



**AAIV 2018**  
**XI Jornadas y Reunión Anual**  
**de la**  
**Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria**  
**22 y 23 de noviembre de 2018**  
**Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias**  
**UCASAL, SALTA - Argentina**

**LIBRO DE RESÚMENES**

## **Jornadas Científicas Anteriores de la AAIV**

- Primeras Jornadas y Reunión Anual. 21 de noviembre de 2008, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Sede: Sociedad de Medicina Veterinaria).
- Segundas Jornadas y Reunión Anual. 10 y 11 de diciembre de 2009, Rosario - Santa Fe (Sede: Colegio de Médicos Veterinarios de la Provincia de Santa Fe, 2ª Circunscripción).
- Terceras Jornadas y Reunión Anual. 1 y 2 de noviembre de 2010, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Sede: Sociedad de Medicina Veterinaria).
- Cuartas Jornadas y Reunión Anual. 1 y 2 de diciembre de 2011, Río Cuarto - Córdoba (Sede: Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto).
- Quintas Jornadas y Reunión Anual. 18 y 19 de octubre de 2012, Esperanza - Santa Fe (Sede: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral).
- Sextas Jornadas y Reunión Anual. 28 y 29 de noviembre de 2013, Casilda - Santa Fe (Sede: Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto).
- Séptimas Jornadas y Reunión Anual. 2 y 3 de diciembre de 2014. Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Sede: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires)
- Octavas Jornadas y Reunión Anual. 2 y 3 de noviembre de 2015. Tandil- Buenos Aires (Sede: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires).
- Novenas Jornadas y Reunión Anual. 11 de noviembre de 2016, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Sede: Sociedad de Medicina Veterinaria).
- I Simposio Internacional y Décimas Jornadas y Reunión Anual. 8 al 10 de noviembre de 2017, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Sede: Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires).

## COMITÉ ORGANIZADOR

### **Presidente:**

Dra. Olga Sánchez Negrette (UCASAL)

### **Secretaria General:**

Bioq. Esp. Analía Mazzuca Pizetti (UCASAL)

### **Tesorero:**

M.V. Ricardo Sarmiento (UCASAL)

### **Secretaria Técnica:**

M.V. Esp. Gabriela Trova (UCASAL)

### **Colaboradores**

Sra. Cyntia Gauna (UCASAL)

Srta. Abigail Nolasco (UCASAL)

Srta. Cristina Rojas (UCASAL)

## COMITÉ CIENTÍFICO

Dra. Alejandra Capozzo (INTA)

Dra. Cecilia Greco (AAIV)

Dra. Ana Jar (UBA)

Dr. Eduardo Mórtola (UNLP)

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

*El Comité Organizador de las  
XI Jornadas de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria agradece la colaboración  
de los siguientes profesionales en la evaluación de los Resúmenes presentados.*

**Dra. Alejandra Capozzo, Dra. Cecilia Greco, Dra. Ana Jar, Dr. Eduardo Mórtola,  
Dra. Sandra Nuñez, Dra. Carina Porporatto, Dra. Adriana Soutullo,  
Dra. Estela Vera, y Dra. Patricia Zamorano.**

## COMISIÓN DIRECTIVA DE LA AAIV – PERÍODO 2017-2019

### **Presidente**

Ana Jar (UBA)

### **Vice-Presidente**

Eduardo Mórtola (UNLP)

### **Secretario**

Alejandra Capozzo (INTA)

### **Prosecretario**

Mónica Fernández (Böehringer Argentina)

### **Tesorero**

Adriana Soutullo (Min. Producción Santa Fe)

### **Revisor de Cuentas**

Silvia Colavecchia (UBA)

### **Secretaria de actas**

Olga Sánchez (UCASal)

### **Vocal 1º**

Lidia Gogorza (UNRN)

### **Vocal 2º**

Sandra Núñez (UNNE)

### **Vocal 3º**

Estela Vera (UNL)

### **Vocal 4º**

Carolina Vélez (UNLPam)

### **Vocal supl 1º**

Patricia Zamorano (INTA)

### **Vocal supl 2º**

Anaía Mazzuca (UCASal)

### **Vocal supl 3º**

Leticia Peralta (UNR)

### **Vocal supl 4º**

Carina Porporatto (UNVM)

*El Comité Organizador de las XI Jornadas de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria agradece a aquellas personas, instituciones y empresas que han brindado apoyo a su realización.*

## AUSPICIANTES



**Declarado de interés provincial por la Provincia de Salta, Decreto Nro.1204  
Secretaría General de la Gobernación.**

Poder Ejecutivo Provincia de Salta.

Declarado de interés por la Cámara de Diputados de la Provincia de Salta,  
Resolución Nro. 299



## PATROCINANTES



**SALTA REFRESCOS S.A.**

<b>PROGRAMA</b>
-----------------

**JUEVES 22/11****09.00 a 09.30: ACREDITACIONES****09.30 a 10.00: CEREMONIA DE APERTURA****10.00 a 11.00: CONFERENCIA INAUGURAL**

Estudios serológicos de zoonosis transmitidas por garrapatas en América del Sur. Dr. Matheus Dias Cordeiro, Universidad Federal Rural de Río de Janeiro, Brasil.

**11.00 a 11.30: COFFEE-BREAK****11.30 a 12.30: SESIÓN DE PÓSTERS 1A: RESPUESTA INMUNE A INFECCIONES****12.30 a 14.00: ALMUERZO****14.00 a 15.50: CONFERENCIA PLENARIA**

Estudio de la capacidad oxidativa de neutrófilos en los diferentes estadios de leishmania canina. Bioq. Diana Sanabria. Docente Investigador, Departamento de Inmunología. IICS. Universidad Nacional de Asunción, Paraguay

**15.00 a 16.00: ESPACIO DE EMPRESAS INNOVADORAS**

- 1- Avances y perspectivas en el desarrollo de Biológicos en Agropharma Salud Animal SA. Bioq, Claudio C. Paolazzi, MSc. Director de Planta Producción de Biológicos y Hemoderivados.
- 2- Validación de la determinación de antígenos del virus de la diarrea viral ovina en suero bovino utilizando el kit PrioCheck-BVDV Ag de ThermoFisher. Dra. Alejandra Capozzo. CONICET.

**16.00 a 17.00: SESIÓN DE PÓSTERS 2A: DIAGNÓSTICO E INMUNOLOGÍA CLÍNICA****17:30 a 18:30: ASAMBLEA GENERAL ORDINARIA AAIV****19:00: Espectáculo musical: FLAUTO E CORDA**

Nicolás Tolaba y David Gómez García.

Obra: Darío Castello (1590-1658)- Sonata Prima.

**COCKTAIL DE BIENVENIDA**

**VIERNES 22/11****08.30 a 09.00: ACREDITACIONES****9.00 a 10.00: SESIÓN DE PÓSTERS 3: INMUNOINTERVENCIÓN Y VACUNAS****10:00 a 11:00: CONFERENCIA PLENARIA**

Anticuerpos Monoclonales Recombinantes: Aplicaciones en Biofarmacia y Diagnóstico. Dr. Gustavo Helguera. Biotecnología Farmacéutica, IBYME, Buenos Aires.

**11.00 a 11.30: COFFEE-BREAK****11.30 a 12.30: SESIÓN DE PÓSTERS 2B: DIAGNÓSTICO E INMUNOLOGÍA CLÍNICA****12.30 a 14.00: ALMUERZO****14.00 a 15:00: SESIÓN DE PÓSTERS 1B: RESPUESTA INMUNE A INFECCIONES****15.00 a 16.00: CONFERENCIA PLENARIA**

La integración de las TIC en el aula: múltiples razones, algunos temores e infinitas posibilidades. Mg. Magdalena Colombo. Ministerio de Educación Ciencia y Tecnología de la Provincia de Salta-Argentina.

**16.00 a 17.00: SESIÓN DE PÓSTERS 4: ENSEÑANZA DE LA INMUNOLOGÍA VETERINARIA****17:00 a 17.30: CEREMONIA DE CIERRE**

# **CONFERENCIAS**

## **Estudios Serológicos de Zoonosis transmitidas por garrapatas en América del Sur**

Matheus Dias Cordeiro

Universidade Federal Rural de Rio de Janeiro, Brasil  
E-mail: mathcordeiro@hotmail.com

### **RESUMEN**

Las garrapatas son artrópodos que necesitan obligatoriamente sangre para su desarrollo, al menos en alguna etapa de su ciclo de vida. La permanencia por un largo período sobre su huésped, caracteriza a las garrapatas como excelentes transmisores de una gama de agentes patógenos virales, bacterianos y parasitarios. Muchos de estos patógenos infectan a los animales domésticos y al ser humano.

Entre las enfermedades transmitidas por garrapatas, las rickettsiosis son las de mayor importancia en América Latina, debido a su potencial letalidad y al número de casos registrados. De esta forma diversos estudios epidemiológicos se concentran en la búsqueda de animales serológicamente reactivos en áreas endémicas, con el fin de investigar el ciclo de transmisión en la región afectada. Así también, la búsqueda de los animales seropositivos para antígenos de diferentes especies del género *Rickettsia* ha demostrado que animales como perros, equinos y carpinchos pueden ser excelentes centinelas para la enfermedad. Además, actualmente está tomando importancia la borreliosis,

aunque el agente causante de esta enfermedad necesita ser mejor estudiado.

En América del Sur se realizaron estudios seroepidemiológicos de las borreliosis en humanos, perros, roedores, marsupiales, equinos, bovinos y bubalinos. Los resultados obtenidos presentan valores cercanos a los reportados en áreas endémicas para la borreliosis en América del Norte, donde el agente causante es la espiroqueta *Borrelia burgdorferi*. Sin embargo, existe una polémica sobre la etiología de esta enfermedad en América del Sur, ya que las espiroquetas del género *Borrelia* descritas en ese continente hasta el momento poseen una especificidad muy grande al hospedero, como *Borrelia theileri* y *Borrelia anserina*.

Después de los mosquitos, las garrapatas constituyen el segundo mayor grupo en importancia como vectores de enfermedades infecciosas, debido a que utilizan más de un hospedador y poseen una amplia distribución geográfica, con un gran potencial de riesgo para la transmisión de patógenos para seres humanos en regiones sinantrópicas que involucran, principalmente, especies de garrapatas de bajo grado de especificidad.

## Estudio de la capacidad oxidativa de neutrófilos en los diferentes estadios de leishmaniasis canina

Diana Sanabria

Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay.  
E-mail: dianasan54@hotmail.com

Alegre AR<sup>1</sup>, Uran NE<sup>1</sup>, Avalos A<sup>1</sup>, Pedrozo RH<sup>1</sup>, Carpinelli MM<sup>2</sup>, Sanabria DL<sup>2</sup>, Miret JA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Asunción; <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay.

### RESUMEN

La leishmaniasis visceral es una enfermedad sistémica y crónica que afecta tanto a humanos como a perros, siendo este último el principal reservorio urbano de *Leishmania infantum*. La función de los neutrófilos sanguíneos es muy importante durante el inicio y establecimiento de la infección. El test de reducción del nitro-azul de tetrazolio (NBT) es un método eficiente y simple para estudiar el metabolismo oxidativo de neutrófilos.

El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad oxidativa de neutrófilos en perros con diferentes estadios de leishmaniasis y compararla con la obtenida en un grupo control de perros no infectados. En este trabajo se incluyeron un total de 52 perros; se realizó a cada uno examen clínico y de laboratorio: recuento de células sanguíneas, perfiles bioquímicos y análisis de orina. Los perros fueron clasificados en 4 grupos: 13 animales sanos no infectados (grupo control), 8 perros con leishmaniasis leve (estadio 1), 19 con leishmaniasis moderada (estadio 2) y 12 con leishmaniasis severa (estadio 3), según el consenso LeishVet.

En todos los perros seropositivos se observaron parásitos por citología de ganglio y médula ósea, anticuerpos IgG anti-*Leishmania* por inmunocromatografía rK39 y títulos superiores a 1:80 por inmunofluorescencia indirecta (IFI). Los perros sanos resultaron negativos para estas pruebas. Se midió la capacidad oxidativa de los neutrófilos por una prueba de NBT directa, excluyendo los pasos de separación y lavados para minimizar el daño celular y la activación previa de estas células, potenciando su efectividad. Los resultados fueron expresados en porcentaje (%) de neutrófilos con presencia de precipitado azul en su citoplasma, evidenciados mediante microscopía óptica de extendido sanguíneo teñido con colorante Giemsa.

En los perros sanos se observó un promedio de reducción del NBT de  $93,5 \pm 3,1\%$ , así como niveles negativos de anticuerpos anti-*Leishmania*; los recuentos sanguíneos, perfiles bioquímicos y urianálisis fueron normales. En los perros con leishmaniasis leve (estadio I) se encontró una media de NBT de  $91,6 \pm 4,4\%$  y una mediana de 1:160 para los títulos de anticuerpos por IFI; los animales no presentaron signos clínicos y sus estudios de laboratorio resultaron normales. Los perros con leishmaniasis moderada (estadio II) exhibieron resultado promedio de NBT de  $85,2 \pm 14,4\%$  y una mediana de 1:640 por IFI, además de signos clínicos como hipertrofia ganglionar, dermatitis, onicogriposis, úlceras cutáneas, pérdida de peso, anemia no regenerativa, hiperglobulinemia e hipoalbuminemia, valores de creatinina en el rango de 0,6-1,3 mg/dl, urea de 14-132 mg/dl y relación proteína: creatinina urinaria (UPC) inferior a 1, sin proteinuria. Los perros de estadio III mostraron una media de reducción del NBT de  $82,2 \pm 13,8\%$  y una mediana de 1:640 por IFI, los signos clínicos citados en el estadio II más vasculitis y uveítis, valores de creatinina de 0,6-1,9 mg/dl, urea de 21-333 mg/dl, proteinuria y UPC superior a 1.

La diferencia observada en los promedios de reducción del NBT entre los grupos de perros evaluados fue estadísticamente significativa ( $p=0,03$  mediante el test de Kruskal-Wallis). En conclusión, los hallazgos de este estudio muestran que la capacidad oxidativa de neutrófilos disminuye en perros con estadios II y III de leishmaniasis, en comparación a perros sanos y con leishmaniasis leve. También se evidenció una tendencia al aumento de los niveles de anticuerpos anti-*Leishmania* dependiente de la fase de la enfermedad. La disminución de la función de neutrófilos implica un daño de la primera línea de defensa de un organismo, lo que favorece la ocurrencia de coinfecciones en los estadios tardíos de la leishmaniasis visceral canina.

**Anticuerpos monoclonales recombinantes: aplicaciones en biofarmacia y diagnóstico**

Gustavo Helguera

Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica, Instituto de Biología y Medicina Experimental, Vuelta de Obligado 2490,  
C1428ADN, Ciudad Autónoma de Buenos Aires.  
E-mail: helguera.ibyme@gmail.com

**RESUMEN**

Desde la invención de la tecnología de hibridoma en 1975 por Kohler y Milstein, estamos viviendo una serie de revoluciones en el empleo de anticuerpos monoclonales como herramientas de investigación, diagnóstico y tratamiento de enfermedades. Al presentar una secuencia idéntica, estar dirigidos contra epitopes individuales con alta especificidad y poder producirse en cantidades industriales, los anticuerpos monoclonales iniciaron una revolución en la bioquímica para el diagnóstico de enfermedades humanas y de interés veterinario. Sin embargo, esta primera generación de anticuerpos monoclonales derivados de ratón no logró ser adoptada en forma exitosa en la clínica.

En los años 80-90, avances en la ingeniería genética y la tecnología del ADN recombinante permitieron introducir secuencias humanas en los anticuerpos generados a partir de roedores, logrando que tengan actividad efectora inmune humana. Sus aplicaciones incluyen el tratamiento de una variedad de condiciones como enfermedades infecciosas,

trastornos inflamatorios y cáncer. Hoy en día los anticuerpos monoclonales son la clase de biofármacos de mayor crecimiento en la medicina humana, y recientemente han comenzado a ser empleados en la medicina veterinaria.

La introducción de nuevas modificaciones como la generación de proteínas de fusión o el desarrollo de fragmentos funcionales ha ampliado aún más el uso de anticuerpos monoclonales como agentes terapéuticos. Como ejemplos podemos nombrar los anticuerpos de fusión con agentes inmunomoduladores contra el cáncer como interleuquina-2 (IL-2), IL-12 o GM-CSF. La generación de estas proteínas de fusión tiene como propósito concentrar citoquinas inmunomoduladores en el microambiente del tumor, mejorar el efecto tumorocida del anticuerpo y/o favorecer la respuesta inmune contra el tumor.

Es de esperar que el diseño racional de la próxima generación de anticuerpos terapéuticos logre reducir los costos de producción de estos biofármacos, expandir su actividad biológica y volverlos más seguros y eficaces para su aplicación en la salud humana y veterinaria.

## La integración de las TIC en el aula: múltiples razones, algunos temores e infinitas posibilidades

Magdalena Colombo

Universidad Católica de Salta - UCASAL  
E-mail: [magdalenacolombosalta@gmail.com](mailto:magdalenacolombosalta@gmail.com)

### RESUMEN

Las Tecnologías digitales de la Información y de la Comunicación (TIC) son una seña de identidad propia de la sociedad de la información en la que estamos inmersos y, sin duda, influyen en todas las ramas del saber y del hacer. Es por eso que la educación no puede quedar al margen de esta realidad. Resulta preciso que las instituciones educativas, los equipos de gestión y, también, los profesores, asuman los nuevos desafíos que se presentan en la tarea de enseñar, y comprendan que la universidad debe formar a personas que ejercerán una profesión en una sociedad red, interconectada y digital.

De este modo, comienza a resultar necesario integrar las TIC en el aula, lo cual implica una cuidada planificación didáctica que se sustenta sobre motivos pedagógicos y no tecnológicos. Lo mismo sucede al incluir cualquier otro tipo de recurso: cada uno de ellos cuenta con ventajas y limitaciones que el docente, como un inspirado compositor, evaluará al

construir cada una de sus clases. Entre las ventajas propias de las TIC es posible mencionar la posibilidad de acceso a valiosos materiales, el trabajo con múltiples lenguajes, la comunicación permanente o la extensión del aula más allá del espacio y del tiempo de la clase presencial.

Sin embargo, se experimentan numerosos temores frente a la integración de los recursos informáticos y digitales. Algunos, son sólo mitos: la facilidad que los jóvenes tienen para su manejo y los profesores –un poco más grandes, no-, o la idea de que el docente será suplantado por las tecnologías, o que son demasiado complejas. Otros, guardan relación con el cambio que implica lo nuevo con respecto a las estrategias y recursos que se vienen utilizando desde siempre, o con el hecho de que es necesario capacitarse para sus utilidades didácticas.

Sin embargo, esos temores pueden superarse, porque las TIC ofrecen infinitas posibilidades para la enseñanza y el aprendizaje, y su utilización enriquece enormemente la tarea educativa.

# **Trabajos presentados en las XI Jornadas**

## **ÁREAS TEMÁTICAS DE PRESENTACIÓN DE POSTERS**

<b>SESIÓN 1A</b>	<b>RESPUESTA INMUNE A INFECCIONES</b>	Resúmenes N° 01 - 04
<b>SESIÓN 2A</b>	<b>DIAGNÓSTICO E INMUNOLOGÍA CLÍNICA</b>	Resúmenes N° 05 - 11
<b>SESIÓN 3</b>	<b>INMUNOINTERVENCIÓN Y VACUNAS</b>	Resúmenes N° 12 - 16
<b>SESIÓN 2B</b>	<b>DIAGNÓSTICO E INMUNOLOGÍA CLÍNICA</b>	Resúmenes N° 17- 22
<b>SESIÓN 1B</b>	<b>RESPUESTA INMUNE A INFECCIONES</b>	Resúmenes N° 23 - 27
<b>SESIÓN 4</b>	<b>ENSEÑANZA DE LA INMUNOLOGÍA VETERINARIA</b>	Resúmenes N° 28 – 32

# **PÓSTERS**

**SESIÓN 1A: RESPUESTA INMUNE A INFECCIONES**

## 1. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD BACTERICIDA Y DEL ESTALLIDO RESPIRATORIO EN MACRÓFAGOS CAPRINOS INFECTADOS CON *BRUCELLA MELITENSIS* 16M.

Maurizio E<sup>1</sup>, Rossi UA<sup>1</sup>, Trangoni MD<sup>2</sup>, Colato C<sup>3</sup>, Rossetti CA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Patobiología, CICVyA-CNIA, INTA. Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Instituto de Biotecnología, CICVyA-CNIA, INTA. Buenos Aires, Argentina, <sup>3</sup>Cabaña Nuevo Milenium, Buenos Aires, Argentina.  
maurizio.estefania@inta.gob.ar

La resistencia natural a la infección con bacterias del género *Brucella* ha sido descrita en numerosas ocasiones. De acuerdo a hallazgos previos en este campo, *Brucella* posee numerosas estrategias que le permiten evadir el sistema inmune, y sobrevivir y multiplicarse en el interior de los fagocitos mononucleares. En contrapartida, los macrófagos se valen de complejos mecanismos inmunológicos innatos para reconocer y eliminar al patógeno previo al establecimiento de su nicho. Se ha postulado a la metodología de infección *in vitro* como adecuada para predecir el resultado de una infección natural. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad fagocítica, el control de la replicación intracelular y la magnitud del estallido respiratorio en macrófagos caprinos infectados con *B. melitensis*. Se cultivaron monocitos sanguíneos obtenidos de cabrillas (<1 año) seleccionadas al azar en una población serológicamente negativa a brucelosis. Luego de 10 días de incubación, se inoculó *B. melitensis* 16M sobre las monocapas celulares (MDMs) en una proporción de 10 bacterias por macrófago (MOI 10:1). Las células infectadas se lisaron a T<sub>0</sub> y T<sub>24</sub> (24h después de la infección), y el producto se cultivó en placas de agar triptosa-soja para la cuantificación de UFC. Para evaluar la producción de intermediarios reactivos del oxígeno (IROs) y del nitrógeno (IRNs), los MDM se trataron con *B. melitensis* 16M inactivada por calor (MOI 100:1), 24 y 48h previo a las mediciones. A fin de estimar el nivel de IROs, se recurrió al diacetato de 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (DCFDA, Invitrogen) y la medición se realizó directamente de la monocapa celular. Para determinar la producción celular de nitritos, se empleó la reacción de Griess utilizando un kit comercial (Invitrogen). Los valores de fluorescencia y densidad óptica, según corresponda, fueron comparados con los niveles basales

(MDM sin tratar), y entre grupos. El análisis estadístico se realizó con las pruebas *t* de Student y ANOVA + test de Tukey, con un nivel de significación de 0,05. La mediana del crecimiento intracelular de *B. melitensis* (UFC en T<sub>24</sub>/ UFC en T<sub>0</sub>) en la población total fue de 13,77. La distribución observada nos permitió identificar dos fenotipos extremos, cuyos valores medios fueron de 4,33 y 51,10 UFC, a los que clasificamos como MDMs restrictivos ("R") y permisivos ("P") al crecimiento intracelular de *B. melitensis*, respectivamente. Las medianas para las UFC internalizadas (T<sub>0</sub>) fueron significativamente diferentes entre grupos (p=0,0173) con una incorporación mayor por parte de los MDMs "R", pero no para la supervivencia intracelular (T<sub>24</sub>) (p=0,4286 – Prueba de Wilcoxon). En conjunto, estos resultados indican que *B. melitensis* se une e internaliza mejor en MDMs con fenotipo "R" que en "P", aunque los MDMs "R" inhiben la replicación intracelular de *B. melitensis* en las primeras 24h p.i más eficientemente que las MDMs "P". La producción de IROs fue significativa a las 48h post-estímulo entre controles y tratados (p<sub>48</sub> = 0,0017, p<sub>24</sub> = 0,3833), pero no se pudo asociar a la capacidad brucelocida diferencial (p=0,1594). Similares resultados se obtuvieron respecto a la producción de IRNs, donde el tratamiento de 48h logró niveles significativos en los MDMs infectados respecto a los naive (p<sub>48</sub>=0,0002, p<sub>24</sub>= 0,8190), pero no así entre grupos tratados (p= 0,0960). En conclusión, estos resultados preliminares indican que existen diferencias dentro de la población caprina para procesar una infección con *B. melitensis*, quedando todavía por descifrar los mecanismos inductores de ese fenotipo diferencial. Estudios similares en MDMs "R" y "P" de bovinos han mostrado diferencias en la producción de IROs e IRNs, aunque con diferencias metodológicas que serán evaluadas próximamente.

**2. LA TRANSMISIÓN VERTICAL DE *NEOSPORA CANINUM* EN VACAS PREÑADAS NO ABORTANTES CON INFECCIÓN CRÓNICA SE ASOCIA A MAYORES NIVELES SÉRICOS DE IgG1 QUE IgG2 Y PRODUCCIÓN DE IFN- $\gamma$ .**

Pereyra R<sup>1</sup>, Mansilla F<sup>2</sup>, Martínez M<sup>1</sup>, Suarez Víctor<sup>1</sup>, Capozzo A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INTA, AISA IIACS con sede en EEA Salta, <sup>2</sup>Instituto de Virología INTA Castelar. Buenos Aires.  
pereyra.rodriigo@inta.gob.ar

La neosporosis bovina es una enfermedad parasitaria que produce grandes pérdidas reproductivas a nivel mundial. Puede ser transmitida de manera vertical u horizontal, dando como resultado abortos o nacimiento de terneros con infección persistente. La transmisión de tipo vertical se produce en vacas con infecciones agudas o crónicas. Si bien es conocido el rol de respuesta inmune tipo 1 contra patógenos intra-celulares, existe poca información acerca de la respuesta inmune necesaria para prevenir la transmisión vertical (transplacentaria) a sus crías en condiciones naturales, particularmente de madres infectadas crónicas. El objetivo del presente trabajo fue conocer el rol del perfil inmune en la transmisión vertical de madres seropositivas con infección crónica a *N. caninum*. Este estudio fue llevado a cabo en el valle de Lerma de la provincia de Salta, se seleccionaron de tres tambos diferentes, 75 vacas y vaquillonas preñadas raza Holstein cursando su último tercio de gestación. Los tres establecimientos presentaban una prevalencia promedio a *N. caninum* del 35%, con alto porcentaje de infecciones crónicas y con una tasa anual de abortos del 7%. Se tomaron muestras de sangre a las madres y a sus crías al nacer, previo a la ingesta de calostro para evitar la transmisión pasiva de anticuerpos.

La ausencia de ingesta de calostro fue confirmada por ausencia de  $\gamma$ -glutamyl transferasa (kit comercial) y de anticuerpos contra virus de la fiebre aftosa. Se determinaron niveles de anticuerpos totales, avidéz de dichos anticuerpos y títulos de IgG1, IgG2, e IgM por ELISA. Se determinó además producción de IFN- $\gamma$  en suero utilizando un ELISA comercial. Los bovinos seropositivos a *N. caninum* analizados presentaban infección crónica, con una alta avidéz de anticuerpos y bajos títulos de IgM. Basados en estos resultados, las madres fueron agrupadas según si hubo o no transmisión del parásito a los terneros. El análisis del perfil inmune realizado demostró que la ausencia de transmisión vertical se asociaba a la presencia de mayores títulos de IgG1 que IgG2 y elevados niveles sistémicos de IFN- $\gamma$ , mientras que las vacas que transmitieron la enfermedad mostraron un perfil opuesto. Estos resultados muestran una asociación entre el perfil de respuesta inmune y la transmisión vertical en vacas infectadas de manera crónica que no abortaron y confirma que, si bien puede no llegar a producirse un aborto, la transmisión vertical está relacionada al tipo de perfil inmune. Esta información es de utilidad para el desarrollo de vacunas eficaces.

### **3. OSTEOPONTINA E INTEGRINA $\alpha v \beta 3$ EN LA INTERFASE PLACENTARIA PORCINA.**

Vélez C<sup>1</sup>, Williamson D<sup>1</sup>, Garro A<sup>1</sup>, Lopez N<sup>1</sup>, Konkurat M<sup>1</sup>, Barbeito, CG<sup>2</sup>

<sup>1</sup>FCV- UNLPam, General Pico, La Pampa, Argentina, <sup>2</sup>FCV-UNLP, La Plata, Buenos Aires, Argentina.  
karovel@yahoo.com.ar

En mamíferos, la placenta cumple sus funciones a través de la interrelación entre las membranas fetales y el endometrio. 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 osteopontina (OPN) y su receptor, la integrina  $\alpha v \beta 3$  en placenta porcina. Se recolectó úteros de cerdas no gestantes (n=5) y placentas (n=25) de 17, 30, 60, 70 y 114 días de gestación (dg). La expresión de OPN y de  $\alpha v \beta 3$  se realizó por inmunoperoxidasa 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 OPN fue leve y la integrina estuvo ausente. A los 17 dg, la OPN se halló elevada en el trofoblasto (+++), y se expresó levemente en el epitelio luminal endometrial y glándulas (+).

La integrina  $\alpha v \beta 3$  tuvo una expresión moderada en ambos epitelios (++) y no se expresó en glándulas. A los 30 dg y 60 dg la expresión de ambas moléculas se halló elevada (+++) en los epitelios que conforman la interfase placentaria. Además la OPN se expresó fuerte en glándulas en dichos periodos (+++/++, respectivamente) y no se observó expresión de la integrina. Desde los 70 dg la inmunotinción disminuyó (+) en los epitelios, y en glándulas no se observó expresión de las moléculas analizadas. La expresión leve de las moléculas a los 17 dg en epitelio materno y glándulas endometriales, y su fuerte expresión en el epitelio de la placenta fetal, postulamos que serían sintetizadas de novo por el trofoblasto. La presencia de la OPN en la interfase feto-materna a los 30 y 60 dg, se debe a que podría ser secretada por las glándulas endometriales. En conclusión, tanto la OPN como su receptor, la integrina  $\alpha v \beta 3$ , participarían en los procesos de placentación, permitiendo la adhesión entre los epitelios placentarios materno y fetal al inicio y a la mitad de la gestación. Su disminución a los 70 dg, etapa de mayor remodelaje placentario, se debería a que ambas moléculas actuarían como supresores de la apoptosis.

#### **4. LA ACTIVACIÓN DE LOS RECEPTORES TIPO TOLL 3 Y 7 INDUCE PROTECCIÓN Y LA EXPRESIÓN DE CATELICIDINAS EN CÉLULAS DE PULMÓN FETAL BOVINO INFECTADAS CON HERPESVIRUS BOVINO TIPO 1 Y 5.**

Burucúa M<sup>1,2,3</sup>, Pérez S<sup>3,4</sup>, Pouzo L<sup>2</sup>, Pereyra S<sup>2</sup>, Leunda M<sup>2</sup>, Odeón A<sup>2</sup>, Marin M<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>FCEyN, UNMDP, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Área de Producción Animal, INTA Balcarce, Buenos Aires, Argentina, <sup>3</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Buenos Aires, Argentina, <sup>4</sup>Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN)-CONICET. FCV, UNCPBA, Tandil, Buenos Aires, Argentina. merburucua@gmail.com.

Los herpesvirus bovino tipo 1 (BoHV-1) y 5 (BoHV-5) son alfa-herpesvirus estrechamente relacionados. Si bien BoHV-1 es uno de los principales virus asociados con enfermedad respiratoria y BoHV-5 es el agente causal de meningoencefalitis necrotizante no supurativa en terneros, su asociación con los síndromes respectivos no resulta definitiva dado que pueden ser aislados de condiciones clínicas muy similares. La activación de receptores tipo toll (TLRs) estimula una respuesta antimicrobiana mediante el incremento en la expresión de péptidos de defensa como las catelicidinas, que a su vez podrían servir como ligando endógeno de los TLRs para modular su propia expresión y producción de citoquinas. Sin embargo, los mecanismos de cooperación que subyacen a ambos, TLRs y catelicidinas, induciendo defensas innatas permanecen indefinidos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la activación de los TLR3 y TLR7 sobre la replicación viral y expresión de catelicidinas en un cultivo primario de células de pulmón fetal bovino infectadas con BoHV-1 o BoHV-5. Para ello, monocapas confluentes de las células sembradas en placas de 24 pocillos fueron estimuladas con agonistas sintéticos del TLR3 (Poly (I:C), 10 µg/mL) y TLR7 (Imiquimod, 5 µg/mL). Luego de 1 h, las monocapas fueron infectadas con las cepas de referencia Cooper de BoHV-1 o N569 de BoHV-5 (MOI: 0,1). A las 6 y 24 h post-infección (hpi) se recolectaron los sobrenadantes y se determinaron los títulos virales mediante el método de Reed y Muench. Además, se extrajo el ARN total con Trizol de las células de los distintos tratamientos y se estudió la expresión génica de la catelicidina BMAP28 mediante RT-qPCR. Las diferencias estadísticas entre los títulos virales se calcularon analizando las interacciones entre virus, agonistas sintéticos y tiempo de infección. Se realizaron seis repeticiones y se compararon las medias cuadradas mínimas del logaritmo de dichos títulos con la prueba t-test (opción PDIFF) del

procedimiento MIXED de SAS, empleando un nivel de significancia de 0,05. El análisis de expresión relativa se realizó con el software REST, utilizando el gen GAPDH como control. No se observaron diferencias ( $p \geq 0,05$ ) entre los títulos virales de ambos virus en las distintas hpi. El tratamiento con ambos agonistas tuvo un efecto antiviral, observándose una disminución significativa ( $p \leq 0,05$ ) en la replicación viral en células tratadas con Poly (I:C) (102,99 TCID50/mL) con respecto al control (103,94 TCID50/mL) a las 6 hpi y en células tratadas con Poly (I:C) (105,5 TCID50/mL) e Imiquimod (105,4 TCID50/mL) con respecto a células control no tratadas (106,6 TCID50/mL) a las 24 hpi. En general, BMAP28 fue detectada en los diferentes tratamientos evaluados. Si bien la infección por BoHV-1 y BoHV-5 incrementó la expresión génica de la catelicidina 4 veces con respecto al control, no fue significativo ( $p \geq 0,05$ ). La estimulación de los cultivos con Poly (I:C) o Imiquimod indujo la expresión de BMAP28 ( $p \leq 0,05$ ) en células infectadas durante 24 h con BoHV-1 (86,9 veces) o BoHV-5 (27,3 veces), respectivamente. Concluimos que Imiquimod y Poly (I:C) inducen protección e incremento en la expresión de BMAP28 en células de pulmón fetal bovino infectadas con BoHV-1 y BoHV-5. Trabajos previos han demostrado que la estimulación con agonistas sintéticos de los TLRs inhibe la replicación herpesviral. Además, se ha observado que la expresión de catelicidinas está estrechamente regulada a través de diferentes mecanismos implicando principalmente la activación de los TLRs. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en este trabajo donde se observa que los tratamientos con Imiquimod y Poly (I:C) disminuyen significativamente la replicación viral junto con un aumento en la expresión génica de BMAP28. Por lo tanto, resultaría útil ampliar el conocimiento sobre la modulación de la respuesta inmune innata dada por TLRs, catelicidinas y sus vías de señalización en infecciones por BoHV.

**SESIÓN 2A: DIAGNÓSTICO E INMUNOLOGÍA CLÍNICA**

## 5. INMUNODETECCIÓN RÁPIDA Y DE ALTA SENSIBILIDAD DE ANEMIA INFECCIOSA EQUINA.

Abeyá MM<sup>1,2</sup>, Larsen AE<sup>1</sup>, Vazzano MJ<sup>1</sup>, Leguizamón CA<sup>1</sup>, Echeverría MG<sup>1,2</sup>, Sguazza GH<sup>1</sup>

<sup>1</sup>LAVIR – Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata – Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas – Buenos Aires, Argentina.  
mabeya@fcv.unlp.edu.ar

La Anemia Infecciosa Equina (AIE), coloquialmente denominada “fiebre de los Pantanos”, ha sido documentada en diferentes áreas geográficas en todo el mundo. Es causada por un virus perteneciente a la Familia *Retroviridae*, que puede ocasionar una infección persistente en équidos (caballos, asnos, mulas, etc.). La enfermedad está caracterizada por tres estadios definidos: agudo, crónico y asintomático de larga duración. La enfermedad aguda inicial se observa generalmente entre las 3 y 4 semanas post infección (p.i.) y está asociada con altos niveles de viremia y signos clínicos incluyendo fiebre, diarrea, letargo, edema, trombocitopenia y anemia. Mientras que algunos equinos infectados pueden experimentar solo un episodio de AIE, la mayoría de las infecciones progresan a la forma crónica, caracterizada por ciclos repetidos de enfermedad y olas de viremia asociada. Los ciclos agudos de 3 a 7 días de duración, ocurren a intervalos irregulares, separados por semanas o meses, con un promedio de seis a ocho episodios de enfermedad dentro del primer año p.i. Luego la mayoría de los equinos se tornan asintomáticos indefinidamente, presumiblemente debido al desarrollo de respuesta inmune protectora del huésped. Sin embargo, estos portadores inaparentes permanecen infectados de por vida manteniendo niveles subclínicos de replicación viral, pudiendo infectar a otros animales. Los datos de prevalencia varían según las regiones siendo más altos en las provincias del norte en donde la enfermedad es enzoótica por diversos factores como las condiciones medioambientales y climáticas, favorecida por la baja frecuencia de controles sanitarios y la no eliminación de los reactores positivos, especialmente los animales asintomáticos. En nuestro país, el Servicio de Sanidad Animal y Calidad Agroalimentaria (SENASA) solo reconoce y acepta la técnica de Inmunodifusión en Gel de Agar (IDGA) o Test de Coggins, como prueba operativa en el control sanitario de los equinos. El antígeno originalmente utilizado para el test de IDGA era preparado a partir del bazo de equinos naturalmente infectados.

Posteriormente fue preparado a partir de cultivos primarios de feto equino o células de dermis equina, infectada con el virus. Sin embargo y con el advenimiento de la biología molecular, en la actualidad, se utilizan kits de diagnóstico elaborados a partir de proteínas recombinantes. La práctica diaria, requiere un diagnóstico rápido y específico para esta enfermedad. A diferencia del test de Coggins, la técnica de Western Blot (WB) detecta bajo título de anticuerpos en un tiempo más reducido. En vista a lo anteriormente expuesto, con el objetivo de aumentar la sensibilidad diagnóstica para esta enfermedad, se desarrolló una prueba de WB utilizando como antígeno una proteína p26 recombinante obtenida en *Pichia pastoris*. Se utilizaron 10 sueros (4 positivos y 6 negativos) que se analizaron por ambas técnicas utilizando la modalidad de doble ciego. En el caso de los sueros positivos, se probaron diluciones escalonadas (1/2; 1/4; 1/6; 1/8...1/50), siendo 1/32 la última dilución correctamente leída por IDGA. Teniendo en cuenta la mayor sensibilidad del WB, se realizaron diluciones aún más altas de los mismos sueros positivos, detectándose la presencia de la banda correspondiente a la p26 hasta en una dilución 1/2000. Esto demuestra que la técnica de WB es 60 veces más sensible que IDGA (1/2000 vs. 1/32, respectivamente). En conclusión, técnicas más sensibles, como el WB expuesto en este trabajo, podrían ser una herramienta muy útil para el diagnóstico de AIE. Principalmente, porque es capaz de detectar títulos muy bajos de anticuerpos, como ocurre al inicio de la infección (ya que los anticuerpos precipitantes aparecen entre los 14 a 45 días p.i.) o en casos de animales con deficiente respuesta inmunológica, por malas condiciones físicas (desnutrición, estrés) o infecciones concomitantes inmunodominantes, en los cuales los niveles de anticuerpos aún no sean detectables por la IDGA. Si bien los resultados obtenidos son prometedores, es necesario evaluar un mayor número de muestras para validar la técnica de WB como una alternativa más rápida y sensible para el diagnóstico de AIE.

## 6. EVALUACIÓN DEL MÉTODO DE INMUNOCRITO PARA DETECTAR FALLAS EN LA TRANSFERENCIA PASIVA DE LA INMUNIDAD EN POTRILLOS.

Larsen AE<sup>1,4</sup>, Azcurra M,<sup>2</sup>; Miceli GS<sup>1,4</sup>; Barragan J<sup>3</sup>, Mortola E<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Inmunología Veterinaria Aplicada, <sup>2</sup>Cátedra de Reproducción Animal, <sup>3</sup>Cátedra de Inmunología Ila Parte, <sup>4</sup>Laboratorio de Inmunología Veterinaria, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. La Plata, Buenos Aires, Argentina. [mortola@fvcv.unlp.edu.ar](mailto:mortola@fvcv.unlp.edu.ar)

En potrillos neonatos, una concentración sérica de IgG  $\geq$  800 mg/dL es indicativa de una transferencia pasiva de inmunidad (TPI) exitosa. Los métodos de referencia cuantitativos para la medición de las concentraciones séricas de IgG son la electroforesis y la inmunodifusión radial. Sin embargo, las pruebas a campo, incluyen la refractometría, la precipitación por el sulfato de zinc y la coagulación por el glutaraldehído en el suero del neonato. Estas pruebas, son subjetivas y no son capaces de brindar un valor de corte para una TPI adecuada. El método de **inmunocrito** es un método nuevo y simple descrito para determinar la concentración de Igs en suero en lechones, mediante una solución de sulfato de amonio  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , seguido de la medición del precipitado con respecto al volumen de muestra dentro de un tubo microcapilar. A la fecha no se ha evaluado la validez de este método en potrillos, el objetivo de este estudio fue evaluar la utilidad diagnóstica del método de **inmunocrito** en equinos. La concentración de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  empleada en lechones es del 40%. Sin embargo, ante la falta de información sobre la concentración de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  para precipitar de manera efectiva las Igs en muestras de suero de potrillos, se realizó este estudio preliminar con 3 concentraciones diferentes de sal (40%, 45% y 50%). Se realizó, por triplicado, una mezcla de 100  $\mu$ l de cada una de las 36 muestras de suero y 100  $\mu$ l de cada una de las soluciones de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  y se cargaron dos tubos capilares no heparinizados de 75 mm, incluyendo control negativo con agua desionizada. Los tubos se centrifugaron a 12,700 X g durante 5 minutos en una centrífuga de microhematocrito. Los tubos capilares se retiraron de la centrífuga y los valores del **inmunocrito** se leyeron con la tarjeta lectora de microhematocritos.

La concentración sérica de Igs de todas las muestras fue determinada mediante electroforesis y densitometría (patrón de referencia). En las muestras control negativo no se detectó precipitación. El uso de la solución de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  al 40% resultó la más efectiva para la precipitación de Igs. El uso de concentraciones de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  de 45% y 55%, resultó en precipitaciones en fases, que impidieron la lectura adecuada. El coeficiente de correlación entre los valores de **inmunocrito** y la concentración de Igs en el suero determinados por electroforesis y densitometría fue de 0,92. Se determinó un punto de corte de concentración de inmunoglobulina de 9-10% para la detección de falla en la TPI, que corresponde a concentraciones de Igs  $\geq$  800 mg/dL. El método de **inmunocrito** tiene beneficios que lo convierten en una buena opción para las pruebas a campo realizadas en potrillos neonatos luego de la ingestión de calostro. Las principales ventajas de este método sobre otras pruebas, incluyen un equipo y entrenamiento mínimos, los suministros son muy económicos y fáciles de adquirir, requiere un pequeño volumen de muestra y el tiempo de respuesta/lectura es rápido (6 a 7 minutos). El alto índice de correlación con métodos más precisos y confiables permitiría la identificación con exactitud y rapidez de potrillos con fallas en la TPI y la consiguiente puesta en marcha de una intervención adecuada. Si bien resulta necesario realizar el ensayo con un mayor número de muestras, los hallazgos aquí comunicados sugirieron que el método de **inmunocrito** sería una prueba de detección adecuada para detectar fallas en la TPI, permitiendo a los médicos veterinarios evaluar sus prácticas sanitarias de manejo.

## 7. EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA ANEMIA INFECCIOSA EQUINA.

Gervé P<sup>1,2</sup>, Herzfeld J<sup>1,2</sup>, Colombero M<sup>1</sup>, Ricotti S<sup>2</sup>, Soutullo A<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Agropecuarias. Sub-Dirección de Sanidad Animal. Ministerio de la Producción. Gobierno de la Provincia de Santa Fe, Bv. Pellegrini 3100, Santa Fe (3000), Argentina, <sup>2</sup>Laboratorio de Inmunología Experimental, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral, Ciudad Universitaria, Santa Fe (3000), Argentina.  
gervepaula@gmail.com.

La Anemia Infecciosa Equina (AIE) es una enfermedad viral, infectocontagiosa, que solo afecta a la familia Equidae. Su agente etiológico pertenece a la familia Retroviridae del género *Lentivirus*, cuya envoltura viral, codificada por el gen *env*, altamente variable, está conformada por dos glicoproteínas, gp90 (superficie) y gp45 (transmembrana). En ausencia de vacunas efectivas, el control de la AIE depende de la identificación de los animales infectados para ser segregados convenientemente de la tropilla sana. Si bien el diagnóstico más frecuente (Test de Coggins) detecta anticuerpos (Acs) anti-proteína nuclear (p26), los primeros Acs que se sintetizan en tasas aún más elevadas, son los específicos de ambas glicoproteínas. Resultados previos de nuestro grupo han permitido detectar Acs capaces de reconocer cuatro secuencias conservadas, de las proteínas gp90 y gp45, mediante ELISA, empleando péptidos sintéticos como antígenos, denominados gp90-A, gp90-B, gp45-A y gp45-B. Dado el mayor carácter antigénico de las secuencias A, hemos validado un ELISA para diagnóstico, de mayor sensibilidad y especificidad que el método tradicional. Por otra parte, hemos detectado presencia viral en caballos asintomáticos sin que hubiera anticuerpos específicos hacia cualquiera de las tres proteínas virales, durante al menos dos años. De allí que es menester, para tener mayor certeza en la detección de animales portadores del virus, combinar ambas técnicas, ELISA y PCR. El objetivo de este trabajo fue evaluar la utilidad diagnóstica de la asociación de ambas técnicas, sobre todo en aquellos casos donde la serología no ha podido detectar los equinos infectados. Para ello se optimizaron los ELISA utilizando gp90/45-B y tres PCRs, una que amplifica la secuencia génica gp90-A, otra la región gp90-B, y otra que abarca las secuencias A y B de la gp45. Se estableció la línea de corte en cada ELISA gp90-B y gp45-B, empleando 12 sueros negativos y 28 positivos, por Test de Coggins y ELISA gp90/45-A. Para el diseño de

cebadores específicos en cada PCR, se recurrió a la base de datos GenBank de NCBI para obtener la secuencia del gen *env* del VAIE y luego, mediante programas "Primer3 Plus" y "Primer BLAST", se seleccionaron los pares de cebadores. Se optimizaron las condiciones y parámetros óptimos de ciclado empleando dos ADN plasmídicos recombinantes, conteniendo cada uno las dos secuencias A y B de las gp90 y gp45. Finalmente, estos ensayos fueron evaluados en simultáneo, empleando muestras de sangre extraída de 12 caballos infectados: 1 agudo, 3 de reciente evolución, 4 crónicos y 4 con serología negativa y presencia viral detectada. Los sueros se utilizaron en los ensayos ELISA, y el ADN equino, obtenido a partir de la capa antea de glóbulos blancos por la técnica de fenol-cloroformo-isoamílico, para las amplificaciones por PCRs. El caso agudo, con pico febril y trombocitopenia, fue detectado tanto por ELISA gp90-A y gp45-A, no observándose anticuerpos anti gp90-B ni gp45-B, con resultados positivos para PCR-gp90-A y PCR-gp45A/B. En los 3 animales de reciente evolución, todos generaron anticuerpos anti gp90-A, gp90-B y gp45-A y amplificaron con PCR-gp45A/B. En dos de ellos las PCR-gp90-A y gp90-B fueron positivas. Los 4 caballos crónicos evidenciaron Acs anti gp90-A y gp45-A, 3 además con amplificación de la PCR-gp45A/B, sin embargo sólo uno de ellos presentó Acs anti gp45-B. Por último, en los 4 caballos con serología silenciosa durante 2 años, 3 evidenciaron tener Acs anti gp45-B, siendo positiva la PCRgp45A/B. Esta última PCR dió los mejores resultados al detectar 11 de los 12 caballos analizados, cualquiera sea la carga viral. Esto puede asociarse a que la proteína gp45 presenta sólo un 5% de variaciones entre las diferentes cuasi especies virales, a diferencia de la gp90 que es altamente variable. Se concluye que, para detectar equinos infectados con el VAIE en cualquier estadio, es menester asociar ambas técnicas, el ELISA gp90/45-A con la PCRgp45A/B.

## 8. DETECCIÓN DE *TRYPANOSOMA VIVAX* EN TAMBOS DE LA PROVINCIA DE SANTA FE.

Gonzalez LN<sup>1</sup>, Díaz G<sup>1</sup>, Martino F<sup>3</sup>, Allassia M<sup>4</sup>, Marcipar I<sup>1,2</sup>, Bontempi I<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Santa Fe, Argentina, <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Santa Fe, Argentina, <sup>3</sup>Estudio Veterinario A.V.I.S. Suardi, Santa Fe, Argentina, <sup>4</sup>Práctica Hospitalaria de Grandes Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Santa Fe, Argentina.  
nadia.lihue@gmail.com

La tripanosomiasis africana animal es una enfermedad que afecta fuertemente al ganado. Los signos clínicos presentados son fiebre intermitente, anemia, aborto, apatía, anorexia, disminución de la producción de leche, pérdida progresiva de peso y ocasionalmente la muerte. En Argentina, la principal especie es el *Trypanosoma evansi* (*T. evansi*), que infecta principalmente al ganado equino. Si bien *Trypanosoma vivax* (*T. vivax*) es endémico de América Latina desde principio del siglo pasado, recientes estudios reportaron por primera vez la infección en el norte de Argentina, infectando tanto al ganado bovino como al ovino. La tripanosomiasis africana animal causada por *T. vivax* afecta fuertemente al ganado bovino de producción lechera debido a las condiciones de vida de dichos animales. Debido a la reciente aparición en nuestro país, el diagnóstico se realiza mediante la observación directa en microscopio a través de la técnica de Woo. Esta técnica presenta baja sensibilidad, sin la capacidad de determinar la especie de *Trypanosoma* infectante. En la provincia de Santa Fe se han detectado casos, así como también en la provincia de Formosa, Santiago del Estero, Chaco, Corrientes y Córdoba, pero se desconoce el alcance de dicha enfermedad. El siguiente proyecto tiene como objetivo el desarrollo de una técnica de diagnóstico molecular para evaluar la prevalencia de la tripanosomiasis africana animal por *T. vivax* en tambos pertenecientes al centro de la provincia de Santa Fe. Se desarrolló una técnica de PCR multiplex empleando oligonucleótidos específicos para cada protozoo y empleando las cepas de referencia Y486 y Vaimaca de *T. vivax* y *T. evansi*, respectivamente. La técnica permitió la amplificación específica de una banda de 177 pb para *T. vivax* y de 237

pb para *T. evansi*. Debido a la ausencia de diagnósticos específicos contra *T. vivax* y *T. evansi*, la técnica fue validada empleando muestras de bovinos positivos y negativos para *Trypanosoma* mediante la técnica de Woo. Además se secuenciaron las amplificaciones obtenidas, resultando en todos los casos positivos a secuencias pertenecientes a *T. vivax*. Se evaluó la prevalencia de *Trypanosomas* en 8 tambos de la provincia de Santa Fe, los cuales representan un total de 230 muestras. A las muestras se les purificó el ADN y se realizaron controles de amplificación de ADN bovino y de *Trypanosoma*. De las 230 muestras evaluadas, ninguna resultó positiva para *T. evansi*. Para *T. vivax*, de los 8 tambos evaluados se encontró la presencia de este parásito en 7 de ellos, representando un 51% de muestras positivas. Finalmente se evaluaron diluciones límites para poder realizar mezclas de muestras de un mismo tambo con la finalidad de conocer con una sola reacción la presencia o ausencia de la infección en dicho tambo. Para poder realizar una detección más económica, rápida y sencilla, actualmente se está desarrollando una técnica de ELISA, aunque esta técnica nos informa si el animal está o estuvo infectado con *T. vivax*. La tripanosomiasis africana animal avanza cada año más sobre el territorio argentino y es necesario tener disponibles diagnósticos certeros, para poder realizar un tratamiento específico y a tiempo. En el presente trabajo hemos desarrollado exitosamente una técnica que permite la detección simultánea de dos de los *Trypanosomas* pertenecientes a la tripanosomiasis africana animal que infectan en nuestro país, pudiendo detectar en un alto porcentaje infecciones causadas por *T. vivax*.

## 9. TUBERCULOSIS BOVINA, EL VALOR DE LA RESPUESTA SEROLÓGICA.

Moyano RD<sup>1</sup>, Griffa N<sup>1</sup>, Martínez Vivot M<sup>2</sup>, Fiorini G<sup>4</sup>, Alonso N<sup>1</sup>, Barandiaran S<sup>2</sup>, Canal A<sup>5</sup>, Soutullo A<sup>6</sup>, Zumárraga M<sup>1</sup>, Travería GE<sup>3</sup>, Romano MI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, INTA Castelar, <sup>2</sup>Cátedra de Enfermedades Infecciosas, FCV, UBA <sup>3</sup>CEDIVE, Centro de Diagnóstico Veterinario, FCV, UNLP, <sup>4</sup>Veterinario Privado, <sup>5</sup>Facultad de Veterinaria, UNL, <sup>6</sup>Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, UNL  
moyano.damian@inta.gob.ar

La tuberculosis bovina (TBB) es una enfermedad infecciosa crónica, zoonótica, producida por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) perteneciente al complejo *Mycobacterium tuberculosis*. El hombre se contagia mayormente a través del consumo de alimentos y leche contaminada no pasteurizada, por exposición con el material contaminado en frigoríficos o por el contacto con el ganado en pie infectado. El Plan Nacional de Control y Erradicación de la Tuberculosis Bovina en la Argentina (PNCETBB) contempla, para el diagnóstico de tuberculosis, la realización de pruebas tuberculínicas en terreno (PPDb) y la detección de lesiones compatibles con tuberculosis en faena en los frigoríficos. En los tambos y en las cabañas de carne y leche de la especie bovina esta normativa adquiere carácter obligatorio. El desarrollo de herramientas diagnósticas que identifiquen a todos los animales infectados constituye un desafío para el control de la infección. Las pruebas serológicas, como la del ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) permite identificar animales infectados, en mayor medida animales negativos a la tuberculina. El objetivo del presente trabajo es evaluar el diagnóstico serológico basado en ELISA como técnica complementaria al diagnóstico oficial para la detección de animales infectados con *M. bovis*. A mediados de 2017, se comenzaron a realizar acciones de saneamiento en un establecimiento lechero con animales raza Jersey, en el cual se realizaba la prueba tuberculínica cada 90 días (PPDb), con 679 animales, revelando una prevalencia del 6%. En paralelo, se realizó el diagnóstico serológico por ELISA mediante la extracción de suero 15

días post tuberculinización, se realizó el pegado de un extracto antigénico de AN5 en placas MaxiSorp, NUNC y se reveló con un buffer fosfato con ABTS/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, encontrando una prevalencia en base a este método del 13%. El diagnóstico de TBC fue confirmado mediante necropsia y diagnóstico bacteriológico. En base a estos resultados fue posible realizar la validación analítica del test serológico. Como resultado de aplicar prueba tuberculínica y el test de ELISA al rodeo, apartando los animales reaccionantes positivos, se logró una prevalencia en base a la tuberculina de 3% y en base a repuesta humoral de 1,33%. Del total de animales estudiados por ambas técnicas, un número de 87 animales resultaron con serología positiva y negativos a PPDb. Registrándose estos animales principalmente en un rango etario de entre 3 y 11 años, y con una producción de leche de entre 8-46 litros/día de leche. En base a estos resultados se pudo observar que los animales positivos por pruebas serológicas no presentan baja producción de leche, y en su mayoría son hembras mayores de 3 años. Como conclusión de la estrategia de diagnóstica propuesta, en la cual se aplica tuberculina y a los 15 días se extrae sangre para serología y se elimina todo animal que de positivo a cualquiera de las dos técnicas, permite disminuir la prevalencia de tuberculosis en el rodeo. La aplicación de solo la reacción de tuberculina, deja en el rodeo animales positivos, que escapan a la prueba oficial, perpetuando la enfermedad y evitando el saneamiento en el establecimiento.

## 10. DIAGNÓSTICO DE PARATUBERCULOSIS BOVINA BASADO EN POLIPROTEÍNAS RECOMBINANTES.

Moyano DR<sup>1</sup>, Alonso MN<sup>1</sup>, Colombatti MA<sup>1</sup>, Romero M<sup>2</sup>, Alvarado Pinedo F<sup>2</sup>, Traveria GE<sup>2</sup>, Romano MI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología. INTA Castelar. <sup>2</sup>CEDIVE, Centro de Diagnóstico Veterinario, FCV, UNLP.  
moyano.damian@inta.gob.ar

La paratuberculosis (PTB) es una enfermedad de los rumiantes producida por la infección con *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* (MAP). El control de esta enfermedad se basa en la detección de los animales enfermos y su eliminación del rodeo. Actualmente, dentro de los diagnósticos más utilizados se encuentra el ELISA indirecto para detectar anticuerpos, utilizando un antígeno comercial la PPA3, que son proteínas protoplasmáticas de un extracto de MAP y se considera la prueba de oro el aislamiento de MAP a partir del cultivo de materia fecal. El principal problema que dificulta el aislamiento del agente a partir de muestras de materia fecal es la contaminación de los medios de cultivo por el largo período de incubación que requiere esta bacteria. Debido a esto la prueba de ELISA constituye una forma sencilla de detectar animales infectados, pero al no utilizar antígenos específicos se detectan animales infectados con otras micobacterias, principalmente con tuberculosis bovina. Estos inconvenientes de la prueba de ELISA para detectar animales con PTB, nos llevó a realizar la identificación de proteínas antigénicas específicas

de MAP. En base a ellas se realizó el diseño de una poliproteínas recombinante que contiene fragmentos de los epitopes B, evaluados *in silico*. En este trabajo se comparó la prueba humoral utilizando como antígeno la poliproteína recombinante, con los resultados del cultivo de materia fecal y con el resultado del ELISA utilizando el antígeno comercial (PPA-3). En el presente trabajo se pudo observar que de los 94 sueros de animales positivos por cultivo, fueron positivos tanto con el ELISA utilizando como antígeno PPA-3 comercial, y con la poliproteína recombinante generada por el laboratorio. En cuanto a la especificidad 20 sueros de animales con tuberculosis no fueron detectados por el ELISA con la poliproteína recombinante al igual que los sueros negativos, en cambio los sueros de animales con tuberculosis fueron detectados con el ELISA PPA-3. En base a los resultados obtenidos podemos observar que la poliproteína recombinante generada en el laboratorio reconoce de manera efectiva los sueros de animales infectados con paratuberculosis sin dar reacción cruzada con los animales infectados con tuberculosis.

## 11. DETERMINACIÓN DE LA SEROPREVALENCIA DE TOXOPLASMOSIS EN LLAMAS (*LAMA GLAMA*) EN LA PROVINCIA DE JUJUY (ARG). RESULTADOS PRELIMINARES.

Gauna C<sup>1</sup>, Rojas C<sup>1</sup>, Nolasco A<sup>1</sup>, Acuña F<sup>2</sup>, Mazzuca, A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta, Campo Castañares (Salta-Argentina), <sup>2</sup>Estación Experimental Agropecuaria Abra Pampa, INTA (Jujuy-Argentina)  
cynthia.g.gauna@gmail.com

El *Toxoplasma gondii* es un parásito intracelular que afecta a diferentes especies animales, tales como ovinos, caprinos, equinos, porcinos, aves y al hombre. Estudios previos han demostrado que puede ocasionar problemas reproductivos en ovinos y caprinos, pero no existen estudios en camélidos sudamericanos que aporten evidencia sólida que implique a *T.gondii* como agente causal de mortalidad embrionaria, abortos o muertes perinatales. Los felinos son los hospederos definitivos del *Toxoplasma gondii* (Hutchison, 1971). Este parásito tiene un período prepatente de 3 a 24 días, acortándose en el caso que la infección ocurra con quistes tisulares y es más larga si la infección se realiza con los ooquistes. Los estudios de seroprevalencia en camélidos sudamericanos son escasos. En Puno, Perú, Leguía (1987) encontró una prevalencia de 50% en tanto que Góngora (1992) reportó un 24% en alpacas hembras y Gómez O., (2013) registró una prevalencia del 27.9% en llamas. En Jujuy se halló una prevalencia de 30% (Marín, 2009). El objetivo fue determinar la seroprevalencia de llamas con anticuerpos antitoxoplásmicos en el norte de Argentina. Se recolectó muestras de sangre de 34 llamas hembras en diciembre del 2017, para la detección de anticuerpos anti *T. gondii* en suero. Las muestras de sangre provinieron de fundos de las localidades de Abra Pampa, Cangrejillos y Cangrejos,

pertenecientes al departamento de Cochinoca, provincia de Jujuy, comprendido en la región fitogeográfica de la Puna; se encuentra a una altitud media de 3600 ms.n.m.; presenta clima continental seco y frío con una amplitud térmica de 30°C. Se recolectó sangre de la vena yugular. Los sueros se separaron por centrifugación y se conservaron a -20°C hasta su procesamiento. Los sueros fueron analizados por la prueba de hemoaglutinación indirecta (HAI). Se utilizó el kit comercial de Toxotest Wiener Laboratorios (Rosario, Argentina). Se consideró como positivo los valores HAI >1/16 (punto de corte). El 21% (7/34) de las muestras presentaron anticuerpos antitoxoplásmicos. En Cangrejos se encontró la mayor prevalencia 33% (4/12), mientras que en Abra Pampa alcanzó el 25% (3/12). Las llamas de Cangrejillos fueron negativas 0% (0/10). En este estudio, la seroprevalencia de 21% fue mayor al 13.7% (34/249) informada por Chang H. (2009), en Sierra Central del Perú, y, a su vez, menos de la mitad del 47.5 % (135/284) (Marcas C., 2004), en Puno, Perú. No existe asociación entre la prevalencia y la localidad de muestreo ( $p>0.05$ ). A la luz de los estudios realizados hasta el presente se podría concluir que la seroprevalencia hallada está vinculada con las condiciones de manejo y con factores del ambiente a que son sometidos los animales tales como condiciones climáticas, geográficas, altitud.

**SESIÓN 3: INMUNOINTERVENCIÓN Y VACUNAS**

## 12. RESPUESTA INMUNE INDUCIDA EN RATONES POR UNA ESTRATEGIA DE VACUNACIÓN “PRIME-BOOST” HETERÓLOGO CONTRA PARATUBERCULOSIS.

Colombatti Olivieri MA<sup>1</sup>, Cuerda MX<sup>1</sup>, Del Medico Zajac MP<sup>1</sup>, Calamante G<sup>1</sup>, Moyano RD<sup>1</sup>, Gravisaco MJ<sup>1</sup>, Santangelo MP<sup>1</sup>, Romano MI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biotecnología, CICVyA, INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina.  
colombatti.alejandra@inta.gov.ar

*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) es el agente causal de la paratuberculosis bovina. Los ratones BALB/c son el modelo experimental de elección para un análisis preliminar de candidatos a vacunas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta inmune inducida por la estrategia de vacunación “prime-boost” heterólogo utilizando una cepa local de Map inactivada (*prime*) y como refuerzo al virus *Modified Vaccinia Ankara* que expresa el antígeno 85A (MVA85A) de *Mycobacterium bovis* (*boost*). Se utilizaron 5 grupos de 5 ratones hembras BALB/c de 6-7 semanas de edad: A) control no vacunado (solo adyuvante), B) control adyuvante + refuerzo de MVA85A C) 2 dosis de vacuna comercial Silirum<sup>®</sup>, D) 2 dosis de cepa local 6611 inactivada, y E) 2 dosis de cepa local 6611 inactivada con un refuerzo de MVA85A. Se preparó el inóculo de la cepa local 6611 (virulenta para ratones) mediante la eliminación de aglomerados bacterianos con pasajes de aguja 25G, se inactivó por calor y se llevó a una concentración de 2,5 mg de pellet seco/ml con adyuvante Montanide ISA 206 (Seppic). El MVA85A fue amplificado en fibroblastos de embrión de pollo (FEP) de 11 días de edad. Se administraron subcutáneamente 0,2 ml de la vacuna Silirum<sup>®</sup> o de la cepa local 6611 inactivada y se administró el refuerzo de MVA85A intraperitonealmente (IP) a una concentración de  $1,2 \times 10^6$  UFP/ml. Los animales que no recibieron el MVA, fueron inoculados IP con el sobrenadante de FEP sin infectar. Las dosis se administraron con una diferencia de 17 días. Se realizó extracción de sangre a las 4 semanas post-última dosis de vacunación (spv) para medición de IgG por ELISA frente a los antígenos PPA-3, lisado de Map y Ag85A. A ese tiempo se sacrificaron los animales y se procedió a la

extracción de los esplenocitos del bazo. Se estimularon  $5 \times 10^5$  células/well, con PPD aviar, lisado de Map o Ag85A y se tomó el sobrenadante de cultivo a las 16 y 72h para la cuantificación de citoquinas por citometría de flujo (IL-2, IL-4, IL-6, IFN $\gamma$ , TNF, IL-17 e IL-10) con el kit comercial *BD™ CBA Mouse Th1/Th2/Th17*. Se observó producción significativa de IgG en los ratones vacunados con 6611 inactivada con o sin refuerzo de MVA85A para todos los diferentes antígenos utilizados (PPA-3, lisado de Map, Ag85A), siendo más significativo en el grupo con MVA85A. El grupo vacunado con Silirum tuvo producción de IgG pero la misma no fue significativa con respecto a los grupos controles. Con respecto a la producción de citoquinas se detectó producción significativa de citoquinas con respecto al grupo control en las citoquinas que se indican entre paréntesis: en el grupo vacunado con Silirum (IL-10, IL-17A, IL-6 y TNF), 6611 (IFN $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-10, IL-17A, TNF e IL-6) y 6611+MVA85A (IFN $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-10, IL-17A, TNF e IL-6). No se detectó producción significativa en el grupo control que recibió el MVA85A. El estímulo con el lisado de Map fue el que indujo una mayor producción de citoquinas. El grupo que recibió el esquema prime-boost heterólogo fue el que tuvo una mayor producción de citoquinas frente al estímulo con todos los antígenos utilizados (PPA-3, lisados de Map, Ag85A) y en ambos tiempos post-estímulo (16 y 72h). La estrategia prime-boost heterólogo logró inducir una mayor respuesta inmunológica (Th1/Th2/Th17) con respecto al uso de la vacuna inactivada sola. A su vez la vacuna con la cepa local 6611 estimula una mayor respuesta inmune que la vacuna comercial Silirum.

**13. VEDEVAX BLOCK: PERFORMANCE A CAMPO DE LA PRIMERA VACUNA A SUBUNIDAD DIRECCIONADA CONTRA EL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA.**

Rocha L<sup>1</sup>, Bellido D<sup>2</sup>, Baztarriza J<sup>2</sup>, Pécora A<sup>1,3</sup>, Pérez Aguirreburualde S<sup>3</sup>, Vena MM<sup>1</sup>, Pinto V<sup>2</sup>, Martínez Escribano JÁ<sup>4</sup>, Parreño V<sup>1,3</sup>, Wigdorovitz A<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup>INTA, Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Vetanco Buenos Aires, Argentina, <sup>3</sup>CONICET, Buenos Aires, Argentina, <sup>4</sup>Algenex, Buenos Aires, Argentina, <sup>5</sup>Bioinnovo, Buenos Aires, Argentina.  
rocha.lucia@inta.gob.ar

El virus de la diarrea bovina (VDVB) se considera una causa importante de pérdida económica en la industria ganadera, a nivel mundial. En nuestro país solo se permite el uso de vacunas inactivadas en la especie bovina. La inmunogenicidad y eficacia de estas vacunas clásicas formuladas con virus inactivado es controvertida. El método Gold estándar para evaluar la inmunogenicidad de las vacunas se basa en determinar el título de anticuerpos neutralizantes en el suero de los bovinos vacunados. Los objetivos de este trabajo son: i) presentar VEDEVAX Block, la primera vacuna direccionada contra VDVB basada en la proteína E2 de VDVB fusionada a un anticuerpo de cadena simple dirigido contra las moléculas de histocompatibilidad clase II (APCH), ii) evaluar su inmunogenicidad a campo midiendo la respuesta inmune inducida por la vacunación mediante un ELISA de competencia desarrollado en el laboratorio, que utiliza como captura un nanoanticuerpo anti E2 derivado de camélidos, la proteína E2 como antígeno y un anticuerpo detector policlonal. Los sueros bovinos se analizan en una única dilución 1/4. El título de anticuerpos se expresó como porcentaje de desplazamiento (PD%) del suero detector. Se realizó un estudio a campo en condiciones normales de crianza en un rodeo de cría de la provincia de Corrientes. Un grupo de 53 vacas fueron inmunizadas

por vía subcutánea con dos dosis de VEDEVAX BLOCK con un intervalo de 30 días, otro grupo de 54 hembras del mismo rodeo recibió una dosis de vacuna inactivada tradicional. Los animales fueron muestreados cada 30 días hasta los 120 post vacunación. Los bovinos vacunados con VEDEVAX BLOCK presentaron títulos de anticuerpos anti VDVB significativamente mayores que los bovinos control. La vacuna fue capaz de elevar el título de anticuerpos de los bovinos seropositivos bajos (T<sub>0</sub>:23%; T<sub>60</sub>:79%) y altos (T<sub>0</sub>:43%, T<sub>60</sub>:80%); y de primar a los animales seronegativos luego de la primera dosis alcanzando títulos muy elevados (T<sub>0</sub>:3%, T<sub>30</sub>:76%, T<sub>60</sub>:77). Títulos por mayores al 30% se consideran semejantes a un título por neutralización viral de 1.54 el cual se relaciona con protección. En conclusión los resultados aquí presentados demuestran que el ELISA de competencia desarrollado es una técnica valiosa y sencilla para la evaluación de anticuerpos contra VDVB y que la vacuna VEDEVAX Block resulta altamente inmunogénica al ser evaluada en bovinos de cría en condiciones de campo representando una herramienta útil para reducir las pérdidas productivas asociadas a la infección por el virus de la diarrea viral bovina.

#### 14. DESARROLLO DE UNA NANOVACUNA ORAL CONTRA *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* PARA SER APLICADA EN EL HOSPEDERO DEFINITIVO.

Benavides U<sup>1,5</sup>, Almuoazen E<sup>2</sup>, Silvarrey C<sup>3</sup>, Sandrin Bourgeois SA<sup>1</sup>; Marshall T<sup>4</sup>, Briancon S<sup>2</sup>, Esteves A<sup>3</sup>, Petavy AF<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Parasitologie et Micologie Médicale, Faculté de Pharmacie-Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, <sup>2</sup>Laboratoire d'Automatique et de Génie des Procédés CNRS 5007, Pharmaceutical Team, University Claude Bernard, Lyon France, <sup>3</sup>Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Ciencias Veterinarias, UDELAR, Montevideo-Uruguay, <sup>4</sup>Pathology Laboratory, École de Vétérinaire, Lyon, France ; 5) Área Inmunología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UDELAR, Montevideo-Uruguay.  
ubenavides@gmail.com

La Echinococcosis e Hidatidosis causada por el cestode *Echinococcus sp.*, es una de las más importantes zoonosis a nivel mundial. El control de esta parasitosis se puede realizar mediante el tratamiento de los perros infectados con Praziquantel aunque esta forma de control no ha sido eficiente. El control mediante vacunación en los hospederos intermediarios y/o en los hospederos definitivos es otra alternativa. A través de este trabajo nos propusimos desarrollar una vacuna oral para ser aplicada en el hospedero definitivo empleando nanopartículas (NPs). Los antígenos seleccionados fueron las proteínas de *Echinococcus granulosus*, tropomisina y paramiosina. Estos antígenos recombinantes se encapsularon en NPs poliméricas biodegradables, se determinó el tamaño, la carga, la forma, así como la eficiencia de encapsulación (E/E). Por otro lado, se estudió la integridad y la inmunogenicidad de los antígenos luego del proceso de formulación de las NPs. Se funcionalizaron las NPs agregándole MPLA (Monophosphoryl Lipid A) como adyuvante, y Chitosan (CS) para aumentar la adherencia de las NPs al mucus intestinal. Se sometieron las NPs a jugos gástrico e intestinal artificial para determinar el efecto de los mismos sobre las NPs y los antígenos. Se obtuvieron células dendríticas de perros a partir de monocitos sanguíneos (cMoDCs). Se determinó la capacidad de las NPs de ser internalizadas por macrófagos murinos y células dendríticas de perros. Luego se evaluó la capacidad de las NPs para activar cMoDCs. En la última etapa de este trabajo se realizaron una serie de ensayos

clínicos pilotos en perros. Se evaluó la inmunogenicidad y la eficacia de las formulaciones de NPs desarrolladas. Los resultados mostraron que se obtuvieron NPs de un tamaño <300nm, con un potencial Zeta negativo con gran uniformidad de forma y tamaño observado en la microscopía electrónica. El porcentaje de encapsulación de las proteínas paramiosina (EgA31) y tropomisina de (EgTrp) *Echinococcus granulosus* fue superior al 80% sin alteración de la integridad ni de la inmunogenicidad de las proteínas. La bifuncionalización con MPLA no alteró las características de las NPs, la E/E, ni la integridad e inmunogenicidad de los antígenos. La funcionalización de las NPs con CS le aportó la carga positiva esperada, sin producir cambios en las propiedades de las NPs y los antígenos. Los jugos gástrico e intestinal artificiales no alteraron las propiedades de las NPs ni la integridad e inmunogenicidad de los antígenos. Los experimentos de internalización demostraron que las NPs fueron internalizadas por macrófagos murinos y cMoDCs caninas. Además, las NPs activaron las cMoDCs. Un ensayo piloto con vacunación oral y desafío, mostraron una protección de un 94.5% indicando que estamos frente a un prometedor sistema usando nanopartículas para el desarrollo de una vacuna oral contra *E. granulosus*, aunque más experimentos de validación de esta vacuna son necesarios para asegurar que podría funcionar en el control de esta parasitosis.

## **15. EVALUACIÓN DE LA VÍA DE INOCULACIÓN DE UNA VACUNA GÉNICA CONTRA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA EQUINA (VAIE), EN RATONES BALB/C.**

Herzfeld JD<sup>1,2</sup>, Colombero M<sup>1</sup>, Gervé P<sup>1,2</sup>, García L<sup>3</sup>, Veaute C<sup>2</sup>, Soutullo A<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Agropecuarias. Sub-Dirección de Sanidad Animal. Ministerio de la Producción. Gobierno de la Provincia de Santa Fe, Argentina, <sup>2</sup>Laboratorio de Inmunología Experimental, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina, <sup>3</sup>Cátedra de Biología Celular. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.  
jaael.h@gmail.com

El Virus de la Anemia Infecciosa Equina (VAIE) pertenece a la familia Retroviridae, del género Lentivirus, que afecta a la familia Equidae. El genoma del virus está formado por dos copias de ARNsc donde ambas codifican, en sentido 5'-3', los genes principales, gag-env-pol. El gen env codifica una glicoproteína de superficie, gp90, y otra de transmembrana, gp45. Hasta la fecha se han explorado diferentes estrategias para el desarrollo de una vacuna contra el VAIE, tales como virus inactivado, a subunidades, entre otros. Sin embargo, no se registra una vacuna efectiva que proteja contra todas las cuasiespecies virales existentes debido al alto grado de mutabilidad del virus. Se estima que diseñar una vacuna con secuencias conservadas presentes en las glicoproteínas de membrana viral, permitiría generar una respuesta inmune capaz de proteger frente a las diferentes cepas virales circulantes. En trabajos previos, nuestro grupo de investigación definió 4 regiones constantes de las glicoproteínas virales, gp90A, gp90B, gp45A y gp45B, como candidatas a ser incluidas en una vacuna, por ser secuencias que representan tanto epitopes B como T presentes en las cepas virales salvajes estudiadas. Se diseñaron dos plásmidos, ADNp gp90AB y ADNp gp45AB, cada uno con secuencias codificantes de las moléculas candidatas, presentes en las respectivas glicoproteínas. Estos vectores optimizados, libres de genes de resistencia a antibióticos, direccionan las proteínas a proteasoma mediante fusión C-terminal a un tag desestabilizante de UbiquitinaA76 murina, para favorecer una respuesta inmune celular citotóxica. Ambos fueron sintetizados por la empresa Nature Technology Corporation (USA). Nuestra finalidad fue realizar un ensayo piloto para seleccionar la vía de inoculación en ratones BALB/c más adecuada para cada vector, según sea la tasa de anticuerpos generada.

A tal efecto se evaluaron tres vías, intradérmica "ear pinna";

subcutánea e intramuscular. Para esto, se dispusieron 18 ratones BALB/cCmedc, hembras de dos meses de edad, organizados en 6 grupos (n=3/grupo), correspondientes a los dos ADNp por 3 vías a ensayar. Se realizaron 5 inoculaciones cada 3 semanas, con dosis de 50 ug ADNp/40 ul de PBS 1x. Además, se tomaron muestras de sangre los días 0, 14, 35, 56, 77 y al momento del sacrificio, día 98. Los niveles de anticuerpos con especificidad hacia cada una de las dos moléculas fueron evaluados mediante ELISA, utilizando los respectivos péptidos sintéticos como antígenos. Los resultados fueron expresados como la diferencia de densidades ópticas entre los sueros incógnitas y los preimmune. Los datos fueron analizados utilizando las pruebas no paramétricas Kruskal-Wallis y Mann Whitney. Las diferencias entre las medias o medianas fueron consideradas significativas cuando  $p < 0,0001$ . Los resultados obtenidos nos indican que los niveles de anticuerpos anti péptidos fueron muy bajos con todas las vías ensayadas, obteniéndose los valores más altos los días 56 y 77 post-primera dosis. En ambos días el ADNp gp90-A/B generó mayor cantidad de anticuerpos que el ADNp gp45-A/B ( $p < 0,0001$ ), siendo más elevada al ser inoculado vía subcutánea, en tanto que la intramuscular fue más eficaz para el ADNp gp45-A/B. La intradérmica, "ear pinna" fue la menos eficaz, probablemente debido a la dificultad propia de la técnica. Los bajos niveles de anticuerpos observados podrían atribuirse a una baja eficiencia de transfección que resulte en una escasa cantidad de polipéptido recombinante presentado al sistema inmune. Esto nos permite concluir que si bien las vías subcutánea e intramuscular serían las más adecuadas para inocular los ADNp gp90AB y gp45AB, respectivamente, para potenciar la respuesta inmune, estos inóculos vacunales podrían asociarse a moléculas transfectantes y/o nanopartículas liposomales.

## 16. NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANO COMO ESTRATEGIA TERAPÉUTICA EFICIENTE PARA EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES INTRAMAMARIAS EN BOVINOS.

Orellano MS<sup>1,2</sup>, Bohl LP<sup>1</sup>, Breser ML<sup>1</sup>, Isaac P<sup>1</sup>, Falcone RD<sup>2</sup>, Porporatto C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CIT-VM, UNVM, Córdoba, Argentina, <sup>2</sup>UNRC, Córdoba, Argentina.  
orellano.ms@gmail.com

La mastitis bovina (MB) una inflamación de la glándula mamaria producida principalmente como respuesta al ingreso de microorganismos a través del canal del pezón y genera grandes pérdidas económicas a la actividad láctea. Actualmente, su tratamiento consiste en el uso de antibióticos. Sin embargo, estos no pueden erradicar por completo la infección debida a la resistencia y los mecanismos de supervivencia que desarrollan los patógenos, como la formación de biofilm y la capacidad de vivir intracelularmente en las células bovinas, evadiendo las terapias antibióticas y la respuesta inmune del huésped. Por lo tanto, se necesitan nuevas terapias que permitan disminuir el uso de antibióticos y superar los mecanismos de supervivencia que desarrollan los patógenos. Las nanopartículas han atraído recientemente mucha atención como agentes antimicrobianos. El quitosano (Q) es un polisacárido no tóxico, biocompatible, y con actividad antibacteriana. El objetivo de este trabajo es evaluar nanopartículas de quitosano (NPs-Q) como agente antimicrobiano e inmunoestimulante para tratamiento de la MB, en comparación con Q. Para ello se evaluó: i)- la actividad antimicrobiana de NPs-Q contra bacterias del género *Staphylococcus* aislados de casos de MB; ii)- la capacidad de NPs-Q de inhibir la formación de biofilms de dichos aislamientos; iii)-efecto del pre-tratamiento de células epiteliales de glándula mamaria bovina con NPs-Q en la internalización de *S. aureus* V329 *in vitro*; y iv)-las propiedades inmunoestimulantes de NPs-Q *in vitro*. Se estudió el efecto sobre la viabilidad de *S. aureus* V329 y *S. xylosus* 1007 mediante citometría de flujo empleando la tinción de yoduro de propidio/Syto9. El número de células vivas disminuyó de manera dosis dependiente y NPs-Q mostraron un 100% de muerte a dosis más bajas que Q.

La capacidad de inhibir la formación de biofilm se estudió mediante el ensayo de cristal violeta, XTT y microscopía confocal, lo que demostró que el rango de concentraciones de NPs-Q entre 12,5-200 µg/ml produce gran disminución de la biomasa y viabilidad de biofilm, mejorando el efecto de Q. A concentraciones mayores se obtuvo mejor efecto sin embargo Q y NPs-Q no difieren significativamente. Por otro lado, al estudiar el pre-tratamiento de células MAC-T se encontró que Q y NPs-Q disminuyen el recuento de UFC/ml de *S. aureus* V329 internalizadas, observando menor bacterias con NPs-Q: 400 µg /ml de NPs-Q produce una disminución de 2 unidades de logaritmo respecto al control sin tratar. La producción de IL-6 y IL-1β se determinó en sobrenadante de cultivo de células MAC-T pre-tratadas durante 24h por ELISA y se determinaron los niveles de expresión relativa de ARNm de estas citoquinas mediante PCR en tiempo real. Esos ensayos demostraron que NPs-Q y Q no estimulan la producción de IL-6 e IL-1β, así como tampoco se observan diferencias significativas en los niveles de expresión relativa de ARNm respecto a los controles sin tratar. En conclusión, las NPs-Q tienen efecto bactericida sobre patógenos asociados a la MB, inhiben la formación de biofilm e impiden la internalización bacteriana a las células MAC-T, evadiendo los dos mecanismos mediante los cuales se producen infecciones persistentes. Si bien no mostraron capacidad inmunoestimulante, estas pueden actuar como transportadores de un agente inmunomodulador, superando dicha falencia. En general, NPs-Q mejoran las propiedades de Q. Este nanosistema es una prometedora estrategia terapéutica y abre puertas al empleo de la nanotecnología en el tratamiento eficiente de infecciones intramamarias.

**SESIÓN 2B: DIAGNÓSTICO E INMUNOLOGÍA CLÍNICA**

## 17. DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IgG ESPECÍFICOS PARA *TOXOPLASMA GONDII* MEDIANTE LA TÉCNICA DE INMUNOFUORESCENCIA INDIRECTA.

Mazzuca A<sup>1</sup>, Sarmiento R<sup>1</sup>, Trova GB<sup>1</sup>, Ocaña JG<sup>1</sup>, Pintos LA<sup>1</sup>, Rojas C<sup>1</sup>, Gutiérrez D<sup>1</sup>, Sánchez Negrette O<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta, Salta, <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina.  
amazzuca958@gmail.com

La toxoplasmosis es una zoonosis causada por *Toxoplasma gondii*, un parásito intracelular obligado, capaz de infectar a las células de humanos, mamíferos y aves. Causa pérdidas reproductivas y económicas en el ganado. En animales con un sistema inmune débil, pueden aparecer síntomas severos como convulsiones y mala coordinación. Si se infectan durante la preñez puede provocar desde pariciones prematuras, daño ocular, problemas neurológicos y muerte fetal. En la mayoría de los casos la infección solo puede comprobarse con técnicas para la detección de anticuerpos. El objetivo del estudio fue poner a punto y aplicar la técnica de Inmunofluorescencia indirecta (IFI) para detectar anticuerpos anti *T.gondii* en cabras. Materiales y Métodos: se tomaron muestras de sangre de 40 cabras procedentes de Unidades Familiares Productoras (UFP) ubicadas en los departamentos de La Caldera, Los Andes, Cerrillos, Rosario de Lerma, La Viña y Capital de la provincia de Salta, siendo 32 hembras y 8 machos adultos. Se extrajo suero de la manera usual, se alicuotaron y se conservaron a -20°C hasta su uso. Los sueros se analizaron por IFI para anticuerpos IgG- anti-*T. gondii*, siguiendo el procedimiento de Unzaga (2014). Se utilizó como antígeno taquizoitos de la cepa RH (LAINPA-Univ. Nac. La Plata), los sueros fueron diluidos con PBS a partir de 1:25 en microplacas. Se sembró 10 ul de la dilución 1:100 de cada suero en un pocillo del portaobjeto, empleando 1 control positivo y 1 control negativo, por cada portaobjetos (controles LAINPA-Univ. Nac. La Plata); se incubó a 37°C durante 30 minutos en cámara húmeda;

se lavó 3 veces con PBS, en agitador. Se agregó 10 ul de conjugado anti IgG-caprino marcado con fluoresceína (Sigma, Aldrich), diluido en 1:100 en PBS; se incubó a 37°C por 30 minutos, en cámara húmeda, con 3 lavados posteriores con PBS, en agitador. Finalmente, se hizo el montaje de los cubreobjetos con buffer glicerinado. La lectura se realizó en el microscopio de IF Zeiss. La presencia de fluorescencia completa periférica de los taquizoitos se consideró como una reacción positiva (Paré, 1995 y Romero, 1995). Análisis de los datos: Se utilizaron RStudio e Infostat. La presencia de anticuerpos anti *T.gondii* y su asociación con el sexo y el lugar de procedencia de las cabras fueron analizadas por Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ). Resultados y discusión: El 32,5% (13/40) de las muestras de cabras presentó anticuerpos anti *T. gondii*, siendo menor en hembras (31,2%) que en machos (37,5%), aunque esta diferencia de sexo no fue significativa. ( $p>0,05$ ). Sin embargo, el clima y manejo de los animales demostraron tener influencia en la infección por *T. gondii*. Al considerar solamente las cabras seropositivas, la mayor proporción con un 38,5% (5/13) están en La Caldera, le sigue Cerrillos con el 15,4% (2/13). Todas las cabras de Los Andes fueron negativas a *T.gondii* (0/13). Los rodeos de La Caldera y Cerrillos tienen condiciones de manejo intensivo, los animales están confinados en corrales que mantienen una situación propicia para la supervivencia de los ooquistes, mientras que las cabras de Los Andes viven bajo condiciones de manejo extensivo y en un clima árido, seco y frío.

**18. PRESENCIA DE ANTICUERPOS IgG ASIMÉTRICOS E IL-15 DURANTE LA GESTACIÓN PORCINA.**

Garro A<sup>1</sup>, Velez C<sup>1</sup>, Williamson D<sup>1</sup>, Barbeito C<sup>2</sup>, Konkurat M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>FCV- UNLPam, General Pico, La Pampa, Argentina, <sup>2</sup>FCV-UNLP, La Plata, Buenos Aires, Argentina.  
adgarro@vet.unlpam.edu.ar

El sistema inmunológico está involucrado en el establecimiento de un diálogo entre el *conceptus* y el endometrio, minimiza las posibilidades de rechazo del embrión y permite el éxito de la gestación. Los anticuerpos (Ac) IgG asimétricos se encuentran elevados durante la gestación en humanos, murinos y porcinos colaborando en la creación de un ambiente inmunoprivilegiado que protege al embrión del sistema inmune materno. La IL-15 participa del desarrollo y mantenimiento de células efectoras del sistema inmunitario, tanto innato como adquirido, que median los mecanismos de defensa del huésped, y además, inhibe la apoptosis. El objetivo del presente trabajo fue relacionar la concentración de Ac IgG asimétricos e IL-15 en muestras de suero y extractos uterinos y placentarios de cerdas gestantes y no gestantes. Se utilizaron muestras séricas y de placenta materna y fetal provenientes de cerdas de  $\pm 30$ ,  $\pm 70$ , 95-114 días de gestación y cerdas no gestantes. Se determinó la presencia de IgG asimétricas e IL-15 mediante la técnica de ELISA. Los datos fueron analizados mediante ANOVA y test de Tukey. En suero no se hallaron diferencias significativas entre la concentración de Ac IgG asimétricos de cerdas no gestantes y gestantes. En placenta materna se observó un pico en el porcentaje de Ac IgG asimétricos a los  $\pm 70$  días de gestación ( $45 \pm 2$ ). La concentración de IgG en placenta fetal fue elevada y no se observó diferencias

significativas entre los periodos de gestación estudiados,  $\pm 30$  ( $52 \pm 5$ ),  $\pm 70$  ( $44 \pm 3$ ) y 95-114 días ( $47 \pm 4$ ) ( $p: 0,4153$ ). La concentración sérica de IL-15 fue alta durante la preñez, disminuyendo significativamente en el último tercio de la gestación ( $p < 0,01$ ). A nivel tisular, sólo en el periodo de  $\pm 70$  días de gestación se registró un aumento significativo de IL-15 en extractos de placenta materna ( $548,52$  pg/ml) y fetal ( $911,15$  pg/ml). La presencia de una concentración elevada de IgG asimétricas en la interfase placentaria porcina durante la gestación, especialmente en placenta fetal, permite postular su rol en la protección del aloinjerto fetal. La IL-15 se mantiene elevada durante la gestación en suero, disminuyendo a partir de los 70 días de gestación. La expresión de IL-15 durante la gestación sería necesaria para estimular la síntesis de IgG e inducir la glicosilación asimétrica de las IgG halladas en placenta. A nivel tisular, esta citoquina se elevó significativamente tanto en placenta materna como en placenta fetal a los 70 días de gestación. En esta etapa se producen profundos cambios estructurales placentarios por apoptosis que acompañan el crecimiento exponencial fetal, por lo que la IL-15 sería necesaria en la interfase feto-materna en este período no sólo para estimular la síntesis de IgG a fin de proteger la gestación porcina sino para regular la remodelación placentaria en esta especie.

**19. DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR *TRYPANOSOMA CRUZI* EN CANINOS DE LA LOCALIDAD DE ACAMBUCO, SALTA, ARGENTINA.**

Simón ML<sup>1</sup>, Guzmán A<sup>2</sup>, González Prieto G<sup>3</sup>, Mora MC<sup>4</sup>, Ocaña G<sup>5</sup>, Barrio A<sup>3</sup>, Sánchez Negrette O<sup>6,7</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones, Misiones, Argentina, <sup>2</sup>Médico Veterinario, Agüaray, Salta, Argentina, <sup>3</sup>Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina,

<sup>4</sup>Instituto Patología Experimental, CONICET, Salta, Argentina, <sup>5</sup>Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina, <sup>6</sup>Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina, <sup>7</sup>Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta, Salta, Argentina.

simonluz@outlook.com.ar

La enfermedad de Chagas se produce por la infección con el parásito *Trypanosoma cruzi*. Los caninos son reservorios de la enfermedad. Está demostrado que cuando los caninos infectados permanecen en áreas donde duermen sus dueños, la tasa de infección en insectos es significativamente mayor que cuando no lo hacen. De esta manera, si evaluamos la presencia de esta zoonosis en los perros podríamos inferir que ocurre en el ambiente, lo que a su vez se podría reflejar en la población humana. Objetivo: Diagnosticar la infección por *Trypanosoma cruzi* en caninos por métodos serológicos y moleculares. Diseño: estudio descriptivo, transversal, cuasi-experimental. Metodología: Se obtuvieron muestras de sangre por punción venosa de caninos residentes en la localidad de Acambuco, Salta, Argentina. Se realizaron las pruebas serológicas de Hemaglutinación Indirecta (HAI-

Chagatest Wiener-lab) y ELISA adaptada para la detección de anticuerpos en perros. Se realizó Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), a partir de ADN extraído de sangre entera y de ADN extraído del buffy coat (BC). Resultados: Tres muestras de las 24 obtenidas fueron positivas por ambas pruebas serológicas y negativas por PCR a partir del ADN extraído de sangre entera. Una de ellas fue positiva por PCR en la muestra de ADN obtenida a partir del BC. Conclusiones: Estimamos que dos de los perros, de cuatro y siete años de edad, están cursando la fase crónica de la enfermedad, considerando que se obtuvo serología positiva y PCR convencional negativa. El tercer perro *Trypanosoma cruzi* positivo, de tres años de edad, presenta parasitemia detectable. Podría mejorarse la sensibilidad de la PCR obteniendo ADN del BC.

**20. DISTEMPER CANINO: PREVALENCIA DE LA ENFERMEDAD EN CASOS CLÍNICOS ATENDIDOS EN EL HOSPITAL ESCUELA DE PEQUEÑOS ANIMALES DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SALTA ENTRE LOS AÑOS 2015 Y 2018.**

Fernández D<sup>1</sup>, Gutiérrez Da<sup>2</sup>, Cruz R<sup>2</sup>, Urbano C<sup>2</sup>, Sarmiento R<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ayudante Técnico del Hospital Escuela, <sup>2</sup>Estudiantes, cuarto año, <sup>3</sup>Cátedra Inmunología Veterinaria. Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta.  
fernandezdanielclaribel@gmail.com

La enfermedad de Distemper, es una enfermedad infecciosa de origen viral, altamente contagiosa que en caninos inmunosuprimidos produce alta mortalidad. El agente causal pertenece a la familia Morbilivirus. Se trata de un virus ARN envuelto aislado por primera vez por Carré en 1905. Su poder patógeno radica en dos proteínas de envoltura (hemaglutinina-neuraminidasa y proteína de fusión), que interactúan con el sistema inmune del animal produciendo una marcada inmunosupresión y síntomas como: hipertermia (39,5°C o más), secreción óculo-nasal, disnea, diarrea, vómitos; lesiones cutáneas, hiperqueratosis de las almohadillas plantares y hocico, signología nerviosa; caracterizando a la enfermedad como multisistémica. El presente trabajo se realiza con el objetivo de establecer la prevalencia en los casos clínicos que llegaron a consulta al Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidad Católica de Salta entre los años 2015 y 2018 inclusive, en base a los diagnósticos presuntivos por sintomatología y los diagnósticos confirmados a partir de la implementación de la técnica inmunocromatográfica (Speed Distemper) en el año 2018. Se trabajó sobre una muestra de 672 caninos en total, evaluando casos clínicos desde el año 2015 hasta la primera quincena de octubre de 2018. Para lo cual se procedió a la observación de datos registrados en los archivos del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias de la Universidad Católica de Salta, evaluando en ellos la sintomatología de los casos y los diagnósticos presuntivos descriptos y casos confirmados positivos, para posteriormente realizar un análisis estadístico de los mismos y así establecer la prevalencia de la enfermedad. Se aclara que los animales que se evaluaron durante el trabajo, no

fueron vacunados y/o se desconoce la inmunización de los mismos, al tratarse de animales "callejeros", rescatados por la dirección de zoonosis de la provincia de Salta. Como así también es importante destacar que recién a partir del año 2018, en el Hospital Escuela, se comenzó a utilizar la prueba de inmunoensayo cromatográfica para la detección cualitativa del antígeno viral de Distemper canino. Los signos que más se manifestaron en los casos observados fueron: decaimiento, deshidratación, anorexia, secreciones óculo-nasales, fiebre, convulsiones, mioclonos, hiperqueratosis, ataxia, entre otros (principalmente en animales menores de un año, seguido por animales jóvenes de dos y tres años, y mayores de cinco años en menor incidencia). De la muestra total (672 casos clínicos) un 2,52% fueron diagnosticados presuntivos a Distemper canino en base a la sintomatología clínica, de los cuales el 58,8% murieron y el 17,6% fueron eutanasiados. Solo el 0,29% de la muestra, fueron confirmados positivos mediante la prueba rápida (Speed Distemper). Se pudo observar que mediante la prueba inmunocromatográfica que se comenzó a utilizar a partir del año 2018 se logró confirmar positivo a Distemper canino, el 50% de los casos presuntivos en dicho año. Concluimos que la prevalencia de la enfermedad de Distemper canino en casos clínicos atendidos en el Hospital Escuela de Pequeños animales de la Universidad Católica de Salta entre los años 2015 y 2018 es de 2,52% en base a la sintomatología clínica y que a partir de la utilización del test rápido de Distemper canino se lograron confirmar 0,29% de los casos totales, lo que corresponde en el año 2018 a un 50% de casos positivos, siendo de gran valor la utilización de esta técnica inmunológica, para establecer la prevalencia de la enfermedad en un futuro.

## **21. SEPARACIÓN INMUNOMAGNÉTICA PARA LA MEJORA DEL DIAGNÓSTICO DE PARATUBERCULOSIS POR TÉCNICAS MOLECULARES EN MATERIA FECAL.**

Hermida, HS; Colavecchia, S; Mundo, S.

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Inmunología, Buenos Aires, Argentina.  
hernan.s.hermida@gmail.com

La paratuberculosis o enfermedad de Johne es una infección crónica producida por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) en los rumiantes. Su importancia radica en las pérdidas económicas que ocasiona en la producción de ganado bovino. Los terneros se infectan a través de la leche o por alimentarse en campos contaminados con materia fecal. Nuestro desafío es la identificación de animales en estado subclínico debido a que excretan MAP intermitentemente en el ambiente. La identificación de la bacteria por cultivo de materia fecal requiere 4-6 meses. Junto con la confirmación por reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) de las colonias, es considerado por la OIE como gold standard. La PCR directa de materia fecal es compleja debido a la presencia de inhibidores de la reacción enzimática. Para superar este obstáculo, es posible utilizar partículas magnéticas conjugadas a ligandos específicos (anticuerpos o péptidos) para realizar la captura de MAP desde muestras biológicas. El objetivo de este trabajo fue mejorar la identificación de MAP en materia fecal por PCR mediante la técnica de separación inmunomagnética (IMS) para evitar los inhibidores de la reacción. Se utilizó un anticuerpo policlonal específico a la cepa ATCC 19698 de MAP producido en ratón. Se precipitó el suero con sulfato de amonio y se caracterizó mediante electroforesis y se realizó la titulación por ELISA frente a MAP ( $DO_{600nm}=0,4$ ). Luego se realizó la conjugación del anticuerpo a las partículas magnéticas (IMB anti-MAP) según las indicaciones del fabricante y se calculó su eficiencia mediante la cuantificación de proteínas del sobrenadante por Bradford. Además, se evaluó su capacidad de captura de MAP por el análisis de las variables tamaño celular (FSC) y complejidad interna (SSC) utilizando la técnica de citometría de flujo. Para ello, se

evaluaron 5000 eventos luego de la incubación y separación de las IMB anti-MAP en una muestra de  $10^6$  bacterias/mL, utilizando MAP y partículas magnéticas como controles. Se analizaron los porcentajes de eventos obtenidos en base a un gráfico de histograma (FSC). En paralelo se realizó la optimización de la PCR para la secuencia específica IS900. A fin de aumentar el límite de detección, se ajustaron las condiciones de la reacción mediante titulación de ADN de MAP. Finalmente se evaluó el sistema IMS-PCR mediante la contaminación artificial de materia fecal (negativa a cultivo) con diluciones desde  $10^6$  hasta 10 bacterias/mL. Sobre estas muestras se realizó la IMS y la extracción de ADN a  $100^\circ\text{C}$  durante 15 minutos. Con el material obtenido se realizó la PCR-IS900. El anticuerpo policlonal arrojó un título por ELISA de 6400. La eficiencia de conjugación calculada por Bradford fue de 52,28%. Luego de realizada la IMS, en los datos obtenidos por citometría se observó un 10,88% de eventos que representan al complejo entre IMB anti-MAP y la bacteria, 46,32% en la región que representa a la bacteria y un 41,82% correspondiente a las IMB anti-MAP. Por otro lado, en la optimización de la PCR-IS900, se logró obtener un límite de detección de 125 pg de ADN. Finalmente, en la aplicación de IMS-PCR se observó el amplicón de 167 pb hasta la concentración de  $10^4$  bacterias/mL de muestras de materia fecal contaminadas con MAP. La técnica de IMS fue capaz de capturar MAP específicamente en muestras de materia fecal y superar la presencia de los inhibidores, sin embargo la eficiencia en la detección por PCR es baja. Debemos continuar en la búsqueda de mejorar el sistema para la detección de animales en estado subclínico, ya que estos niveles de excreción detectados son característicos del estado clínico de la infección.

## 22. PROFILAXIS Y TERAPIA ANTIVIRAL BASADA EN INTERFERONES DE TIPO I Y III PARA EL CONTROL DE LA INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA EN UN MODELO MURINO.

Barone LJ<sup>1</sup>, Quintana ME<sup>2</sup>, Trotta MV<sup>3,4</sup>, Cardoso NP<sup>2</sup>, Capozzo AV<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT), <sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), <sup>3</sup>Instituto de Virología-INTA Castelar, <sup>4</sup>Universidad de Morón.  
barone.lucas@inta.gob.ar

Los interferones (IFN) tipo I y tipo III son citoquinas inducidas por las infecciones virales que restringen potentemente la replicación viral durante los primeros días de la infección antes de que se produzca la activación del sistema inmunitario adaptativo. La familia de IFN de tipo I se unen y actúan a través del complejo del receptor de IFN- $\alpha$  /  $\beta$  (IFNAR), que se expresa en la mayoría de las células nucleadas, mientras que los miembros de la familia de IFN de tipo III (IFN- $\lambda$ ) se unen a un complejo receptor diferente que se expresa principalmente en células epiteliales de las mucosas, característica que los hace atractivos para su uso en inmunoterapia debido a que no producen los efectos adversos de los IFN-I. El IFN- $\lambda$  se utiliza actualmente para el tratamiento de pacientes crónicos infectados con el virus de la hepatitis C. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de los IFN de tipo I (IFN- $\alpha$ ) y de tipo III (IFN- $\lambda$ ) de prevenir y/o tratar la infección por el virus de la diarrea viral bovina ("VDVB"; familia *Flaviviridae*, género *pestivirus*) utilizando un modelo murino de viremia. El modelo fue desarrollado en nuestro laboratorio utilizando un aislado local del VDVB de genotipo 2 (98-124) de baja virulencia. La infección experimental se realiza inoculando  $5 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub> en 0.4 ml por vía intra-peritoneal, e induce un pico de viremia a los 7 días posteriores a la infección (dpi) con niveles elevados de TNF- $\alpha$  medidos a los 2 dpi. Utilizando este modelo evaluamos, en un primer experimento, la aplicación de una dosis pre (-1 dpi) o post-infección (+1 dpi) de IFN- $\alpha$  (2ug) o IFN- $\lambda$  (2ug) que fueron suministradas en un volumen de 100ul por vía subcutánea (SC) en grupos de 5 animales, dejando un grupo que fue infectado sin tratamiento. Estos resultados mostraron que el IFN- $\lambda$  sería más eficiente en prevenir la infección mientras que el IFN- $\alpha$  sería eficaz para evitar la diseminación del virus. Para evaluar esta opción diseñamos un segundo experimento en

el que suministramos dos dosis pre (-2, -1 dpi) y/o post-infección (+1, +2 dpi) de IFN- $\alpha$  (2ug) y/o IFN- $\lambda$  (2ug) en un volumen de 100ul por vía SC. Los grupos (n=5 cada uno) fueron los siguientes: (1) IFN- $\alpha$  pre y post-infección, (2) IFN- $\lambda$  pre y post infección, (3) IFN- $\alpha$  post-infección, (4) IFN- $\alpha$  pre-infección, (5) profilaxis con IFN- $\lambda$  y tratamiento con IFN- $\alpha$ , (6) solo profilaxis con IFN- $\lambda$  y (7) animales infectados que solamente reciben vehículo de dilución. Todos los animales tratados logran reducir la viremia hasta los 7 dpi, sin embargo solamente los animales que recibieron profilaxis con IFN- $\lambda$  y tratamiento posterior con IFN- $\alpha$  logran suprimir la viremia a los 10 dpi. Resultados similares se obtuvieron en los grupos 1 y 2, que fueron pre-y post tratados con IFN- $\alpha$  ó IFN- $\lambda$  respectivamente. Si bien no se encontraron diferencias significativas, los animales del grupo 5 y 2 fueron los únicos que presentaron niveles inferiores de TNF- $\alpha$  respecto de los ratones no tratados. El TNF- $\alpha$  es un mediador de la inflamación sistémica implicado en la reacción de fase aguda, la disminución en los niveles sistémicos de esta citoquina indicaría que la infección fue controlada en estos animales. No se encontraron diferencias entre los grupos respecto a la producción de IL-10 a nivel sistémico, aunque la tendencia fue que los niveles más altos de esta citoquina se relacionan con mayor viremia. Hemos demostrado la factibilidad de la utilización de IFN- $\lambda$  para la prevención y el tratamiento de la infección por el VDVB en un modelo murino utilizando una cepa de campo. El tratamiento de los ratones con ambos IFN mostró que el IFN- $\lambda$  es más eficiente en prevenir la infección mientras que el IFN- $\alpha$  sería eficaz para evitar la diseminación del virus, sin embargo, tanto la aplicación combinada de ambos IFN como la profilaxis y tratamiento con uno u otro IFN daría resultados similares, impidiendo la viremia lo que podría redundar en una menor diseminación del virus.

**SESIÓN 1B: RESPUESTA INMUNE A INFECCIONES**

### 23. ESTRATEGIAS DE INMUNIZACIÓN DE CONEJOS PARA LA OBTENCIÓN DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS FRENTE A ANTÍGENOS DE SECRECIÓN DE *M. AVIUM* SUBSP. *PARATUBERCULOSIS*.

Barnech ML<sup>1,2</sup>, Jolly A<sup>2</sup>, Colavecchia S<sup>2</sup>, Suhevic J<sup>3</sup>, Mundo SL<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Buenos Aires, Becaria Doctoral, Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, MINCyT. Buenos Aires, Argentina, <sup>2</sup>Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Inmunología. Buenos Aires, Argentina, <sup>3</sup>Universidad de Buenos Aires, Escuela de Educación Técnico Profesional de nivel medio en Producción Agropecuaria y Agroalimentaria. Buenos Aires, Argentina.  
laurabarnech@yahoo.com.ar

La paratuberculosis es una enfermedad crónica intestinal granulomatosa causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP), que afecta a rumiantes en todo el mundo. Nuestro grupo está investigando alternativas para mejorar la detección precoz de animales infectados. Se ha comprobado la existencia de moléculas inmunogénicas, como el liporarabinomano (LAM), secretadas por la bacteria durante la infección. Nuestro objetivo es desarrollar una prueba de ELISA que permita identificar antígenos (Ags) secretorios de MAP en suero u otras muestras biológicas de bovinos sospechosos. Se inmunizaron 9 conejos con distintos Ags, emulsionados en Adjuvante de Freund Incompleto: MAP inactivada por calor (n=2); Ags de secreción presentes en el medio de cultivo de MAP concentrado 30X (n=2); LAM de MAP (LAM\_MAP, n=2); LAM de *Mycobacterium avium* subsp. *avium* (LAM\_MAA, n=2); y LAM de *Mycobacterium phlei* (LAM\_PH, n=1). Cada conejo recibió 250 µg de hidratos de carbono en 500 µL totales/dosis, distribuidos en dos sitios de aplicación subcutánea. El esquema de inmunización fue de 3 dosis, con intervalos de 15 días. Diez días luego de la tercera dosis se realizó una sangría preliminar para estudiar títulos de anticuerpos específicos desarrollados en diluciones de 1/100, 1/400, 1/1600 y 1/6400. Para cada animal, el valor de corte se fijó teniendo en cuenta los valores pre-inmunización a cada dilución de suero. En los casos en los que se encontraron títulos  $\geq 6400$  se decidió concluir el plan de inmunización. Para los antígenos LAM\_MAP y LAM\_MAA fue necesario aplicar una cuarta dosis. Los animales fueron eutanasiados 10 días luego de la tercera/cuarta dosis, siguiendo el protocolo aprobado por el CICUAL FCV/UBA (Protocolo N° 2018/26). Se evaluó la reactividad por ELISA de los sueros (1/100) frente a LAM\_MAP y frente a antígenos de secreción presentes en el medio de cultivo de MAP. Los resultados se expresan en densidades ópticas a 450 nm para cada grupo  $\pm$  desvío estándar. Frente al LAM\_

MAP, los conejos inmunizados con dicho Ag desarrollaron un alto nivel de anticuerpos específicos ( $1,80 \pm 0,23$ ). De manera similar, los conejos inmunizados con otros Ags de paratuberculosis, como bacteria entera o Ags de secreción demostraron respuestas comparables ( $1,18 \pm 0,37$  y  $1,20 \pm 0,03$ , respectivamente). Esto pone en evidencia la inmunodominancia del LAM y su presencia como antígeno de secreción de MAP. Resulta interesante que la inmunización con LAM\_PH indujo también altos niveles de anticuerpos anti-LAM\_MAP ( $1,3 \pm 0,05$ ). Frente a Ags de secreción de MAP, los conejos inmunizados con dicha mezcla antigénica y los inmunizados con MAP presentaron mayor reactividad ( $1,92 \pm 0,07$  y  $1,84 \pm 0,01$ , respectivamente); sin embargo, aquéllos inmunizados con los diferentes LAMs tuvieron un bajo nivel de reconocimiento ( $0,34 \pm 0,20$  y  $0,13 \pm 0,06$ , para los grupos LAM\_MAP y LAM\_MAA respectivamente; y LAM\_PH indetectable). Indicando que el LAM no sería el principal componente entre los Ags de secreción de MAP. A modo de conclusión, los protocolos de inmunización empleados permitieron obtener altos títulos de anticuerpos específicos frente a los Ags estudiados. Con estos resultados, nos proponemos evaluar la posibilidad de emplear los anticuerpos de los conejos inmunizados con LAM\_PH o con Ags secretorios de MAP como reactivos de captura para identificar estos Ags en suero/secreciones/excreciones de bovinos recientemente infectados con paratuberculosis. En la actualidad nos encontramos ampliando la caracterización de los reactivos obtenidos mediante Western blot y desarrollando esta prueba de ELISA empleando los diferentes anticuerpos producidos. La estrategia de inmunización con LAM\_PH para la obtención del reactivo de captura permitiría una elaboración más sencilla, dado el menor tiempo generacional de *M. phlei* con respecto a MAP, y sin necesidad de suplementar el cultivo con micobactina, factores que permitirían reducir el costo de producción y tiempo de elaboración.

## 24. CARACTERIZACIÓN DE CALOSTROS DE BOVINOS HIPERINMUNIZADOS CONTRA *ESCHERICHIA COLI*, EN UN TAMBO DE LA CUENCA LECHERA DE VILLA MARÍA.

Sodero S<sup>1,2</sup>, Bellingeri R<sup>3</sup>, Manfredi MJ<sup>4</sup>, Rampone A<sup>2</sup>, Porporatto C<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones y Transferencia de Villa María (CONICET), Universidad Nacional de Villa María. Córdoba, Argentina, <sup>2</sup>Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María. Córdoba, Argentina. <sup>3</sup>Laboratorio de Biotecnología Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba, Argentina. <sup>4</sup>Centro Científico Tecnológico CONICET. Córdoba, Argentina.  
soniasodero@hotmail.com

En bovinos, la administración de calostro en las primeras horas de vida del ternero es vital para prevenir enfermedades, aportando inmunoglobulinas (Ig) necesarias para la protección de los neonatos contra infecciones, los cuales nacen agammaglobulinémicos debido a la placenta de tipo sinepiteliocorial. La diarrea de origen bacteriano, es una de las patologías que causa mayor tasa de morbi-mortalidad en neonatos y pérdidas económicas en productores ganaderos, siendo *Escherichia coli* uno de los principales agentes patógenos. La administración de calostro proveniente de vacas inmunizadas contra patógenos específicos proporciona inmunidad pasiva a la cría. El presente trabajo tuvo como objetivo obtener calostros con niveles elevados de IgG específica para *E. coli* a fin de proteger al ternero de infecciones bacterianas entéricas. Para lograrlo, se realizó un esquema de hiperinmunización con la vacuna comercial Rotatec J5, compuesta por Rotavirus bovino (serotipo 6 y 10) y *E. coli* J5, a vacas Holstein preñadas. Se definieron 4 grupos de trabajo: vaquillonas controles (VC), vaquillonas inmunizadas (VI), adultas controles (AC) y adultas inmunizadas (AI). Las VI recibieron una primera dosis luego de confirmada la concepción (tiempo 0) y 3 refuerzos más distanciados entre ellos por 30 días cada uno, mientras que las AI recibieron dos dosis que coinciden con las últimas dos del grupo VI. Se obtuvieron muestras de sangre luego de cada inmunización y posteriormente, se recolectaron muestras de calostro dentro de las primeras 6 hs posparto. En todas las muestras se cuantificó los niveles de IgG total mediante ELISA sandwich y los niveles de IgG específica para LPS de *E. coli* J5 mediante ELISA indirecto. Respecto a la cuantificación de la IgG total en sangre en

los diferentes tiempos pos-inmunización, no se observaron diferencias significativas en los valores obtenidos en ninguno de los grupos en estudio. En cuanto a los niveles de IgG específica, los grupos controles (AC y VC) no mostraron diferencias significativas en los títulos en suero a lo largo del tiempo. Los grupos inmunizados mostraron un incremento en los títulos séricos, aumentando el título al doble luego de la primera inmunización en AI ( $p=0,0364$ ) y 2 veces el valor de título entre la segunda y tercera inmunización en VI ( $p=0,0379$ ). El análisis de las muestras de calostro mostró un incremento en la IgG total solo en el grupo de AI ( $p=0,0268$ ). Los títulos alcanzados de IgG específica en calostro en VI y AI resultaron similares y guardaron relación con los valores obtenidos en suero. Sin embargo, se evidenció un incremento significativo de IgG específica solo en VI ( $p=0,0004$ ), aumentando 2 veces el valor de título respecto a VC. Este incremento en los títulos de IgG específica en calostro de vaquillonas luego del esquema planteado, demostró la importancia de la hiperinmunización en este grupo de animales, a fin de mejorar la calidad del calostro y evitar el descarte del mismo, como suele realizarse en la práctica. Nuevos ensayos son necesarios a fin de evaluar la funcionalidad *in vitro* del calostro bovino hiperinmune obtenido, como así también determinar distintas estrategias de conservación. Estos resultados permitirán obtener a futuro un bioproducto capaz de reforzar la transferencia de inmunidad pasiva en neonatos y prevenir la diarrea neonatal por bacterias enteropatógenas, dando respuesta a una demanda regional del sector ganadero y lechero.

## 25. INTERACCIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS* COAGULASA NEGATIVOS CON CÉLULAS EPITELIALES MAMARIAS BOVINAS MAC-T.

Conesa A<sup>1,2</sup>, Bohl LP<sup>1,2</sup>, Breser ML<sup>1,2</sup>, Raspanti CG<sup>3</sup>, Porporatto C<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones y Transferencia de Villa María (CONICET-UNVM), Villa María, Argentina <sup>2</sup>Instituto A. P. de Ciencias Básicas y Aplicadas, UNVM. Arturo Jauretche 1555, Villa María, Argentina. <sup>3</sup>Departamento de Microbiología e Inmunología, F.CEF-QyN, UNRC, Ruta 36 km 601, Río Cuarto, Argentina.  
conesa\_agu@hotmail.com

La mastitis bovina (MB) estafilocócica es considerada como una de las principales causas de pérdidas económicas en el ganado lechero, asociado a casos crónicos. El microentorno que rodea a la bacteria in vivo, tiene un papel importante en su protección, tanto frente al sistema inmune como a los agentes antimicrobianos. Este, puede conseguirse por varios factores de virulencia como la formación de una biopelícula (biofilm), de desarrollo propio y adherente a superficies vivas o inertes, y por la capacidad de internalizar en las células epiteliales del huésped, sobreviviendo dentro de las mismas. Estudios recientes muestran que diferentes especies de *Staphylococcus* coagulasa negativas (SCN), pueden desarrollar estas capacidades. El objetivo de este estudio fue evaluar en diferentes aislamientos de SCN, identificados a nivel de especie, su capacidad de formación de biofilm, la interacción con las células epiteliales MAC-T y la respuesta inmune inducida. Se evaluó la capacidad de adherencia, internalización y sobrevida de 3 especies de SCN más prevalentes aisladas en la cuenca lechera de Villa María y se investigó la posible asociación con la capacidad para formación de biofilm. Para caracterizar las respuestas inmunes innatas se midió la concentración de citoquinas pro-inflamatorias IL-6 e IL-1 $\alpha$  inducidas por la estimulación in vitro de la línea celular empleando la técnica de ELISA. El análisis de los datos no mostró diferencias significativas atribuibles a la especie para los parámetros adherencia e internalización, sin embargo la sobrevida fue significativamente superior para *S. xylosus*. En cuanto a la

capacidad de formación de biofilm, del total de aislamientos, no se encontró una relación respecto a adherencia y sobrevida, sin embargo, aquellas bacterias que presentan una menor capacidad de formación de biofilm mostraron una capacidad de internalizar significativamente mayor. Estos resultados indicarían que las cepas que producen biofilm invaden a las células epiteliales con menor eficiencia que las que no lo forman, sugiriendo que aquellas cepas que tiene la capacidad de invadir no necesitan la formación de biofilm para sobrevivir en el huésped. Se consideraron 9 cepas de SCN productoras de biofilm y se llevó a cabo el ensayo de interacción con MAC-T, observándose que sólo una cepa de *S. xylosus* desencadenó un incremento en la producción de ambas citoquinas (ELISA). La respuesta inflamatoria inducida por esta cepa de *S. xylosus* resulta de interés dado que esa es una de las especies de SCN más prevalente y que presenta una fuerte capacidad para formar biofilm, resultando una candidata para obtener posibles antígenos vacunales. En este estudio se muestra que las células epiteliales mamarias MAC-T presentan una fuerte capacidad de defensa inmune innata y la capacidad de atraer células inmunes circundantes como los neutrófilos mediante la secreción de citoquinas proinflamatorias. Los resultados obtenidos resultan relevantes dado que existe escaso conocimiento sobre la capacidad de sobrevida intracelular de las distintas especies de SCN, los cuales permitirían el desarrollo de nuevas estrategias dirigidas a este grupo de patógenos.

## 26. ESTUDIO *IN VITRO* DE LA RESPUESTA INMUNE INNATA EN CÉLULAS BOVINAS INFECTADAS CON *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN MODOS DE VIDA LIBRE Y EN BIOPELÍCULA.

Bohl LP<sup>1</sup>, Santoni LN<sup>1</sup>, Isaac P<sup>1</sup>, Breser ML<sup>1</sup>, Conesa A<sup>1</sup>, Orellano MS<sup>1</sup>, Correa SG<sup>2</sup>, Tolosa de Talamoni NG<sup>3</sup>, Porporatto C<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones y Transferencia de Villa María (CITVM-CONICET), Universidad Nacional Villa María. Villa María, Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI-CONICET). Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Córdoba, Argentina. <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (INICSA-CONICET), Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Córdoba, Argentina.  
lubohl@gmail.com

La mastitis bovina es la inflamación de la glándula mamaria, principalmente como consecuencia de una infección bacteriana. Esta patología presenta alta incidencia en todo el mundo, siendo difícil de controlar y generando importantes pérdidas económicas para el sector lácteo. La formación de biopelículas (o biofilm) se considera una ventaja selectiva para los patógenos y ha sido asociada con la persistencia bacteriana en la ubre, la recurrencia de la enfermedad, el aumento de la resistencia a los antimicrobianos y la evasión a la respuesta inmune del huésped. Este modo de crecimiento de la bacteria ha cambiado la forma en que se estudian las interacciones entre los patógenos y las células huésped en el laboratorio. Por ello, el objetivo de este trabajo fue estudiar la respuesta inmune innata *in vitro* de células bovinas infectadas con *Staphylococcus aureus* en modos de vida libre (planctónico) y en biofilm. Se utilizó la cepa formadora de biofilm *S. aureus* V329 (aislada de mastitis subclínica), una mutante biofilm negativa (*S. aureus* V329 Δ*bap* Δ*ica*) y las líneas celulares bovinas MAC-T (epiteliales de glándula mamaria) y BoMac (macrófagos). En primer lugar, se determinó la invasión bacteriana mediante el ensayo de exclusión con gentamicina, implementando tres metodologías experimentales que difieren en el modo de representar las biopelículas. Luego, se eligió una de las metodologías y se aplicó para el estudio de la expresión del receptor de reconocimiento tipo Toll (TLR) 2 por citometría de flujo, la producción de citoquinas IL1α e IL6 mediante ELISA y la expresión génica de IL1α, IL6, IL8, TNFα y NFκB por retrotranscripción seguida de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real. El análisis estadístico de los datos se realizó con test t, ANOVA o Kruskal Wallis (\**p* < 0.05). Los resultados de invasión bacteriana mostraron diferencias en función al modelo experimental,

la línea celular y la multiplicidad de infección utilizadas. Concretamente la internalización de *S. aureus* V329 en las MAC-T fue menor cuando estas células se co-cultivaron con los biofilms (modelo clavijas) en comparación con las bacterias en vida libre. Los cultivos planctónicos estimularon significativamente la expresión de TLR2 a las 2 y 4 h de infección, mientras que los biofilms no produjeron esa respuesta. En general, la producción de IL1α fue mayor que la de IL6 y los niveles más altos de citoquinas se registraron a las 2 y 4 h de co-cultivo. A las 2 h de co-cultivo se registró mayor producción de IL1α en células MAC-T infectadas con cultivos planctónicos, mientras que a las 4 h de infección el comportamiento fue inverso para ambas citoquinas. Resultados preliminares indican que las expresiones génicas de IL1α, IL8, NFκB y TNFα no se modificaron en función al estilo de vida bacteriano (4 h de co-cultivo), mientras que el comportamiento de la IL6 fue similar al estudiado por la técnica de ELISA. Aunque las metodologías empleadas en este trabajo han sido utilizadas previamente para evaluar las interacciones entre los biofilms bacterianos y las células huésped, los datos obtenidos indican que el método afecta en gran medida los resultados. Las variables estudiadas aportan evidencias a favor de que la respuesta inmune innata no sería idéntica frente al mismo patógeno en diferente modo de vida. Se requieren más estudios que utilicen la metodología elegida para comprender mejor las interacciones entre las biopelículas bacterianas y las células hospedadoras. Un conocimiento más profundo del rol de estas estructuras en la mastitis ayudará a proponer estrategias de control en la práctica veterinaria para reducir las pérdidas y garantizar la seguridad y la calidad de la leche.

**27. PAPEL DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS CITOPASMÁTICOS DE LOS BACULOVIRUS EN LA PRODUCCIÓN DE IFN- $\alpha$  EN CÉLULAS NO INMUNES DE MAMÍFERO.**

Amalfi S, Molina GN, Taboga O, Alfonso V

Instituto de Biotecnología, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.  
amalfi.sabrina@inta.gob.ar

Los baculovirus (BV) son virus envueltos de ADNdc patógenos de insectos. En mamífero presentan un ciclo viral no productivo generando la posibilidad de ser utilizados como herramienta biotecnológica. Además, se ha descrito una potente respuesta inmune innata inducida por BV en mamíferos que protege frente a una infección del virus influenza o frente al virus de la fiebre aftosa. La inyección de BV en ratones dispara la producción de IFN $\alpha$ , activa macrófagos, células dendríticas y células NK. Se ha descrito en la inmunidad inducida por BV la importancia del TLR-9, una vez activo lleva a la producción de IFN- $\alpha$ . Sin embargo se ha visto que ratones TLR-9-/- producen IFN $\alpha$  en elevadas cantidades. También se demostró que fibroblastos de embrión murino (MEF) producen IFN $\alpha$  a partir de la infección con BV de un modo TLR independiente. Se ha sugerido entonces la participación de sensores de ADN citoplasmático involucrados en la producción de IFN- $\alpha$  por BV. STING es una proteína que induce la producción de IFN- $\alpha$  en respuesta a diversos estímulos, como la unión de ADNdc en el citosol con el receptor cGAS, mientras que RIG-I es un sensor de ARNdc, que producen IFN- $\alpha$ . Ambos fueron descritos como partícipes de la producción de IFN $\alpha$  en respuesta a ADN o ARN. Adicionalmente, RIG-I podría funcionar como un sensor indirecto de ADN, pues secuencias ricas en AT pueden ser transcritas en el citoplasma por la Pol III generando agonistas de RIG-I. Previamente, en nuestro grupo de trabajo hemos demostrado a través de ensayo de transducción con genes reporteros que por cada genoma baculoviral que alcanzan el núcleo hay 200 que quedan en citoplasma. Además, dichos resultados fueron validados a partir de un ensayo de FISH. Adicionalmente, hemos caracterizado el estado antiviral y cuantificado los niveles IFN $\alpha$  a las 4 horas post infección (h.p.i) en las células no inmunes de mamífero NIH 3T3 y MEF. Así, el objetivo es determinar qué receptores celulares citoplasmáticos están involucrados en el reconocimiento

del ADN baculoviral en células no inmunes de mamífero. Para ello, en primer lugar se cuantificaron los niveles de IFN $\alpha$  por RT-qPCR y se realizaron ensayos antivirales a las 4 h.p.i en células NIH 3T3 que fueron previamente tratadas con un inhibidor químico de la RNA pol III. Los resultados muestran que tanto los niveles de IFN $\alpha$  como el estado antiviral generado por los baculovirus no se encuentran modificados. Adicionalmente, se evaluó la vía de sensado de ADN citoplasmático cGAS-STING en las células HEK293 y HEK293T. Las células HEK293 no presentan niveles detectables de cGAS, mientras que las células HEK293T no presentan niveles detectables ni de cGAS ni de STING. Cuando se cuantificaron los niveles de IFN $\alpha$  se obtuvo que en estas células no hay producción de ello. Sin embargo, las células HEK293 generan un estado antiviral luego de una infección de 4 h con BV. Además, estos resultados fueron apoyados por ensayos de transfección/transducción, en donde células HEK293 que fueron infectadas durante 4 h con BV disminuyeron significativamente la expresión de un gen reportero aportado por un plásmido. Por otra parte, a través de la herramienta de edición génica de CRISPR/Cas9 se obtuvo la línea NIH/3T3 STING -/- . En esta línea al cuantificar los niveles de IFN $\alpha$  por RT-qPCR luego de una infección con BV de 4 h se obtuvieron niveles significativamente disminuidos ( $p < 0,01$ ) respecto de la línea control. Además, el estado antiviral también disminuyó de manera significativa respecto de la línea control ( $p < 0,01$ ). En conclusión, los baculovirus generan un estado antiviral en células no inmunes de mamífero en donde es relevante la vía de sensado citoplasmático cGAS-STING. Es posible entonces, incidir en la producción del estado antiviral generado por los baculovirus mediante estrategias de ingeniería genética sobre los genomas de virales, de manera de potenciar el estado antiviral para el control temprano de infecciones veterinarias.

**SESIÓN 4: ENSEÑANZA DE LA INMUNOLOGÍA VETERINARIA**

**28. NUEVOS MÉTODOS PARA PROMOVER LA MOTIVACIÓN Y EL MAYOR PROTAGONISMO DE LOS ESTUDIANTES EN LA ENSEÑANZA DE INMUNOLOGÍA VETERINARIA.**

Yaneselli K<sup>1</sup>, Puentes R<sup>1</sup>, Passarini, J<sup>2</sup>, Cabrera M<sup>1</sup>, Vilar del Valle, M<sup>2</sup>, Porro A<sup>2</sup>, De Palleja E<sup>2</sup>, Lobecio C<sup>2</sup>, Algorta A<sup>1</sup>,  
Maisonave J<sup>1</sup>, Benavides U<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Área de Inmunología, Departamento de Ciencias Microbiológicas, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República (Udelar), Montevideo, Uruguay, <sup>2</sup>Departamento de Educación Veterinaria Facultad de Veterinaria, Universidad de la República (Udelar), Montevideo, Uruguay.  
kyaneselli@fvet.edu.uy

El curso de Inmunología Básica es dictado en el segundo año de ingreso a la carrera de Doctor en Ciencias Veterinarias, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República (Udelar). Para la evaluación de los estudiantes se utilizaban dos pruebas parciales de opción múltiple, enfocadas principalmente a los contenidos teóricos y teórico-prácticos de dicho curso. Por iniciativa del equipo docente, a partir del año 2010 se comenzaron a implementar diferentes métodos alternativos de enseñanza y evaluación con el objetivo de promover la motivación y favorecer la interacción alumnos-docentes, dándole mayor protagonismo al alumno en sus aprendizajes. Para ello, se subdividieron los grupos prácticos y se implementaron distintas actividades como: maquetas, seminarios de artículos científicos, taller de vacunas y juegos didácticos (Trivia, Puzzle y Twister). Los subgrupos debieron exponer y defender las actividades anteriormente mencionadas ante un tribunal examinador, que asignó entre un 20 a 30% al puntaje global del curso, a excepción de los juegos didácticos que no tenían calificación. Como resultados principales, se logró dar mayor protagonismo a los estudiantes en su aprendizaje, generando en ellos un incremento en la motivación y participación colectiva.

Además se generó un espacio de confianza y debate académicos entre alumnos y docentes, donde incluso en algunas actividades el nivel de profundización adquirida por ellos fue muy satisfactoria y gratificante para los docentes. Asimismo, entendemos que se reforzó la confianza entre ellos al trabajar como grupo y también con el docente. Por otro lado, estas actividades no reemplazaron a las tradicionales, sino que se buscó que actuaran sinérgicamente, enseñando inmunología de diversas maneras, utilizando estrategias lúdicas en algunos casos. Esta diversificación permitió abarcar y atrapar diferentes perfiles estudiantiles durante el curso, según el interés del alumno. En conclusión, el uso de esta nueva metodología tuvo un efecto positivo y significativo debido a que fomentó la motivación en los estudiantes, les dio mayor protagonismo en su aprendizaje, favoreció el trabajo participativo y fortaleció los lazos de confianza entre los alumnos y docentes. Por último, como perspectivas se está trabajando para implementar el próximo año, juegos didácticos on line con el fin de aplicar novedosas metodologías aggiornadas a las nuevas generaciones y a sus hábitos de interacción.

## 29. TALLER DE INTEGRACIÓN SOBRE INMUNIDAD ANTITUMORAL.

Nolasco A., Gauna C., Mazzuca A

Cátedra de Inmunología - Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta, Argentina.

abinolasco795@gmail.com

En los últimos años, el cáncer ha cobrado gran importancia en Medicina Veterinaria y la posibilidad de poder erradicar los cánceres mediante respuestas inmunitarias específicas ha impulsado muchas estrategias prometedoras en el campo de la Inmunología. Sin embargo, se detectó que los estudiantes de Veterinaria tendían a separar y compatibilizar los conocimientos de la Inmunidad Antitumoral (características, mecanismos de acción, citoquinas intervinientes,) y les era difícil realizar conexiones y transferencias horizontales, con otros contenidos relacionados a la temática, previamente transmitidos por otras asignaturas. Debido a esto es que en la cátedra de Inmunología se propuso como objetivos que los estudiantes adquieran técnicas y métodos para la búsqueda de relaciones sobre Inmunidad Antitumoral con un enfoque interdisciplinario. Metodología: Se implementó el dispositivo pedagógico denominado Taller de Integración, (Res. Fac N°043/08, y Res. Rec N°1031/08) que promueve el trabajo autónomo y dinámico basado en clases teóricas, estudio de publicaciones especializadas, producción de material audiovisual, e interacción con entornos colaborativos en los estudiantes. El tema elegido fue Inmunidad Antitumoral e investigado desde las perspectivas de los múltiples conocimientos aprendidos sobre cáncer en las materias del Ciclo Básico de Veterinaria. Cada estudiante fue asesorado por docentes de esas cátedras y recibió la orientación del profesor tutor. La evaluación integradora del Taller consistió en la elaboración de un trabajo que integró conceptualmente los ejes problematizadores de la Inmunidad Antitumoral, con un abordaje interdisciplinario. Resultados y Discusión: el desarrollo del Taller experimentó el devenir de los avances, retrocesos y progresos propios del proceso de construcción

del conocimiento, en un contexto de continua reestructuración para que los estudiantes integren sus saberes. El proceso de investigación de este trabajo comprendió Biología, Fisiología y Genética de los tumores, como pasos necesarios para escudriñar en el desarrollo de las estrategias de las que se vale el sistema inmune para conseguir una respuesta eficaz contra las células tumorales, con la colaboración de las inmunoterapias. Los estudiantes integraron vertical y horizontalmente los contenidos, y concretaron la articulación de conocimientos provenientes de áreas distintas de la carrera, facilitando el logro de aprendizajes significativos de conceptos y procedimientos, mediante la puesta en práctica de habilidades como la observación, diagnóstico, toma de decisiones, implementación, evaluación y sistematización. Comprendieron las pautas del trabajo interdisciplinario, como una forma de conocimiento surgido de la intersección de los saberes. Incrementaron sus habilidades para analizar, reelaborar y resolver problemas. Enriquecieron sus estructuras cognitivas, mediante la construcción de marcos conceptuales integradores, sostuvieron la coherencia y relevancia en su producción oral y escrita. Mostraron curiosidad y responsabilidad en su experiencia de aprendizaje de la Inmunidad Antitumoral, en un entorno interdisciplinario. Conclusiones: El Taller Interdisciplinario, al instaurarse como un eje transversal integrador de contenidos aprendidos, tanto conceptuales como procedimentales y actitudinales, desarrolló competencias referidas al saber, saber hacer y saber ser, tornándose en un valioso antecedente de los recursos pedagógicos que podrían ser implementados en el nuevo Plan de estudio de Veterinaria basado en Competencias.

**30. ENFOQUE MULTIMODAL COMBINADO PARA EL ABORDAJE DE LA ENSEÑANZA DE INMUNOLOGÍA APLICADA, EN LA CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA, UNLP.**

Mortola E, Larsen AE

Cátedra de Inmunología Veterinaria Aplicada y Laboratorio de Inmunología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. La Plata, Buenos Aires, Argentina.  
mortola@fcv.unlp.edu.ar

En la era de la dominación de la pantalla, la escritura aparece sometida a la lógica de la imagen. En la actualidad, los medios digitales, en lugar del libro de texto, son cada vez más el sitio de aparición y distribución de recursos de aprendizaje, y la imagen está desplazando a la escritura como el modo central de representación. Los usos y las formas de escritura han experimentado cambios profundos sobre las últimas décadas, lo que requiere una explicación social, pedagógica y semiótica. Gunther Kress acuñó el término multimodal como una alternativa a los multimedia, su origen académico más que comercial, y fundado en la semiótica más que en los medios, define multimodal como “cualquier texto cuyos significados se realizan a través de más de un código semiótico”. Los códigos semióticos son integrados, su lógica y coherencia se ajustan a un “código general” que está orientado espacial o temporalmente. A lo largo de la experiencia docente en la asignatura inmunología el tema de diluciones ha sido dificultoso para la comprensión del estudiante. Sin embargo, la preparación de diluciones es una tarea cotidiana en el trabajo de laboratorio, y fundamental en las técnicas inmunoserológicas, por lo que la comprensión de sus aspectos básicos y prácticos es de suma importancia. En este trabajo se presenta una estrategia didáctica multimodal diseñada con el objeto de ejemplificar cómo se puede construir una experiencia en un trayecto educativo, a través del uso de un repertorio de recursos semióticos, de una práctica de laboratorio sencilla, muy

próxima a la realidad cotidiana del profesional veterinario. Se creó un recurso multimodal que bajo el marco de un archivo power point animado con botones, combina videos -algunos de uso público en la web y otros de elaboración propia- con cuadros representativos, animaciones y posibilidades de una construcción de saberes donde se combinan recursos tradicionales y no tradicionales en un enfoque multimodal. Aprender las posibilidades funcionales de estos recursos y modalidades semióticas, así como la forma en que se implementan conjuntamente en la orquestación de la clase, tiene como finalidad conducir a una enseñanza y aprendizaje más efectivos en el aula. Los materiales codifican la información a través de diferentes representaciones simbólicas, lo que invita al estudiante a poner en ejercicio sus habilidades cognitivas a fines de intentar decodificar dicha información. De aquí la riqueza de proponer actividades que incluyan variedades de estos materiales. Consideramos que deberíamos reflexionar sobre estos aspectos de la enseñanza multimodal, actualizando nuestros recursos pedagógicos a las necesidades de un colectivo educativo diferente. Por lo tanto, no solo deberíamos apelar a nuestra inventiva como docentes, sino formarnos en las disciplinas que aportan a la enseñanza el andamiaje necesario para lograr llegar a una generación “millennial”, donde el docente buscará orientar su acción de enseñanza en base a aquello que anticipe y que pueda despertar la curiosidad y el interés por parte de sus estudiantes.

**31. ESTUDIO DEL DESGRANAMIENTO ESTUDIANTIL EN LA ASIGNATURA INMUNOLOGÍA VETERINARIA Y SU ASOCIACIÓN CON LAS CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, SOCIOECONÓMICO Y ACADÉMICAS, EN LA CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA, UNLP.**

Mortola E<sup>1</sup>, Alarcon L<sup>1</sup>, Larsen A<sup>1</sup>, Serena S<sup>1,2</sup>, Panei J<sup>1,2</sup>, Traveria G<sup>1</sup>, Miceli G<sup>1</sup>, Salina M<sup>1</sup>, Manfredi M<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Inmunología Veterinaria Aplicada y Laboratorio de Inmunología Veterinaria, CONICET<sup>2</sup>, de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. La Plata, Buenos Aires, Argentina  
mortola@fcv.unlp.edu.ar

En la educación universitaria existen dos fenómenos, por un lado, el grupo de estudiantes que se gradúa es reducido en relación con el grupo que ingresa; por el otro, gran parte del grupo inicial abandona o prolonga su permanencia en la carrera. Sin embargo, son escasos los estudios que intentan identificar las causas por las cuales el estudiante abandona o retrasa su graduación. La currícula de la carrera de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNLP, posee el curso de Inmunobiología Animal Básica (IAB) e Inmunobiología Animal Aplicada (IAA) de 70 h cada uno, ubicado en 2do año y 5to año de la carrera respectivamente. El número promedio de alumnos es de 440 alumnos en IAB y 140 alumnos en IAA. El objetivo de este estudio fue realizar y analizar una encuesta a los estudiantes de IAA durante el año 2018; para recabar información sobre la duración del trayecto educativo en dos etapas: desde el ingreso hasta que cursan IAB y desde que cursan IAB hasta IAA, y relacionarlo con las características personales (edad) y sociales (vivienda, trabajo, estado civil, hijos) de los alumnos muestreados. Asimismo, en la encuesta se evaluaron los conceptos de contenidos mínimos de IAB necesarios para el curso de IAA y se relacionaron con las variables antes mencionadas. Para el análisis estadístico de este estudio, se empleó el análisis de la varianza (ANOVA). Se hallaron los siguientes resultados: los alumnos casados, tardaron, en promedio, 1,67 años más entre realizar el curso de IAB y IAA, y si viven en CABA o Gran Buenos Aires 7,5 meses más, que aquellos que viven en La Plata. Aquellos que trabajan tardaron 1,09 años más en llegar a cursar IAB desde su ingreso, y 8,8

meses más entre los cursos de IAB e IAA que los que no trabajan. Los alumnos que poseen hijos tardan 3,47 años más que los que no los poseen, en llegar a cursar IAB y esta diferencia no existió en el tiempo transcurrido entre los dos cursos. Por último, aquellos alumnos que aprobaron IAA por promoción tardaron 1 año menos entre los dos cursos, con respecto a los que aprobaron por examen final. No se hallaron diferencias en las variables si viven o no con sus padres. Mediante el análisis de regresión lineal pudimos comprobar que hay una relación entre la edad de los alumnos y el tiempo que transcurre entre su ingreso y el curso de IAB, y entre IAB e IAA (a mayor edad, mayor es el tiempo transcurrido entre ambos cursos). Del análisis descriptivo multivariado se desprende que los alumnos que trabajan o poseen hijos tuvieron menos conocimientos de IAB y están más distantes de la promoción de la materia. No se hallaron grupos disímiles de alumnos en relación a las preguntas evaluadas. Este estudio aplicó modelos de duración y describe los factores (edad, domicilio, trabajo, estado civil e hijos) que, dentro de este esquema, fueron determinantes de la deserción y desgranamiento estudiantil, asociados a aspectos socioculturales y características institucionales que contempla variables asociadas con la adaptación del estudiante al ambiente universitario. La visualización de este contexto, abre la posibilidad de prevenir estos efectos, mediante la administración de políticas de retención y contención, e implementar en forma sistemática recursos de seguimiento y evaluación del trayecto educativo de los alumnos.

**32. ESTRATEGIAS PEDAGÓGICAS DE LA CÁTEDRA DE SUEROS Y VACUNAS VS PERCEPCIONES DE LOS/AS ALUMNOS/AS DE LA MATERIA, EN LA FAC DE CS VETERINARIAS DE LA U.N.R.**

Peralta L, Garré MA.

Cátedra de Sueros y Vacunas, F.C.V.-U.N.R., Santa Fe, Argentina.  
leperalta@gmail.com

En el ámbito de la educación superior conviven actualmente muchas de las distintas teorías pedagógicas desarrolladas en los últimos tiempos. La cátedra de Sueros y Vacunas de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la U.N.R. ha ido modificando su metodología respecto a la forma en que enseña sus contenidos (inmunología aplicada) o, mejor expresado, en la forma que aborda los problemas de aprendizaje que se van presentando en el alumnado. En la actualidad, sigue las teorías del aprendizaje significativo y funcional donde el conocimiento se "usa" para resolver problemas hipotéticos, así como las del aprendizaje dialógico de Freire, propiciando el diálogo argumentativo como método. En los últimos años, se ha percibido una disminución en el rendimiento académico, observándose un aumento del número de estudiantes reprobados en las instancias de evaluación. Con el fin de valorar la situación actual y definir la necesidad o no de un cambio en las estrategias pedagógicas, desarrollamos una encuesta orientada a conocer que piensan los alumnos cuando piensan en nuestra materia. La misma se realizó a posteriori del primer examen parcial, momento en que la mitad del programa de estudios ya se había abordado en clase y habiendo completado la evaluación, tendrían la posibilidad de volcar su opinión en forma anónima. La encuesta constó de cuatro preguntas, cada una relacionada con un aspecto a abordar. La primera pregunta apuntó a la relación de nuestra materia con sus correlativas; la segunda, pretendía conocer sus sentires sobre la dinámica de estudios propuesta; la tercera,

se dirigió hacia la opinión personal sobre la resignificación de los saberes previos de inmunología general y la cuarta fue destinada a dilucidar el cómo solventan las dudas sobre los temas dados en clase. Los resultados obtenidos fueron: para la pregunta N°1, el 87% de los alumnos se consideró suficientemente preparado para abordar los contenidos del plan de estudios de Sueros y Vacunas; para la N°2, solo 9% de los encuestados opinaron que la dinámica les resultaba aburrida así como a 9% les parecía incomprendible y más de la mitad se sintió estimulado o le pareció interesante; para la N°3, al 6% le resultó irrelevante, mientras que el 71% advirtió que le permitió la aplicación de los conceptos teóricos en situaciones prácticas; finalmente para la N°4, el 75% resuelve sus dudas consultando con otros compañeros y solo el 37% lo hace con los docentes así como el 54% consulta su propio material escrito (apuntes) contra el 29% que consulta en libros. Los resultados obtenidos nos permiten concluir que es necesario incorporar nuevas estrategias con el objetivo de favorecer la comprensión y apropiación de saberes a través de la reflexión. Consideramos la posibilidad de incorporar la teoría del aprendizaje comprensivo de Perkins que postula el operar con lo aprendido como metodología de enseñanza-aprendizaje, apostando a una mejora en la situación actual del rendimiento académico de los/as alumnos/as en las evaluaciones parciales y finales, pero lo que es más importante, a su propia formación y desarrollo como profesionales en el futuro.