticuerpos a títulos bajos podría asociarse a una presentación genital de la enfermedad y no a la cronicidad de una enfermedad sistémica. Se sugiere continuar el estudio de la patogenia de la leptospirosis genital y la revisión de los métodos diagnósticos en bovinos de la región.

ISSN 1852-771X

DESARROLLO DE UN ANTÍGENO RECOMBINANTE NS1 DEL VIRUS DE LA LENGUA AZUL PARA LA DETECCIÓN SEROLÓGICA DE LA INFECCIÓN EN ARGENTINA

DEVELOPMENT OF A RECOMBINANT BLUETONGUE VIRUS NS1 ANTIGEN FOR SEROLOGICAL DETECTION OF THE DISEASE IN ARGENTINA

Mortola, E.[1*]; Serena, M.S.[1]; Larsen, A.[1]; Dus Santos, M.J.[2]; Echeverria, M.G.[1]

[1]CEMIBA (Centro de Microbiología Básica y Aplicada), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP, La Plata, Argentina.
[2]Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), CICVyA, INTA-CONICET.

*mortola@fcv.unlp.edu.ar

La lengua azul es una enfermedad viral de los pequeños rumiantes transmitida por insectos (*Culicoides*). El agente causal es un virus de la familia Reoviridae y del género *Orbivirus*. Las proteínas no estructurales de los virus han sido el objetivo ideal, no solo para el diagnóstico serológico de una enfermedad, sino también para diferenciar los animales infectados de los vacunados. La proteína no estructural 1 (NS1) de 64 kDa, actúa como un regulador positivo de la síntesis de proteínas virales, es la más abundante expresada en el citoplasma de las células infectadas por el virus y es la única responsable de la formación de túbulos helicoidales dinámicos característicos, fácilmente purificables y muy estables. Además, esta proteína está altamente conservada entre los diferentes serotipos del virus. Si bien nuestro país es libre del VLA en la mayor parte de su superficie, ha habido reportes de serología positiva y detección del virus en el NEA por más de 20 años. Por otro lado, existe riesgo de expansión de los límites actuales de circulación viral debido a las condiciones dinámicas cambiantes, asociadas al cambio climático. En este contexto, y dado que NS1 es la principal proteína viral sintetizada en células infectadas con el virus de la lengua azul, el objetivo de este trabajo fue producir la proteína recombinante NS1 en el sistema de baculovirus-células de insecto y evaluarla como antígeno en pruebas inmunoserológicas. Empleando células de insectos sf9, se obtuvo una producción muy eficiente de la proteína NS1, que fue purificada por gradientes de sucrosa y su antigenicidad comprobada por la técnica de Western blot, empleando sueros control positivos y negativos. Los resultados obtenidos permiten iniciar el desarrollo de pruebas inmunoserológicas específicas, económicas y de fabricación local, destinadas a implementar un sistema de diagnóstico que permita incrementar el control serológico de la circulación viral en nuestro país.

ISSN 1852-771X

EVALUACIÓN DE ANTÍGENOS DE *MYCOBACTERIUM BOVIS* SELECCIONADOS INMUNO-INFORMÁTICAMENTE EN LA LIBERACIÓN DE IFN-ɣ PARA EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA

EVALUATION OF IMMUNOINFORMATIC SELECTED MYCOBACTERIUM BOVIS ANTIGENS IN THE STIMULATION OF IFN-ɣ FOR USE IN THE BOVINE TUBERCULOSIS DIAGNOSIS

Villafañe, L.M.*[1]; Lenardon, S.[2]; Curletto, D.[2]; Eirin, M.E.[1]; Forrellad, M.A.[1]; Bigi, F.[1]

[1]Laboratorio de Tuberculosis. Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), CICVyA, INTA Castelar. Hurlingham. Provincia de Buenos Aires. [2] Ingeniero Agrónomo de actividad privada. Carlos Casares, Provincia de Buenos Aires, Argentina

* villafanie.luciana@inta.gob.ar

La tuberculosis bovina (TBb), causada por *Mycobacterium bovis*, se diagnostica a campo por la prueba de la intradermorreacción (IDR). La prueba de IGRA mide la liberación de IFN-ɣ por células del sistema inmune (RIMC) luego del estímulo con un derivado proteico de *M. bovis* (PPDb). Dado que PPDb contiene proteínas que se comparten entre micobacterias, es necesario caracterizar nuevos antígenos que permitan diferenciar animales sensibilizados por *M. bovis* u otras micobacterias. Objetivo: identificar nuevos antígenos de *M. bovis* que contribuyan al diagnóstico diferencial de TBb. Materiales y Métodos. Se seleccionaron proteínas de *M. bovis* en base a su unión a alelos del gen DRB3 del antígeno leucocitario bovino de clase II (BoLA DRB3.2) utilizando el servidor NetBoLAIIpan. Se clonaron en pRSETa, expresaron y purificaron de *Escherichia coli*. Se estudiaron 32 muestras de sangre entera de animales reactores a la IDR, provenientes de establecimientos con alta prevalencia a TBb y Paratuberculosis (PTBC) de la provincia de Buenos Aires, las cuales se sensibilizaron con PPDb, PPDa, PKW (control de viabilidad) y cada una de las proteínas seleccionadas. Se detectó IFN-γ con el kit comercial MABTECH. Resultados: se seleccionaron las proteínas Mb0309, Mb1090, Mb1809, Mb2002c y Mb3810. El 75 % de las muestras fueron IGRA+ según PPDb. Entre ellas, se detectó una frecuencia de respuesta para el antígeno Mb3810 del 54.2 %. Resultados similares a los observados se obtuvieron con ESAT-6/CFP-10/Rv3615c. El estímulo con Mb0309, Mb1090, Mb1809 y Mb2002c no arrojó valores significativos en ninguna muestra. De las muestras IGRA+ a PPDa, solo en el 6,7 % Mb3810 fue reactivo. Conclusión: Mb3810 tendría potencial aplicación en el diagnóstico de TBb por IGRA y podría ser utilizado junto a los antígenos caracterizados ESAT-6, CFP-10 y Rv3615c.

ISSN 1852-771X

RESÚMENES

ÁREAS TEMÁTICAS

INMUNOINTERVENCIÓN Y VACUNAS **47-53**

DIAGNÓSTICO **54-62**

RESPUESTA INMUNE A INFECCIONES **63-76**

ENSEÑANZA DE LA INMUNOLOGÍA VETERINARIA **77-78**

OTROS **79-80**

ISSN 1852-771X

INMUNOINTERVENCIÓN Y VACUNAS

Caracterización de la respuesta celular pro-inflamatoria en células porcinas expuestas a nanogeles como vehículos de antígenos

Characterization of the pro-inflammatory cellular response in porcine cells exposed to nanogels as antigen carriers

Soriano Pérez, M.L[1].; Garrido J.J[2].; Pedraza M.L[1].; Bessone, F.A.[1]; Molina, M.A.[3]; Alustiza, F.E.[1]

[1]INTA EEA Marcos Juárez, Marcos Juárez. Córdoba, Argentina. [2]Departamento de Genética. Universidad de Córdoba, Córdoba, España. [3]IITEMA CONICET-UNRC, Río Cuarto, Córdoba, Argentina

sorianoperez.ml12@gmail.com

La eficacia y utilidad de nanogeles termosensibles como vehículos vacunales fue probada previamente por este grupo de investigación en trabajos anteriores. La respuesta celular caracterizada por el aumento de expresión de citoquinas pro-inflamatorias debido a la exposición a algún agente, se relaciona con citotoxicidad y cambios en mecanismos celulares. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la respuesta en macrófagos porcinos expuestos a nanogeles termosensibles en relación a la producción de citoquinas proinflamatorias. Para esto se sintetizaron nanogeles de poli-N-isopropilamida (pNIPAM) por polimerización radicalaria y se caracterizaron fisicoquímicamente, obteniendo estructuras homogéneas y monodispersas de 250 nm a 25°C y 60 nm a 37°C. Se trabajó con cultivos de la línea celular 3D4/31 derivada de macrófagos alveolares porcinos y se la expuso a dos concentraciones de nanogeles durante 3 y 6 h. Luego se midió la expresión relativa (ARNm) de los marcadores de inflamación IL-1β y IL-8 por el método ΔΔCT comparado con el gen Ciclofilina A. Se incluyó el uso del ligando del TLR3, Poly I:C como control positivo de inflamación. Como resultado no se observó sobre-expresión de las citoquinas pro-inflamatorias evaluadas en comparación con el control negativo en las dos concentraciones y tiempos evaluados. Para el caso de IL-8 el ácido Poly I:C produjo un aumento significativo en su expresión. Dado que la respuesta inflamatoria es indicativa de daño celular, mediante estas evaluaciones se confirma la biocompatibilidad de los nanogeles de pNIPAM.

ISSN 1852-771X

Seguridad e inmunogenicidad de una vacuna de subunidades quiméricas contra *Escherichia coli* productora de Shiga toxina (STEC) en vacas preñadas

Safety and immunogenicity of a chimeric subunit vaccine against Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) in pregnant cows

Vidal, R.M.[1,2]*; Montero, D.A.[3]; Padola, N.L.[4]; Del Canto, F.[1]; Salazar, J.C.[1]; Arellano, C.[1]; Alvarez, A.[1]; Moscuzza, H.[4]; Etcheverría, A.[4]; Fernández, D.[4]; Velez, V.[4]; García, M.[4]; Colello, R.[4]; Sanz, M.[4]; Oñate, A.[3]

[1]Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. [2]Instituto Milenio de Inmunología e Inmunoterapia, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile. [3]Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. [4]Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), CONICET, CICPBA, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Buenos Aires, Argentina

rvidal@uchile.cl

STEC es un patógeno zoonótico transmitido por alimentos que causa gastroenteritis y Síndrome Hemolítico Urémico. Su reservorio animal principal es el bovino que excreta la bacteria en las heces, contaminando el ambiente. La vacunación de bovinos ha sido propuesta como método para controlar STEC. En este estudio se evaluó la seguridad e inmunogenicidad de una vacuna contra STEC formulada con dos proteínas quiméricas (Chi1 y Chi2) que contienen epítopes de las proteínas OmpT, Cah y Hes. Treinta vacas preñadas en el tercer trimestre gestacional se distribuyeron en seis grupos (n=5 por grupo): 4 grupos recibieron 3 dosis de la formulación conteniendo 40 µg o 100 µg de cada quimera más uno de los adyuvantes Quil-A o Montanide™, mientras que 2 grupos control recibieron placebo conteniendo el adyuvante correspondiente. Los animales fueron monitoreados en su estado general, temperatura rectal y aborto. Se tomaron muestras de sangre antes de cada inmunización, de calostros durante el parto y muestras de sangre en terneros durante los primeros 3 días de vida. Durante el estudio no se registraron efectos adversos locales o sistémicos y los parámetros hematológicos y bioquímicos fueron similares entre los grupos. Las formulaciones vacunales indujeron títulos de IgG sistémico anti-Chi1 y anti-Chi2 significativamente mayores en comparación con los controles. Los títulos de IgA específicos fueron en general bajos y sin diferencias estadísticas entre los grupos. En calostro se observó una tendencia a un mayor título de IgG anti-Chi1 y anti-Chi2 en las vacas inmunizadas. Notablemente, los títulos de IgG sistémicos anti-Chi1 y anti-Chi2 en los terneros nacidos de vacas inmunizadas fueron significativamente mayores en comparación con los terneros nacidos de vacas control, sugiriendo una inmunización pasiva a través del calostro. Estos resultados indican que esta vacuna es segura e inmunogénica cuando se aplica a vacas sanas durante el tercer trimestre de gestación.

ISSN 1852-771X

Herramientas bioinformáticas aplicadas a la selección de epitopes vacunales contra el Virus de la Anemia Infecciosa Equina (VAIE)

Bioinformatic tools applied to select vaccine epitopes against Equine Infectious Anemia Virus (EIAV)

Garay, S[1].; Veaute, C.[2]; Soutullo, A.[2*]

[1]Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Ciudad de Santa Fe. Provincia de Santa Fe. Argentina. [2]Laboratorio de Inmunología Experimental. Cátedra de Inmunología Básica. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Ciudad de Santa Fe. Provincia de Santa Fe. Argentina.

*adrianasoutullo@gmail.com

El Virus de la Anemia Infecciosa Equina (VAIE) es un lentivirus envuelto, cuyas glicoproteínas gp90 y gp45 son las primeras que el sistema inmune reconoce. Actualmente, no se dispone de vacunas universales y la única acción sanitaria para disminuir la alta prevalencia es el sacrificio del animal infectado. Las herramientas inmunoinformáticas, junto con estudios inmunológicos realizados durante infecciones y/o ensayos vacunales, contribuyen al diseño racional de vacunas multi-epitope. Nuestro propósito fue predecir múltiples epitopes B y T en las proteínas de envoltura, como candidatos vacunales aplicando herramientas bioinformáticas. Las secuencias proteicas de 12 cepas americanas se extrajeron de la base de datos Uniprot y se empleó el programa MAFFT para realizar el alineamiento y establecer una secuencia consenso; se emplearon los servidores web PROCLIVE, predicción de sitios de clivaje enzimático; CCTOP, para determinar dominios extra e intracelulares de la gp45; AlphaFold2 y RoseTTAFold, para modelado molecular y GalaxyPepDock para docking con el Receptor Lentiviral Equino y moléculas ELA-I; MHCflurry-2; NetMHCpan-4.1; IFNepitopes, Bepipred-2, Discotope 2.0 and Ellipro para predicción de epitopes ELA-I/II; Th1(IFN$_\gamma$) y B lineales/conformacionales, respectivamente. AllerTOP-AllergenPP y ToxinPred, predicción de propiedades alergénicas y tóxicas. Se elaboró una secuencia consenso sobre la que se identificó el límite entre gp90 y gp45. Se propone un posible sitio de interacción con el receptor lentiviral 1. Se definieron 92 epitopes solapados: 21 ELA-1; 36 ELA-II y 35 epitopes B. La mayoría de los epitopes ELA-II coinciden con los inductores de IFN$_\gamma$. Considerando que la inmunidad protectora requiere linfocitos T citotóxicos y Th1, así como anticuerpos neutralizantes de la unión al receptor lentiviral, y excluyendo epitopes alergénicos y tóxicos, se definieron 8 regiones inmunogénicas que podrán ser incluidas en el futuro diseño de una vacuna multi-epitope.

ISSN 1852-771X

Evaluación de la actividad inmunoestimulante de los biopolímeros antimicrobianos quitosano y εpoli-l-lisina

Evaluation of immunostimulant activity of chitosan and ε-poly-l-lysine antimicrobial polymers

Tagliaferro Pizarro, D.R.[1]; Breser, M.L.[1]*; Angiolini, V.[1]; Bohl, L.P.[1]; Isaac, P.[1]; Porporatto, C.[1]

[1]Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (IMITAB, CONICET – UNVM). Instituto AP de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María. Villa María, Córdoba, Argentina.

* laurabreser45@hotmail.com

La mastitis bovina asociada a infecciones bacterianas es la patología de mayor incidencia y un limitante sanitario importante de la actividad lechera. Previamente, se describió que los biopolímeros quitosano (Qs) y *εPoli-L-lisina (*EPL) presentan actividad antimicrobiana y antibiofilm. En base a ello, el objetivo del trabajo se enfocó en la evaluación de la actividad inmunoestimulante de los biopolímeros, mediante la evaluación de especies reactivas de oxígeno (ROS; DCFH-DA, citometría de flujo) y la actividad microbicida (UFC/mL) en la línea de macrófagos bovinos Bo-Mac. Las células fueron cultivadas en presencia de medio (Control), Qs [200 y 400 ug/mL], EPL [200 ug/mL] y combinaciones Qs+EPL, en ausencia o presencia de *Staphylococcus aureus* V329 durante 2 h. La actividad microbicida se evaluó en co-cultivos de Bo-Mac y *Staphylococcus aureus* V329 (2 h), donde luego las células fueron lavadas e incubadas en presencia de diferentes concentraciones y combinaciones de los biopolímeros. A las 24 h se evaluó UFC/mL en el sobrenadante y de manera intracelular. Se observó un incremento significativo de la expresión de ROS en las células incubadas en presencia de Qs y EPL, comparado con el control ($p<0.05$). La infección de Bo-Mac con *Staphylococcus aureus* incrementó la expresión de ROS (55 %), aunque la presencia de Qs, EPL y Qs+EPL en los co-cultivos incrementó significativamente la expresión de ROS (80,7, 76,4 y 91,7 %, respectivamente). A su vez, se observó que las células Bo-Mac infectadas en presencia de Qs, EPL y Qs+EPL reducen las UFC/mL a nivel intracelular (50, 30 y 100 %), en comparación con el control. Los datos obtenidos sugieren que los polímeros Qs y EPL incrementan la expresión de ROS y la actividad microbicida de las células Bo-Mac. Los resultados obtenidos podrían sentar las bases para el diseño de una estrategia terapéutica que permita potenciar la inmunidad de la glándula mamaria bovina.

ISSN 1852-771X

Respuesta de macrófagos murinos entrenados con muramil-dipéptidos frente a cepas no citopáticas de BVDV de alta y baja virulencia

Immune response of muramyl-dipeptide-trained murine macrophages against non-cytopathic strains of BVDV of high and low virulence

Mansilla F.C.[1*]; Cardoso N.P.[1,2]; Miraglia M.C.[1,2]; Delgado F.[3]; Trono K.G.[1,2]; Capozzo A.V.[1,2]

[1]Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), CICVyA, INTA CNIA. Hurlingham, Bs. As., Argentina. [2]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). [3]Instituto de Patobiología (IP)-IPVET, CICVyA, INTA CNIA. Hurlingham, Bs. As., Argentina

[*]mansilla.florencia@inta.gob.ar

La inmunidad innata entrenada permite a células innatas responder a un estímulo, adoptando cambios epigenéticos y metabólicos, adquiriendo protección o tolerancia contra un patógeno no relacionado. El efecto inducido por muramil-dipéptidos (MDP) del bacilo Calmette-Guérin (BCG) a NOD2 es uno de los más estudiados e interviene en el control de distintas infecciones virales, asociándose a incrementos en la actividad de neutrófilos, monocitos y macrófagos. El objetivo de este trabajo fue establecer un modelo de entrenamiento de macrófagos murinos mediado por MDPs y caracterizar la respuesta inducida contra BVDV. Células RAW264.7 entrenadas (48 h) fueron desafiadas con LPS (24 h) o enfrentadas a cepas no citopáticas de BVDV de alta y baja virulencia (NY-93 y 98-124, respectivamente). Determinamos la presencia de cambios morfológicos, expresión de MHCII, producción de óxido nítrico (NO) y citoquinas, y la capacidad de factores solubles secretados por células entrenadas para condicionar la infección en células MDBK. Los resultados se contrastaron por ANOVA y prueba de Bonferroni. MDPs inducen un incremento en la respuesta de NO, formación de células gigantes multinucleadas, expresión de MHCII, TNFα e IL-10 en respuesta al desafío. Frente a NY-93 se observa una disminución de la respuesta mediada por NO en células sin entrenar. Estas diferencias se profundizan por el entrenamiento por MDP, que además disminuye los niveles de TNFα. La infección de MDBK por ambas cepas no se ve afectada por el medio condicionado con factores solubles presentes en el sobrenadante de células RAW264.7 entrenadas y/o infectadas. Demostramos que el perfil inmunotolerante que induce BVDB en células RAW264.7 depende de la cepa. NY-93 logra revertir el efecto del entrenamiento mediado por MDP. Si bien hacen falta más estudios que expliquen estos mecanismos, nuestros resultados sugieren que la alta o baja virulencia de BVDB podría estar mediada por la respuesta oxidativa del hospedador.

ISSN 1852-771X

Amplificación de la respuesta inmune innata mediada por Imiquimod en células de pulmón fetal bovino infectadas por alfaherpesvirus bovino

Amplification of innate immune response by Imiquimod in bovine fetal lung cells infected with bovine alphaherpesvirus

Burucúa M.*[1]; Quintana S.[2,3]; Odeón A.[4]; Pérez S.[5]; Marin M.[1]

[1]Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS Balcarce), INTA-CONICET, Balcarce, Buenos Aires, Argentina. [2]Instituto de Análisis Fares Taie, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. [3]Instituto de Investigaciones de Producción, Sanidad y Ambiente (IIPROSAM), FCEyN, UNMDP-CONICET, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. [4]Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. [5]Centro de Investigaciones Veterinarias de Tandil (CIVETAN) – CONICET, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Buenos Aires, Argentina.

*merburucua@gmail.com

El epitelio de las vías respiratorias es el principal sitio de replicación primaria de los alfaherpesvirus bovinos (BoHV) tipo 1 y 5. Recientemente hemos observado que la activación *in vitro* del receptor tipo Toll (TLR) 7 previa a la infección induce una expresión potenciada de la catelicidina BMAP28 en células respiratorias bovinas, disminuyendo la replicación herpesviral a las 24 horas post-infección (hpi). Esto sugiere una interacción relevante de los componentes inmunes innatos para el control de la infección por BoHV. El objetivo fue evaluar si el pretratamiento con Imiquimod (agonista sintético del TLR7) amplifica la expresión del factor de necrosis tumoral alfa (TNFα) e interferón beta (IFNβ) en cultivos primarios de células de pulmón fetal bovino infectados con BoHV. Para esto, monocapas confluentes fueron estimuladas con Imiquimod (5 µg/mL) e infectadas 1h después con BoHV-1 o BoHV-5 (MOI: 0,1). La expresión génica de TNFα e IFNβ se determinó a las 24 hpi mediante RT-qPCR y se analizó mediante el software REST, utilizando el gen GAPDH como control. En comparación con las células control no infectadas, el pretratamiento con Imiquimod potenció la respuesta inmune innata observándose un aumento significativo ($p \leq 0,05$) en la expresión de TNFα (30 veces y 87 veces) e IFNβ (15 veces y 32 veces) en células infectadas con BoHV-1 y BoHV-5, respectivamente. Esta respuesta no se observó en células sin tratar e infectadas con BoHV ($p \geq 0,05$). El análisis conjunto de los resultados sugiere que Imiquimod ejercería una acción antiviral en células respiratorias bovinas mediada por la modulación de la expresión de catelicidinas y citoquinas ante la activación de un TLR específico previa a la infección. Este trabajo es una descripción inicial de las moléculas inmunes innatas como potenciales mediadores antivirales para nuevas estrategias de profilaxis y tratamiento de infecciones en el ganado basadas en TLRs y catelicidinas.

ISSN 1852-771X

Expresión de ARNm de citoquinas Th1/Th2 en células mononucleares de sangre periférica de terneros suplementados con *Lactobacillus parabuchneri*

ARNm expression of Th1/Th2 cytokines in peripheral blood mononuclear cell of calves supplemented with Lactobacillus parabuchneri

Indart M.*[1]; Etcheverría A.I.[2,3]; Nieto Farias M.V.[3,4]; Dolcini G.L.[4]

[1]Departamento de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Campus Universitario, Pje. Arroyo Seco s/n, 7000, Tandil, Argentina. [2]Laboratorio de Inmunoquímica y Biotecnología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Campus Universitario, Pje. Arroyo Seco s/n, 7000, Tandil, Argentina. [3]Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN, CONICET-UNCPBA-CICPBA), Campus Universitario, Pje. Arroyo Seco s/n, 7000, Tandil, Argentina. [4]Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Campus Universitario, Pje. Arroyo Seco s/n, 7000, Tandil, Argentina.

*mindart@vet.unicen.edu.ar

La microbiota intestinal juega un papel importante en la bioquímica, inmunología, fisiología y resistencia inespecífica del huésped contra enfermedades infecciosas. Un equilibrio adecuado disminuye la incidencia de enfermedades y el uso de antibióticos. Algunas especies de Lactobacilos poseen propiedades probióticas, como la capacidad inmunomoduladora. El objetivo del estudio fue evaluar la expresión relativa de las citoquinas involucradas en la respuesta inmune Th1/Th2 (IL-12, IFN-γ, TNF-α, IL-10, IL-6) en terneros post-administración de *Lactobacillus parabuchneri*. Se conformaron dos grupos (n=6): grupo tratado (GT) con una dosis diaria vía oral de $1{,}1x10^8$ de *L. parabuchneri*, y grupo control (GC) sin probiótico. Se tomaron muestras de sangre los días 1, 3, 6, 9, 12 y 15. Se extrajo ARN de los PBMC, se realizó reacción de transcripción reversa y qPCR utilizando primers específicos. La expresión de cada gen se normalizó a la expresión del gen endógeno GAPDH y los resultados se analizaron con el programa *FgStatistics*, considerando diferencias estadísticamente significativas cuando P<0,05. Días 1 y 3: no se observaron diferencias en la expresión de IL-12, IL-6, IL-10 e IFN-γ, entre GT y GC. Días 6 y 9: se observó disminución en la expresión de IL-12 en GT vs GC (P 0,006). Día 12: la expresión de IFN-γ aumentó en GT vs GC (P 0,009). Día 15: IL-12 e IL-6 disminuyeron su expresión en GT vs GC (P 0,019 y P 0,040). Después del tercer día post-administración, *L. parabuchneri* promovería una disminución en la expresión de IL-12; sin embargo, parecería haber un efecto acumulativo en la expresión de IFN-γ (Th1), día 12, y una respuesta antinflamatoria con disminución de la expresión de IL-6 (Th2) al final del tratamiento. Este es un primer trabajo que demuestra el balance de citoquinas a nivel periférico, como respuesta al comportamiento de la microbiota en terneros post-administración de *L. parabuchneri.*

ISSN 1852-771X

DIAGNÓSTICO

Expresión génica de interferones tipo I (IFN-β) y III (IFN-λ) en esmegma prepucial de bovinos con detección de anticuerpos sistémicos y ADN de *Leptospira* spp.

Gene expression of type I (IFN-β) and III (IFN-λ) interferons in bovine prepucial smegma with detection of systemic antibodies and DNA of Leptospira spp.

Videla, Y. P.[*1,2]; Burucúa, M.[3]; Cheuquepán, F.[3]; Plá, N.[4,5]; Pérez, S.[6]; Scialfa, E.[1,7]; Marin, M.[3]; Quintana, S.[8,9]

[1]Centro Regional de Estudio Sistémico de las Cadenas Agroalimentarias (CRESCA). Facultad de Agronomía. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN). Azul, Buenos Aires, Argentina. [2]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina. [3]Instituto de Innovación para la producción agropecuaria y el desarrollo sostenible (IPADS) Balcarce (CONICET-INTA). Provincia de Buenos Aires. Argentina. [4]Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), Fondo para la Investigación Científica y Tecnológica (FONCyT). Buenos Aires, Argentina. [5]Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Agrarias, UNMDP. Balcarce, Buenos Aires, Argentina. [6]Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN). UNICEN. Tandil. Provincia de Buenos Aires, Argentina. [7]Departamento de Zoonosis Rurales. Ministerio de Salud Provincia de Buenos Aires. Azul. Buenos Aires. Argentina. [8]Instituto de Investigaciones en Producción, Sanidad y Ambiente - IIPROSAM (CONICET-UNMDP). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-UNMdP Centro Científico Tecnológico Mar del Plata-CONICET Centro de Asociación Simple CIC-PBA. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. [9]Fares Taie Biotecnología, Mar del Plata, Argentina.

*yvidela@azul.faa.unicen.edu.ar

La leptospirosis bovina es una causa infecciosa de pérdidas reproductivas. El síndrome de Leptospirosis Genital Bovina (BGL) difiere de la enfermedad renal pues se asocia a fallas reproductivas tempranas: muerte embrionaria, infertilidad y repetición del estro. La supervivencia de *Leptospira* spp. en el tracto reproductivo cumpliría un rol importante. Actualmente, se desconoce la respuesta inmune en la mucosa genital del macho asociada a la infección. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la expresión génica de interferones tipo I (IFN-β) y III (IFN-λ) en esmegma prepucial de bovinos con detección de anticuerpos sistémicos y/o ADN de *Leptospira* spp. Se incluyeron muestras obtenidas por la técnica de raspaje y suero sanguíneo de 30 toros de cría sin antecedentes de problemas reproductivos. Se evaluó la presencia de anticuerpos sistémicos anti-leptospira por el test de microaglutinación (MAT). Se determinó la presencia de ADN de *Leptospira* spp. y de otros agentes abortigénicos: alfaherpesvirus bovino (BoHV-1/5), *Tritrichomonas fetus, Campylobacter fetus* y se evaluó la expresión de IFN-β e IFN-λ en el esmegma prepucial mediante qPCR y RT-qPCR, respectivamente. El 36,7 % de los animales presentó títulos de anticuerpos >1:100, predominando el serogrupo Sejroe. Se detectó ADN de *Leptospira interrogans* en el 13 % de las muestras, de BoHV-1/5 en el 6,7 % y ninguna co-infección para los patógenos estudiados. La expresión de IFN-β e IFN-λ no se modificó significativamente en esmegma positivo a *Leptospira* spp. o proveniente de animales con MAT positiva en relación a toros sin infección detectable. Estos resultados podrían corroborar el alto grado de adaptación de los serovares encontrados y estudiados. Se sugiere profundizar el estudio de la respuesta inmune de la mucosa genital asociada a la infección por *Leptospira* spp., en especial, los portadores genitales, pues podrían tener un impacto en los índices reproductivos de los sistemas ganaderos de cría extensiva.

ISSN 1852-771X

Identificación de infecciones causadas por diferentes fenotipos de *Babesia bigemina* y *B. bovis* mediante PCR y ELISAi

Identification of infections caused by different Babesia bigemina and B. bovis phenotypes by PCR and ELISAi

Mazzucco Panizza, M.[1], Amherdt, P.[1],Valentini, B.[1], Primo, M. E.[1], Echaide, I[1]., Thompson, C.[1]

[1]IdICaL-Instituto de Investigación de la Cadena Láctea, Ruta 34, km 227, Rafaela, Santa Fe, Argentina.

*thompson.carolina@inta.gob.ar

Babesia bigemina y *B. bovis* son hemoparásitos Apicomplexa causantes de la babesiosis bovina transmitidos por garrapatas del género *Rhipicephalus*. La enfermedad se manifiesta por hipertermia, anemia, hemoglobinuria y muerte y puede tratarse con babesicidas. La prevención se basa en la vacunación de bovinos con cepas atenuadas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficiencia de diferentes PCR y ELISA indirectos basados en antígenos nativos para la detección de bovinos infectados con *Babesia* spp. Se seleccionaron cepas patógenas y vacunales de *B. bigemina* (S2P y S1A) y de *B. bovis* (L17 y R1A) respectivamente, las que fueron inoculadas en 24 bovinos de 10 meses de edad distribuidos en 4 grupos (n=6). Se amplificaron los genes *rap-1a* (nPCR) y *ms4179* para *B. bigemina* y los genes *18s rDNA* y Bv80 (PCR) para *B. bovis*. El curso de las infecciones se evaluó mediante la observación microscópica de extendidos de sangre, cambios del hematocrito e hipertermia, entre los días 6 y 12 post inoculación (PI). Se tomaron muestras de sangre con y sin anticoagulante cada 7 días, durante 40 semanas PI. Las cepas patógenas produjeron parasitemias >1 %, temperatura >40°C y marcado descenso del hematocrito de hasta valores de 13 en bovinos inoculados con la cepa L17. En el 50 % de los bovinos se detectó ADN de las 4 cepas de *Babesia* a partir del día 7 PI, mientras que el 50 % de los inoculados con *B. bigemina* y *B. bovis* fueron positivos a ELISAi desde los días 28 y 16 PI, respectivamente. Ambas técnicas detectaron el 100 % de las infecciones. El diagnóstico directo (PCR) permite identificar infecciones tempranas (<2 semanas PI), caracterizar aislamientos y diferenciar cepas vacunales de aislamientos patógenos. ELISAi es la técnica de elección para identificar principalmente bovinos portadores crónicos en los rodeos, aunque la ausencia de reinfecciones puede afectar su sensibilidad.

ISSN 1852-771X

Valoración de la técnica del inmunocrito para establecer la transferencia pasiva de la inmunidad en potrillos de un haras de la Provincia de Buenos Aires

Assessment of the immunocrit technique to establish the passive transfer of immunity in foals from a farm of Buenos Aires Province

Costanzo, B.[1]; Alarcon, L.[3]; Miceli, G.S.[1]; Mortola, E.[1,2]

[1]Laboratorio de Inmunología Veterinaria. [2]CEMIBA (Centro de Microbiología Básica y Aplicada). [3]Bioestadística Aplicada, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

mortola@fcv.unlp.edu.ar

Detectar fallas en la Transferencia Pasiva de la Inmunidad (TPI) en los potrillos, es una herramienta fundamental para el manejo adecuado de los neonatos. Al momento de elegir una técnica para medir la concentración de IgG en suero, es importante tener en cuenta que la rapidez y precisión con que se efectúa la evaluación es fundamental para lograr la sobrevida del recién nacido. En la gran mayoría de los haras, la técnica de coagulación por el glutaraldehído (CG) está instalada y es la que se utiliza de rutina. Sin embargo, esta técnica tiene las desventajas de la subjetividad en la lectura y sus resultados no son cuantificables. La técnica del inmunocrito (IC) ha sido probada anteriormente por nosotros como rápida, sencilla, económica, fehaciente y con resultados cuantificables. El objetivo del presente trabajo, fue comparar la técnica de CG con el IC en un haras de la Provincia de Buenos Aires. Se analizaron 157 potrillos Silla Argentino y se les extrajo una muestra de sangre entre las 10 y 14 horas de nacidos. A cada muestra se le realizó la prueba de IC y se la comparó con la prueba de CG. Si bien la comparación de la técnica de IC con la CG indicó un mediano coeficiente de correlación (k = 0,56), la curva ROC mostró un área bajo la curva de 99,04 % y el límite de corte inferior del IC resultó ser de 7,5 % con una sensibilidad y especificidad muy adecuadas (90 y 95,7 % respectivamente). Estos datos sugieren que la técnica de IC es precisa para evaluar la TPI y sus resultados reflejan en forma más fehaciente el estado de protección del potrillo neonato. Por lo expuesto, las medidas tendientes a concientizar sobre la importancia de evaluar la TPI en potros recién nacidos, juntamente con el uso de una prueba confiable como el IC, podría reducir la tasa de morbi-mortalidad en potrillos.

ISSN 1852-771X

Puesta a punto de la técnica de Western blot como prueba confirmatoria para la detección de anticuerpos séricos anti-Trichinella en porcinos

Development of a Western blot technique as a confirmatory test for the detection of anti-Trichinella antibodies in pig sera

Riva E.*[1,2]; Moran C.[1,3,4]; Silva J.[1]; Larsen K.[1,5]; Franceschetti P.[6]; Bernat G.1,2; Asensio C.1; Estein S.[1,3]

[1] CIVETAN (CICPBA- UNCPBA- CONICET), Tandil, Buenos Aires, Argentina. [2] Área de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva (SAMP), FCV- UNCPBA, Tandil, Buenos Aires, Argentina. [3] Laboratorio de Inmunología, Departamento SAMP, FCV- UNCPBA. Tandil, Buenos Aires, Argentina. [4] Laboratorio de Microbiología Clínica y Experimental, Departamento SAMP, FCV- UNCPBA. Tandil, Buenos Aires, Argentina. [5]Laboratorio de Ecotoxicología y Biología Celular, Departamento de Ciencias Biológicas, FCV- UNCPBA, Tandil, Buenos Aires, Argentina. [6]FCV- UNCPBA. Tandil, Buenos Aires, Argentina.

*e-mail: eriva@vet.unicen.edu.ar

La trichinellosis en porcinos tiene impacto directo en la economía y la salud pública. El objetivo del trabajo fue poner a punto la técnica de *Western blot* (WB) para la confirmación de sueros porcinos con resultado sospechoso o positivo al ELISA como una estrategia de diagnóstico *in vivo* de la trichinellosis. Se utilizaron 27 sueros con reactividad conocida en ELISA, confirmada por digestión artificial (DA). Diecisiete sueros provenían de 2 cerdos infectados experimentalmente y muestreados a distintos tiempos post-infección (p.i.), 5 de animales de un foco y 5 procedentes de granjas modelos (controles negativos). El WB se basó, igual que el ELISA, en el antígeno de excreción-secreción de larvas musculares de *T. spiralis* (AgE/S). El AgE/S (66 µg) fue separado por SDS-PAGE al 12 % y transferido a membrana de nitrocelulosa. La membrana se bloqueó con PBS-T/leche descremada 5 % a 37°C, 1 h. Se cortaron tiras y se incubaron con los sueros (1/100) en PBS-T/leche descremada 3 %, 1 h. Las tiras se lavaron con PBS-T y se incubaron con el anti-porcino IgG conjugado a peroxidasa (1/12500), 1 h. La reacción se reveló con DAB+Tris/0,06 % H2O2. La detección del triplete de bandas entre 40-60 kDa se interpretó como específico de la infección por *Trichinella.* En los sueros de los animales infectados experimentalmente la estrategia combinada resultó positiva a partir del día 21 p.i. En los sueros de cerdos de foco, dos muestras negativas a DA y positivas a ELISA, resultaron no reactivas en WB. Dos sueros asociados a cargas de 0,05 y 0,15 larvas/g, respectivamente reaccionaron en ELISA aunque sólo el último en WB. Un suero asociado a carga de 0,2 larvas/g fue negativo a ambas pruebas. La combinación ELISA+WB en serie aumentaría la especificidad del inmunodiagnóstico. Se ampliará el número de sueros porcinos caracterizados para mejorar la *performance* de esta estrategia diagnóstica.

ISSN 1852-771X

Estandarización de un ELISA para detección de anticuerpos contra el Virus de Hepatitis E (VHE) en porcinos: resultados preliminares

Standardization of an ELISA for the detection of anti- hepatitis E virus antibodies in swine: preliminary report

Gutiérrez, S.E.[1]* ; Arce, L.P.[2]; Bence, A.R.[1]; Matias Brancher, J.R.[2]; Rivero, M.A.[1]; Moran, M.C.1; Sanchez, F.[3]; Kuhn, T.M.3; Caferri, J.[3]; Arrien, M.M.[3]; Franceschetti, P.[3]; Brusco, M.[4]; Estein, S.M.[1]; Vizoso Pinto, M.G.[2]

[1]Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN), Buenos Aires, Argentina. [2]Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO) (CONICET-UNT), Universidad Nacional de Tucumán, Tucumán, Argentina. [3]Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Buenos Aires, Argentina. [4]Departamento de Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Tandil, Buenos Aires, Argentina.

*segutier@vet.unicen.edu.ar

El virus de la hepatitis E (VHE) es un patógeno emergente en humanos en países industrializados. El genotipo 3 del VHE, de distribución mundial y el más frecuentemente encontrado en América Latina, es de carácter zoonótico, siendo el cerdo doméstico y el cerdo asilvestrado los principales reservorios. El porcino no enferma pero transmite el VHE al hombre, quien adquiere la infección por exposición ocupacional, consumo de carne mal cocida, o por ingestión de agua contaminada con materia fecal de animales infectados. El objetivo del presente trabajo fue estandarizar un ELISA indirecto para detectar IgG anti-VHE en muestras de suero porcino, que nos permita estudiar la seroprevalencia y epidemiología de la infección. Se utilizó como antígeno un polipéptido de 66 kDa de la proteína de la cápside del VHE producido en forma recombinante, adsorbido a microplacas de poliestireno. Para la detección de los anticuerpos específicos se utilizó un anticuerpo anti-IgG porcina conjugado a peroxidasa y TMB/H2O2. Para definir las condiciones óptimas del ensayo utilizamos un panel de 54 muestras positivas y 70 negativas, analizadas mediante un ensayo de tercera generación: HEV Ab, Versión ULTRA (DIA.PRO, Italia). Se ensayaron distintas concentraciones de antígeno adsorbido, dilución del suero y del conjugado. En cada placa se incluyeron 3 controles positivos con diferente grado de reactividad y varios sueros negativos. Para cada muestra se determinó la relación de A450nm/promedio A450nm de controles negativos (A450nm muestra/CN) y se realizó un análisis ROC (*receiver operating characteristic*) utilizando Epitools, versión 1.0.9, 2022. El área bajo la curva resultó 0,985 (IC 95% 0,97-0,999). Para un valor de corte de 2,14 (A450nm muestra/CN) la sensibilidad y especificidad relativas a la técnica utilizada como referencia fueron 0,926 y 0,943, respectivamente. El ensayo es menos sensible que la prueba de referencia, no obstante, resulta apropiado para investigar la epidemiología de la infección.

ISSN 1852-771X

Expresión de Galectina 3 en tejido placentario porcino. Resultados preliminares

Galectin 3 expression in porcine placental tissue. Preliminary results

Canovas L.[1]; Benitez, V.[1]; Roth, N.[1]; Clauzure, M.[1,2]; Williamson, D.[1], García, M.[1]; Viglierchio, M.C.[1]; Sola, D.[4]; Badiola, J.J.[4]; Barbeito, C.[2,3]; Velez, C.[1]

[1]Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLPam. Calle 5 esq. 116. General Pico. La Pampa. [2]CONICET. [3]Laboratorio de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP. La Plata. Buenos Aires. [4]Centro de Encefalopatías y Enfermedades Transmisibles Emergentes. Facultad de Veterinaria. UNIZAR. Zaragoza. España.

*lorenacanovas92@gmail.com

Las galectinas son proteínas que podrían ser claves en la regulación del sistema inmune materno, como así también de la apoptosis, la angiogénesis, la migración, la invasión y la adhesión celular en las placentas. El objetivo fue analizar la expresión de galectina 3 (Gal-3) en la placenta porcina en diferentes etapas de la gestación. Se utilizaron 24 tractos reproductivos de cerdas Landrace x Yorkshire, no gestantes (n=4) y gestantes de 17 (n=4), 30 (n=4), 60 (n=4), 70 (n=4) y 114 (n=4) días de gestación (dg). Gal-3 se determinó por inmunohistoquímica indirecta utilizando la técnica de LSAB (*Labelled streptavidin avidin biotin complex*) sobre cortes en los periodos de gestación indicados. Se utilizó un anticuerpo primario antiGalectina-3 policlonal (NBP2-16590, Novus Biologicals, USA) y los resultados se expresaron semicuantitativamente, determinando el grado de expresión según la intensidad de coloración marrón observada: (-)= negativo, (+)= positividad leve, (++)= positividad moderada y (+++)= positividad fuerte. El endometrio no gestante fue negativo para Gal-3. En placentas, sólo se observó inmunotinción a los 60-70 dg en placenta materna. Se halló leve (+) tinción de Gal-3 en porción apical de las células de las glándulas endometriales, en la túnica media de la capa muscular de los vasos sanguíneos y leve (+) marcación en forma discontinua en epitelio luminal endometrial. En trofoblasto no se ha observado inmunomarcación de Gal-3 en ninguno de los períodos. En gestación media/tardía índices elevados de apoptosis/proliferación están asociados con el desarrollo placentario. Durante la gestación porcina, este índice podría estar regulado por Gal-3, ya que una alta expresión de esta molécula ejerce efectos inhibidores sobre las respuestas apoptóticas de varios tipos de células. Se continuarán los estudios para establecer cuál es el comportamiento espacio-temporal de Gal-3 dentro del diálogo molecular que se establece en la interfase de la placentación porcina.

ISSN 1852-771X

Vitronectina e integrina αvβ3 en la interfase placentaria porcina

Vitronectin and αvβ3 integrin in porcine placenta interface

Canovas L.[1]*; Lopez N.[1]; Velez C.[1]; Quiroz Peralta J.[1]; Clauzure, M.[1,2]; García M.[1]; Williamson D.[1]

[1]Facultad Ciencias Veterinarias-UNLPam. La Pampa. Argentina. [2]CONICET

* lorenacanovas92@gmail.com

La cerda posee una placenta de tipo epiteliocorial y no invasiva, por lo que las moléculas de adhesión y sus ligandos cumplen un rol fundamental en la adhesión de ambos epitelios y el correcto desarrollo de la interfase feto-materna. El objetivo de este trabajo fue determinar la expresión de la vitronectina (VN) y su receptor, la integrina αvβ3 en placenta porcina. Se recolectó úteros de cerdas no gestantes (n=5) y placentas de 17 (n=5), 30 (n=5) (n=5), 60 (n=5), 70 (n=5) y 114 (n=5) días de gestación (dg). La detección de VN y de αvβ3 se realizó por inmunoperoxidasa indirecta sobre cortes histológicos de útero no gestante y de placentas porcinas maternas y fetales en los periodos de gestación seleccionados. Los resultados se expresaron de un modo semicualitativo en función de la coloración detectada, determinando que: (-)= negativo, (+)= positividad leve, (++)= positividad moderada y (+++)= positividad fuerte. En útero no gestante la expresión de VN fue moderada y la integrina estuvo ausente en el epitelio. A los 17 dg, la VN se halló elevada en el trofoblasto (+++), y se expresó moderadamente (++) en el epitelio endometrial. La integrina αvβ3 tuvo una expresión moderada en ambos epitelios (++). A los 30 y 60 dg la expresión de ambas moléculas se halló elevada (+++) o moderada (++) en los epitelios que conforman la interfase placentaria. Desde los 70 dg VN y αvβ3 disminuyeron su expresión en los epitelios. La expresión de la vitronectina y de la integrina αvβ3 desde los 17 dg en epitelio materno y trofoblástico hasta los 70 dg permitiría la adhesión entre los epitelios placentarios materno y fetal durante la gestación porcina. Su ausencia al finalizar la gestación sería necesaria para permitir el desprendimiento de la placenta fetal en el momento del parto.

ISSN 1852-771X

Prototipo de ELISA sándwich basado en nanoanticuerpos para la detección de antígeno del Virus de la Hepatitis E de transmisión zoonótica

Prototype of a nanobodies-based sandwich ELISA for the detection of Hepatitis E Virus antigen of zoonotic transmission

Arce, L.P.[*1,2]; Matias Brancher, J.[1]; Pavan, M.F.[2]; Bok, M.[3]; Parreño, V.[3]; Vizoso Pinto, M.G.[1**]; Ibañez, L.I.[2**]

[1]Laboratorio de Biología de las Infecciones. INSIBIO (CONICET-UNT). Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Tucumán. Tucumán. Argentina. [2]Instituto de Química, Física de los Materiales, Medioambiente y Energía (INQUIMAE-CONICET). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Buenos Aires (UBA). Buenos Aires. Argentina [3]IncuINTA, Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas, INTA-CONICET. Buenos Aires. Argentina.
[**]Igual contribución

[*]lore.arce.oaq@gmail.com

El Virus de la Hepatitis E (HEV) es un virus zoonótico emergente causante de hepatitis aguda. La detección del antígeno de cápside (ORF2 glicosilada) que circula libre en plasma o de la partícula viral en heces permite diagnosticar la infección. Recientemente, obtuvimos nanoanticuerpos (VHHs) contra ORF2. Nuestro objetivo fue desarrollar un prototipo de inmunoensayo basado en VHHs para la detección de antígeno. ORF2 HEV-3 fue expresada en células *HEK 293* y purificada mediante cromatografía de afinidad. Se seleccionaron 6 VHHs anti-ORF2 según la región determinante de hipercomplementariedad (CDR3) y se realizó la expresión, purificación y modificación con diferentes etiquetas (unión a plástico (VHHPSW) y unión a biotina (VHHbio)). La afinidad de los VHHs sin modificar se evaluó mediante ELISA indirecto, brevemente se sensibilizó con diferentes concentraciones de ORF2 (o.n. 4°C), bloqueo con leche 5 %, luego se añadió diferentes concentraciones de VHHs y finalmente se incubó con anti-HisHRP. Los VHHs con y sin modificaciones que presentaron mayor afinidad por la proteína, se usaron para un prototipo de ELISA sándwich para la detección de antígeno. Se probaron: tipo de placa y concentraciones variables de los siguientes reactivos: VHH, VHHPSW, agente bloqueante, ORF2 glicosilada, VHHbio y anticuerpo estreptavidina HRP. Los VHHs que presentaron mayor afinidad fueron los VHH11 y VHH18. Las condiciones preliminares para el ELISA sándwich fueron: concentración del VHHPSW 0,1 ig/ml, gelatina 1 %, VHHbio 1/200 y estreptavidina conjugada 1/10000. El límite de detección fue 100 ng/ml de ORF2 glicosilada. Desarrollamos un prototipo para detección de antígeno de HEV que luego de ser validado podrá ser usado en muestras de suero y heces para el diagnóstico y pronóstico de la infección por HEV. Esta herramienta es de utilidad para el control de la transmisión zoonótica del HEV-3.

ISSN 1852-771X

Inmunolocalización de receptores de estrógenos acoplados a proteína G en placentas porcinas

G protein coupled estrogen receptors immunolocalization in porcine placentas

Roth K.N.[1*]; Canovas M.L.[1]; Etcheverry B.[1]; Devaux L.[1]; Clauzure M.[1,2]; Garcia M.G.[1]; Lacolla D.V.[1]; Velez C.L.[1]; Viglierchio MdC.[1]; Williamson D.M.[1]

[1]Facultad de Ciencias Veterinarias UNLPam. [2]CONICET. Calle 5 esq. 116. General Pico. La Pampa. República Argentina.

*nicoroth98@gmail.com

En la gestación porcina, las hormonas esteroideas estrógenos y progesterona interaccionan con receptores nucleares y de membrana. El propósito de esta investigación fue determinar la distribución y localización del receptor de estrógenos acoplado a proteína G (GPER) en placentas porcinas de diversos periodos de gestación. Se utilizaron cerdas mestizas gestantes (G) de 15-17 días de gestación (dg) (n= 4), de 30-35 dg (n= 4) y de 60-70 dg (n= 4), provenientes de frigoríficos de la zona de General Pico, La Pampa; y cerdas no gestantes (NG) (n=4). De cada muestra se realizó la determinación de los receptores de estrógenos por la técnica de inmunoperoxidasa indirecta LSAB (*Labelled Streptavidin Biotin*), el anticuerpo utilizado fue GPR30: PA5-28647, Invitrogen, Thermofisher, USA (1:250). Los resultados de la técnica de inmunomarcación para la determinación de receptores de hormonas esteroideas, se expresaron en forma cualitativa. Se evaluó la expresión según la coloración detectada (diferentes intensidades de marrón). En todos los períodos estudiados se observó inmunomarcación de GPER en células trofoblásticas. En el componente materno se expresó en epitelio luminal y glandular además de músculo liso. Los resultados de este estudio confirman la localización de GPER en endometrio de placentas porcinas de 5, 17, 30 y 70 dg y en células trofoblásticas de 17, 30 y 70 dg. La expresión de los receptores de estrógenos de membrana acuerda con estudios previos en los cuales se cuantificó los niveles de estrógenos en sueros y en el componente materno y fetal de similares etapas de la gestación. Sugerimos que en la interfase materno fetal, los estrógenos podrían ligarse a GPER y establecer vías de señalización específicamente reguladas. Esa comunicación entre la hembra y sus *conceptus* permitiría inducir y sostener la expresión de moléculas que modulan la implantación, el desarrollo y el mantenimiento de la gestación.

ISSN 1852-771X

RESPUESTA INMUNE A INFECCIONES

Respuesta inmune humoral contra Herpesvirus tipo 1 (BoHV-1) en vaquillonas infectadas naturalmente con el virus de la Leucosis Bovina

Humoral immune response against Herpesvirus type 1 (BoHV-1) in heifers naturally infected with Bovine Leukemia virus

De Brun L.*[1]; Ruppel, F.[1]; Skuras, V. [1]; Lluberas, I. [1]; Puentes, R. [1]

[1]Unidad de Microbiología, Departamento de Patobiología, Facultad de Veterinaria, UdelaR, Montevideo, Uruguay

*laureanadebrun@gmail.com

Se evaluó la respuesta inmune de vaquillonas naturalmente infectadas con el BLV a la inmunización a campo pre-servicio contra BoHV-1 y su desempeño reproductivo durante 100 días pos-servicio. De un rodeo total de 562 vaquillonas Holando, 106 BLV+ y 92 BLV- fueron vacunadas con doble dosis los días -60 y -30 pre-servicio. Mediante ELISA se determinó el estatus serológico para BLV y por *Droplet digital* PCR la carga proviral. Mediante Seroneutralización y ELISAs, se determinó anticuerpos contra BoHV-1 durante 160 días posvacuna (dpv). No se evidenciaron diferencias estadísticas entre la respuesta inmune humoral contra BoHV-1 entre animales infectados con BLV y animales serológicamente negativos. Sin embargo, los animales BLV+ con linfocitosis persistente (LP) presentaron un aumento en el título de IgG1 comparados con los animales BLV+ aleucémicos (AL) y BLV-. Para IgG2, el título fue numéricamente mayor en el subgrupo BLV- con respecto al BLV+($p>0,05$). El 30,3 % (n=17/56) de animales BLV+ aumentaron significativamente la carga proviral, animales que pasaron de baja carga viral a alta (B-ACP) durante el ensayo. Estos, al 60 y 160 dpv presentaron mayores títulos de IgG1 ($p=0.02$) con respecto al grupo de baja carga proviral (BCP). En cuanto a la IgG2, el grupo de alta carga viral desde el inicio (ACP) presentó mayores títulos de IgG2 los 30 y 160 dpv que los animales B-ACP. En cuanto al porcentaje de preñez, del rodeo general fue de 89,7 % (412/459) y no se encontraron diferencias entre el estatus a BLV, ni con la condición de estar o no vacunadas para enfermedades reproductivas. En base a estos resultados, se demuestra en un ensayo a campo, el efecto de BLV a nivel de isotipos de IgGs frente a la inmunización contra BoHV-1, destacándose la importancia de la carga proviral en los rodeos infectados.

ISSN 1852-771X

Evaluación de la actividad antiviral de LL-37 frente al Virus de la Diarrea Viral Bovina

Evaluation of antiviral activity of LL-37 against Bovine Viral Diarrhea Virus

Cardoso N.P.*[1,2]; Mansilla F.C.[1]; Miraglia M.C[1,2]; Castillo M.[1,2]; Capozzo A.V.[1,2]; Mafia P.C. [2,3]

[1] Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas IVIT - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Hurlingham, Argentina. [2] Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina. [3] Laboratorio de Aplicaciones Biotecnológicas y Microbiología (LAByM), Universidad Nacional de Hurlingham (UNAHUR), Hurlingham, Argentina.

*cardoso.nancy@inta.gob.ar

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB, familia *Flaviviridae*, género *Pestivirus*) ocasiona inmunosupresión transitoria que puede favorecer infecciones secundarias e inadecuada respuesta a vacunas, la falta de un tratamiento efectivo hace imperioso investigar sobre nuevas terapias anti-virales que puedan ser utilizadas. Los péptidos antimicrobianos (PAMs), son compuestos involucrados en la respuesta inmune innata, y producidos por casi todos los organismos. El péptido catiónico LL-37 pertenece a la familia de catelicidinas humanas y posee actividad antiviral contra virus como Influenza A, virus de la encefalitis equina venezolana y ciertos flavivirus (dengue tipo 2, zika y hepatitis C). Ya que es necesario contar con terapéuticos que brinden solución rápida frente a posibles brotes por VDVB, el objetivo del presente trabajo fue investigar la posible actividad antiviral de LL-37 sobre la infectividad de este virus. Células MDBK fueron sembradas a una confluencia del 70 %, luego de 24 horas fueron infectadas con VDVB y tratadas con LL-37, en cada experimento se incluyó un control de células sin infectar tratadas con LL-37 para descartar presencia de toxicidad. A las 48 horas post-infección se estimó la actividad antiviral del compuesto mediante titulación del sobrenadante de cultivos y mediante detección de virus intracelular por citometría. LL-37 estuvo presente durante el experimento completo a una concentración de 64 µg/ml. Las células tratadas con el péptido presentaron título viral significativamente menor respecto a células no-tratadas ($p<0.05$). Además, el tratamiento disminuyó significativamente ($p<0.05$) el porcentaje de células infectadas por VDVB, sugiriendo que LL-37 podría interferir en el ingreso del virus a las células. Si bien faltarían ensayos que confirmen estos resultados, y expliquen los posibles mecanismos de acción involucrados, como así también el comportamiento de LL-37 frente a la infección en células inmunes, nuestros resultados demuestran que este compuesto fue capaz de disminuir la infección por VDVB en estas células bovinas.

ISSN 1852-771X

El tratamiento de células epiteliales mamarias bovinas con 1,25 dihidroxivitamina D 3 inhibe la internalización y promueve la erradicación de biofilms de *Staphylococcus* spp.

1,25 dihydroxivitamin D 3 treatment of bovine mammary epithelial cells inhibits the internalization and promotes the eradication of Staphylococcus spp. biofilms

Tiraboschi G.*[2]; Isaac P.[1,2]; Breser M.L.[1,2]; Porporatto C.[1,2]; Bohl L.P.[1,2]

[1]Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional Villa María, Villa María, Córdoba, Argentina. [2]Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (IMITAB CONICET-UNVM), Villa María, Córdoba, Argentina.

*georginatiraboschi@gmail.com

Los microorganismos utilizan distintos mecanismos para persistir en la glándula mamaria bovina como la vida intracelular en células epiteliales y fagocitos profesionales y la formación de *biofilms*. La función inmunorreguladora de 1,25 dihidroxivitamina D 3 (1,25(OH) 2 D 3) tiene un impacto potencial sobre la mastitis del ganado bovino lechero. Considerando lo mencionado, el objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos de1,25(OH) 2 D 3 sobre células epiteliales mamarias bovinas, *biofilms* de *Staphylococcus* spp y su interacción. Se utilizó la línea celular de epitelio mamario bovino, MAC-T, y las cepas *S. aureus* V329, *S. chromogenes* 40 y *S. haemolyticus* 6 aisladas de animales con mastitis. La internalización se analizó mediante el ensayo de protección con gentamicina. La expresión génica relativa del receptor de la vitamina D (VDR), la enzima 24 hidroxilasa y las interleucinas (IL) 8, 6, 1β y el TNF-α se estudiaron mediante RT-qPCR. La erradicación de *biofilms* incubados en medio condicionado (MC) procedente de células MAC-T tratadas con 1,25(OH) 2 D 3 se evaluó con microscopía confocal. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante ANOVA/Bonferroni. El pre-tratamiento con 1,25(OH) 2 D 3 disminuyó la internalización de *S. aureus* en las células MAC-T. La expresión de la 24 hidroxilasa aumentó en forma dosis-dependiente en las células MAC-T tratadas mientras que la del VDR no se modificó en ninguna condición. Respecto a las citoquinas, los resultados preliminares demostraron que el 1,25(OH) 2 D 3 no afectó su expresión. El MC proveniente de MAC-T tratadas con 1,25(OH) 2 D 3 promovió la erradicación de *biofilms* de *S. chromogenes* 40 y *S. haemolyticus* 6. En conclusión, la 1,25(OH) 2 D 3 interfirió con la entrada de bacterias a las células epiteliales e indujo muerte bacteriana en los *biofilms* de manera indirecta demostrando que es una buena candidata a considerar en las infecciones intramamarias producidas por *Staphylococcus* spp.

ISSN 1852-771X

Serorreactividad frente a la proteína Spike de SARS-COV-2 en caninos y felinos del Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA)

Seroreactivity to Spike SARS-COV-2 protein in canine and feline from Area Metropolitana of Buenos Aires (AMBA)

Carrizo, A*[1]; Carusso, C.[1]; Duchene, A.[2]; Gamarnik, A.[3]; Capitelli, G.[4], Bratanich, A.[5,8]; Miragaya, M.[6,7]; Mundo, S.L.[1,8]

[1]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Inmunología, Buenos Aires, Argentina. [2]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Hospital Escuela Cánepa, Buenos Aires, Argentina. [3]CONICET-Fundación Instituto Leloir. [4]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Médicas. Buenos Aires, Argentina. [5]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Virología animal, Buenos Aires, Argentina. [6]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Teriogenología, Buenos Aires, Argentina. [7]CONICET, Universidad de Buenos Aires, Instituto de Producción Animal (INPA), Buenos Aires, Argentina. [8]Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA), Buenos Aires, Argentina.

*acarrizo@fvet.uba.ar

La enfermedad por coronavirus (COVID-19) es una enfermedad infecciosa causada por el virus SARS-CoV-2. El hospedero susceptible principal es el humano, pero se han reportado infecciones experimentales y casos de infección natural en animales. Nuestro objetivo fue evaluar la presencia de anticuerpos específicos a la proteína Spike de SARS-COV-2 de perros y gatos de tenedores responsables sospechosos, diagnosticados y no diagnosticados con SARS-COV-2. Se evaluaron 265 animales, 100 felinos y 165 caninos de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires y el Gran Buenos Aires. Ochenta y dos de estos animales fueron atendidos en el Hospital Escuela Cánepa de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Los sueros se analizaron en dilución 1/100 por duplicado mediante la técnica de ELISA con el Kit nacional COVIDAR IgG adaptado. Como anticuerpos secundarios se usó anti-IgG canina (Novex Catálogo N° A18763, 1/20000) y un anti-IgG felina (Novex Catálogo N°A18757, 1/20000) conjugados con peroxidasa comercial (HRP). Se consideraron reactivas las muestras de suero con densidades ópticas (DO) superiores al 30 % de la DO de los controles positivos. Como controles positivos se usó suero humano del Kit y suero altamente reactivo en canino y positivo por PCR en felino. De las 265 muestras analizadas, 54 animales arrojaron resultados positivos (11 felinos y 43 caninos) y 46 reportaban haber tenido contacto con personas enfermas. En los animales atendidos en el Hospital Escuela Cánepa se detectó linfopenia en 8 de los 14 animales positivos. Los resultados obtenidos podrían interpretarse como indicadores de contacto con las partículas virales en el ambiente o asimismo relacionarse con reacciones cruzadas con otros coronavirus similares antigénicamente. Sin embargo, el hallazgo de linfopenia en algunos de estos animales podría estar indicando el curso de la enfermedad viral al momento de la toma de la muestra como sucede también en personas enfermas diagnosticadas con SARS-COV-2.

ISSN 1852-771X

Efecto de la infección por el virus de la leucosis bovina (BLV) sobre la apoptosis y el estrés metabólico en células epiteliales mamarias bovinas

Effect of bovine leukosis virus (BLV) infection on apoptosis and metabolic stress in bovine mammary epithelial cells

Ladera M.*[1,2]; Morán P.[1]; Ceriani C.[1,2]; Dolcini G.[1,2]

[1]Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA, Campus Universitario, Paraje Arroyo Seco s/n, 7000, Tandil, Argentina. [2]Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN, CONICET-UNCPBA-CICPBA), Campus Universitario, Paraje Arroyo Seco s/n, 7000, Tandil, Argentina.

mladera@vet.unicen.edu.ar

La infección por el virus de la leucosis bovina (BLV) está ampliamente distribuida, principalmente en rodeos lecheros, y causa enormes pérdidas económicas en la producción. El BLV es capaz de producir una alteración inmunológica asociada a una mayor susceptibilidad al desarrollo de infecciones secundarias, incluyendo patógenos productores de mastitis. Las células del epitelio mamario bovino juegan un rol esencial en la respuesta inmune, como primera barrera frente a patógenos. La apoptosis es clave en el desarrollo de la glándula mamaria y su función. La misma es crítica para la eliminación de las células epiteliales alveolares secretoras de leche durante la lactancia y la involución post lactacional. Se analizaron los efectos *in vitro* de la infección del BLV sobre la expresión de ARNm de proteínas involucradas en la apoptosis y sobre el nivel de estrés metabólico en una línea celular epitelial mamaria bovina persistentemente infectada con el BLV (MAC-T BLV). Se encontró 0,96 veces menor expresión de ARNm de *bcl-2* y mayor expresión ($p>0,05$) de ARNm de *bax*, *fas* y *casp3* en MAC-T BLV, respecto a las células MAC-T control. Al ser expuestas a una sonda fluorogénica para medir estrés oxidativo, las células MAC-T BLV presentaron 0,23 veces más niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) que las células sin infectar ($p<0,05$). Estos resultados sugieren que las vías que inducen apoptosis se encuentran favorecidas, y hay una mayor liberación de ROS en el epitelio mamario infectado con BLV. Esta alteración persistente podría perturbar la función celular por daños directos en las células epiteliales mamarias, y aumentar la susceptibilidad al desarrollo de otras infecciones. Son necesarios futuros estudios que evalúen el efecto de la infección por BLV sobre la producción, calidad láctea y su relación con la predisposición del epitelio mamario a infecciones características de mastitis.

ISSN 1852-771X

Estudio de la respuesta inmune humoral durante una infección intramamaria experimental por dos cepas de *Staphylococcus aureus* con distinto genotipo y capacidad de adaptación a la glándula mamaria bovina

Evaluation of the humoral immune response during an experimental intramammary infection by two Staphylococcus aureus strains with different genotype and adaptability to the bovine mammary gland

Engler, C.[1]; Pirola, S.[1]; Beccaria, C.[1,2]; Silvestrini, P.[1]; Simonutti, V.[1]; Baravalle, C.[1,2]; Calvinho, L.F.[2]; Dallard, B.E.[1,2]; Renna MS[1,2]

[1]Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICIVET-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL)/Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina. [2]Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Santa Fe, Argentina.

carolinaengler@outlook.es

El objetivo propuesto fue evaluar y comparar la habilidad de dos cepas de *S. aureus* con distinto genotipo y capacidad de adaptación a la glándula mamaria (GM) bovina, de inducir una respuesta inmune humoral a nivel local luego de una infección intramamaria experimental. Se inocularon tres grupos de vacas Holstein clínicamente sanas, 4 vacas/grupo, por la vía intramamaria en dos cuartos mamarios con la cepa 806 NP (no persistente) de *S. aureus*, con la cepa 5011 P (persistente) de *S. aureus* o con solución salina (grupo control). Se tomaron muestras de leche a los 0, 7, 14 y 21 días postinoculación (pi) para evaluar los niveles de IgG total, IgG1 e IgG2 mediante ELISA. Para cada inmunoglobulina estudiada se evaluó el fenómeno de reacción cruzada entre ambas cepas. Por otro lado, las muestras de leche fueron citocentrifugadas para evaluar la presencia de *S. aureus* intracelular mediante May-Grünwald Giemsa. Los resultados de los ELISA se analizaron a través de un ANOVA de medidas repetidas. En las placas sensibilizadas con las cepas 806 (NP) y 5011 (P) se observó un efecto de la infección a lo largo del tiempo para IgG total ($p=0,030$ y $p=0,015$, respectivamente), IgG1 ($p=0,011$ y $p=0,018$, respectivamente) e IgG2 ($p=0,039$ y $p=0,005$, respectivamente). La cepa 806 (NP) fue capaz de inducir una mayor respuesta de IgG total e IgG1; mientras que la cepa 5011 (P) generó una mayor respuesta de IgG2. Estos resultados se observaron incluso frente a la cepa heteróloga (fenómeno de reacción cruzada). Además, en ambos grupos infectados se observaron cocos teñidos en el interior de macrófagos. Este estudio demuestra que cepas de *S. aureus* con diferente genotipo y adaptabilidad a la GM bovina son capaces de influir, a nivel local, en la respuesta inmune humoral del huésped condicionando el curso y la severidad del proceso infeccioso.

ISSN 1852-771X

Efectos de la infección experimental con *Neospora caninum* durante el segundo trimestre de la gestación sobre parámetros metabólicos, endócrinos e inmunológicos en vaquillonas inmunizadas

Effects of Neospora caninum experimental infection during the second trimester of pregnancy on metabolic, endocrine and immunological parameters in immunized heifers

Mendoza-Morales, L.F.[1]*; Morán, K.D[2]; Morrel, E.[3]; Ramos Duarte, V.A.[4]; Campero, L.[3]; Fiorani, F.[3]; Corigliano, M.G.[4]; Clemente, M.[4]; Moore, P.D.[3]; Bilbao, M.G.[2]; Sander, V.A.[1]

[1]Laboratorio de Biotecnología Bovina y Ovina. Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECh), CONICET/UNSAM. Chascomús, Buenos Aires, Argentina. [2]Laboratorio de Reproducción. Universidad Nacional de La Pampa. General Pico, La Pampa, Argentina. [3]Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS), INTA. Balcarce, Buenos Aires, Argentina. [4]Laboratorio de Molecular Farming y Vacunas. Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECh), CONICET/UNSAM. Chascomús, Buenos Aires, Argentina.

* lfmendozam@intech.gov.ar

La neosporosis es considerada la mayor causa infecciosa de abortos en el ganado vacuno, generando pérdidas económicas millonarias. Dado que la asociación de esta enfermedad con distintas condiciones metabólicas e inmunológicas durante la preñez es parcialmente desconocida, nos propusimos determinar su efecto en vaquillonas inmunizadas. Para ello los animales fueron inmunizados s.c. previo al servicio los días 0 y 30 post-inmunización (dpi) de acuerdo al siguiente esquema: VACUNA: 500µg de rNcSAG1 + 1500µg rAtHsp81.2 (n=6); CONTROL+:1500µg de rAtHsp81.2 (n=9) y CONTROL-: sin tratamiento (n=8). Se realizó un refuerzo el día 154 dpi (90 días de preñez) y la infección experimental con *Neospora caninum* 30 días después (CONTROL+ y VACUNA), colectándose sangre de todos los animales al día 235 dpi. Asimismo, los animales infectados fueron sacrificados ese día y se colectaron placentomas. Al momento de la eutanasia, todos los fetos eran viables, sin embargo se detectó ADNg del parásito en el 89 %(8/9) y el 67 %(4/6) de los animales CONTROL+ y VACUNA, respectivamente, sin encontrar diferencias significativas en la carga parasitaria (evaluada por qPCR). Todos los animales infectados mostraron títulos de IgG anti-*N.caninum* superiores a 1:250 y niveles de progesterona sérica significativamente menores a los del grupo CONTROL-. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos en los valores de colesterol total, GOT, GPT, UREA ni NEFA. Sin embargo, se encontraron niveles significativamente mayores de HAPTOGLOBINA en los animales VACUNADOS y niveles significativamente menores de proteínas séricas en el grupo CONTROL+. Podemos concluir que la infección con *N. caninum* no modifica parámetros bioquímicos asociados al metabolismo general, pero disminuye significativamente los niveles de progesterona sérica, lo que podría relacionase con los abortos reportados en esta patología. La vacuna empleada incrementó los valores de HAPTOGLOBINA sérica, sin reducir significativamente la transmisión transplacentaria ni la carga del parásito.

ISSN 1852-771X

Determinación de granzimas bovinas en tejido nervioso de terneros infectados con alfaherpesvirus bovino 1 y 5

Bovine granzymes determination in neuronal tissue from cattle infected with bovine alphaherpesvirus 1 and 5

Martinez Cuesta, L.[*1,2]; Romeo, F.[3]; Verna, A.[3]; Pérez, S.E.[1,2]

[1]CIVETAN, UNCPBA-CICPBA-CONICET, Tandil, Buenos Aires, Argentina. [2]Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Facultad, CISAPA, Tandil, Buenos Aires, Argentina. [3] Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Grupo de Sanidad Animal. Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible (IPADS, CONICET-INTA), Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

* lmartinez@vet.unicen.edu.ar

Las granzimas (GZM) son serin-proteasas presentes en los linfocitos T citotóxicos que tienen un rol importante en la respuesta inmune celular. Una actividad desregulada de GZM puede contribuir al daño tisular. Los alfaherpesvirus bovinos (BoHV) 1 y 5 son patógenos relacionados que difieren en su capacidad de generar encefalitis. El objetivo de este trabajo fue evaluar la expresión de ARN mensajero (ARNm) de las GZM bovinas en SNC y ganglio trigémino de bovinos experimentalmente infectados con BoHV-1 y 5. La detección del ARNm se realizó mediante qPCR y se analizó con el programa estadístico REST (se consideró un cambio significativo en la expresión cuando $p \leq 0.05$). A pesar de ser la granzima más abundante en linfocitos, el ARNm de GZM B no se detectó en ninguno de los tejidos analizados. El ARNm de GZM A se detectó en todos los estadíos de la infección por BoHV-5 y en la infección aguda por BoHV-1. Por otro lado, la GZM M se detectó en la latencia y reactivación de BoHV-5 pero no en la infección aguda. La expresión de GZM K aumentó en varios de los tejidos neuronales durante la infección aguda y latencia de BoHV-1. En cambio, disminuyó en la médula oblonga durante la infección aguda y en la corteza frontal durante la latencia de BoHV-5. Se destaca que durante la reactivación de ambos virus se produce una disminución en la expresión de GZM K en corteza olfatoria y un aumento en corteza frontal. Notablemente, el ARNm de GZM H disminuyó o no fue detectable en las distintas etapas de infección por BoHV-1, mientras que durante la latencia y reactivación de BoHV-5 aumentó en varios de los tejidos analizados. En conclusión, la expresión diferencial de granzimas podría explicar en parte las diferencias en la neuropatogenia de BoHV 1 y 5.

ISSN 1852-771X

Inducción de receptores tipo toll (TLRs) y catelicidinas en la interfase materno-fetal y fetos de vacas experimentalmente infectadas con alfaherpesvirus bovino 1

Induction of toll-like receptors (TLRs) and cathelicidins at the maternal-fetal interface and fetuses of cows experimentally infected with bovine alphaherpesvirus 1

Cheuquepán, F.*[1]; Burucúa, M.[1]; Quintana, S.[2,3]; Pérez, S.[4]; Odeón, A.[5]; Moore, D.[1]; Cantón, G.[1]; Morrel, E.[1]; Marin, M.[1]

[1]Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS) Balcarce. Provincia de Buenos Aires. Argentina. [2]Instituto de Investigaciones en Producción, Sanidad y Ambiente (- IIPROSAM (CONICET-UNMDP). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales-UNMdP Centro Científico Tecnológico Mar del Plata-CONICET Centro de Asociación Simple CIC-PBA. Provincia de Buenos Aires. Mar del Plata, Argentina. [3]Fares Taie Biotecnología. Provincia de Buenos Aires. Mar del Plata, Argentina. Mar del Plata. Provincia de Buenos Aires, Argentina. [4]Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN). Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNICEN). Tandil. Provincia de Buenos Aires, Argentina. [5]Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce. Provincia de Buenos Aires, Argentina

*cheuquepan.felipe@inta.gob.ar

La activación de los receptores tipo toll (TLRs) 3 y 7 por alfaherpesvirus bovino 1 (BoHV-1) conduce a la producción de citoquinas y péptidos de defensa, siendo la catelicidina BMAP28 fundamental en el control de la infección. Sin embargo, su implicancia en la infección congénita por BoHV-1 no ha sido estudiada. El objetivo de este trabajo fue evaluar la inducción de TLRs y catelicidinas en la interfase materno-fetal y tejidos fetales durante la infección trasplacentaria por BoHV-1. Once vacas a los 270 días de gestación fueron asignadas aleatoriamente a Grupo A (n=7), vacas desafiadas con 2 mL de la cepa Cooper de BoHV-1 ($1x10^{5.87}$ $TCID_{50}$/mL) por vía intravenosa o Grupo B (n=4), vacas control inoculadas con 2 mL de PBS estéril. Las vacas fueron eutanasiadas a los 15 días post-infección (dpi), recolectándose muestras de tejidos placentarios y fetales para evaluar la expresión génica de TLR3, TLR7 y BMAP28 mediante RT-qPCR. Para confirmar la infección, se determinaron los anticuerpos neutralizantes contra BoHV-1 por seroneutralización y la presencia de ADN viral por qPCR en tejidos. Las vacas seroconvirtieron a los 15 dpi y el ADN viral fue detectado en placenta y fetos de vacas infectadas. La infección vertical indujo la expresión de TLRs en la interfase materno-fetal y tejidos fetales. En el Grupo A, se observó un aumento significativo ($p<0,05$) en la expresión de TLR7 en cotiledón (10,5 veces), hígado (6,3 veces) y pulmón fetal (19,3 veces) y de TLR3 en placentoma (26,2 veces) y pulmón fetal (32,2 veces). La inducción de catelicidinas fue restringida al feto, con un incremento de BMAP28 (14,9 veces) en pulmón fetal. Estos resultados refuerzan la hipótesis de una activación diferencial de TLRs e inducción de péptidos antimicrobianos en diferentes tejidos fetales bovinos y placentarios, información útil para el desarrollo de nuevos sistemas de inmunoproxilaxis.

ISSN 1852-771X

Reporte preliminar: evidencia serológica del virus de la hepatitis E en cerdos asilvestrados (*Sus scrofa*) del Parque Nacional Campos del Tuyú, Bahía Samborombón, Buenos Aires, Argentina

Preliminary report: serological evidence of hepatitis E virus in feral pigs (Sus scrofa) from Parque Nacional Campos del Tuyú, Bahía Samborombón, Buenos Aires, Argentina

Condorí, W.E.[*1,2]; Tammone Santos, A.[1,2]; Schripsema, M.[3]; Navarro, M.[3]; Passano, M.[3]; Caselli, A.E.[2]; Benavides, J.A.[4]; Uhart, M.M.[5]; Gutiérrez, S.E.[1]; Estein, S.M.[1]

[1]Centro de Investigaciones Veterinarias de Tandil (CIVETAN), Buenos Aires, Argentina. [2]Programa de Conservación Comunitaria del Territorio, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Buenos Aires, Argentina. [3]Administración de Parques Nacionales, Argentina. [4]Institut de recherche pour le développement (IRD), Montpellier, Francia. [5]One Health Institute, School of Veterinary Medicine, University of California Davis, California, USA.

*walter.condori@vet.unicen.edu.ar

La infección por el virus de hepatitis E (VHE) representa un problema de salud pública de creciente preocupación dado el aumento de casos durante la última década. Las personas pueden infectarse con este virus zoonótico a través del contacto directo con animales infectados o indirectamente por consumo de carne cruda o mal cocida de animales enfermos (principalmente de suidos domésticos y silvestres) y por contacto con fomites contaminados. En Argentina se han descrito casos de VHE en humanos, presencia viral en cuerpos de agua y circulación en cerdos domésticos y jabalíes o cerdos asilvestrados (*Sus scrofa)*. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de anticuerpos contra VHE en *S. scrofa* abatidos durante las acciones de control de mamíferos exóticos invasores en el Parque Nacional Campos del Tuyú, al sudeste de la Bahía Samborombón (Buenos Aires). Se obtuvieron muestras de sangre de 26 individuos por venopunción yugular entre marzo 2021-agosto 2022. Los sueros se conservaron a -20°C hasta su procesamiento. Las muestras se analizaron con el *kit* de ELISA comercial VHE Ab Ultra (Diapro). Del total de sueros analizados, el 69,2 % (18/26) resultaron positivos para la detección de anticuerpos anti-VHE. Este es el primer reporte de seropositividad a VHE en *S. scrofa* de la Bahía Samborombón. El porcentaje de seropositivos es considerablemente superior a lo reportado en estudios similares realizados en nuestro país, 19,6 % (20/102), y Uruguay, 20,1 % (31/140). Los hallazgos sugieren que habría circulación viral en el área de estudio y que *S. scrofa* podría ser relevante para la transmisión de la enfermedad a las personas que manipulan y consumen su carne. Se proseguirán realizando estudios en la zona para aumentar el número de *S. scrofa* muestreados e incluir a otras especies simpátricas.

ISSN 1852-771X

Caracterización de la respuesta inmune durante la fasciolosis en novillos Angus infestados experimentalmente

Characterization of the immune response during fasciolosis in experimentally infested Angus steers

Costa M. *[1]; Saravia [2] A.; Ubios [3] D.; Banchero G.[3]; Freire T. [1].

[1]Laboratorio de Inmunomodulación y Vacunas, Departamento de Inmunobiología, Facultad de Medicina, Universidad de La República, Montevideo, Uruguay. [2]Plataforma de Salud Animal, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, La Estanzuela, Colonia, Uruguay. [3]Programa de Carne y Lana, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, La Estanzuela, Colonia, Uruguay

*monique.scosta14@gmail.com

Fasciola hepatica es un parásito helminto altamente prevalente en Uruguay, responsable de grandes pérdidas económicas en la producción cárnica y lechera bovina. La problemática de la fasciolosis ha aumentado ya que, además de haberse reportado resistencia a las drogas anti-helmínticas, los animales infectados presentan una fuerte inmunorregulación inducida por el parásito dificultando el desarrollo de vacunas. El objetivo de este trabajo es caracterizar el perfil inmunológico inducido por *F. hepatica* en el hospedero natural para dilucidar el impacto en la respuesta inmune adaptativa. La estrategia experimental involucró la realización de una infestación experimental con 500 metacercarias en 36 novillos de la raza Angus. Los animales fueron divididos en tres grupos de 12 animales: 1) Infectados; 2) Infectados y tratados con triclabendazole a las 12 semanas post-infección (spi); y 3) Controles. Se tomaron muestras de sangre y se recolectaron muestras de tejidos hepático y esplénico en la faena (30 spi). Los niveles de anticuerpos IgG específicos del parásito fueron titulados por ELISA, encontrando un aumento de los mismos en los días 43 y 59. El tratamiento con triclabendazole (día 115) se asoció con una disminución de estos anticuerpos. La infestación parasitaria se asoció con menores niveles de producción de IFNY, IL-4 e IL-10 al D59. Un resultado similar fue obtenido en hígado a las 30 spi, ya que los animales del grupo control expresaron más citoquinas que los novillos infectados. Nuestros resultados muestran que la respuesta inmune inducida por el parásito cambia con el tratamiento anti-fasciolosis sugiriendo que el parásito suprime la respuesta inmune adaptativa celular a través de la limitación de la producción de citoquinas.

ISSN 1852-771X

La activación del TLR 3 y TLR 7 en células neurales no tiene un efecto inhibitorio sobre la replicación de los alfaherpesvirus bovinos 1 y 5

Activation of TLR 3 and TLR 7 in neuronal cells has not an inhibitory effect on bovine alphaherpesviruses 1 and 5 replication

Rosales, J.[1,3]; Marin, M.[2]; Pérez, S.[1,3]

[1]Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Facultad Ciencias Veterinarias, Núcleo CISAPA, Tandil, Buenos Aires, Argentina. [2]Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS Balcarce), INTA-CONICET, Balcarce, Buenos Aires, Argentina. [3]CIVETAN UNCPBA-CICPBA-CONICET, Tandil, Buenos Aires, Argentina.

jrosales@vet.unicen.edu.ar

Los receptores tipo toll (TLR) 3, 7, 8 y 9 están involucrados en la inmunidad contra las infecciones virales y reconocen patrones moleculares basados en ARN o ADN. La activación de los TLR produce citoquinas pro-inflamatorias e interferón. El análisis de la expresión de los TLR en tejido nervioso de terneros infectados experimentalmente con alfaherpesvirus (BoHV)-1 y 5 demostró que los TLR3 y 7 desempeñan un rol importante en la respuesta a estas infecciones. Este estudio evaluó la cinética de replicación viral en células neurales SH-SY5Y en presencia de un agonista de TLR3 (Poli I:C, 10 µg/ml) y TLR7 (Imiquimod, 5 µg/ml). Monocapas de células SH-SY5Y se incubaron con los agonistas durante 1 hora y luego se infectaron con BoHV-1 (LA y Cooper) o 5 (97/613 y A663) a una multiplicidad de infección de 1. Se contó con controles sin infectar y sin tratar con agonistas y células infectadas en ausencia de agonistas. Los sobrenadantes se recolectaron a las 0, 1 a 4, 8 y 24 horas para titulación viral. Se demostró que el pre-tratamiento con Imiquimod favorece la replicación de BoHV-1 LA durante las primeras horas post-infección (hpi) y no tiene un efecto significativo sobre los títulos virales de BoHV-1 Cooper o las cepas de BoHV-5. Por otro lado, el pre-tratamiento con Poli I:C favorece la replicación de BoHV-1 LA y de las cepas de BoHV-5 durante las primeras hpi y no tiene ningún efecto sobre los títulos virales de BoHV-1 Cooper. Contrario a lo que se observa en algunas infecciones virales, la activación de los TLR3 y TLR7 en la infección por BoHV-1 y 5 no tiene un efecto inhibitorio sobre la replicación viral, lo cual puede relacionarse a la neuropatología observada en las infecciones del tejido nervioso por ambos virus.

ISSN 1852-771X

Expresión de interferón lambda 3 en células neuronales bajo la activación del TLR3

Expression of interferon lambda 3 in neural cells under tTLR3 activation

Rosales, J.[1,3]; Burucúa, M.[2]; Nieto, M.[1,3]; Marin, M.[2]; Pérez, S.[1,3]

[1]Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Facultad Ciencias Veterinarias, Núcleo CISAPA, Tandil, Buenos Aires, Argentina. [2]Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS Balcarce), INTA-CONICET, Balcarce, Buenos Aires, Argentina. [3]CIVETAN UNCPBA-CICPBA-CONICET, Tandil, Buenos Aires, Argentina.

jrosales@vet.unicen.edu.ar

Los interferones (IFN) son componentes del sistema inmunológico innato con un papel predominante en la respuesta a las infecciones virales. Los IFN tipo III (IFNλ), se describieron como mecanismos antivirales de la inmunidad innata. Los alfaherpesvirus bovinos (BoHV) tipo 1 y 5 son neuroinvasivos. El BoHV-5 produce meningoencefalitis en terneros, mientras que el BoHV-1 ocasionalmente causa encefalitis. Objetivo: determinar los niveles de expresión del IFNλ3 en células de neuroblastoma humano SH-SY5Y estimuladas con un agonista del TLR 3 e infectadas experimentalmente con BoHV-1 o 5. Monocapas de células se estimularon con PolyI:C e infectaron a una moi=1 con las cepas Cooper (BoHV-1) y 97/613 (BoHV-5). El ARN se extrajo con Trizol a las 6 y 24 hpi. La expresión del mRNA de IFNλ3 se cuantificó por RT-qPCR. A las 6 hpi, la expresión de IFNλ3 en la infección con la cepa Cooper fue 7,7 veces mayor ($p \leq 0,05$) con respecto al control no infectado, mientras que para 97/613 fue 11 veces mayor ($p \leq 0,05$). Sin embargo, en las células infectadas con la cepa Cooper y tratadas con PolyI:C la expresión de IFNλ3 aumentó 9,4 veces ($p \leq 0,05$) en comparación al control no infectado y para las células infectadas con 97/613 fue 4,2 veces mayor ($p \leq 0,05$) que las células no infectadas. A las 24 hpi, la expresión de IFNλ3 en la infección con ambas cepas disminuyó significativamente con respecto al horario anterior y para la cepa Cooper la expresión de IFNλ3 fue menor ($p \leq 0,05$) con respecto a las células sin infectar. Se concluye que hay una mayor expresión de IFNλ3 en células infectadas con BoHV-5 en la primeras hpi, ya que el virus replica con mayor eficacia en las primeras horas en comparación a la cepa BoHV-1 y la activación del TLR 3 aumenta la expresión de IFNλ3 en células infectadas con BoHV-1.

ISSN 1852-771X

Detección de anticuerpos anti-virus de hepatitis E en jabalí (*Sus scrofa*), ciervo axis (*Axis axis*) y en consumidores de carne de caza del Parque Nacional El Palmar, Entre Ríos, Argentina

Detection of anti-hepatitis E virus antibodies in wild boar (Sus scrofa), axis deer (Axis axis) and game meat consumers from Parque Nacional El Palmar, Entre Ríos, Argentina

Tammone Santos, A.[*1,2]; Condorí, W.E.[1,2]; Fernández, V.[2]; Sosa, C.[3]; Zermathen, J.[3]; Caselli, A.E.[2]; Uhart, M.M.[4]; Gutiérrez, S.E.[1]; Estein, S.M.[1]

[1]Centro de Investigaciones Veterinarias de Tandil (CIVETAN), Buenos Aires, Argentina. [2]Programa de Conservación Comunitaria del Territorio, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Buenos Aires, Argentina. [3]Administración de Parques Nacionales, Argentina. [4]One Health Institute, School of Veterinary Medicine, University of California Davis, California, USA.

*agostina.tammone@custodiosdelterritorio.unicen.edu.ar

El virus de la hepatitis E (VHE) es una zoonosis de relevancia para la salud pública a nivel mundial. La infección se produce por la ingestión de alimentos o fómites contaminados o por contacto directo con animales infectados, siendo la principal vía de transmisión la fecal-oral. En humanos, el curso puede ser agudo y presentar manifestaciones extrahepáticas. En animales, en cambio, es asintomático. El VHE ha sido reportado en jabalí (*Sus scrofa*) de Argentina y Uruguay, pero aún se desconoce el ciclo epidemiológico en la región. En el Parque Nacional El Palmar (PNEP) se implementa un plan de control de las poblaciones de jabalí y ciervo axis (*Axis axis*). Las personas vinculadas al plan manipulan y consumen la carne y los restos son utilizados para alimentar perros domésticos. El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de anticuerpos contra VHE en jabalí, ciervo, perros y personas del PNEP. Durante 2017-2019 se obtuvieron muestras de sangre de jabalí, ciervo, perros y personas. Los sueros se conservaron a -20°C hasta su procesamiento. Las muestras se analizaron con el kit de ELISA comercial VHE Ab Ultra (DIA.PRO). Se detectaron anticuerpos anti-VHE en 32/85 (37,65 %) jabalíes, 2/56 (3,57 %) ciervos, 1/20 (5 %) perros y 2/43 (4,65 %) personas. Este es el primer reporte de seropositividad a VHE en ciervo axis y perros de Argentina. En jabalí, el porcentaje de seropositivos fue superior al reportado previamente en nuestro país y en Uruguay (20 %). Los hallazgos de seropositividad en jabalíes, ciervos, perros y personas que comparten un contexto espacio-temporal sugieren una potencial relación epidemiológica. Esto destaca la necesidad de profundizar la investigación, aplicar medidas preventivas y que el sistema de salud considere la infección por este virus en toda hepatitis aguda o crónica en las que se haya descartado otras causas.

ISSN 1852-771X

ENSEÑANZA DE LA INMUNOLOGÍA VETERINARIA

Producción de un portafolio de trabajo como herramienta didáctica para el aprendizaje significativo de Inmunoprofilaxis en la Carrera de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario

Production of a work portfolio as a didactic tool for the significant learning of Immunoprophylaxis in the Veterinary Medicine Career of the Faculty of Veterinary Sciences, National University of Rosario

Schaer, J. M.[1]; Garré, M. A.[1]; Calle, D.S. [1]; Correa, D. A.[1]; Peralta, L. [1]

[1]Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario (FCV, UNR). Casilda, Santa Fe, Argentina.

juanschaer@fcv.unr.edu.ar

El estudio de la inmunología aplicada a la inmunoprofilaxis enfrenta dificultades dadas por la complejidad de la información que maneja y por la aplicación de metodologías pedagógicas tradicionales que poco favorecen el proceso de construcción del conocimiento. La cátedra de Sueros y Vacunas de la FCV, UNR, ante la condición sanitaria que impidió la presencialidad, planteó la necesidad de una alternativa innovadora para la resolución de estos inconvenientes. Este trabajo tuvo por objetivo la creación e implementación de una herramienta didáctica que favoreciera el aprendizaje significativo de la asignatura en ese contexto. Se diseñó e implementó la producción de un portafolio de trabajo abordando contenidos que se desarrollaban asincrónicamente, apuntando a la autogestión sobre materiales previamente aportados. Se plantearon tres pilares disciplinares escogiendo distintas actividades para su desarrollo: una producción audiovisual para abordar las generalidades de la enfermedad, una lectura crítica guiada para el estudio de biológicos disponibles y la resolución de situaciones problemáticas sobre criterios de vacunación. El curso se dividió en tres grupos de modo tal que cada uno desarrolle los tres pilares y utilice las tres herramientas pedagógicas en tres enfermedades distintas. Los estudiantes de cada grupo trabajaron en parejas y contaron con instancias de consulta e intercambio con docentes. La entrega final se realizó a través de la plataforma institucional. La propuesta de trabajo fue ampliamente aceptada por el alumnado. El grupo logró utilizar y aplicar las distintas herramientas sin mayores dificultades, solo dos parejas no alcanzaron los requisitos de aprobación y una no realizó la entrega final. Concluimos que, aun cuando en un principio fue resistida, la implementación de una estrategia de enseñanza innovadora que apunta a una participación más activa del alumnado finalmente incrementó su motivación por los temas trabajados y que el acompañamiento docente durante el proceso fue crucial para alcanzar los objetivos.

ISSN 1852-771X

Evaluación de la herramienta portafolio de trabajo en el curso Sueros y Vacunas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Rosario

Evaluation of the portfolio of work tool in the Sera and Vaccines course of the Faculty of Veterinary Sciences, National University of Rosario

Garré, M. A.[1]; Schaer, J. M.[1]; Calle, D.S. [1]; Correa, D.[1]; Peralta, L.[1]

[1] Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario (FCV UNR). Casilda, Santa Fe, Argentina.

garremelisa@fcv.unr.edu.ar

La definición de estrategias de trabajo en el aula permite intervenciones pedagógicas concretas. De este modo, se da lugar al desarrollo de espacios de trabajo en torno al conocimiento, significando la apropiación de experiencias de aprendizaje. La producción de portafolios es una poderosa herramienta que los docentes pueden sumar a su repertorio pudiendo observar como el sujeto organiza su trayectoria de reflexión frente al proceso de enseñanza-aprendizaje. La cátedra de Sueros y Vacunas de la FCV, UNR, ante la condición sanitaria que impidió la presencialidad, planteó la producción de un portafolio de trabajo como alternativa innovadora para algunos de sus contenidos. El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar en la cohorte 2021 de la asignatura, la implementación de la herramienta portafolio como una estrategia alentadora del proceso de aprendizaje, incitando a la participación activa del estudiante. Para realizar esta evaluación cada docente llevó adelante el seguimiento de varios grupos de estudiantes, realizando la tutoría correspondiente y recogiendo información inherente al desarrollo del proceso de producción de las diferentes actividades propuestas (cumplimiento y orden de entrega, número de consultas realizadas, cantidad y calidad de correcciones requeridas y aprobación o no de la tarea). Del análisis de los datos recabados surge que, a pesar de existir una resistencia inicial del alumnado, la propuesta de trabajo fue posteriormente aceptada con diferentes grados de interés según la actividad. La consigna que resultó de mayor interés fue la producción audiovisual, aunque la resolución de la situación problemática fue la más motivadora. Finalmente, la lectura crítica evidenció múltiples dificultades, demandando mayor intervención docente. Concluimos que la implementación de esta metodología conlleva a la participación activa del estudiante, aumentando el interés y la motivación, por tanto, se presenta como una herramienta útil para su aplicación sistemática en la construcción de conocimiento disciplinar.

ISSN 1852-771X

OTROS

Microscopía electrónica de transmisión en evaluación de la ultraestructura espermática y aplicación en la detección de virus en el semen felino

Transmission electron microscopy in evaluation of sperm ultrastructure and application in the detection of viruses in feline semen

Bonaura, M.C.[1,2]; Jurado, S.[1]

[1]Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. [2]Analista de Investigación y Comunicación Científica, Buenos Aires, Argentina.

Bonaura874@hotmail.com

En numerosas investigaciones sobre evaluación y conservación de semen en diferentes especies, hemos intentado incorporar diferentes y novedosas pruebas de contraste *in vitro*; orientando el esfuerzo a introducir mejoras en los protocolos de conservación con el fin de aumentar la supervivencia espermática pos conservación. La evaluación espermática mediante el uso de microscopía electrónica, permite observar anormalidades, como daños celulares. De esta manera permite estimar la eficacia o no del proceso. Permite detectar daños ultramicroscópicos imperceptibles al microscopio óptico, que podrían afectar el potencial fértil. El objetivo del trabajo fue evaluar la ultraestructura de espermatozoides frescos y criopreservados de eyaculado y epidídimo de felinos domésticos. Se utilizaron un total de 80 muestras, de gatos sanos, en edad reproductiva. Los espermatozoides frescos y criopreservados se procesaron y observaron en un microscopio electrónico de transmisión. Anormalidades como gota citoplasmática, alteraciones en el axonema fueron las morfoanomalías más frecuentes. Mientras que los daños espermáticos más habituales en los espermatozoides criopreservados incluyen hinchazón y formación de pliegues en la membrana plasmática, hinchazón de la membrana acrosomal, formación de vesículas en la membrana acrosomal externa y plasmática, alteración del contenido y la vacuolización mitocondrial. Estos resultados muestran que el proceso de criopreservación genera daños que deben tenerse en cuenta al momento de diseñar el protocolo. Esta técnica a su vez, permite observar otras células y microorganismos. En uno de los felinos pudimos observar la presencia de partículas virales y células fagocíticas mediante MET. Existen trabajos que toman al felino como modelo experimental para transpolar a la especie humana, tratando de averiguar si la congelación inactiva el virus de inmunodeficiencia felina, permitiendo la inseminación libre de contagio. Si bien en este estudio solo pudimos observar la presencia de partículas virales y células inmunitarias, creemos que investigaciones futuras aportarían datos muy valiosos en medicina veterinaria como medicina humana.

ISSN 1852-771X

Respuesta al tratamiento con dieta hipoalergénica en caninos con sospecha de alergia alimentaria

Response to treatment with hypoallergenic diet in canines with suspected food allergy

Bonaura, M.C.[1,2]

[1]Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. [2]Analista de Investigación y Comunicación Científica, Buenos Aires, Argentina.

Bonaura874@hotmail.com

La alergia alimentaria no es tan frecuente en la clínica diaria, en ocasiones las mascotas pueden presentar reacciones adversas o hipersensibilidad a componentes de la dieta de gran tamaño. En general presentan manifestaciones dermatológicas y en menor medida gastrointestinales. No existe predisposición etaria, no suele asociarse a cambios recientes, debe ingerir el ingrediente durante 2 años o más. La hipersensibilidad suele ser tipo I, con manifestación dermatológica y tipo III con mayor signología del tracto intestinal. Un alimento con proteína hidrolizada (< 12.000 Dalton) sería imperceptible para el sistema inmune y asimismo más digestible. El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta de pacientes con AA a una dieta con proteína animal hidrolizada. Para el estudio se incluyeron diez (n=10) perros mestizos y raza pura, ambos sexos, 6 meses y 10 años de edad, con historial de prurito no estacional. El diagnóstico de hipersensibilidad alimentaria se realiza en base a reseña y anamnesis, examen clínico, examen dermatológico y dermogramas, estudios complementarios, dieta de eliminación y pruebas de exposición. Los pacientes con sospecha de hipersensibilidad alimentaria, fueron tratados con la dieta hipoalergénica Vitalcan Therapy Canine Hypoallergenic Care, que posee proteína animal hidrolizada, ingredientes de alta digestibilidad y una elevada proporción de omega 3 entre otros. Los controles se realizaron a los 15, 30, 45, 60, 75 y 90 días del inicio del tratamiento. Los resultados luego de tres meses de tratamiento fueron los esperados, en promedio el prurito se redujo entre 3 y 4 puntos, evitando la aparición de lesiones primarias y secundarias. Tras el uso de Vitalcan Therapy Canine Hypoallergenic Care, se pudo observar una mejoría en los animales incluidos en el estudio que presentaban sintomatología de sensibilidad o alergia alimentaria; siendo este alimento un útil recurso médico para el tratamiento y/o como coadyuvante de las patologías anteriormente citadas.

Agradecimiento especial a la Dra. MV Sieven C. por su gran aporte a este trabajo.