



UNL • FACULTAD
DE BIOQUÍMICA Y
CIENCIAS BIOLÓGICAS



AAIV 2023

XV Jornadas de la Asociación Argentina de Inmunología Veterinaria

III Reunión de la Red Latinoamericana de Inmunología Veterinaria

2 y 3 de noviembre de 2023

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (FBCB)

Universidad Nacional del Litoral

Santa Fe – Argentina

LIBRO DE RESÚMENES

COMITÉ ORGANIZADOR LOCAL

Responsable principal

Dra. Adriana Soutullo (FBCB-UNL)

Responsables de la Secretaría General

Dra. Bibiana Dallard (FCV-UNL)

Dra. Celina Baravalle (FCV-UNL)

Dra. María Sol Renna (FCV-UNL)

Responsables de la Secretaría de Difusión

Dra. Antonela Stassi (FCV-UNL)

Alumna Milagros Nisola (FBCB- UNL)

Responsables de la Secretaría de Asuntos Contables

Dra. Cecilia Camussone (FBCB-UNL; INTA)

Dra. Carolina Vélez (FCV-UNLPam)

Dra. Sandra Núñez (FCV-UNNE)

M. V. Estela Vera (FCV-UNL)

Responsables de la Secretaría de Logística

Dra. Silvina Vanesa Kergaravat (FBCB-UNL)

Lic. Biotecnología Sonia Ricotti (FBCB- UNL)

Responsables de la Secretaría de Eventos Sociales

Dra. Silvia Fabiano (FBCB- UNL)

Dra. Andrea Racca (FCV- UNL)

Responsables institucionales

Decana: Bioquímica Adriana Ortolani

Secretario de Ciencia y Técnica: Dr. Horacio Rodríguez

Oficina de Ciencia y Técnica: Lic. Luciana Dunand; Tco. Enrique Ruiz; Sra. Yamila Burguener

Oficina de Comunicación Institucional: Sra. Verónica Sosa y María Carpio

COMITÉ CIENTÍFICO

Dra. Alejandra Capozzo (INTA)
Dra. Ana Jar (FCV-UBA)
Dra. Delia Williamson (FCV-UNLPam)
Dra. Cecilia Dogi (FCV-UNRC)
Dr. Eduardo Mórtola (FCV-UNLP)
Dra. Carina Porporatto (UNVM, Córdoba)
Dra. Adriana Soutullo (FBCB-UNL)
Dra. Carolina Vélez (FCV-UNLPam)
Dra. Nora Lía Padola (UNCPBA)
Dra. Silvia Estein (UNCPBA)
Dra. Silvia Colavecchia (UBA)
Dra. Cecilia Greco (AAIV)
M.V. Estela Vera (UNL)

COMITÉ COLABORADOR

Dra. Alejandra Capozzo (INTA)
Dra. Carina Porporatto (UNRC)
Dra. Adriana Soutullo (FBCB-UNL)
Dra. Sandra Núñez (UNNE)
M.V. Estela Vera (UNL)
Dra. Carolina Vélez (UNLPam)

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

Eduardo Mórtola, Ana Jar, Silvia Estein, Cecilia Dogi, Carolina Vélez, Silvia Colavecchia, Carina Porporatto, Delia Williamson, Nora Lía Padola, Adriana Soutullo, Cecilia Greco, Estela Vera.

AUSPICIANTES

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



Agencia I+D+i

Agencia Nacional de Promoción
de la Investigación, el Desarrollo
Tecnológico y la Innovación



Ceva Animal Health



COMISIÓN DIRECTIVA DE LA AAIV – PERÍODO 2022-2025

Directora: Alejandra Capozzo (INTA Castelar)

Subdirectora: Adriana Soutullo (FBCB-UNL)

Secretaria: Dra. Silvia Colavecchia (UBA)

Tesorera: Carolina Vélez (UNLPam)

Vocal 1º: Eduardo Mórtola (UNLP)

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

Vocal 3º: Dra. Carina Porporatto (UNVM)

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

Vocal 5º: Dra. Cecilia Dogi (UNRC)

Vocal 6º: Dra. Delia Williamson (UNLPam)

Representantes Institucionales:

Estela Vera (FCV- UNL)

Sandra Núñez (UNNE)

Ana Jar (UBA)

JORNADAS CIENTÍFICAS ANTERIORES DE LA AAIV

- Primeras Jornadas y Reunión Anual. 2008, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Sociedad de Medicina Veterinaria).
- Segundas Jornadas y Reunión Anual. 2009, Rosario - Santa Fe (Colegio de Médicos Veterinarios de la Provincia de Santa Fe, 2ª Circunscripción).
- Terceras Jornadas y Reunión Anual. 2010, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Sociedad de Medicina Veterinaria).
- Cuartas Jornadas y Reunión Anual. 2011, Río Cuarto - Córdoba (Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto).
- Quintas Jornadas y Reunión Anual. 2012, Esperanza - Santa Fe (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral).
- Sextas Jornadas y Reunión Anual. 2013, Casilda - Santa Fe (Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Rosario).
- Séptimas Jornadas y Reunión Anual. 2014, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires).
- Octavas Jornadas y Reunión Anual. 2015, Tandil - Buenos Aires (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires).
- Novenas Jornadas y Reunión Anual. 2016, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Sociedad de Medicina Veterinaria).
- I Simposio Internacional y Décimas Jornadas y Reunión Anual. 2017, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires).
- Undécimas Jornadas y Reunión Anual. 2018, Salta (Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, Universidad Católica de Salta).
- Duodécimas Jornadas y Reunión Anual. 2019, La Plata (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata).
- Décimo terceras Jornadas y Reunión Anual 2021. Primer Reunión de la Red Latinoamericana de Inmunología Veterinaria. General Pico (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa).
- Décimo cuartas Jornadas y Reunión Anual 2022. Segunda Reunión de la Red Latinoamericana de Inmunología Veterinaria. Tandil (Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires).

PROGRAMA

LEMA: UNA SALUD, MIRADA DESDE LA INMUNOLOGÍA VETERINARIA

Jueves 2 de noviembre de 2023

8:30 – 9:00	Acreditación
9:00 – 9:15	Acto de apertura a cargo de las autoridades de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, de la Directora de AAIV y de la responsable de organización local.
9:15 – 10:00	Conferencia inaugural <i>“El desafío interdisciplinario en la pandemia COVID19: Aspectos relevantes durante el desarrollo de vacunas.”</i> Dr. Hugo Ortega. Director Centro de Medicina Comparada (ICIVET-Litoral UNL/CONICET).
10:00 – 10:15	Intervalo
10:15 – 12:15	Mesa redonda: “¿Tuberculosis Bovina, solo un problema de diagnóstico?”
10:15 – 10:45	“Mayor respuesta proinflamatoria y carga bacteriana en granulomas de becerros infectados naturalmente por <i>Mycobacterium bovis</i> ”. Dr. José Ángel Gutiérrez Pabello. Profesor Titular C Definitivo, Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.
10:45 – 11:15	“Diagnóstico serológico de la Tuberculosis bovina”. M. V. Dr. Sergio Garbaccio, responsable del Laboratorio de Micobacterias, Coordinador del Área de Bacteriología del Instituto de Patobiología Veterinaria (IP-IPVet), CICVyA, INTA.
11:15 – 11:45	“Nuevas herramientas complementarias para el control de la Tuberculosis bovina”. Dr. Claudio Paolazzi (Laboratorio Agropharma).
11:45 – 12:15	Espacio de debate. Coordinación: Dra. Ana Canal, M. V. Bernardo Alonso.
12:15 – 13:15	Almuerzo
13:15 – 15:00	Sesión de Póster Pitch sobre Respuesta Inmune en Infecciones y Vacunas
15:00 – 17:00	Mesa redonda: “Vacunas”
15:00 – 15:30	“RHABDO-LIKE RECOMBINANTE (VLPs): vacuna antirrábica recombinante veterinaria de nueva generación”. Dr. Diego Fontana. Docente del Laboratorio de Desarrollo Biotecnológico, Centro Biotecnológico del Litoral, Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas de la Universidad Nacional del Litoral. Investigador I&D de CEVA Biotecnofe (CEVA Santé Animale Group), Parque Tecnológico Litoral Centro, Santa Fe, Argentina.
15:30 – 16:00	“Hacia una vacuna contra la colonización de bovinos por <i>Escherichia coli</i> Enterohemorrágica (EHEC)”. Dr. Ángel Cataldi. IABIMO-INTA-CONICET.
16:00- 16:30	“Formulaciones basadas en nanopartículas inmunoestimulantes para la prevención de infecciones en ganado bovino”. Dra. Cecilia Camussone. Investigadora Adjunta CONICET. Instituto de Investigación de la Cadena Láctea y Docente Auxiliar Cátedra de Inmunología Básica. FBCB. UNL.
16:30 – 17:00	Espacio de debate. Coordinación: Dra. Alejandra Capozzo.
17:00 – 17:15	Intervalo
17:15 – 18:15	Espacio de la RedLatInVet: Conociéndonos.
17:15 – 17:45	“Aislamiento y caracterización de anticuerpos ampliamente neutralizantes frente a SARS-CoV-2”. Jesús Hernández. Investigador Titular. Laboratorio de Inmunología. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora. México.
17:45 – 18:15	“ <i>Fasciola hepática</i> modifica la respuesta inmune inducida por la vacunación contra el virus de la Fiebre Aftosa en bovinos”. Teresa Freire (Uruguay) Profesora Agregada Titular. Depto. Inmunobiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. Moderadora: Dra. Alejandra Capozzo.
18:30	ASAMBLEA AAIV-RED

Viernes 3 de noviembre de 2023

8:30 – 9:00	Acreditación
9:00 – 10:15	Mesa Redonda: “Animales de compañía y silvestres”.
9:00 – 9:30	“Interacción hospedero-parásito: Una mirada desde la Eco-inmunología en especies silvestres”. Dra. Andrea Racca. Investigadora Adjunta del CONICET. Instituto de Ciencias Veterinarias (ICIVET) del Litoral y Profesora Asociada en la Cátedra de Inmunología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNL.
9:30 – 10:00	“Dermatitis atópica canina, una hipersensibilidad desafiante”. M. V. Pablo Bartizaghi. Especialista en Salud de Animales de Compañía. Miembro de la Comisión Directiva de la Sociedad Argentina de Dermatología. Actividad clínica Privada
10:00 – 10:15	Espacio de debate. Coordinación: M.V. Estela Vera.
10:15 – 10:30	Intervalo
10:30 – 11:45	Mesa redonda: “Otras zoonosis en animales de interés pecuario”.
10:30 – 11:00	“Encefalitis equinas producidas por arbovirus: una revisión del pasado y presente en Argentina”. Dra. Lorena Spinsanti. Instituto de Virología “Dr. J. M. Vanella”, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba.
11:00 – 11:30	“Anticuerpos en Paratuberculosis bovina: ¿qué sabemos?”. Dra. Silvia Mundo. Profesora Titular, Cátedra de Inmunología. Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA.
11:30 – 11:45	Espacio de debate. Coordinación: Dra. Antonela Stassi.
12:00 – 13:40	Sesión de Póster Pitch sobre Diagnóstico inmunológico y Enseñanza de la Inmunología Veterinaria
13:40 – 14:30	Almuerzo
14:30 – 16:30	Conversatorio. “La inmunología en el contexto de Una Salud”, conducido y organizado por los Dres. Oscar Fay, Marcos Monteverde y Sergio Gorodischer, miembros del Comité Técnico de la Academia de Ciencias Médicas de Santa Fe, con preguntas y debate.
16:30 – 16:45	Intervalo
16:45 – 17:30	Conferencia de cierre. “Nuevos conocimientos del virus de la gripe: un virus que nos sorprende”, Dra. María Montoya González. Jefa del Laboratorio de Inmunología Viral: Terapias y Vacunas. Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) Margarita Salas. Madrid, España.

RESÚMENES

ÍNDICE DE SESIONES

COMUNICACIONES CORTAS	11 - 16
RESPUESTA INMUNE	17 - 36
VACUNAS	37 - 55
DIAGNÓSTICO	56 - 67
ENSEÑANZA DE INMUNOLOGÍA VETERINARIA	68 - 69

SESIÓN I. COMUNICACIONES CORTAS

INMUNÓGENOS EXPERIMENTALES PARA LA PREVENCIÓN DE MASTITIS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. ESTUDIO DE LA RESPUESTA INMUNE Y CAPACIDAD DE PROTECCIÓN LUEGO DE UNA INFECCIÓN EXPERIMENTAL

EXPERIMENTAL IMMUNOGENS FOR PREVENTION OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* MASTITIS. STUDY OF IMMUNE RESPONSE AND PROTECTIVE CAPACITY FOLLOWING EXPERIMENTAL INTRAMAMMARY INFECTION

Cicotello J^{1*}, Miotti C¹, Suarez Archilla GA¹, Alvarado W¹, Aliprandi D¹, Renna MS⁴, Calvinho LF³, Molineri A¹, Veaute C², Camussone CM¹

¹Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (INTA-CONICET), Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Santa Fe, Argentina

²Laboratorio de Inmunología Experimental, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

³Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Santa Fe, Argentina

⁴Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICIVET-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL-CONICET), Argentina

cicotelloj.joaquin@inta.gob.ar

Las infecciones intra-mamarias (IIM) por *S. aureus* constituyen uno de los principales problemas económicos y productivos que sufre la industria lechera en nuestra región y en el mundo (Dieser *et al.*, 2014; Persson *et al.*, 2011). Las medidas utilizadas para disminuir la incidencia de las IIMs se basan principalmente en buenas prácticas de higiene, especialmente durante el ordeño, y el uso de terapia antibiótica en casos clínicos durante la lactancia y en casos subclínicos al inicio del periodo seco. Sin embargo, el carácter crónico de la mayoría de las IIM por *S. aureus* y la limitada eficacia de la terapia antibiótica la convierten en una enfermedad difícil de controlar (Zecconi *et al.*, 2006). Este uso infructuoso de antimicrobianos (ATM) favorece la aparición de cepas bacterianas resistentes (RAM) (Molineri *et al.*, 2021), generando un riesgo para la salud pública. En este contexto resulta urgente desarrollar estrategias de prevención que permitan una disminución en la incidencia de IIMs por este microorganismo, reduzcan las pérdidas productivas, y optimicen el uso de ATM, minimizando la emergencia de RAM. La prevención a través de la vacunación es un objetivo ampliamente buscado, que se presenta como una herramienta importante destinada a disminuir la incidencia de esta patología.

Recientemente, nuestro grupo evaluó a campo la eficacia de una vacuna recombinante contra *S. aureus* formulada con un adyuvante liposomal de producción propia, suplementado con oligonucleótidos CpG (ODN-CpG) como inmunoestimulante (IS), en vacas de primera y segunda lactancia bajo condiciones de exposición natural. Los animales inmunizados presentaron un aumento significativo en la respuesta inmune humoral, así como una tendencia hacia una menor tasa de nuevas IIM por *S. aureus*, una prolongación del tiempo transcurrido hasta la aparición de una nueva IIM y una menor probabilidad de adquirir una IIM (Camussone *et al.*, 2022). Paralelamente, nuestro grupo desarrolló otras moléculas IS como: un surfactante aminoácido de tipo Gemini (AG2-C16), un oligosacárido de manosa hidrofobizado (Mananos), las cuales fueron evaluadas en ratones utilizando un antígeno modelo (Reidel, 2020).

En base a estos antecedentes, el objetivo de este trabajo fue obtener una serie de inmunógenos experimentales

contra IIMs por *S. aureus*, formulados con adyuvantes de producción propia y estudiar la respuesta inmune y capacidad protectora en bovinos inmunizados frente a una infección experimental.

En una primera etapa se obtuvieron los inmunógenos experimentales formados por cuatro antígenos recombinantes (Rec) de *S. aureus* (α toxina, β toxina, FnBPA y ClfA), y formulados con liposomas catiónicos suplementados con diferentes combinaciones de los siguientes IS: ODN-CpG, Mananos o AG2-C16. Luego, 50 vaquillonas de 7 a 10 meses de edad se dividieron al azar en 6 grupos. Cinco de ellos recibieron 2 dosis (0 y 21 días) de las siguientes formulaciones por la vía subcutánea en la tabla del cuello: Lip+ODN-CpG+Rec (n=7); Lip+AG2-C16+Rec (n=7); Lip+ODN-CpG+AG2-C16+Rec (n=12), Lip+Mananos+Rec (n=5) y Lip+ODN-CpG+AG2-C16 (n=7), mientras que el sexto grupo permaneció sin inmunizar: Control (n=12). A partir de muestras de sangre extraídas periódicamente se evaluaron los niveles séricos de anticuerpos específicos para cada uno de los antígenos por ELISA indirecto y la producción de IFN- γ en cultivos de sangre entera estimulada con ClfA y FnBPA, por ELISA de captura (Mabtech). Aproximadamente 8 meses posteriores al inicio del plan de inmunización se aplicó una dosis refuerzo a todos los animales y se analizó la respuesta inmune humoral. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico, que incluyó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis para evaluar las diferencias significativas entre las distintas formulaciones. Los grupos que presentaron mejor desempeño en cuanto a la respuesta inmune inducida, y el grupo sin inmunizar, fueron sometidos a un ensayo de protección frente a una IIM experimental. Para ello, aproximadamente un mes antes de la fecha estimada de parto, a todos los grupos se les administró una cuarta dosis como refuerzo preparto y se evaluaron periódicamente los niveles de anticuerpos específicos. Aproximadamente 30 días luego del parto dos cuartos mamarios de cada animal fueron inoculados con 100 unidades formadoras de colonias (UFC) de una cepa de *S. aureus*, previamente aislada y caracterizada por nuestro grupo, un tercer cuarto recibió una inoculación de 1 ml de solución salina de fosfato estéril (PBS), y el cuarto restante se mantuvo como control sin desafiar. Se recolectaron muestras de leche antes y después

de la inoculación durante 28 días, para el recuento de UFC/ml de *S. aureus*, el recuento de células somáticas (RCS), y la producción de IL-8. La comparación de los resultados obtenidos entre grupos se analizó de manera descriptiva.

Luego del primer esquema de inmunización (2 dosis), se observó un aumento en los niveles de IgG, IgG₁ e IgG₂ específicas en todos los grupos inmunizados respecto al grupo control, para los cuatro antígenos vacunales. Este aumento resultó significativo para IgG ($p < 0,05$) e IgG₂ ($p < 0,01$) contra α toxina, β toxina y ClfA y para IgG₁ ($p < 0,05$) contra los cuatro antígenos vacunales. Además, la inmunización provocó una respuesta celular específica dirigida hacia ClfA y FnBPA, con la producción de IFN- γ en los grupos Lip+ODN-CpG+AG2C16+Rec y Lip+Mananos+Rec, siendo el primero el que mostró una mayor producción de IFN- γ ($p < 0,05$).

Por otra parte, luego del refuerzo a los 8 meses (3ra dosis) se observó un aumento en los niveles de IgG en todos los grupos inmunizados, los cuales alcanzaron su valor máximo aproximadamente a los 20 días post inoculación. Esto demuestra que las formulaciones serían capaces de generar una respuesta inmune de memoria con el esquema aplicado. Se observó un aumento significativo de IgG ($p < 0,05$) e IgG₂ ($p < 0,05$) en el grupo Lip+ODN-CpG+AG2C16+Rec para los cuatro antígenos, mientras que el aumento de IgG₁ sólo fue significativo ($p < 0,05$) en los grupos inmunizados con α toxina, β toxina y ClfA. Los resultados obtenidos mostraron que las formulaciones Lip+ODN-CpG+AG2-C16+Rec y Lip+Mananos+Rec produjeron las respuestas inmunitarias más destacadas, por lo que fueron seleccionadas para el desafío experimental.

El refuerzo pre-parto (4ta dosis) en los grupos seleccionados resultó en un aumento en los niveles de IgG específica en comparación con los controles, entre los 15 y 20 días posteriores a su aplicación.

Los resultados preliminares del ensayo de desafío experimental muestran que en todos los animales desafiados se logró establecer una IIM definida como uno o más aislamientos consecutivos de *S. aureus* en leche. Todas las IIM desarrollaron comportamientos subclínicos, sin cambios macroscópicos en leche, inflamación o enrojecimiento del cuarto. Respecto al examen bacteriológico, durante los primeros 10 días después de la inoculación, se observa

una tendencia de mayor recuperación de bacterias en leche en los animales del grupo Lip+ODN-CpG+AG2-C16+Rec en comparación con los otros grupos que demostraron un comportamiento similar. En el recuento de células somáticas (RCS), se aprecia una tendencia similar, donde los animales inmunizados logran reclutar una mayor cantidad de células somáticas en el cuarto mamario afectado en comparación con el grupo control, aunque este aumento no se correlaciona con una disminución en el recuento bacteriológico. La producción de IL-8 analizada durante los primeros 7 días post inoculación se vio estimulada en todos los animales desafiados, principalmente entre los días 1 y 4. Sin embargo, en el grupo Lip+Mananos+Rec se observó un incremento mayor en la producción de esta citoquina en los primeros 2 días en comparación con los animales de los otros grupos.

Conclusiones. Las formulaciones Lip+ODN-CpG+AG2-C16+Rec y Lip+Mananos+Rec indujeron la respuesta humoral y celular con producción de anticuerpos específicos e IFN- γ , y la estimulación de la memoria inmunitaria.

Si bien todos los animales desafiados desarrollaron una nueva IIM, en los grupos inmunizados se observó una tendencia a un mayor reclutamiento de células somáticas al cuarto afectado con producción de IL-8, particularmente en los inmunizados con Lip+Mananos+Rec, sugiriendo que esta formulación favorecería una respuesta celular temprana. Los resultados obtenidos muestran la capacidad de las formulaciones adyuvantes para regular el perfil de respuesta inmune inducido y constituyen la base para futuros estudios de protección.

Dieser *et al.*, 2014; http://www.pvj.com.pk/pdf-files/34_1/124-126.pdf

Persson *et al.*, 2011. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-53-36>

Zecconi *et al.*, 2006. Staphylococcus aureus intramammary infections. Bulletin of the IDF. 408, 1-36.

Molineri *et al.*, 2021. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2021.105261

Camussone *et al.*, 2022. doi: 10.1016/j.rvsc.2022.02.014.

Reidel I, 2020. Tesis. Doctorado en Cs, FBCB, UNL. École Doctorale: Sciences Biologiques et Santé (Poitiers, France).

RESPUESTA INMUNE HUMORAL INDUCIDA POR LA VACUNACIÓN ANTI-*LEPTOSPIRA* EN BOVINOS NATURALMENTE EXPUESTOS A LA INFECCIÓN

HUMORAL IMMUNE RESPONSE INDUCED BY ANTI-*LEPTOSPIRA* VACCINATION IN CATTLE NATURALLY EXPOSED TO INFECTION

García F^{1*}, Ciuffo C¹, Urioste V², Lockhart B², Hamond C^{1,2}, Arévalo A³, Crispo M³, Gastal G², Buschiazzi A⁴, Zaranonelli L¹

¹Unidad Mixta Pasteur+INIA, Institut Pasteur Montevideo, Uruguay

²Plataforma de Salud Animal, INIA La Estanzuela, Colonia, Uruguay

³Unidad de Biotecnología de Animales de Laboratorio, Institut Pasteur Montevideo, Uruguay

⁴Laboratorio de Microbiología Molecular y Estructural, Institut Pasteur Montevideo, Uruguay

fgarcia@pasteur.edu.uy

La leptospirosis puede tener graves repercusiones en la eficiencia reproductiva del ganado bovino, como infertilidad, abortos o crías débiles y de bajo peso [1,2]. Los animales crónicamente infectados pueden ser portadores a largo plazo, albergando el patógeno en sus riñones y excretándolo en la orina, lo que perpetúa el ciclo de infección [1]. Para controlar esta enfermedad, las vacunas son esenciales. Actualmente las vacunas disponibles son bacterinas, esto es a base de bacterias enteras inactivadas [3]. Se sabe que las bacterinas inducen una respuesta inmune dirigida principalmente contra el lipopolisacárido (LPS) de la membrana [5]. La gran variabilidad estructural del dominio carbohidrato del LPS (antígeno O) correlaciona fuertemente con la variedad serológica de este género bacteriano, habiendo más de 350 serovares de *Leptospira* spp. descritos [4]. Es probablemente por ello que las bacterinas inducen poca o ninguna protección cruzada entre serovares distintos, limitando su eficacia a los serovares específicos incluidos en composición [5]. Justamente, la OIE recomienda que las vacunas contengan serovares de circulación local para lograr un control eficaz de la enfermedad [6]. Recientemente, en Uruguay, se aislaron más de cien cepas patógenas de *Leptospira* spp. en bovinos, incluyendo siete serovares de tres especies diferentes [7]. Sin embargo, las vacunas comerciales en Uruguay solo contienen dos de estas variantes: *L. borgpetersenii* serogrupo (sg) Sejroe serovar (sv) Hardjo y *L. interrogans* sg Canicola sv Canicola. Las otras cinco variantes identificadas no están incluidas en las vacunas disponibles.

En Uruguay, no existen estudios que evalúen la protección inducida por vacunas comerciales contra las variantes de *Leptospira* spp. que afectan al ganado bovino. Esta carencia subraya la necesidad de confirmar experimentalmente la eficacia de las vacunas disponibles. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la respuesta inmune generada por una vacuna de uso comercial polivalente contra la leptospirosis en terneras Holstein, expuestas a una posible infección natural en un predio con epidemiología positiva a la enfermedad (a campo).

Se seleccionó un establecimiento lechero donde el 4,5 % de las vacas adultas excretaba *Leptospira* spp. en la orina (detectadas mediante qPCR, del gen *lipL32* [8]). Se eligieron 60 terneras Holstein, entre 3 y 5 meses de edad, que dieron negativo a dos pruebas consecutivas de aglutinación microscópica (MAT, prueba de referencia [6]) para 24 serovares diferentes, con un punto de corte=50, y que también fueron negativas en dos análisis consecutivos de qPCR en orina.

De esas 60, un subgrupo de 30 animales recibió una vacuna comercial diseñada para prevenir enfermedades reproductivas, que incluía múltiples variantes de *Leptospira* spp.: *L. interrogans* serovares Canicola, Hardjo, Wolfii, Pomona, Icterohaemorrhagiae; *L. borgpetersenii* serovares Hardjo, Tarassovi y *L. kirschneri* serovar Grippotyphosa. A este subgrupo se lo denominó Grupo Vacunado (GV). El protocolo de vacunación incluyó una primera dosis a los 3-8 meses de edad (anotado como tiempo 0 del experimento), seguida de tres refuerzos a los meses 1, 7 y 15 post-vacunación. En el Grupo Control (GC), los animales (n=30) pasaron por todos los mismos manejos de mangas, sin recibir la vacuna contra *Leptospira* spp. Se tomaron muestras de sangre y orina mensualmente desde el tiempo 0 hasta quince días después del último refuerzo en el mes 15.

Se realizó un seguimiento para detectar posibles infecciones por exposición natural en el campo en el curso del experimento de vacunación, utilizando qPCR (gen *lipL32*) y cultivo microbiológico para identificar la bacteria en orina (leptospiuria). Combinando ambos métodos, se observó que 63 % (19/30) de los animales del GC y 66 % (20/30) de los animales del GV exhibieron al menos un episodio de leptospiuria positiva, durante los 15 meses de seguimiento. Además, 30 % (9/30) de los animales del GC y 23 % (7/30) del GV revelaron más de un episodio de leptospiuria. Dichos porcentajes no son significativamente diferentes comparando los subgrupos GC y GV (prueba de Fisher $p>0,05$).

La eficacia de la vacuna (medida en función de su capacidad para inhibir la excreción de *Leptospira* en orina) se estimó en un 20 %, considerando los resultados de animales con al menos dos episodios de leptospiuria positiva. Se calculó de la siguiente manera: $\text{Fracción Prevenible} = ((\% \text{ de animales excretores de leptospiurias del GC} - \% \text{ de animales excretores de leptospiurias del GV}) / (\% \text{ de animales excretores de leptospiurias del GC})) \times 100$. Usando PCR y secuenciación del ADNr 16S, se identificaron las especies *L. interrogans* y *L. borgpetersenii* en ambos grupos. Se tipificó la variante *L. borgpetersenii* sg Sejroe sv Hardjo empleando el cultivo de orina en medio Ellinghausen-McCullough-Johnson- Harris (EMJH) a 29 °C, así como métodos serológicos (prueba MAT) y moleculares (número variable de repeticiones en tándem, VNTR).

Para evaluar la respuesta inmune humoral inducida por la vacuna se midieron los títulos de anticuerpos aglutinantes en suero por MAT (Figuras 1 y 2).

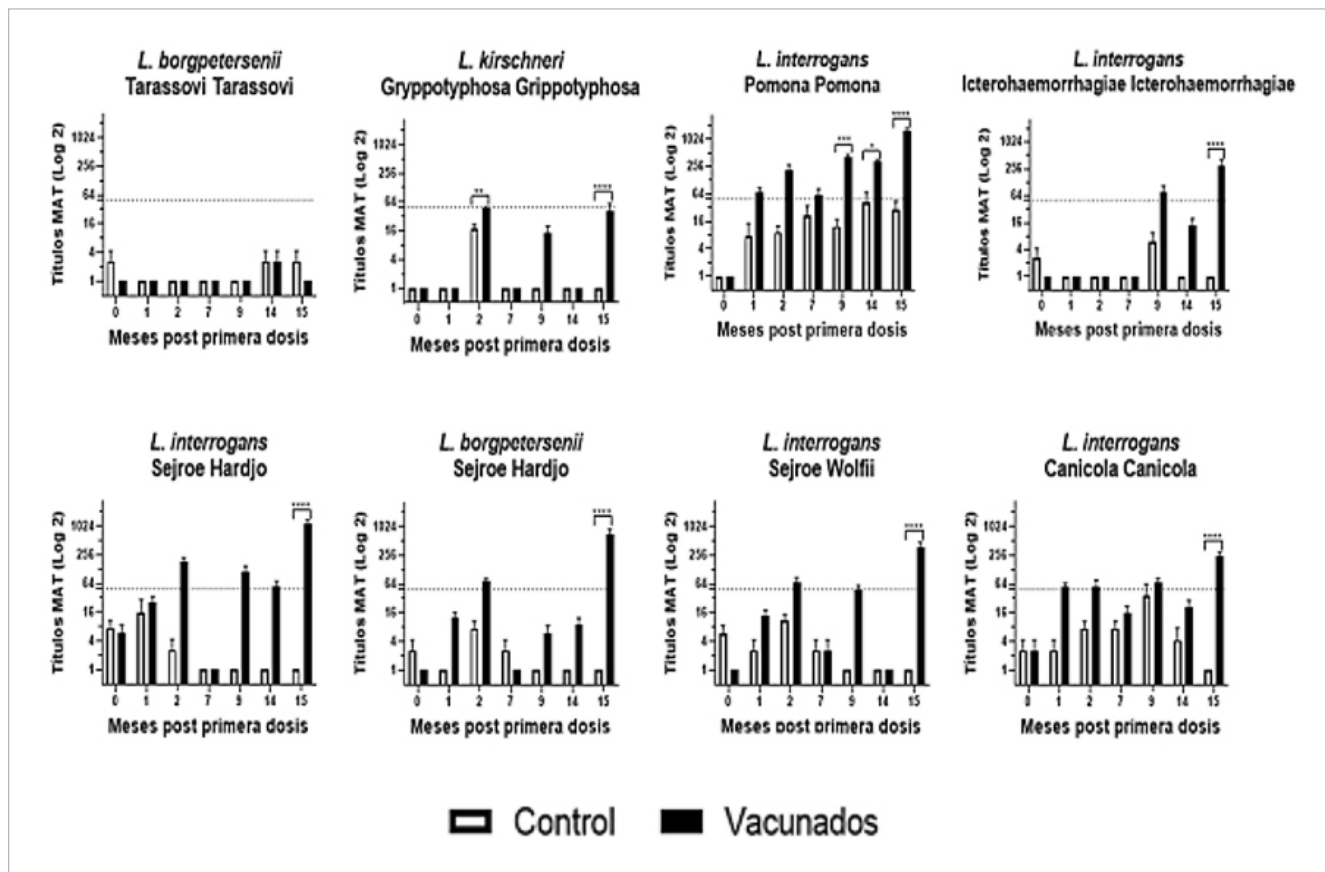


Figura 1. Títulos de anticuerpos aglutinantes en animales del GC y GV medidos por MAT contra antígenos homólogos a los incluidos en la vacuna (título de corte=50).

Entre los antígenos homólogos de la vacuna (Fig.1), el menos inmunogénico fue *L. borgpetersenii* sv Tarassovi. Sin embargo, se observó un aumento significativo de títulos de anticuerpos en el GV en comparación con el GC para los siguientes antígenos homólogos: *L. kirschneri* sv Gryppotyphosa después del primer (** $p=0,0017$) y tercer refuerzo (**** $p<0,0001$); *L.interrogans* sg Pomona sv Pomona después del segundo (** $p<0,001$) y tercer refuerzo (**** $p<0,0001$). Para *L.interrogans* sg Sejroe sv Hardjo, *L.borgpetersenii* sg Sejroe sv Hardjo, *L.interrogans* sg Sejroe sv Wolfii, *L.interrogans* sv Canicola y *L.interrogans* sv Icterohaemorrhagiae, solo se observaron diferencias significativas después del tercer refuerzo (**** $p<0,0001$, ANOVA bidireccional, prueba de Sidak).

En cuanto a los antígenos heterólogos (Fig.2), se registró una baja seroreactividad por MAT en todos los casos, excepto para *L.interrogans* sg Pomona sv Kennewicki, donde se observó un aumento significativo de títulos de anticuerpos solo después del tercer refuerzo (**** $p<0,0001$, ANOVA bidireccional, prueba de Sidak). Además, la seroreactividad contra este antígeno fue significativamente menor en comparación con el homólogo vacunal *L.interrogans* sg Pomona sv Pomona ($p<0,0001$, ANOVA unidireccional, prueba de Tukey) en el mismo período para los animales del GV. Asimismo, en ese tiempo, no se encontraron diferencias significativas entre *L.interrogans* sg Sejroe sv Hardjo y *L.borgpetersenii* sg Sejroe sv Hardjo. Los niveles de IgG anti-*Leptospira* en suero se midieron mediante un ensayo de ELISA *in house* utilizando cada uno de los antígenos homólogos y heterólogos (suspensiones bacterianas

inactivadas por calor). Se evaluaron sueros pre-inmunes, sueros colectados a los 7 meses del segundo refuerzo y 15 días luego del tercer refuerzo. Para los antígenos homólogos, se detectó una diferencia significativa en los niveles de IgG total solamente para *L.interrogans* sv Icterohaemorrhagiae ($p=0,0321$) y *L.borgpetersenii* sg Sejroe sv Hardjo ($p=0,0016$) en sueros del GV con un segundo refuerzo. Mientras tanto, luego del tercer refuerzo, se observaron mayores niveles de IgG en sueros del GV respecto a los del GC para los ocho antígenos homólogos ($p<0,0001$, ANOVA bidireccional, prueba de Sidak). Esto marca una diferencia respecto a los resultados obtenidos por MAT, donde no se observó una respuesta positiva para la variante *L.borgpetersenii* sv Tarassovi, y que puede explicarse por una mayor sensibilidad del ELISA en detectar anticuerpos anti-*Leptospira* reactivos contra antígenos proteicos conservados entre los diferentes serovares. Además, el tratamiento con calor realizado en el ELISA puede alterar o exponer diferentes estructuras, lo que influye en las diferencias de detección entre ambas pruebas.

Respecto a la reactividad contra los cinco antígenos heterólogos, se observó un aumento significativo en los niveles de IgG total en los animales del GV respecto al GC luego del tercer refuerzo, de manera similar a lo observado para antígenos homólogos ($p<0,0001$, ANOVA bidireccional, prueba de Sidak). En estas muestras de suero también se analizaron los niveles de isotipos IgG₁ e IgG₂ mediante el mismo método de ELISA, utilizando como antígeno la variante autóctona *L.interrogans* sg Pomona sv Kennewicki. Se detectó una diferencia significativa entre GC y GV únicamente para los sueros extraídos luego del tercer refuerzo vacunal, tanto para IgG₁ como

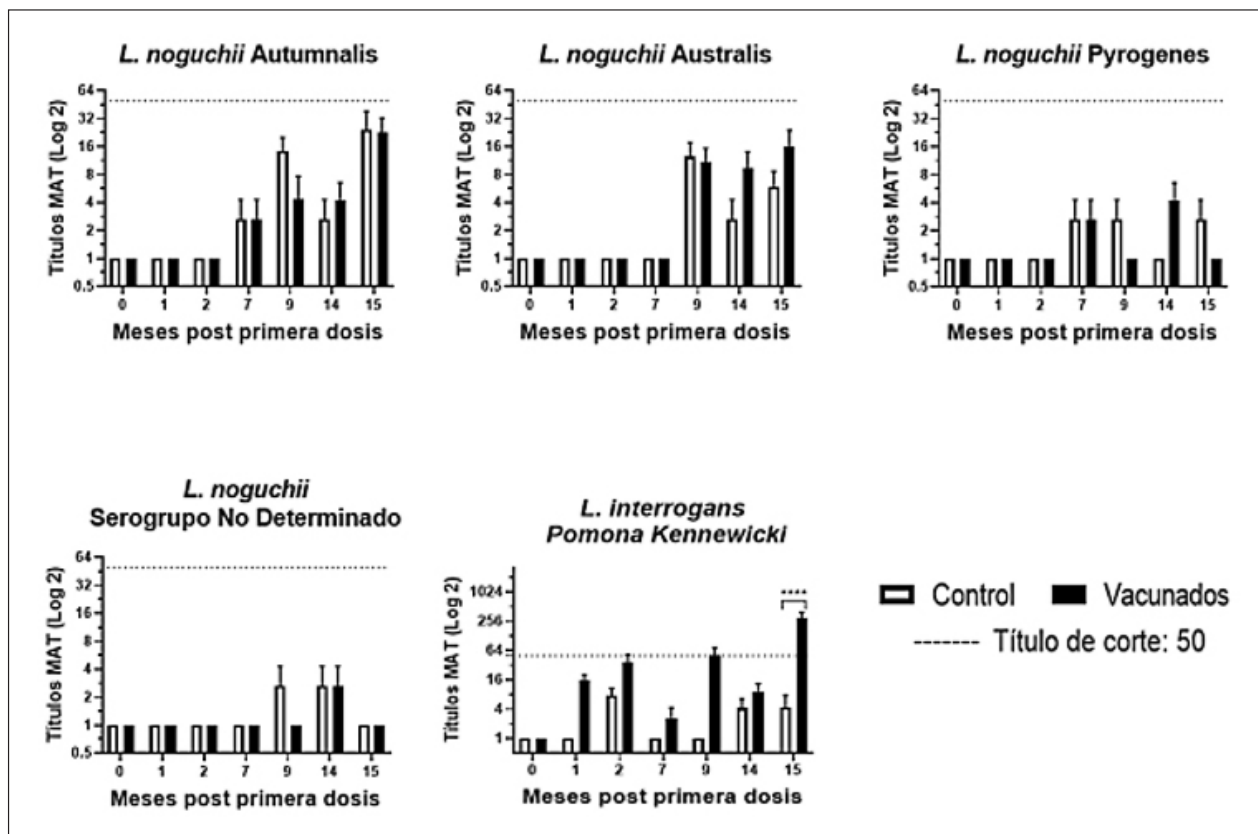


Figura 2. Títulos de anticuerpos aglutinantes medidos por MAT, contra antígenos heterólogos a los incluidos en la vacuna representativos de aislamientos locales en Uruguay: *L. interrogans* sg *Pomona* sv *Kennewicki*; *L. noguchii* serogrupos Australis, Autumnalis, Pyrogenes; y *L. noguchii* de serogrupo aún no determinado, para animales del GC y GV (punto de corte=50).

para IgG₂ ($p < 0.0001$, ANOVA bidireccional, prueba de Sidak). La capacidad neutralizante de los sueros de bovinos vacunados se estudió mediante una prueba de inhibición de crecimiento *in vitro*. Brevemente este método consistió en incubar una suspensión de leptospiras en fase exponencial de crecimiento con diferentes diluciones de los sueros a evaluar, midiendo la viabilidad bacteriana a los 10 días con el agente cromogénico AlamarBlue™. Se estudió la capacidad neutralizante contra todas las variantes de cepas aisladas de bovinos en Uruguay homólogas a la formulación de la vacuna (*L. interrogans* sg *Canicola* sv *Canicola* y *L. borgpetersenii* sg *Sejroe* sv *Hardjo*) y heterólogas (*L. interrogans* sg *Pomona* sv *Kennewicki*; *L. noguchii* serogrupos Australis, Autumnalis, Pyrogenes; y *L. noguchii* de serogrupo no determinado). Se analizaron sueros de 10 bovinos vacunados (GV) incluyendo uno y tres refuerzos (7 y 15 meses post-primera dosis, respectivamente) y de 10 animales del GC, seleccionados proporcionalmente de acuerdo a los títulos obtenidos por MAT. Se detectaron títulos inhibitorios del crecimiento *in vitro* significativamente mayores respecto a los sueros del GC en sueros de bovinos vacunados únicamente luego del tercer refuerzo y solo contra las variantes homólogas *L. interrogans* sg *Canicola* sv *Canicola* y *L. borgpetersenii* sg *Sejroe* sv *Hardjo* ($p = 0.0187$ y $p < 0.0001$, respectivamente, ANOVA bidireccional, prueba de Tukey).

Adicionalmente, se analizó la capacidad neutralizante de los anticuerpos inducidos por la vacunación en un modelo murino de infección por *Leptospira* spp. desarrollado en el laboratorio. Se evaluó la capacidad neutralizante mediante la transferencia pasiva de sueros bovinos, seguida de un desafío con cepas autóctonas de *L. interrogans* sg

Canicola sv *Canicola* (homóloga) y *L. interrogans* sg *Pomona* sv *Kennewicki* (heteróloga) (Protocolo CEUA Pasteur:003/2020-Anexo I).

Para cada variante de *Leptospira* evaluada se formaron cinco grupos de ratones hembra C57BL/6, cada uno compuesto por cinco ratones de 8-10 semanas de edad: en un grupo se les administraron sueros bovinos combinados del GV con un refuerzo (7 meses posteriores a la primera dosis), en otro grupo sueros bovinos con tres refuerzos (15 meses después de la primera dosis). Dos grupos adicionales recibieron sueros bovinos de los mismos períodos del GC. La administración de suero se realizó mediante inyección intraperitoneal de 200 μ l (GV y GC). También se incluyó un grupo de control de infección al que se le administró PBS. Seis horas post-inyección de los sueros, los animales fueron desafiados con una suspensión de 1×10^8 leptospiras por vía intranasal, simulando una vía de infección natural. Se tomaron muestras de sangre por punción submandibular 48 horas post-desafío, para cultivo microbiológico de la bacteria y cuantificación por qPCR[8]. Se colectaron muestras de orina utilizando cajas metabólicas en los días 15, 20, 25 y 28 post-desafío, para el estudio de la excreción urinaria de la bacteria mediante cuantificación por qPCR. Se realizó la eutanasia a los 30 días del inicio del experimento y a partir del tejido renal se detectó la presencia de leptospiras mediante qPCR, confirmando la viabilidad bacteriana mediante cultivo microbiológico en medio EMJH con 5-fluorouracilo.

A los 28 días post-desafío con el antígeno homólogo *L. interrogans* sg *Canicola* sv *Canicola* se detectó un menor número ratones con leptospiuria positiva en el grupo que recibió por transferencia pasiva sueros de

bovinos vacunados (GV), ya sea con uno o con tres refuerzos vacunales (0 de 5 animales en ambos casos), en comparación con aquellos que recibieron sueros del GC (5 de 5 animales, también para ambos períodos) ($p < 0,05$, prueba exacta de Fisher).

Similares resultados se obtuvieron cuando se realizó el desafío con el antígeno heterólogo *L. interrogans* sg *Pomona* sv Kennewicki, detectándose leptospiruria positiva en 3 de 10 animales luego de la transferencia de suero del GV con 1 refuerzo, versus 10 de 10 animales que recibieron suero bovino del GC. Se observó leptospiruria positiva en 1 de 10 animales luego de la transferencia de suero del GV con 3 refuerzos, mientras que la excreción de leptospirosis en orina fue positiva para los 10 ratones que recibieron suero bovino del GC ($p < 0,05$, prueba exacta de Fisher).

Cuando se estudió el tejido renal al final del ensayo, a los 30 días post-desafío, el número de animales con leptospirosis de ambas variantes detectadas por qPCR y por cultivo microbiológico en riñón fue similar para ambos grupos, independientemente del número de refuerzos vacunales recibidos ($p > 0,05$, prueba exacta de Fisher). Estos resultados sugieren que los anticuerpos anti-leptospira inducidos por la vacunación si bien pueden haber logrado un efecto de neutralización parcial retrasando la llegada de las bacterias al riñón, no fue esterilizante para proteger de la colonización bacteriana, tanto por la variante de *Leptospira* homóloga sg *Canicola* sv Canicola como por la variante heteróloga sg *Pomona* sv Kennewicki.

-La administración de la vacuna formulada con ocho antígenos de *Leptospira* spp. mostró una eficacia limitada en la prevención de la infección y colonización renal en bovinos expuestos a una posible infección natural a campo.

- La reactividad por MAT en sueros de bovinos vacunados prueba que la vacuna resultó ser inmunogénica para siete de los ocho antígenos de *Leptospira* spp. declarados en su formulación.

- El aumento en los niveles de IgG, incluyendo isotipos IgG₁ e IgG₂, alcanzados post-refuerzos evidencian una respuesta humoral de memoria.

- Los niveles de anticuerpos inducidos por la vacuna demostraron capacidad de neutralización *in vitro* solamente para las siguientes variantes autóctonas que además se encuentran declaradas en la formulación: *L. interrogans* sg Canicola sv Canicola y *L. borgpetersenii* sg Sejroe sv Hardjo.

- Los anticuerpos inducidos por la vacunación no demostraron capacidad neutralizante o esterilizante en el modelo de transferencia pasiva *in vivo* dado que no se logró impedir la colonización renal por las variantes *L. interrogans* sg Canicola sv Canicola y *L. interrogans* sg *Pomona* sv Kennewicki aisladas de bovinos.

Estos hallazgos evidencian la necesidad de desarrollar vacunas contra la leptospirosis desde la perspectiva de "Una Salud", con formulaciones dirigidas a proteger contra la infección y a interferir en el ciclo epidemiológico, considerando el papel central de los bovinos como hospederos y diseminadores de leptospirosis patógenas.

SESIÓN II. RESPUESTA INMUNE

EXTRACTOS DE LIPOPÉPTIDOS DE *BACILLUS* SPP. MODULAN LA RESPUESTA DE MACRÓFAGOS RAW 264.7 HACIA UN PERFIL ANTIINFLAMATORIO Y POSEEN ACTIVIDAD BACTERIOSTÁTICA ANTE PATÓGENOS ENTÉRICOS DE CERDOS

LIPOPEPTIDE EXTRACTS FROM *BACILLUS* SPP. MODULATE RAW 264.7 MACROPHAGES RESPONSE TOWARDS AN ANTIINFLAMATORY PROFILE AND INHIBIT GROWTH OF SWINE ENTERIC PATHOGENS

Di Giacomo* AL^{1,2}, Azcurra N¹, García G^{1,2}, Dogi C^{1,2}, González Pereyra ML^{1,2}

¹ Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina

² Instituto de Ciencias Veterinarias (INCIVET-CONICET-UNRC), Río Cuarto, Córdoba, Argentina

mlgonzalezpereyra@exa.unrc.edu.ar

El destete es un período estresante en la producción porcina que aumenta la susceptibilidad a diarreas causadas por *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) y *Salmonella* Typhimurium. Se estudió el efecto inmunomodulador y antimicrobiano de extractos de lipopéptidos (ELP) de *Bacillus* spp. para determinar su potencial como tratamiento. Se evaluó su efecto sobre la viabilidad de macrófagos RAW 264.7 y la producción de TNF- α ; IL-10 y óxido nítrico (ON) luego del desafío con LPS en células RAW 264.7 pre-tratadas con ELP y no tratadas. Se evaluó el efecto sobre la capacidad fagocítica y microbicida de los macrófagos pre-tratados con extractos conteniendo 0.01 a 60 $\mu\text{g/ml}$ de surfactina. Se calcularon la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM) contra ETEC y *S. Typhimurium*. Los ELP de los aislados MFF 2.2 y TC12, conteniendo 40 y 60 $\mu\text{g/ml}$ de surfactina, aumentaron significativamente ($p < 0.05$) la producción de IL-10 en

células no estimuladas (≤ 587 pg/ml) y estimuladas con LPS (≤ 155.20 pg/ml); redujeron significativamente ($p < 0.05$) la producción de ON (0.80 ± 0.05 a 1.19 ± 0.02). Los niveles de TNF- α fueron altos (> 1000 pg/ml) en todos los tratamientos y controles. Los extractos de TC12 con 60 a 0.1 $\mu\text{g/ml}$ de SF no comprometieron la viabilidad de los macrófagos ($V \% > 90 \%$). MFF 2.2 mostró efectos citotóxicos en las concentraciones más altas. MFF 2.2 y TC12 no afectaron la actividad fagocítica ni bactericida de los macrófagos e inhibieron el crecimiento de ETEC (CIM TC12: 29.08 $\mu\text{g/ml}$; MFF 2.2: 13.77 $\mu\text{g/ml}$) y *S. Typhimurium* (TC 12: 3.64 $\mu\text{g/ml}$; MFF 2.2: 0.86 $\mu\text{g/ml}$). Estos resultados sugieren que los ELP podrían mejorar potencialmente la salud intestinal de lechones durante el destete al reducir la inflamación e inhibir el crecimiento de patógenos, lo que tendría un impacto positivo en la salud animal y reduciría la necesidad de utilizar antibióticos.

HIDROGELES DE QUITOSANO INDUCEN EL RECLUTAMIENTO DE CÉLULAS INMUNES A LA GLÁNDULA MAMARIA BOVINA Y AUMENTAN LAS TASAS DE CURA BACTERIOLÓGICA DE INFECCIONES INTRAMAMARIAS CAUSADAS POR *STAPHYLOCOCCUS* SPP.

CHITOSAN HYDROGEL INDUCES IMMUNE CELL RECRUITMENT IN THE BOVINE MAMMARY GLAND AND INCREASES CURE RATES OF INTRAMAMMARY INFECTIONS CAUSED BY *STAPHYLOCOCCUS* SPP.

Breser ML^{*1,2}, Rampone A², Tiraboschi G¹, Issac P^{1,2}, Bohl LP^{1,2}, Bianco I³, Porporatto C^{1,2}

¹Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (IMITAB-CONICET), Villa María, Argentina

²Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María, Villa María, Argentina

³Centro de Excelencia en Productos y Procesos de Córdoba (CEPROCOR), Ministerio de Industria, Comercio, Minería y Desarrollo Científico Tecnológico de la Provincia de Córdoba, Córdoba, Argentina

laurabreser45@hotmail.com; laurabreser@gmail.com

La mastitis bovina es la patología de mayor impacto sanitario y económico dentro de la producción lechera argentina y de todo el mundo. Las bacterias del género *Staphylococcus* son los aislamientos más frecuentes en infecciones intramamarias de difícil tratamiento. Los antibióticos son la principal terapia para esta patología, pero su uso indiscriminado está reduciendo las tasas de cura. Previamente, hemos descripto que el quitosano (Qs) tiene un importante efecto antimicrobiano y antibiofilm, y que a su vez incrementa la actividad de macrófagos *in vitro*. El objetivo de este trabajo se enfocó en evaluar la actividad inmunoestimulante y eficacia terapéutica de secado en animales de producción. Se desarrollaron hidrogeles a base de Qs sólo (HQs) o combinado con cloxacilina (HQsClx). La actividad inmunoestimulante se evaluó en ubres sanas, posterior a la administración intramamaria. En muestras de leche se evaluó el recuento de células somáticas (RCS) y se caracterizaron las diferentes subpoblaciones de leucocitos

(citometría de flujo). Se encontró que el HQs genera un fuerte reclutamiento de neutrófilos y macrófagos en las primeras horas, comparado con el grupo control ($p < 0,001$). Se evaluó la eficacia terapéutica de: HQs (F4), HQsClx 600 mg (F1), HQsClx 120 mg (F2) y Grupo Control (formulación comercial) ($n=40$ por grupo). El seguimiento se realizó en muestras de leche, mediante el RCS y análisis microbiológico de cada cuarto, previo al secado y durante las cuatro semanas posteriores al parto. Se encontró que los HQs (F1, F2 y F4) presentaron tasas de cura bacteriológica del 68 %, 62 % y 55 %; y de 100 % para *Staphylococcus* spp., en comparación con el 36 % y 33 % para *Staphylococcus* spp. en el grupo control. Los datos obtenidos sugieren que los hidrogeles de Qs podrían ser una estrategia prometedora para el tratamiento de infecciones intramamarias, pudiendo reducir y/o reemplazar el uso de antibióticos en animales de producción.

LOS POLIMORFONUCLEARES APOYAN LA DISPERSIÓN DE *BRUCELLA* CON RECONOCIMIENTO INMUNE REDUCIDO

POLYMORPHONUCLEARS SUPPORT THE DISPERSION OF *BRUCELLA* WITH REDUCED IMMUNE RECOGNITION

Castillo-Zeledón A^{*1}, Alfaro-Alarcón A², Moreno E¹, Barquero-Calvo E¹

¹Programa de Investigación en Enfermedades Tropicales, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Heredia 3000, Costa Rica

²Departamento de Patología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica

amanda.castillo.zeledon@una.ac.cr

Se ha demostrado que *Brucella* induce una baja activación de polimorfonucleares (PMN) y sobrevive dentro de estos leucocitos resistiendo sus mecanismos microbicidas. *Brucella* también induce la muerte celular prematura de PMN, que liberan quimiocinas y expresan señales de "cómeme". Estos PMN son fagocitados por células mononucleares donde *Brucella* se replica. Esta evidencia sugiere que los PMN pueden comportarse como vehículos que protegen a la bacteria del reconocimiento inmune, favoreciendo su dispersión a los órganos blanco. En este estudio, analizamos el curso de la infección en ratones infectados intraperitonealmente con *B. abortus* sola (Ba) o con PMN infectados por *B. abortus* (Ba-PMN). Observamos que los ratones infectados con Ba-PMN tenían cargas bacterianas e índice patológicos de inflamación más bajos en el bazo y la médula ósea a los siete días de la infección en comparación con Ba. Sin embargo, las cargas bacterianas

fueron equivalentes a los 30 días posteriores a la infección. Los ratones infectados con Ba-PMN mostraron menos IFN-gamma e IL-6 al comienzo de la infección que el grupo Ba, pero con concentraciones similares al final del experimento. Los ratones infectados con Ba-PMN también mostraron menos títulos de anticuerpos anti-*Brucella* en el día 30 que el grupo Ba. No se observaron diferencias significativas entre los grupos infectados en los valores hematológicos a los 30 días. A pesar de que ambos grupos alcanzaron cargas bacterianas similares para el día 30, las cargas bacterianas y el parámetro inmunológico fueron menores al comienzo de la infección en el grupo Ba-PMN. Concluimos que el curso de la infección en el grupo Ba-PMN fue más sigiloso que en el grupo Ba. A pesar del curso más lento de la infección por *Brucella* en el Ba-PMN, los PMN apoyaron su dispersión en una medida similar, pero con un reconocimiento inmune reducido.

RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE IGY EN SUERO Y YEMA DE HUEVO EN TRES GENOTIPOS DE GALLINAS CAMPERAS

RELATIONSHIP BETWEEN SERUM AND EGG YOLK IGY CONCENTRATION IN THREE GENOTYPES OF FREE-RANGE HENS

Gherardi SM^{1*}, Fain Binda V¹, Di Masso R¹, Rondelli F¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario. Santa Fe. Argentina

silvina_gherardi@yahoo.com.ar

En la gallina, la IgY es transferida desde la circulación sanguínea hacia el oocito en maduración por transporte activo mediado por receptor y se ha demostrado que su concentración en yema está directamente relacionada con su nivel en sangre. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar la relación entre la concentración de IgY en suero y yema en tres genotipos de gallinas camperas. Se emplearon aves pesadas Campero Casilda (CC) y semipesadas Negra INTA (NI) y Rhode Island Red (RIR) de 72 semanas de vida criadas bajo las mismas condiciones experimentales. La concentración de IgY en suero y en yema de huevo se determinó por ELISA sándwich. Los datos concentración de IgY en yema *versus* concentración de IgY sérica se ajustaron por regresión no lineal con la función exponencial asintótica de Brody ($IgY_{yema} = A \cdot (1 - B \cdot e^{-k \cdot IgY_{sérica}})$) donde A es el valor asintótico y k la velocidad

de aproximación al mismo. Se constató un buen ajuste del modelo (test de rachas o ciclos) y se rechazó la hipótesis de una única función para los tres genotipos ($F = 18,57$; $p < 0,0001$), diferencia atribuible al comportamiento de CC (NI vs. RIR: $F = 1,184$; $p = 0,338$). CC presentó menor valor asintótico (4,69 mg/mL) que las aves semipesadas (6,94 mg/mL con similar velocidad para alcanzarlo (CC: 0,5595; NI: 0,5753; RIR: 0,5963). Los resultados ponen en evidencia la existencia de un límite de concentración de IgY capaz de ser transferible desde el torrente sanguíneo a la yema de huevo (comportamiento asintótico) y que dicho límite difiere entre grupos genéticos, dinámica de trascendencia en gallinas reproductoras en términos de inmunidad pasiva, dada la función protectora de dicha inmunoglobulina para el pollito.

INDICADORES DE DAÑO MUSCULAR Y HEPÁTICO EN ROEDORES EXPUESTOS A DESAFÍOS AMBIENTALES Y A INFECCIÓN

INDICATORS OF MUSCLE AND LIVER DAMAGE IN RODENTS EXPOSED TO ENVIRONMENTAL CHALLENGES AND INFECTION

Simon AN^{1*}, Palavecino CC¹, Marini MR², Ruiz MF³, Racca AL¹

¹Laboratorio de Ecología de Enfermedades, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVetLitoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina. *Becaria CIN

²Laboratorio de Anatomía Patológica del Hospital de Salud Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral (UNL)

³Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital de Salud Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral (UNL)

alenahirsi@gmail.com

El estudio del impacto que representan diferentes escenarios de infección y contexto ambiental en el estado de salud de los animales resulta de especial relevancia en el campo de veterinaria y salud pública. El objetivo aquí es evaluar indicadores de la condición de salud en roedores (*Rattus norvegicus*, var. Wistar/Cmedc) ante infección por *Trypanosoma cruzi* en co-infección con *Trichinella spiralis* y exposición a desafíos ambientales. Se realizó un experimento de 10 semanas con un total de 64 ratas macho adultas. Luego de 4 semanas de exposición a: i-ningún desafío, ii-restricción alimentaria, iii-hacinamiento o iv-ambas, las ratas fueron inoculadas con ambos parásitos o sólo con *Trypanosoma cruzi*. Seis semanas post-infección se determinaron los niveles plasmáticos de las enzimas alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST). También analizamos muestras histológicas de hígado: por cada individuo, se tomaron 40 fotos al azar en campo 400x con microscopio Leica. Se realizó el análisis de daño hepático mediante el recuento

de células mononucleares infiltrantes (células infiltradas/mm²) a través del programa Image Pro 3. Se encontró un mayor número de células infiltradas por área en animales coinfectados con el nematodo, independientemente de los desafíos ambientales ($p < 0.0005$). En cuanto a los niveles de ALT no se obtuvieron diferencias significativas entre desafíos ambientales y el estado de infección ($p > 0.05$), pero con respecto a AST se encontraron mayores niveles en animales coinfectados ($p < 0.0005$). Estos resultados sugieren que el aumento de AST podría indicar daño muscular causado por los parásitos, ya que AST también es un marcador de daño muscular. La incorporación de nuevas evaluaciones de indicadores de salud frente a diferentes escenarios ambientales, resulta relevante en el estudio de la modulación de las estrategias de defensa. Para futuras investigaciones sería valioso no sólo tomar en cuenta las propiedades cuantitativas a la hora de analizar resultados sino también las cualitativas.

DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE LA RESPUESTA INMUNE DE *CAIMAN LATIROSTRIS* EN CONDICIONES DE ESTRÉS MEDIADA POR FITOHEMAGLUTININA

DETERMINATION OF IMMUNE RESPONSE CAPACITY IN *CAIMAN LATIROSTRIS* UNDER STRESS CONDITIONS USING PHYTOHEMAGLUTININ

Moleón MS^{1*}, Mestre AP², Belotti EM³, Siroski PA¹

¹Laboratorio de Ecología Molecular Aplicada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

²Laboratorio de Genética, Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Humanidades y Ciencias, Universidad Nacional del Litoral (FHUC-UNL), Santa Fe Argentina

³Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

soledad.moleon@icivet.unl.edu.ar

Los yacarés (*Caiman latirostris*) son organismos que han desarrollado sus mecanismos inmunes innatos (SII) de una manera muy eficaz. Sin embargo, estos mecanismos podrían verse alterados por determinados factores de estrés a los que sus poblaciones se encuentran expuestas, pudiendo afectar su crecimiento, reproducción y supervivencia. De este modo resulta necesario estudiar y comprender las funciones inmunitarias en los ensayos inmuno-ecológicos. Para evaluar los efectos de determinados factores de estrés sobre el SII, se seleccionaron 12 caimanes juveniles machos provenientes de ocho nidos diferentes y criados en cautiverio, se midieron, pesaron y fueron distribuidos en tres tratamientos: 1- restricción del movimiento, 2-inyección de hormona adrenocorticotrófica hipofisaria (ACTH) y 3- control: inyección de Phosphate-buffered saline (PBS). Posteriormente todos recibieron una inyección de fitohemaglutinina (PHA). Luego de 24 y 48 h del desafío

con PHA, se midió la respuesta de inflamación y se tomaron muestras de piel con las que se llevó a cabo el análisis de cortes histológicos para la observación de los efectos sobre los componentes celulares del tejido después del desafío. Se observaron diferencias en la respuesta de inflamación por PHA a lo largo del tiempo, pero no entre tratamientos. En la examinación histológica se pudieron identificar células similares a linfocitos, granulocitos (heterófilos y eosinófilos) y macrófagos infiltrados en el tejido epitelial, validando así el uso de PHA como estimulante de la respuesta inmune en la especie. Una infiltración máxima de linfocitos y granulocitos ocurrió a las 24 h en el grupo de animales con estrés físico en comparación con los controles, mientras que la infiltración máxima de macrófagos se registró a las 48 h en este mismo grupo en comparación con los controles. Similares resultados fueron reportados en anfibios, aves y otras especies de cocodrilianos.

RECUPERACIÓN MUSCULAR LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LASER Y MAGNETO TERAPIA EN EL OFIDISMO BOTHRÓPICO

MUSCLE RECOVERY AFTER LASER AND MAGNETOTHERAPY ADMINISTRATION FOR BOTHROPIC INTOXICATION

López-Ramos ML^{1*}, Fidanza M², Saravia DE¹, *Nuñez SE⁵, Lockett MB¹, Maruñak SL⁴, González KY³, Frette MJ¹, Lemos A¹, Teibler P⁴

¹Hospital Escuela Veterinario, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste

²Consultorio externo. Veterinaria independiente, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste

³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

⁴Cátedra de Farmacología y Toxicología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste

⁵Cátedra Inmunología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste

mayritalopez2011@hotmail.com

La serpiente (*Bothrops alternatus*) es causante de numerosos accidentes ofídicos en nuestro país. Su veneno es marcadamente proteolítico, hemorrágico y miotóxico. Debido a este último efecto, el daño tisular local se desarrolla rápidamente causando necrosis que es relevante ya que podría conducir a una regeneración tisular deficiente con la manifestación de secuelas permanentes asociada a pérdida de tejido, disfunción y fibrosis. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de regeneración muscular de un conejo luego de la inoculación de veneno de Ba, tratado con láser y magnetoterapia. Para ello se inocularon 2 conejos con 40 µg del veneno de Ba en 0,1 ml de solución salina en el músculo bíceps femoral derecho, posteriormente se administró suero antiofídico, y a partir de las 24 horas de la inoculación con el veneno, uno de los conejos recibió fisioterapia por un período de 28 días, mientras que el otro no (control). Este trabajo reveló que el veneno causó lesiones

locales con dolor intenso y síntomas evidentes en ambos conejos. Los valores séricos de CPK a los 29 días fueron más bajos en el conejo tratado, aunque la regeneración de las fibras musculares no alcanzó el tamaño de fibras normales. Destacamos que la fisioterapia demostró ser efectiva al mejorar el bienestar de los animales involucrados en accidentes con Ba, reduciendo el dolor y promoviendo una recuperación más rápida en términos de movilidad. Sin embargo, a pesar de la mejora en el comportamiento y los bajos niveles de CPK, el análisis ecográfico e histopatológico evidenció que la regeneración muscular no fue completa exponiendo al tratamiento convencional por 28 días. Estos hallazgos subrayan la importancia de abordar las consecuencias del envenenamiento por serpiente por un periodo mayor de 28 días, de manera integral, incluyendo en el tratamiento estrategias de rehabilitación para minimizar secuelas a largo plazo.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE VESÍCULAS EXTRACELULARES DE CALOSTRO DE VACAS INFECTADAS CON EL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF EXTRACELLULAR VESICLES FROM COLOSTRUM OF BOVINE LEUKEMIA VIRUS-INFECTED CATTLE

Pérez CV*, González DD, Carignano HA, Porta N, Jaworski JP, Trono KG, Mongini C

Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

perez.cecilia@inta.gob.ar

Las vesículas extracelulares (VEs) y en particular las pequeñas VEs como los exosomas tienen un rol muy importante en la comunicación celular. Poseen un tamaño de 60-100 nm, son producidas por diversos tipos de células, como los reticulocitos, células dendríticas, linfocitos B y T, entre otras. Han sido aisladas de suero, orina, líquido cerebro espinal, leche y calostro. Aunque las fuentes de los exosomas son diversas, poseen características comunes, como la estructura de bicapa lipídica, el tamaño, la densidad, la presencia de ARNs codificantes y/o no codificantes, como los microARNs, y de algunas proteínas marcadoras. El virus de la leucosis bovina (BLV) es un deltaretrovirus oncogénico. Es el agente causal de la leucosis bovina enzoótica. Está muy extendido en el ganado doméstico, sobre todo en América y partes de Europa, Asia y Oriente Medio. El objetivo fue aislar y caracterizar las VEs a partir del calostro de vacas infectadas con BLV y determinar la presencia de proteínas

virales. El estatus de BLV fue determinado por serología y mediante la detección de provirus por la técnica de PCR. Las VEs fueron aisladas del calostro de vacas infectadas o no con BLV, por el método clásico de centrifugación diferencial, ultrafiltración y ultracentrifugación. Por microscopía electrónica de transmisión se determinó una población heterogénea con un tamaño de 60-120 nm, con una morfología característica de VEs. Mediante citometría de flujo se evidenció la presencia de CD9 y CD63, marcadores de VEs y, utilizando anticuerpos IgY anti-BLV, determinamos la presencia de proteínas virales en las VEs provenientes de calostro de vacas BLV +. Desarrollamos una técnica para el aislamiento y la caracterización de VEs a partir del calostro bovino. La presencia de proteínas virales en las VEs aisladas podría tener relevancia en la inducción de una respuesta inmune antiviral en los terneros recién nacidos.

EL ACEITE ESENCIAL DE *MINTHOSTACHYS VERTICILLATA* REGULA LA INFECCIÓN POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN CÉLULAS EPITELIALES DE GLÁNDULA MAMARIA BOVINA VÍA NFκB E INHIBICIÓN DE CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS

MINTHOSTACHYS VERTICILLATA ESSENTIAL OIL REGULATES *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* INFECTION IN BOVINE MAMMARY GLAND EPITHELIAL CELLS VIA NFκB AND INHIBITION OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES

Arsaute S^{1*}, Montironi ID¹, Cecchini ME¹, Moliva M¹, Reinoso E¹, Cariddi LN¹

¹Instituto de Biotecnología Ambiental y Salud - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (INBIAS-CONICET), Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina

lcariddi@exa.unrc.edu.ar

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del aceite esencial (AE) de *Minthostachys verticillata*, con capacidad inmunomoduladora demostrada, en células epiteliales de glándula mamaria bovina (MAC-T) infectadas con una cepa de *Staphylococcus aureus* (Sa) aislada de vacas con mastitis. Las células fueron estimuladas con a) AE (100 µg/mL) durante 2, 6, 24 y 48 h; b) Sa inactivado (iSa) (5x10⁶ UFC/mL) durante 2 h y c) pretratadas con AE (2, 6, 24 y 48 h) y desafiadas con iSa 2 h. En sobrenadantes se cuantificaron IL-1β, IL-6 e IL-4 por ELISA. Se determinó la expresión de NFκ-B por qPCR. Se evaluó el efecto del AE sobre la adherencia e internalización de Sa. Las células estimuladas con iSa produjeron niveles significativos de IL-1β e IL-6 (p<0,001) y valores bajos de IL-4 a todos los tiempos. Las células estimuladas con AE produjeron

p<0,05) que disminuyeron a las 48 h y de IL-4 entre las 2 y las 48 h (p<0,05; p<0,001). Las células pretratadas con AE y desafiadas con iSa, produjeron altos niveles de IL-1β e IL-6 entre las 2 y 6 h (p<0,05) que disminuyeron entre las 24 y 48 h (p<0,001). Los valores de IL-4 fueron más elevados entre las 24 y 48 h. La expresión de NFκB aumentó en las células estimuladas con iSa (p<0,001). En las células pretratadas con AE y desafiadas con iSa la expresión de NFκB fue significativamente menor (p<0,001). El AE no afectó la adherencia de Sa, aunque inhibió su internalización (p<0,001). AE reguló la infección de Sa en células MAC-T modulando negativamente la expresión de NFκB impidiendo su internalización y producción de citoquinas proinflamatorias. Este producto natural sigue siendo estudiado para su aplicación en el control de la mastitis bovina.

ESTUDIO DE LA PATOGENIA DE UNA VARIANTE ANTIGÉNICA DEL VIRUS DE LA ENFERMEDAD INFECCIOSA DE LA BURSA

STUDY OF THE PATHOGENESIS OF AN ANTIGENIC VARIANT OF THE INFECTIOUS BURSAL DISEASE VIRUS

Jaton J^{1*}, Lucero MS¹, Rizzi L¹, de Rosa J¹, Pinto S², Gravisaco MJ¹, Berinstein A¹, Gomez E¹, Chimeno Zoth S¹

¹Laboratorio de Inmunología y Vacunas Aviares, Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Buenos Aires, Argentina

²Cátedra de Patología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

jaton.juan@inta.gob.ar

La enfermedad infecciosa de la bursa (IBV) es una enfermedad viral que produce inmunosupresión en animales jóvenes. Esta es causada por el virus de la enfermedad infecciosa de la bursa (IBDV), el cual infecta linfocitos B inmaduros y altera el estado inmunológico humoral de las aves, de esta manera facilita la entrada de otros patógenos e interfiere con la vacunación. Existen variantes antigénicas del IBDV que pueden evadir la protección generada por la vacunación. Por ello, es crucial caracterizar la patogenia producida por estas variantes y evaluar si requieren medidas preventivas como el diseño de nuevas vacunas que las incluyan. El objetivo de este trabajo fue evaluar la patogenia causada por una variante antigénica aislada de campo perteneciente al genogrupo 4 (G4) en comparación con un aislamiento clásico de genogrupo 1 (G1). Para ello se infectaron pollos White Leghorn comerciales con la variante G4 (N=10) o con un aislamiento clásico de G1 (N=10) de IBDV por vía oral a los 28 días de edad. Además, se inoculó

por vía oral un grupo con PBS. A los 7 días post-infección (dpi), se realizó la eutanasia de las aves y se evaluó la relación bursa/cuerpo (BC), el daño histológico, la carga viral y las poblaciones linfocitarias. Pudimos determinar diferencias significativas en algunos de los parámetros medidos. En particular, observamos que los animales del grupo G4 exhibieron una relación BC menor y mayor proporción de animales con daño histológico en la bursa. En lo que respecta a las poblaciones linfocitarias, observamos que tanto las células Bu+ como las CD3+/CD25+ se vieron afectadas en los animales desafiados con la variante G4. Los resultados obtenidos sugieren que la variante G4 causa una patogenia similar a la cepa clásica G1, aunque en ciertos parámetros, las aves desafiadas con G4 presentan mayor grado de afección. Este estudio muestra la necesidad de implementar medidas para prevenir las pérdidas que causan estos aislamientos locales de IBDV en la industria avícola.

EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIVIRAL DE IVERMECTINA PARA EL CONTROL DE HERPESVIRUS BOVINO

EVALUATION OF THE ANTIVIRAL EFFECT OF IVERMECTIN FOR THE CONTROL OF BOVINE HERPESVIRUS

Martínez C^{*3}, Maidana S, Franco D^{1*}, Romera SA^{1,2,3}

¹Instituto de Virología, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas. (CICVyA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires. Argentina

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

³Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Reconquista, Santa Fe, Argentina

⁴Universidad del Salvador, Pilar, Buenos Aires. Argentina

romera.alejandra@inta.gob.ar

El herpesvirus bovino tipo 1 (BoHV-1) es uno de los principales patógenos de la Enfermedad Respiratoria Bovina (ERB) causando grandes pérdidas económicas. La ivermectina (IVM) es un fármaco con acción antiparasitaria, utilizado tanto en medicina humana como veterinaria con actividad antiviral *in vitro* contra diversos virus como VIH, virus del Nilo, Zika y los incluidos en la ERB. El objetivo del trabajo fue evaluar en bovinos la eficacia protectora de la Ivermectina administrada por vía subcutánea para reducir infecciones con BoHV-1. Se trabajó con 15 animales distribuidos en tres grupos. El grupo 1 control de desafío sin tratamiento, grupo 2 desafiados y tratados con ivermectina (IVOMECA al 1 %, 0,2 mg/kilo) al día 0 y 5 post desafío y el grupo 3 control vacunado con 3 ml de vacuna contra ERB comercial (im). Todos los grupos fueron desafiados con 3 ml por nostril de BoHV-1 (10^7 DICT50/ml). Se evaluaron

anticuerpos por ELISA. Se registraron según un *score* de 0 a 4 los signos clínicos durante 22 días post desafío (dpd), se tomaron secreciones nasales durante 14 dpd. En animales desafiados sin tratamiento se observaron signos más severos (*score* 3 y 4) con mayores títulos de excreción viral 10^6 DICT50/ml promedio en el pico de excreción los días 5 y 6 dpd respecto de los tratados con ivermectina (10^{4-5} DICT50/ml) o vacunados (10^{4-5} DICT50/ml) registrándose en estos grupos un *score* de 2 en el pico. A los 45 dpd los niveles de anticuerpos totales inducidos fueron altos en todos los grupos de animales entre 2,5 a 3. Los resultados presentados muestran que el tratamiento con ivermectina redujo tanto la cantidad de virus, el periodo de excreción como los signos clínicos, de forma similar al grupo vacunado, resultando una buena opción para el control de la infección por BoHV-1 en bovinos.

PUESTA A PUNTO DE UN MODELO DE INFECCIÓN INTRAMAMARIA Y PERSISTENCIA EN RATONES INOCULADOS CON DOS CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

ESTABLISHMENT OF AN INTRAMAMMARY INFECTION AND PERSISTENCE MODEL IN MICE INOCULATED WITH TWO *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* STRAINS

Silvestrini P^{1,2}, Simonutti V^{*1,2}, Soria MF^{1,2}, Engler C^{1,2}, Taborda P², Beltramino F², Rebelindo E², Renna MS^{1,2}, Dallard B^{1,2}, Baravalle C^{1,2}

¹Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICIVET-Litoral, Universidad Nacional del Litoral –Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), Esperanza, Santa Fe, Argentina

²Centro de Medicina Comparada, ICIVET-Litoral (Universidad Nacional del Litoral – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas), Esperanza, Santa Fe, Argentina

paula.silvestrini@yahoo.com.ar

Se puso a punto un modelo de infección intramamaria (IIM) y persistencia en ratones utilizando dos cepas de *Staphylococcus aureus* de mastitis bovina (Cepa 806, no persistente y Cepa 5011, persistente) como herramienta para el estudio de poblaciones celulares que intervengan en la cronicidad del proceso. Seis hembras por grupo en postparto temprano fueron inoculadas en dos glándulas mamarias (GM) con 100 µl conteniendo 1E+05, 1E+06 y 1E+07 unidades formadoras de colonias (UFC)/GM de la cepa 5011, 100 µl conteniendo 1E+05, 1E+06 y 1E+07 UFC/GM de la cepa 806 y 100 µl de solución fisiológica estéril. Luego del sacrificio y extracción de las GM se evaluó la recuperación bacteriana a las 24, 72 y 168 h post inoculación mediante determinación de UFC/peso de GM (n=4 GM/tiempo). Además, se realizó un examen histopatológico de las GM teñidas con hematoxilina-eosina, estableciéndose un índice de infección (II)/tiempo semicuantitativo del 1 al

5 (1: GM normal con ausencia de infiltrado celular y 5: GM necrótica con elevado infiltrado y exudado celular). Para la cepa 806, la recuperación bacteriana en GM inoculadas con 1E+05 UFC/GM fue menor comparado a las concentraciones 1E+06 y 1E+07 UFC/GM en los tiempos evaluados (p<0,05). El II varió entre 1-2 para la concentración de 1E+05 UFC/GM en los tiempos evaluados mientras que, para las otras dos concentraciones, fue entre 2-4. Para la cepa 5011, la recuperación bacteriana de GM inoculadas con 1E+05 y 1E+06 UFC/GM fue menor comparado a la concentración de 1E+07 UFC/GM (p<0,05). Sin embargo, el II fue entre 1-2 para la concentración de 1E+05 UFC/GM mientras que para las concentraciones de 1E+06 y 1E+07 UFC/GM fue entre 1-3. Se seleccionó la concentración 1E+05 UFC/GM para ambas cepas para futuros ensayos que involucren el estudio de poblaciones celulares inmunes entre otras variables.

CARACTERIZACIÓN DE LINFOCITOS $T\gamma\delta$ SISTÉMICOS BOVINOS DURANTE UNA INFECCIÓN INTRAMAMARIA EXPERIMENTAL POR DOS CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

CHARACTERIZATION OF BOVINE SYSTEMIC $T\gamma\delta$ LYMPHOCYTES DURING AN EXPERIMENTAL INTRAMAMMARY INFECTION WITH TWO *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* STRAINS

Engler C^{1*}, Pirola S¹, Simonutti V¹, Beccaria C^{1,2}, Silvestrini P¹, Calvinho LF², Dallard BE^{1,2}, Baravalle C^{1,2}, Renna MS^{1,2}

¹Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICIVET-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL)/Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina

²Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Santa Fe, Argentina

carolinaengler@outlook.es

El objetivo propuesto fue evaluar y caracterizar linfocitos $T\gamma\delta$ WC1+ (LT $\gamma\delta$) sistémicos después de una infección intramamaria experimental con dos cepas de *S. aureus* con diferente genotipo y capacidad de adaptación a la glándula mamaria bovina (persistente-P y no persistente-NP). Se inocularon, por vía intramamaria, tres grupos de vacas Holstein clínicamente sanas (4 vacas/grupo) en dos cuartos mamarios con la cepa NP, con la cepa P de *S. aureus* o con solución salina (grupo control). Se recolectaron muestras de sangre periférica a los 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 7, 14 y 21 días post inoculación (pi) para estudiar y caracterizar a los LT $\gamma\delta$ por citometría de flujo. Los resultados se analizaron mediante ANOVA de medidas repetidas. No se observó un efecto de la infección a lo largo del tiempo en los porcentajes de LT $\gamma\delta$, ni en los porcentajes de estas células activadas (LT $\gamma\delta$ CD25+), o que expresan CD80 o MHC II ($p > 0,05$) entre los

grupos evaluados. Sin embargo, en los animales inoculados con la cepa NP se observó un aumento en los porcentajes de LT $\gamma\delta$ totales y una disminución en el porcentaje de LT $\gamma\delta$ CD80+ durante los dos primeros días pi y de LT $\gamma\delta$ MHC II+ desde el día 1 pi con respecto a los grupos experimentales restantes ($p \leq 0,05$). Finalmente, se observó un efecto de la infección a lo largo del tiempo en los porcentajes de LT $\gamma\delta$ CD86+ ($p = 0,001$). En los animales inoculados con la cepa P se observó una disminución en los porcentajes de estas células al día 0.5 y 21 pi con respecto a los grupos experimentales restantes ($p < 0,05$). Como diferentes cepas de *S. aureus* influyen en el comportamiento de los linfocitos LT $\gamma\delta$, estudiarlos y caracterizarlos podría profundizar los conocimientos sobre la respuesta inmune de tipo celular que pueda ser clave en el diseño de vacunas frente a la infección por *S. aureus*.

PERFIL DE CITOCINAS INDUCIDO EN CÉLULAS MONONUCLEARES DE SANGRE PERIFÉRICA DE CERDOS TRAS LA ESTIMULACIÓN *IN VITRO* CON DIFERENTES CPG-ODN

INDUCED CYTOKINES PROFILE IN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS OF PIG AFTER STIMULATION *IN VITRO* WITH DIFFERENT CPG-ODN

Vedelago G^{*1,2}, Palacios ML^{1,2}, Ruiz Moreno FN^{1,2}, Marín C^{1,2}, Palma S^{3,4}, Morón G^{1,2}, Alustiza F⁵, Crespo MI^{1,2}, Maletto BA^{1,2}

¹Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Bioquímica Clínica. Córdoba, Argentina

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI). Córdoba, Argentina

³Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Ciencias Farmacéuticas. Córdoba, Argentina

⁴Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Unidad de Tecnología Farmacéutica (UNITEFA). Córdoba, Argentina

⁵INTA. Marcos Juárez, Córdoba, Argentina

giuliana.vedelago@mi.unc.edu.ar

Previamente, ensayamos con éxito una estrategia innovadora para formular los componentes de una vacuna, antígeno y el inmunoestimulante CpG-ODN (agonista TLR9) son desarrollados con una nanoestructura formada por autoensamblaje del palmitato de ascorbilo (CoA-ASC16). Los CpG-ODN, debido a sus estructuras químicas y diferentes efectos inmunoestimulantes, se pueden clasificar en tres clases: A, B y C. Además, la actividad desencadenada por los CpG-ODN varía entre diferentes especies. Nuestro objetivo actual es validar la estrategia adyuvante CpG-ODN/CoA-ASC16 en cerdos. Para identificar el CpG-ODN que induce la respuesta más adecuada, recolectamos sangre de cerdos y aislamos las células mononucleares de la sangre periférica (PBMC), que se incubaron durante 12 horas con cuatro CpG-ODN diferentes: 2395, 1826, 1018 y 2007. Utilizamos un control sin CpG-ODN como punto de referencia.

La expresión de ARNm de citocinas y TLR9 se evaluó mediante RT-qPCR. Nuestros hallazgos indican que CpG-

ODN 2395 (clase C, ensayado previamente en ratones y humanos) induce mediadores de la respuesta inmune innata como IL-6, IL-12p40, TNF α , IFN β e IFN γ ($p < 0.05$). CpG-ODN 1018 (clase B, aprobado para uso humano) estimuló la producción de IFN β e IFN γ ($p < 0.05$), aunque a niveles más bajos que CpG-ODN 2395 ($p < 0.05$). CpG-ODN 1018 también indujo TNF α , y los niveles fueron más altos que los inducidos por CpG-ODN 2395 ($p < 0.05$). En contraste, CpG-ODN 1826 (clase B, ampliamente usado en ratones) y 2007 (clase B, previamente usado en aves, bovinos y cerdos) no activaron las PBMC. Sólo CpG-ODN 2395 y 1018 indujeron un aumento en la expresión de ARNm de TLR9 ($p < 0.05$). En resumen, nuestro estudio revela que solo CpG-ODN 2395 y 1018 estimulan la respuesta inmune innata en las PBMC *in vitro*, aunque con perfiles de citocinas diferentes. Concluimos que CpG-ODN 2395 es la opción más prometedora para una investigación futura *in vivo* como adyuvante de vacunas en cerdos.

LA CATELICIDINA BOVINA BMAP28 MODULA LA EXPRESIÓN DEL RECEPTOR TIPO TOLL (TLR) 7 EN CÉLULAS DE PULMÓN FETAL BOVINO INFECTADAS CON ALFAHERPESVIRUS BOVINO

BOVINE CATHHELICIDIN BMAP28 INDUCED TOLL-LIKE RECEPTOR 7 EXPRESSION IN BOVINE FETAL LUNG CELLS INFECTED WITH BOVINE ALPHAHERPESVIRUS

Burucúa M^{*1}, Quintana S^{2,3}, Cobo E⁴, Odeón A⁵, Pérez S⁶, Marin M¹

¹Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS) INTA-CONICET, Balcarce, Buenos Aires, Argentina

²Instituto de Investigaciones de Producción, Sanidad y Ambiente (IIPROSAM), FCEyN, Universidad Nacional de Mar del Plata- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

³Instituto de Biología Molecular Aplicada, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

⁴Production Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Calgary, Canada

⁵Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

⁶Centro de Investigaciones Veterinarias de Tandil (CIVETAN) – CONICET, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, Buenos Aires, Argentina

*merburucua@gmail.com

La producción de péptidos antimicrobianos catelicidinas tiene un rol relevante en la respuesta inmune innata del epitelio de las vías respiratorias frente a infecciones por alfa herpesvirus bovino (BoAHV) 1 y 5. La activación del receptor tipo toll 7 (TLR7) en células bovinas respiratorias estimula una respuesta antiviral mediante el incremento en la expresión de la catelicidina BMAP28, que a su vez podría servir como ligando endógeno de los TLRs para modular su expresión. El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de la inducción endógena de BMAP28 en la expresión del TLR7 en cultivos primarios de células de pulmón fetal bovino infectados con BoAHV. Para esto, monocapas confluentes fueron estimuladas con butirato de sodio (inductor de catelicidinas endógenas, 4mM) e infectadas 6 h después con BoAHV-1 o BoAHV-5 (MOI: 0,1). La expresión génica del TLR7 se determinó a las 24 h post-infección mediante RTqPCR y se analizó mediante el software REST, utilizando el gen GAPDH como control.

En primera instancia, se corroboró que el tratamiento con butirato de sodio indujo ($p \leq 0,05$) la expresión de BMAP28, con respuesta máxima a 4 mM durante 6 h. La infección por BoAHV-1 y BoAHV-5 aumentó la expresión de TLR7 (14 y 40 veces, respectivamente, $p \leq 0,05$) en comparación a células tratadas sin infectar. Sin embargo, la estimulación previa de catelicidinas endógenas potenció esta respuesta, observándose un incremento en la expresión de TLR7 (99 y 70 veces, $p \leq 0,05$) en células infectadas durante 24 h con BoAHV-1 o BoAHV-5, respectivamente. Estos resultados sugieren que en respuesta a la estimulación de BMAP28, las células respiratorias bovinas mejoran la capacidad de detectar patógenos invasores mediante la modulación de la expresión del TLR7. Por lo tanto, la interacción de TLRs y catelicidinas resulta relevante en los procesos de defensa que el huésped desarrolla en respuesta a la infección por BoAHV.

INMUNOLocalIZACIÓN DE GALECTINA 3 EN LA INTERFASE FETOMATERNA DURANTE LA GESTACIÓN PORCINA

IMMUNOLocalIZATION OF GALECTIN 3 AT THE FETO-MATERNAL INTERPHASE DURING SWINE PREGNANCY

Canovas L^{1*}, Benitez V¹, Etcheverry B¹, Devaux L¹, Clauzure M^{1,2}, Williamson D¹, García M¹, Viglierchio MC¹, Sola D⁴, Badiola JJ⁴, Barbeito C^{2,3}, Velez C¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa. Calle 5 esq. 116. General Pico. La Pampa

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

³Laboratorio de Histología y Embriología Descriptiva, Experimental y Comparada. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Buenos Aires

⁴Centro de Encefalopatías y Enfermedades Transmisibles Emergentes. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. Zaragoza, España

*lorenacanvas92@gmail.com

Un creciente conjunto de evidencia sugiere la participación de miembros de la familia de galectina en eventos de placentación más allá de la implantación, la angiogénesis placentaria y en el establecimiento y mantenimiento de la tolerancia inmune en la interfase feto-materna. El objetivo fue analizar la expresión de galectina 3 (Gal-3) en la interfase feto-materna porcina de diferentes períodos gestacionales. Se utilizaron úteros de cerdas no gestantes, placentas de 17, 30, 60, 70 y 114 días de gestación (dg). La expresión de Gal-3 se realizó por inmunoperoxidasa indirecta sobre cortes histológicos de útero no gestante y de placentas porcinas maternas y fetales en los periodos de gestación seleccionados. Los resultados se expresaron de un modo semicualitativo en epitelio materno y trofoblasto en función de la coloración detectada, determinando que: (-)= negativo, (+)= positividad leve, (++)= positividad moderada y (+++)= positividad fuerte. Y se determinó la

densidad óptica (DO) y porcentaje de área inmunomarcada (%AIM) de la inmunotinción utilizando ImageJ. Se observó expresión en parches sólo en epitelio materno de placentas de 60 (+) y 70 dg (++), dichos valores cualitativos fueron confirmados con diferencias significativas ($p < 0,05$) al analizar la intensidad de la coloración ($DO = 0,17$ y $DO = 0,21$ respectivamente). El porcentaje de área inmunomarcada en ambos períodos no presentó diferencias significativas (9,41 % y 11,79 % respectivamente). La inmunolocalización de Gal-3 en placentas humanas sugiere su papel potencial en el proceso de invasión del trofoblasto, al ser la placenta porcina epiteliocorial, no se expresaría Gal-3 en los períodos tempranos de preñez evitándose la invasión del trofoblasto. Además, Gal-3 también tiene efectos inhibidores de las respuestas apoptóticas, y a los 60-70 dg porcina son elevados los procesos apoptóticos y de proliferación; la presencia de Gal-3 podría estar regulando estos procesos.

RESPUESTA INMUNE HUMORAL LOCAL Y SISTÉMICA A LA INFECCIÓN EN CONEJOS DESAFIADOS CON *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. PARATUBERCULOSIS (MAP)

LOCAL AND SYSTEMIC HUMORAL IMMUNE RESPONSE TO INFECTION IN *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. PARATUBERCULOSIS (MAP) CHALLENGED RABBITS

Damonte Azpiazu P¹, Fernández B^{1,2}, Postma GC³, Suhevic J⁴, Jar AM¹, Mundo SL^{1,2}, Jolly A¹

¹Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Inmunología, Ciudad de Buenos Aires, Argentina

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas -Universidad de Buenos Aires, Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA), Ciudad de Buenos Aires, Argentina

³Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Patología Básica, Ciudad de Buenos Aires, Argentina

⁴Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Física Biológica, Ciudad de Buenos Aires, Argentina

ajolly@fvvet.uba.ar

El conejo se emplea como modelo de paratuberculosis por presentar lesiones y signología semejantes a las de los rumiantes; y podría actuar como reservorio natural de la enfermedad en el ambiente. Nuestro objetivo fue estudiar la respuesta humoral local y sistémica desarrollada frente a distintos antígenos micobacterianos en conejos infectados experimentalmente. Se desafiaron 10 conejos juveniles con 10⁹ UFC Map/día, *per os* durante 3 días consecutivos, y se incluyeron controles sin desafiar (CICUAL #2021/26). La infección se confirmó en todos los conejos desafiados mediante el aislamiento de Map de tejidos. Se evaluó IgG específica en muestras de suero (45, 100 y 145 días post-desafío, dpi) e IgA específica en contenido cecal (145 dpi) mediante ELISA, usando antígeno protoplasmático de paratuberculosis (PPA), Map inactivada (Mapi), y lipoarabinomano (LAM) como antígenos de captura y anticuerpos comerciales anti-IgG y anti-IgA conjugados con HRP. Los resultados se expresaron en unidades ELISA (UE),

calculadas como DO promedio de la muestra/DO promedio de muestras positivas de referencia x 100. El valor de corte (VC) se calculó como UE promedio de 3 muestras negativas de referencia + 2 desvíos estándares. La IgG sistémica frente a PPA y a LAM resultó indetectable, mientras que 3/10 animales fueron reactivos a Mapi en los tres tiempos evaluados (UE entre 12,8-40; VC=10,5). Al evaluar IgA en contenido cecal identificamos 8/10 conejos positivos al emplear Mapi (UE entre 17-40; VC= 14,5) o 5/10 conejos positivos al emplear LAM, respectivamente. En conclusión, algunos conejos infectados desarrollaron una respuesta sistémica frente a Mapi, demostrando la baja sensibilidad del ELISA de rutina (PPA). El estudio de IgA en contenido cecal permitió mejorar la detección de los conejos infectados, por lo que destacamos la evaluación de la inmunidad local como posible herramienta diagnóstica de la paratuberculosis.

LA PROTEÍNA TUMORAL CONTROLADA TRASLACIONALMENTE (TCTP) DE *BABESIA BOVIS* CONTIENE EPÍTOPOS B NEUTRALIZANTES, Y LA VACUNACIÓN DE BOVINOS MEJORA LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL

BABESIA BOVIS TRANSLATIONAL CONTROLLED TUMOR PROTEIN (TCTP) CONTAINS CONSERVED, NEUTRALIZING B-CELL EPITOPES, AND VACCINATION OF CATTLE IMPROVES THE HUMORAL IMMUNE RESPONSE

Pérez-Almeida CQ^{1,2}, Hernández-Silva DJ¹, Hernández-Arvizu EE¹, Velasco-Elizondo MA¹, Gómez-Soto JG⁴, Vega y Murgía CA³, Dávila-Montero UM³, Asada M⁴, Kawazu SI⁴, Mosqueda J^{1*}

¹Immunology and Vaccines Laboratory, Natural Sciences College, Autonomous University of Querétaro, Mexico

²PhD Program in Production Sciences and Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Husbandry, National Autonomous University of Mexico

³Natural Sciences College, Autonomous University of Querétaro, México

⁴National Research Center for Protozoan Diseases, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Inada, Obihiro, Japan

joel.mosqueda@uaq.mx

La babesiosis bovina es una de las enfermedades parasitarias más importantes en zonas tropicales y subtropicales del mundo. No hay vacunas de subunidad en el mundo a la fecha contra esta enfermedad. La proteína tumoral controlada traslacionalmente (TCTP) es una proteína secretada que previene la activación y proliferación de las células B. Los objetivos de este trabajo fueron caracterizar el gen *tctp* de *B. bovis*, evaluar el efecto de TCTP en el establecimiento de la infección en bovinos, y determinar la presencia de anticuerpos neutralizantes anti TCTP. Se clonó y secuenció el gen *tctp* de diferentes aislados de *B. bovis*. Se observó una identidad de aminoácidos del 100 % en todas las secuencias obtenidas intra-especie. Se diseñaron péptidos con epítopos B predichos. Los péptidos se utilizaron para generar anticuerpos en conejos y bovinos. La transcripción se evaluó en ARNm de parásitos intraeritrocíticos. La expresión se confirmó mediante microscopía confocal y western blot. Posteriormente, se inmunizaron cuatro novillos

Bos taurus con los péptidos TCTP de *B. bovis* emulsionados con adyuvante y cuatro animales fueron inmunizados únicamente con adyuvante. Veinticuatro días después de la última inmunización, los animales fueron desafiados con 1×10^8 eritrocitos infectados de una cepa virulenta *B. bovis*. Los animales del grupo control generaron menores niveles de anticuerpos totales en comparación con los animales inmunizados con TCTP ($p < 0.05$), y presentaron signos clínicos más severos. Se llevó a cabo un ensayo de neutralización *in vitro* con una cepa de *B. bovis* mantenida en eritrocitos de bovino. Se obtuvo una reducción del porcentaje de parásitos intraeritrocíticos del 34 % en cultivos adicionados con suero de los bovinos inmunizados con TCTP comparados con los cultivos adicionados con suero control negativo o medio de cultivo solo ($p < 0.05$). Se concluye que la proteína TCTP de *B. bovis* se expresa en estadios intraeritrocíticos, está implicada en el establecimiento de la infección e induce anticuerpos neutralizantes.

ELISA DE AVIDEZ, UN MÉTODO EFICAZ PARA EL ESTUDIO DE LA DINÁMICA DEL SARS-COV-2, EN HUMANOS Y ESPECIES DOMÉSTICAS

AVIDITY ELISA, AN EFFECTIVE METHOD FOR STUDYING THE DYNAMICS OF SARS-COV-2, IN HUMANS AND DOMESTIC SPECIES

Castillo M^{1*}, Rivero CI², Cardoso NP³, Mansilla FC¹, Bentancor LV², Capozzo AV¹

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológica (IVIT); Hurlingham; Buenos Aires; Argentina

²Instituto de Estudios para el Desarrollo Productivo y la Innovación (IDEPI)

³Universidad Nacional de José C. Paz (UNPaz); José C. Paz, Buenos Aires. Argentina

castillo.mariangeles@inta.gob.ar

La avidéz es una medida informativa de estabilidad o fuerza general del complejo antígeno-anticuerpo que implica la respuesta eficaz de células T que han colaborado los clones de células B específicos. La maduración de la avidéz se puede estimar mediante el índice de avidéz (IA) por ELISA lavando el suero pre-incubado con el antígeno en pocillos duplicados con PBS, para eliminar uniones inespecíficas, y con urea para desestabilizar las uniones específicas más débiles. En este estudio, analizamos la cinética de los anticuerpos anti-RBD totales en 90 individuos infectados por SARS-CoV-2 y la cinética de maduración de la avidéz de dichos anticuerpos. Luego aplicamos el ensayo en 120 sueros de animales de compañía. Encontramos una relación exponencial entre el IA y el tiempo post-infección ($R^2 = 0,67$), donde durante las primeras dos semanas post-infección el IA no superó el 30 % y alcanzó un 80 % al mes, mientras que los niveles de anticuerpos aumentaron

en forma lineal durante los primeros 20 días y luego se mantuvieron en valores similares. Este ELISA multiespecie se aplicó posteriormente a muestras de perros y gatos de los suburbios de Buenos Aires. Los anticuerpos de baja avidéz ($IA < 30\%$) se relacionaron significativamente ($p < 0,05$, Test de Fisher) con la exposición de corto plazo de los animales al SARS-CoV-2 debido a la enfermedad de sus cuidadores, siguiendo la dinámica de transmisión más habitual dentro de los hogares: de humanos a animales. Aunque aún es necesaria la validación de la técnica, este estudio constituye una prueba de principio sobre la posibilidad de utilizar un ELISA de avidéz multiespecie basada en RBD para la vigilancia seroepidemiológica y para estudiar la dinámica de la enfermedad en humanos y en animales, según el enfoque "Una Salud".

EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD DE EPÍTOPOS B CONSERVADOS DE ANTÍGENOS PRESENTES EN INTESTINO, OVARIO Y GLÁNDULA SALIVAL DE LA GARRAPATA *RHIPICEPHALUS MICROPLUS*

IMMUNOGENICITY EVALUATION OF CONSERVED B-CELL EPITOPES FROM ANTIGENS PRESENT IN THE MIDGUT, OVARY AND SALIVAL GLAND FROM THE *RHIPICEPHALUS MICROPLUS* TICK

*Morales-García JR^{1,2}, Pérez-Soria MME¹, Millan-Orozco J⁴, Almazán-García C¹, Muñoz-Guzmán MA³, Mosqueda J¹

¹Laboratorio de Investigación en Inmunología y Vacunas, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro

²Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de México

³Depto. de Ciencias Biológicas, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Autónoma de México

⁴Depto de Ciencias Médico Veterinarias, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

joel.mosqueda@uaq.mx

Rhipicephalus microplus es un ectoparásito que afecta la salud y producción de los bovinos, causando importantes pérdidas económicas a la industria ganadera. Las vacunas, como método de control, utilizan como antígeno a la glicoproteína intestinal Bm86. Se ha reportado que variaciones alélicas en el gen de Bm86 tan bajas como el 3.4 %, son suficientes para que no se genere una respuesta inmune protectora. Esto promueve la necesidad de estudiar otros antígenos para identificar epítomos B conservados. Objetivo. Evaluar la inmunogenicidad de epítomos B de antígenos presentes en glándula salival (serpina), ovario (vitelogenina) e intestino (Bm86, Bm95, Subolesina, y GST) conservados en cepas de distintas regiones de México. Métodos. Se evaluaron 11 péptidos B conservados de los diferentes antígenos. Cada péptido fue evaluado de forma individual inmunizando dos bovinos con 100 µg de cada péptido más un adyuvante comercial, con un intervalo de

21 días, aplicando de 4 a 5 inmunizaciones. Los sueros de cada inmunización se evaluaron mediante ELISA indirecta para determinar la generación de anticuerpos. Resultados. Tres péptidos de Bm86 y Bm95, generaron anticuerpos con aumento notorio en la tercera inmunización y manteniéndose en la cuarta. Dos péptidos de GST generaron anticuerpos, uno desde la tercera y otro en la quinta inmunización. De 3 péptidos de serpina evaluados, dos generaron anticuerpos a partir de la tercera inmunización y un péptido fue negativo. Dos péptidos de vitelogenina presentaron aumento de anticuerpos en la tercera inmunización. Un péptido de subolesina fue evaluado y resultó negativo. Conclusión. De los 11 péptidos evaluados, con epítomos B predichos y conservados, 9 fueron inmunogénicos. Estos péptidos deberán ser evaluados en ensayos de eficacia para determinar si son candidatos vacunales contra las infestaciones por *R. microplus*.

SESIÓN III. VACUNAS

INFLUENCIA DE LA CEPA VACUNAL DEL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA EN EL RECUENTO DE LEUCOCITOS

INFLUENCE OF THE BOVINE LEUKEMIA VIRUS VACCINE STRAIN ON THE LEUKOCYTE COUNT

Suarez Archilla G^{*1}, Molineri A¹, Cicotello J¹, Miotti C¹, Porta N², Ruiz V², Abdala A¹, Calvino L¹, Trono K²

¹Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (INTA – CONICET) Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina

²Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (INTA-CONICET), Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

suarezarchilla.g@inta.gob.ar

El virus de la leucosis bovina (BLV) afecta a los linfocitos B, generando linfomas que conducen a la muerte de los animales infectados. Sin embargo, el desarrollo de linfocitosis persistente (LiP) es la manifestación más frecuente de la infección. En ensayos previos, nuestro grupo de trabajo demostró la seguridad y eficacia de la cepa vacunal a través de la premunición. El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia de la vacunación con la cepa vacunal sobre el desarrollo de LiP en un rodeo lechero con alta prevalencia de leucosis bovina enzoótica. Se utilizaron 43 vaquillonas Holstein con infección crónica (>1 año) por BLV (n=25) o por la cepa vacunal (vacunadas; n=18). Los días 0 y 60 se realizó el recuento de leucocitos, neutrófilos y linfocitos. Con estos datos se clasificaron las vaquillonas con leucocitosis persistente (LeP) y con LiP, a aquellas que presentaron en ambos análisis recuentos mayores a 15000 leucocitos/ μ Lsangre y 10000 linfocitos/ μ Lsangre, respectivamente. Se encontró una diferencia en la media del recuento de

leucocitos en ambos muestreos ($p < 0,001$), entre vacunadas ($\bar{x} = 10306$ leucocitos/ μ Lsangre; IC=9619,6-11041,6) y las infectadas con BLV ($\bar{x} = 15992$ leucocitos/ μ Lsangre; IC=12865,5-19879,2). También se evidenció una diferencia en la media del recuento de linfocitos en ambos muestreos ($p = 0,001$), entre vacunadas ($\bar{x} = 4658$ linfocitos/ μ Lsangre; IC=4259,9-5094,2) y las infectadas con BLV ($\bar{x} = 10014$ linfocitos/ μ Lsangre; IC=7506,4-13361,5). No se observaron diferencias en la media del recuento de neutrófilos en ambos muestreos entre vacunadas y las infectadas con BLV ($p = 0,588$). En concordancia, las vacunadas no presentaron LeP, en contraste con el 40 % de las vaquillonas con BLV ($p = 0,002$). Asimismo, las vacunadas tampoco presentaron LiP, en contraste con el 32 % de las vaquillonas con BLV ($p = 0,007$). Este trabajo demuestra que la infección con la cepa vacunal no tiene influencia en el recuento de leucocitos y complementa experiencias anteriores confirmando la seguridad de esta vacuna.

INFLUENCIA DE LA CEPA VACUNAL DEL VIRUS DE LA LEUCOSIS BOVINA SOBRE EL SISTEMA INMUNITARIO

INFLUENCE OF THE BOVINE LEUKEMIA VIRUS VACCINE STRAIN ON THE IMMUNE SYSTEM

Suarez Archilla G^{*1}, Primo ME¹, Cicotello J¹, Miotti C¹, Bosio A¹, Porta N², Ruiz V², Veaute C³, Camussone CM^{1,3}, Abdala A¹, Trono K²

¹Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (INTA – CONICET) Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Rafaela, Santa Fe, Argentina

²Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (INTA-CONICET), Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

³Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

suarezarchilla.g@inta.gob.ar

Este trabajo surge en el marco del desarrollo de una vacuna para la leucosis bovina. Recientemente se demostró que la infección con una cepa vacunal como premunición, resultó ser segura y efectiva para prevenir la infección con el virus de campo de la leucosis bovina (BLV). El objetivo del presente trabajo fue estudiar la influencia de la infección crónica por la cepa vacunal o por BLV, sobre el sistema inmunitario. Se evaluó la presencia de linfocitosis persistente (LiP) y la capacidad de generar una respuesta inmune humoral específica (RIHE) frente a una inmunización primaria con 3 antígenos de patógenos bovinos presentes en los sistemas productivos de nuestro país. Se utilizaron 16 vacas Holstein con infección crónica (>2 años) por BLV (n=10) o por la cepa vacunal (vacunadas; n=6). Todas las vacas se inmunizaron el día 0 y 27 con los antígenos recombinantes tMSP5m (*Anaplasma marginale*), MSA2c (*Babesia bovis*) y calpaína (*Trypanosoma vivax*), formulados con un adyuvante

liposomal. Se analizó la RIHE en suero al día 41, midiendo el título de IgG para calpaína y el porcentaje de positividad para tMSP5m y MSA2c. Se realizó el conteo de linfocitos los días 0 y 70 y se identificaron aquellas vacas que presentaron LiP (≥ 10000 linfocitos/mm³ en ambos conteos). Todos los grupos generaron una RIHE similar contra tMSP5m (p=0,99), MSA2c (p=0,49) y calpaína (p=>0,99). No fueron significativas las diferencias en la LiP (p=0,2), pese a no hallar ninguna vacunada con LiP, en contraste con el 40 % con LiP en las vacas con BLV. El uso de la cepa vacunal de BLV parece no afectar la capacidad de RIH frente a los antígenos evaluados en este trabajo, en comparación con la infección natural por BLV. Si bien resulta necesario profundizar en otros aspectos inmunitarios, este trabajo complementa experiencias anteriores confirmando la seguridad de esta vacuna.

EFFECTO *IN VIVO* DE NUEVOS ADYUVANTES EN UNA VACUNA GÉNICA EXPERIMENTAL CONTRA EL ALFAHERPESVIRUS BOVINO 1 SOBRE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE RECEPTORES TIPO *TOLL* Y CITOQUINAS

***IN VIVO* EFFECT OF NEW ADJUVANTS IN AN EXPERIMENTAL GENE VACCINE AGAINST BOVINE ALFAHERPESVIRUS 1 ON THE GENE EXPRESSION OF TOLL-LIKE RECEPTORS AND CYTOKINES**

Chequepán F^{1*}, Burucúa M¹, Plá N⁵, Quattrocchi V², Hecker Y¹, Moore D¹, Zamorano P^{1,2}, Quintana S^{6,7}, Tribulatti V³, Langelotti C², Marin M¹

¹Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS Balcarce), INTA-CONICET, Balcarce, Buenos Aires, Argentina

²Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT, INTA-CONICET), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

³Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIBIO, UNSAM CONICET), Buenos Aires, Argentina

⁴Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina

⁵Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

⁶Instituto de Investigaciones de Producción, Sanidad y Ambiente (IIPROSAM), FCEyN, UNMDP-CONICET, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

⁷Instituto de Biología Molecular Aplicada, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

chequepan.felipe@inta.gob.ar

La vacuna génica codificando la glicoproteína D (gD) del alfa herpesvirus bovino 1 (BoAHV-1) ha surgido como una estrategia inmunitaria contra este patógeno, requiriendo de adyuvantes apropiados para inducir una respuesta protectora. En este trabajo se determinó la expresión génica de los receptores tipo *toll* (TLRs) endosomales y citoquinas inducidas por el uso de nuevos adyuvantes (Galectina 8 y/o MontanideTM GEL01 PR) en una vacuna génica contra BoAHV-1. Los bovinos fueron inmunizados (n: 4 animales/tratamiento) con 2 dosis de: A) plásmido vacío (pCINeo), B) plásmido vacunal (pCIgD); C) pCIgD + Galectina 8 (Gal8); D) pCIgD + Gel01 y, E) pCIgD + Gel01 + Gal8. A los 3 días *post-booster*, se aislaron leucocitos mononucleares mediante gradiente de Ficoll-Paque Plus 1.077g/ml y se determinaron los niveles de expresión de los TLR3, TLR7, TLR8 y TLR9 y citoquinas (IL-8, IL-10, IL-1 β , IFN- γ e IL-12). El análisis de los datos se realizó mediante el software *Relative Expression Software Tool* (REST), empleando GAPDH

como gen control. La mayor modulación de la respuesta inmune innata fue observada en bovinos inmunizados con la vacuna génica y ambos adyuvantes. Dicha formulación vacunal disminuyó la expresión del TLR3 (0,42 veces, $p < 0,05$) e incrementó la expresión del TLR7 e IL12 (1,7 y 6,2 veces, respectivamente, $p < 0,05$). Se observó también una regulación negativa para TLR3 (0,48 veces, $p < 0,05$) en bovinos inmunizados con pCIgD + Gal8, mientras que el tratamiento con pCIgD + Gel01 aumentó la expresión de IL-12 (9,5 veces, $p < 0,05$). No se detectaron diferencias significativas en la expresión de los demás receptores y citoquinas al momento de esta evaluación. Estos resultados muestran que la expresión de TLRs endosomales y algunas citoquinas puede ser modulada y regulada por la plataforma vacunal y tipo de adyuvante utilizado, permitiendo direccionar la respuesta inmune antígeno-específica hacia un perfil celular.

LA CÁPSIDE Y EL ARN GENÓMICO COMO FACTORES CLAVE DE LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA ADAPTATIVA CONTRA EL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA EN EL MODELO MURINO

CAPSID AND GENOMIC ARN AS KEY FACTORS IN THE ADAPTIVE IMMUNE RESPONSE AGAINST FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS IN MICE

Miraglia MC ¹, Mansilla FC¹, Cardoso NP¹, Bucafusco D², Randazzo CP, Ayude A¹, Capozzo AV¹, Pérez Filgueira M¹

¹Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas - IVIT (INTA-CONICET), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

²Facultad Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina

miraglia.maria@inta.gob.ar

Las vacunas de nueva generación contra el virus de la fiebre aftosa utilizan partículas de tipo viral "VLPs" (75S) como antígeno, que mantienen la estructura capsidal pero carecen del ARN viral (ARNv), evitando así el manejo del patógeno infeccioso. La respuesta inmune inducida por estas vacunas difiere de las tradicionales, formuladas con antígeno completo inactivado (146S). El objetivo es evaluar la influencia de la integridad estructural de la cápside y del ARNv en el desarrollo de la respuesta inmune. Se vacunaron ratones C57BL/6 con formulaciones oleosas que contenían: cápsides enteras (146S), VLPs (75S), pentámeros (12S) a partir de la ruptura de partículas 146S o 75S y VLPs potenciadas con Resiquimod (agonista de TLR7). Se midieron los niveles de inmunoglobulinas IgG1, IgG2a y totales en muestras serológicas a distintos tiempos post-vacunación.

Observamos diferencias significativas en el perfil inmunológico entre los grupos 146S y 75S. El grupo 146S

produjo mayores niveles de IgG2a, mientras que el grupo 75S, IgG1. La adición de Resiquimod al grupo 75S aumentó la producción de anticuerpos y direccionó la respuesta hacia el isotipo IgG1. La presencia de ARNv en los pentámeros 12S generados a partir de partículas 146S también favoreció la producción de IgG1. En contraposición, el grupo vacunado con formulaciones de pentámeros 12S generados a partir de 75S, desprovistos de ARNv, mostró una respuesta antígeno-específica escasa, presentando niveles basales de todos los anticuerpos analizados.

En conjunto, estas observaciones resaltan el rol de la estimulación del TLR7 (por el ARNv o un agonista) como iniciador de la respuesta inmune y la importancia de la asociación entre el ARNv y la integridad capsidal para el desarrollo de la respuesta adaptativa. Estos hallazgos contribuyen al diseño de vacunas de nueva generación contra la fiebre aftosa, con el fin de mejorar la eficacia y la capacidad protectora en el ganado.

EVALUACIÓN DE UN MODELO MURINO DE INFECCIÓN CON *TRYPANOSOMA VIVAX*

ASSESSMENT OF A MURINE MODEL OF *TRYPANOSOMA VIVAX* INFECTION

Díaz G¹, Rossini L¹, Farías A¹, Arias D, Marcipar I¹, Bontempi I¹

¹Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

²Laboratorio de Enzimología Molecular, Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL), Santa Fe, Argentina; Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

iabontempi@gmail.com

La Tripanosomiasis Bovina (TB) es una enfermedad que afecta al ganado bovino en Sudamérica y África subsahariana. Se caracteriza por la presencia intermitente de parásitos en sangre acompañada por fiebre, anemia, caquexia, problemas reproductivos, aborto e incluso la muerte, generando grandes pérdidas económicas. En Sudamérica, el principal patógeno responsable de la enfermedad es *Trypanosoma vivax* (*T. vivax*) y el único tratamiento registrado por SENASA no es esterilizante y tiene una tasa de recidivas del 30 % a corto plazo. Una vacuna sería una alternativa ventajosa para controlar la TB, sin embargo, no existen muchos trabajos publicados sobre vacunas para *T. vivax* y no hay un modelo de infección establecido o definido. En este trabajo desarrollamos un modelo murino de infección con *T. vivax* para emular los principales signos clínicos de la Tripanosomiasis en bovinos. Infectamos 3 grupos de ratones BALB/c (n=5) con 100 parásitos de *T. vivax* de la cepa Y486 por distintas vías

de inyección (subcutánea, intravenosa e intraperitoneal). En todos los grupos medimos parasitemia cada dos días, durante 30 días, y evaluamos la mortalidad diariamente durante 60 días. Seleccionamos la vía intraperitoneal por presentar picos de parasitemia consecutivos, típicos de la enfermedad en bovinos. Luego, infectamos otros 4 grupos de 5 ratones por vía intraperitoneal para evaluar el efecto de diferentes dosis de parásitos (0, 100, 1000 y 10000) sobre los parámetros establecidos del modelo (parasitemia, hematocrito, peso y mortalidad). Elegimos la dosis de 1000 parásitos porque presentó picos de parasitemia y hematocrito cada 7-9 días y una mediana de supervivencia de 15 días. Concluimos que en este trabajo logramos ajustar un modelo murino de infección con *T. vivax*, que reproduce las principales características de la infección en bovinos, para poder ser implementado en futuras evaluaciones de candidatos vacunales.

EVALUACIÓN DE LA PROTECCIÓN DEL CLON CA3B1 DE *BABESIA BOVIS* FRENTE AL DESAFÍO CON UNA CEPA PATÓGENA

EVALUATION OF THE PROTECTION OF THE *BABESIA BOVIS* CA3B1 CLONE AGAINST CHALLENGE WITH A PATHOGENIC STRAIN

Mazzucco Panizza M^{1*}, Thompson C¹, Signorini M¹, Echaide IE², Primo ME¹, Amherdt P¹, Baravalle ME³, Valentini BS¹

¹Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (IDICAL, INTA- CONICET), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Rafaela (INTA E.E.A. Rafaela), Rafaela, Santa Fe, Argentina

²Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Rafaela, Rafaela, Argentina

³Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina

*mazzuccopanizza.m@inta.gob.ar

Babesia bovis es uno de los hemoparásitos *Apicomplexa* causante de la babesiosis bovina. La prevención de esta enfermedad se basa en la vacunación de bovinos jóvenes con la cepa BboR1A, atenuada en su patogenicidad. El clon Ca3B1 derivado de esa cepa, ha evidenciado menor patogenicidad que su cepa parental. En este trabajo se evaluó la protección conferida por Ca3B1 frente al desafío con una cepa patógena. Se utilizaron tres grupos (G) de 7 terneros Holstein de 7-8 meses de edad. El G1 se inoculó con BboR1A, el G2 con Ca3B1 y el G3 con medio de cultivo. La respuesta de IgG se evaluó mediante ELISA indirecto los días 0, 7 y 15 post-inoculación y posteriormente cada 30 días. La dinámica de anticuerpos en el tiempo fue similar entre G1 y G2 ($P=0,097$), con diferencias significativas respecto a G3 ($P<0,001$). Nueve meses después de la vacunación, se desafió con la cepa patógena heteróloga

BboS2P. La reacción se controló diariamente mediante hematocrito, temperatura rectal y parasitemia. El descenso del hematocrito fue mayor en el G3 con respecto al G1 ($P=0,005$) y con tendencia al G2 ($P=0,062$). La hipertermia acumulada fue significativamente menor en los G1 y G2 con respecto al G3 ($P<0,001$). Se observó el pico máximo de temperatura media el día 10 tanto para G3 (41 °C) como para G2 (40 °C) ($P=0,01$) mientras que el pico de temperatura de G1 (40,17 °C) se presentó el día 13. No se observaron diferencias significativas entre las parasitemias de los grupos. La cantidad de animales que requirieron tratamiento en G3 (8/8) resultó significativamente mayor que en G1 y G2 (2/7) ($P=0,01$). Se concluye que el nivel de protección del clon Ca3B1 y la cepa BboR1A fue similar. Se plantea a futuro evaluar la capacidad protectora del clon Ca3B1 en animales adultos.

CARACTERIZACIÓN DEL CANDIDATO VACUNAL APCH-P23 RECOMBINANTE PARA EL CONTROL DE *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM* EN GANADO BOVINO

CHARACTERIZATION OF A VACCINE CANDIDATE RECOMBINANT APCH-P23 TO CONTROL *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM* IN BOVINE CATTLE

Mira A^{1*}, Bellido D¹, Vivas A¹, Parreño V^{1,2}, Bok M^{1,2}, Wigdorovitz A^{1,2}

¹Bioinnovo S.A. Castelar, Buenos Aires, Argentina

²INCUINTA, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Castelar, Buenos Aires, Argentina

mira.anabela@inta.gob.ar

La criptosporidiosis, enfermedad zoonótica causada por el parásito protozoario *Cryptosporidium parvum* se transmite vía fecal-oral. La principal señal de esta infección es la diarrea, la cual tiene un impacto económico significativo en la cría de terneros y puede ser mortal en personas inmunosuprimidas. Dado que no existen medicamentos efectivos ni vacuna para su prevención, el objetivo del presente trabajo fue la expresión de la proteína p23 de *C. parvum* asociada a la molécula direccionadora APCH, como candidato vacunal para ser administrada en bovinos preparto y conferir inmunidad pasiva a los terneros. La molécula APCH es un anticuerpo de simple cadena dirigido a las células dendríticas lo que mejora la presentación antigénica aumentando la eficiencia de la vacuna. Se diseñó un vector para expresar las moléculas fusionadas en el sistema baculovirus. Luego, se confirmó el nivel de expresión mediante ensayos de Western Blot y Dot Blot confirmando que la proteína se dirige al sobrenadante de

cultivo. Se formuló un lote de vacuna experimental utilizando adyuvante oleoso Montanide ISA 50 en una proporción 50:50 de sobrenadante de cultivo y adyuvante utilizando un emulsificador Ultraturax. Se inmunizaron 15 vacas a los 90, 60 y 30 días PRE-parto vía SC con el objetivo de obtener calostro hiperinmune y se evaluó la presencia de anticuerpos en el suero y calostro llegando a títulos de IgG anti p23 por ELISA de 16384 y 65536, respectivamente. Además, mediante marcación fluorescente de anticuerpos bovinos anti p23 se observó que éstos reconocen a la proteína p23 en la superficie del ooquiste. Si bien es necesario realizar estudios que demuestren el efecto protector de estos anticuerpos frente a la infección por *C. parvum*, se evidenció que el candidato vacunal APCH-P23 logró inducir anticuerpos en los animales vacunados y que estos reconocieron a la proteína p23 en el contexto del ooquiste.

PRE-INMUNIZACIÓN CON ANTÍGENO INACTIVADO DE *BABESIA BOVIS* COMO MODERADOR DE LA REACCIÓN VACUNAL EN BOVINOS ADULTOS

PRE-IMMUNIZATION WITH INACTIVATED ANTIGEN OF *BABESIA BOVIS* AS A MODERATOR TO MITIGATE VACCINE REACTIONS IN ADULT CATTLE

Mazzucco Panizza M^{1*}, Morel N¹, Valentini BS¹, Thompson C¹, Amherdt P¹, Primo ME¹

¹Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (IDICAL, INTA- CONICET), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Rafaela (INTA E.E.A. Rafaela), Rafaela, Santa Fe, Argentina

*mazzuccopanizza.m@inta.gob.ar

La babesiosis bovina se previene con vacunas vivas atenuadas (VVA) que provocan anemia e hipertermia en ganado adulto, limitando su aplicación a terneros. La reciente expansión del vector de babesiosis en Argentina justifica la búsqueda de estrategias para proteger bovinos adultos sin inmunidad. Se evaluó la pre-inmunización con antígeno inactivado (AI) compuesto por merozoitos de *Babesia bovis* purificados y lisados como moderador de la reacción provocada por VVA de *B. bovis* en bovinos adultos. Vacas Holstein (edad >36 meses) fueron asignadas al G1 (pre-inmunizadas con AI + coadyuvante Quil A el día 0 y vacunadas con VVA el día 30; $n=8$) o G2 (VVA el día 30; $n=8$). Los días 37-50 se controló diariamente la reacción (hematocrito, temperatura rectal y parasitemia). El hematocrito descendió 19 % en G1 (Coeficiente de Variación=18 %) y 26 % en G2 (CV=60 %) ($P=0,071$). Las temperaturas máximas promedio fueron 39,9 °C (G1) y 40,1 °C (G2) ($P=0,48$). No hubo diferencias significativas de parasitemia ($P=0,075$). La vaca

E196 (G2) presentó hematocrito 18 % y fue tratada. Las reacciones a la VVA fueron menores que con otras cepas vacunales. La necesidad de tratar un animal de G2 (12,5 %) coincide con la casuística de ocurrencia de reacciones desfavorables, aunque el diseño del ensayo impide concluir si este dato es repetible. El porcentaje de positividad al ELISAI (día 45) fue mayor para G1 ($P=0,013$). Ante el desafío con *B. bovis* patógena 60 días post-vacunación no hubo diferencias en la caída máxima de hematocrito (16 % vs 14 %; $P=0,7$) pero sí en temperatura máxima con 39,5 °C (G1) vs 40 °C (G2) ($P=0,03$) probablemente por protección deficiente en E196, que nuevamente debió ser tratada. Si bien no hubo diferencias significativas en la reacción post-vacunal, los resultados de ELISAI y las tendencias a la significancia en las diferencias de hematocrito y parasitemia ($0,05 < P < 0,1$) alientan a continuar evaluando estrategias de pre-inmunización.

ELISA DE AVIDEZ COMO ALTERNATIVA A LA PRUEBA DE NEUTRALIZACIÓN VIRAL PARA LA MEDICIÓN DE LA RESPUESTA HUMORAL INDUCIDA POR LA VACUNA CONTRA LA FIEBRE AFTOSA EN BÚFALOS (*BUBALUS BUBALIS*)

AVIDITY ELISA AS AN ALTERNATIVE TO THE VIRUS NEUTRALIZATION TEST TO ASSESS FOOT-AND-MOUTH DISEASE VACCINE-INDUCED ANTIBODY RESPONSES IN BUFFALOES (*BUBALUS BUBALIS*)

Sala JM¹, Mansilla FC², Caspe SG¹, Miraglia MC², Perez Filgueira M², Capozzo AV^{2*}

¹Estación Experimental Agropecuaria- Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Mercedes, Corrientes, Argentina

²Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA), INTA-Consejo Nacional de Investigaciones Técnicas (CONICET), Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

sala.juan@inta.gob.ar

La fiebre aftosa es una enfermedad viral altamente contagiosa que afecta a los animales de pezuña hendida y el búfalo es considerado una de las principales fuentes de infección en estado de portador. Los anticuerpos inducidos por la vacuna anti-aftosa en esta especie se evalúan actualmente por seroneutralización viral (SNV) que es la técnica de referencia, o por ELISA de fase líquida (ELISA-FL). Ambos ensayos presentan fallas o limitaciones, ya que la SNV es engorrosa y de bajo rendimiento, mientras que el ELISA-FL ha sido solamente validado para bovinos. El objetivo de este trabajo fue evaluar la cinética de la respuesta inmune humoral en sueros bubalinos y establecer la concordancia entre las técnicas serológicas aplicadas y la SNV. Analizamos la cinética de los anticuerpos inducidos por la vacunación en dos rebaños de búfalos (n=91) durante 120 días post-vacunación (dpv) mediante ELISA-FL y SNV; y además un ELISA de avidez (ELISA-AE) y un ELISA

indirecto (ELISA-IE) que utilizan virus purificado como captura. Considerando todas las categorías, la cinética fue similar en los diferentes ensayos, con un aumento de anticuerpos entre los días 0 y 14 dpv que se mantuvo posteriormente. La medición de anticuerpos mediante ELISA-FL presentó muy baja especificidad con muestras de búfalos. La mejor concordancia con la SNV la obtuvo el ELISA-AE (valor Kappa: 0,78) y ambos ensayos revelaron una disminución en la respuesta de anticuerpos en terneros con anticuerpos maternos entre los 90 y 120 dpv que no fue evidenciada por el ELISA-FL. Estos resultados muestran que la cinética de anticuerpos específicos inducidos por la vacunación anti-aftosa es similar en búfalos y bovinos, y respaldan el uso de ensayos ELISA indirectos, en particular el ELISA-AE, como alternativas al SNV para el seguimiento de la inmunidad vacunal, independientemente del estado inmunológico del animal.

POTENCIAL USO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANO COMO AGENTES INMUNOMODULADORES

POTENTIAL USE OF CHITOSAN NANOPARTICLES AS IMMUNOMODULATORY AGENTS

Rodríguez Berdini L^{*1}, Breser ML¹, Bohl LP¹, Mónaco P¹, Orellano MS², Falcone RD², Porporatto C¹

¹Instituto Multidisciplinario de Investigación y Transferencia Agroalimentaria y Biotecnológica (IMITAB, CONICET), Instituto Académico Pedagógico de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María

²Instituto para el Desarrollo Agroindustrial y de la Salud (IDAS, CONICET), Departamento de Química, Universidad Nacional de Río Cuarto

luciarodriguezberdini@gmail.com

La creciente incidencia y desarrollo de mecanismos de resistencia a antibióticos y evasión a la respuesta del huésped en patógenos prevalentes en mastitis bovina demuestran la importancia de la búsqueda de nuevas herramientas que complementen a los sistemas convencionales de control de dicha patología. En tal sentido, la generación de inmunocompetencia en el huésped para responder de manera más eficiente a infecciones resulta una estrategia prometedora a la hora de prevenir la mastitis. El biopolímero quitosano presenta actividad antimicrobiana y propiedades inmunomoduladoras. Para que dichas funciones no se vean limitadas por sus características químicas, desarrollamos partículas nanométricas de quitosano. Las mismas mostraron efecto antimicrobiano frente a la cepa *S. aureus* V329, aislada de un bovino con mastitis subclínica, con una CIM de 400 µg/mL. Al examinar una posible generación de inmunocompetencia en el huésped, evaluamos la producción de especies reactivas de oxígeno y de óxido nítrico en

líneas celulares de macrófagos murinos, utilizando la sonda fluorescente DCFDA y el método de Griess, respectivamente, observando que, frente a la infección, el tratamiento previo con nanopartículas de quitosano promueve un aumento en su producción, indicando una activación de los macrófagos. Además, el tratamiento induce la expresión de ARNm de citoquinas pro-inflamatorias, como IL-1β e IL-6, evaluado por RT-PCR, y un aumento en marcadores de activación y receptores, como MHCII, CD86, CD11b y TLR2, por citometría de flujo. Finalmente, utilizando el ensayo de MTT, observamos que el tratamiento no resultó citotóxico para células epiteliales mamarias bovinas o para los macrófagos. Dichos resultados promueven el estudio de las nanopartículas de quitosano como estrategia de inducción de la respuesta inmunológica del huésped en el tratamiento/prevención de la mastitis bovina, no solo mejorando la vía de administración del polímero sino también alentando un menor uso de antibióticos en el sector lechero.

EXPERIENCIA DE CONTROL DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA (VDVB) BASADO EN EL DIAGNÓSTICO Y LA VACUNACIÓN EN DOS TAMBOS DE LA PROVINCIA DE SANTA FE, ARGENTINA

EXPERIENCE OF BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS (BVDV) CONTROL BASED ON DIAGNOSIS AND VACCINATION IN TWO DAIRY FARMS IN THE PROVINCE OF SANTA FE, ARGENTINA

*Pereyra R^{1,6}, Martino F⁴, Paolazzi C⁵, Sala J^{2,3}, Capozzo A^{2,3}

¹Área de Investigación en Salud Animal-IIACS-CIAP, EEA Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria Salta, Cerrillos, Salta, Argentina

²Instituto de Virología, Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria CNIA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

³Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas, IVIT, CONICET-INTA, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

⁴AVIS, Suardi, Santa Fe, Argentina

⁵Agropharma Salud Animal S.A. Moreno, Buenos Aires, Argentina

⁶EEA INTA Salta, Cerrillos, Salta, Argentina

alejandra_capozzo@yahoo.com.ar

El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) ha causado considerables pérdidas en la industria ganadera. Para controlar esta enfermedad, es crucial eliminar los animales persistentemente infectados (PI) que propagan el virus y reducen la eficacia de la vacunación. Aunque la relevancia de abortos por el VDVB es bien conocida en Argentina, el país carece de programas de control.

En este estudio trabajamos en dos tambos localizados en San Cristóbal, Santa Fe, con 1150 animales que presentaban fallas reproductivas asociadas al VDVB. La tasa de abortos era del 28 % y la tasa de concepción post-inseminación del 25 %. Se investigó la factibilidad de controlar el VDVB mediante segregación de animales PI seguido de inmunización de toda la población no-PI con una vacuna comercial inactivada. Los animales PI fueron diagnosticados mediante identificación de genoma viral por RT-nested-PCR en muestras de suero. El análisis serológico para detectar anticuerpos contra la proteína no-

estructural NS3 (PrioCHECK™ BVDV-Ab) estableció una seroprevalencia del 58.4 % y una tasa de animales PI del 2.4 %. Los animales PI fueron segregados, y el resto fue inmunizado con dos dosis de una vacuna comercial cada 21 días, revacunándolos anualmente durante 2 años. Luego de la revacunación los niveles de anticuerpos neutralizantes fueron significativamente superiores a los valores pre-inmunes ($p < 0.05$). Se mantuvo el monitoreo serológico y el diagnóstico molecular a todo ingreso (incluyendo semen y neonatos) por dos años, verificando la cobertura inmunológica del rodeo y la ausencia de virus circulante. Esta intervención mejoró los parámetros productivos de los tambos, reduciendo a la mitad la tasa total de abortos y aumentando un 40 % la tasa de concepción en condiciones de campo. Este es el primer estudio controlado para el manejo de las infecciones causadas por el VDVB utilizando diagnóstico y aplicando vacunación en ausencia de animales PI realizado en la República Argentina.

EVALUACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *MINTHOSTACHYS VERTICILLATA* NANOENCAPSULADO COMO POTENCIAL ADYUVANTE EN VACUNAS DE ADMINISTRACIÓN ORAL

ASSESSMENT OF NANOENCAPSULATED *MINTHOSTACHYS VERTICILLATA* ESSENTIAL OIL AS A POTENTIAL ADJUVANT IN ORAL ADMINISTRATION VACCINES

Montironi ID¹, Roma DA², Arsaute S^{1*}, Pinotti A³, Cecchini ME¹, Mura N⁴, Mañas F², de Moreno de LeBlanc A⁵, Alustiza FE³, Bellingeri RV⁴, Cariddi LN¹

¹Instituto de Biotecnología Ambiental y de la Salud (INBIAS) - CONICET- Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

²Instituto de Ciencias Veterinarias (INCIVET) - CONICET- Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

³INTA EEA Marcos Juárez, Marcos Juárez, Córdoba, Argentina

⁴Instituto de Investigaciones en Tecnologías Energéticas y Materiales Avanzados (ITEMA) - CONICET- Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. CERELA-CONICET, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina

sofi.arsaute@gmail.com

El aceite esencial (AE) de *Minthostachys verticillata* posee actividad adyuvante. Recientemente demostramos que la administración oral de AE en ratones mantuvo un ambiente tolerogénico en la mucosa intestinal. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la administración oral del AE libre y nanoencapsulado (AEn) en lechones destetados. Treinta y seis lechones destetados se distribuyeron aleatoriamente en seis grupos de seis animales cada grupo (n=6). Cada grupo recibió AE o AEn por vía oral durante 30 días consecutivos. Grupo 1: Control (no tratado), Grupo 2: Control vehículo (Tween80 0,75 % v/v, Span60 0,25 % p/v y agua desionizada 99 % v/v). Grupo 3: AE (10 mg/kg/día). Grupos 4-6: AEn (2,5, 5 y 10 mg/kg/día). Se evaluaron parámetros histológicos, hematológicos, citoquinas, marcadores oxidativos y células T CD4⁺/CD8⁺. Se evaluó la composición de la microbiota intestinal mediante extracción de ADN de contenido intestinal amplificando las regiones V3-V4 del gen 16S del ARNr bacteriano por PCR. AEn

no alteró la morfofisiología de los órganos digestivos y disminuyó las concentraciones de malondialdehído en hígado y riñón (p<0,05), resultando más seguro que AE. No se observaron diferencias en el recuento de leucocitos totales, sin embargo, los grupos tratados con AEn mostraron un incremento en la relación de células T CD4⁺/CD8⁺ (p<0,001). Los niveles de TNF-α e IL-1β no se modificaron, sin embargo, AEn indujo los niveles más altos de IL-10 (p<0,01). Los resultados mostraron que AEn administrado por vía oral a lechones destetados fue más seguro que AE y mantuvo una respuesta inmune tolerogénica. El estudio de la microbiota mostró disminución de la diversidad bacteriana en los grupos tratados con AE, aunque AEn incrementó la abundancia de las familias *Fusobacteriaceae* y *Clostridiaceae*, compartiendo similitudes con el grupo control. En futuros estudios evaluaremos el efecto adyuvante de AEn en vacunas de administración oral basadas en microorganismos causantes de diarrea porcina.

ÓPTIMOS EXACTOS MARGINALMENTE RESTRINGIDOS APLICADOS A ENSAYOS EXPERIMENTALES EN RODEOS BOVINOS LECHEROS

MARGINALLY RESTRICTED EXACT OPTIMAL DESIGNS APPLIED TO EXPERIMENTAL TRIALS IN DAIRY CATTLE HERDS

Miotti C¹, Cicotello J¹, Camussone C¹, Molineri A¹, Signorini M¹, Hernández L²

¹Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (IDICAL) (INTA-CONICET). Rafaela, Santa Fe. Argentina

²Consultora Estadística. Rosario, Santa Fe. Argentina

miotti.camila@inta.gob.ar

Generalmente, en los diseños experimentales que involucran animales se consideran las variables que pueden estar bajo control del experimentador mientras que las que no, se registran sólo para ser incluidas en el análisis de los datos resultantes. Para estas situaciones, los diseños óptimos marginalmente restringidos resultan atractivos ya que asignan los tratamientos a las unidades experimentales considerando alguna información de las variables no controlables, de manera tal de obtener la mayor información acerca del modelo que se asume para la respuesta de interés. En un trabajo previo de nuestro grupo se evaluó a campo la capacidad de protección de un inmunógeno frente a infecciones intramamarias bovinas naturales causadas por *Staphylococcus aureus*. En dicho contexto, se trabajó con bovinos (vacas y vaquillonas), que se dividieron en dos grupos de tratamiento (control vs. vacunado), y entre las variables registradas se evaluó el recuento de células somáticas y la producción diaria de leche. En este trabajo se utilizó la información generada previamente con el

objetivo de obtener diseños óptimos exactos marginalmente restringidos (*DOEMR*) para ensayos que involucran un factor controlable (vacunado/control) y dos variables no controlables: categoría del animal (vaca/vaquillona) y producción de leche (alta/baja). Se desarrollaron funciones en R que implementan una adaptación del algoritmo de intercambio de coordenadas. Se simuló *DOEMR* para distintos tamaños de muestra y modelos. En términos de *d-eficiencia*, se observó que el *DOEMR* resultó más eficiente que el diseño que asigna aleatoriamente mitad tratados dentro de la variable categoría animal, permitiendo obtener estimaciones más precisas para un mismo tamaño de muestra. Además, el diseño *DOEMR* requirió hasta un 15 % menor de animales, para obtener la misma precisión en las estimaciones que un diseño factorial tradicional. Estos diseños resultan atractivos para ensayos con animales de experimentación ya que permiten adaptar la disponibilidad de material experimental, optimizando los resultados.

EXPOSICIÓN DE UN EPITOPE NEUTRALIZANTE DEL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA EN PARTÍCULAS SIMILARES A VIRUS QUIMÉRICAS DEL VIRUS DE LA RABIA

FOOT-AND-MOUTH DISEASE VIRUS NEUTRALIZING EPITOPE DISPLAYED ON RABIES CHIMERIC VIRUS-LIKE PARTICLES

Garay ES^{1*}, Fontana D^{1,2}, Leschiutta L¹, Kratje R², Prieto C¹

¹Laboratorio de Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Santa Fe, Argentina

²Laboratorio de Cultivos Celulares, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Del Litoral. Santa Fe, Santa Fe, Argentina

egaray@fbc.unl.edu.ar

Las partículas similares a virus (VLPs) poseen una estructura semejante a un virus, pero no poseen material genético en su interior y por lo tanto son bioseguras. Su elevada inmunogenicidad y versatilidad a nivel productivo las vuelve candidatos vacunales interesantes, siendo además capaces de exponer epítopo heterólogos en su superficie (VLPs quiméricas, cVLPs). En nuestro laboratorio desarrollamos previamente una VLP del virus de la rabia que contiene la glicoproteína de dicho virus (RVG), por expresión recombinante en células HEK293. Las mismas son altamente inmunogénicas, siendo capaces de producir una respuesta neutralizante protectora en animales. La finalidad del presente trabajo fue evaluar la capacidad de estas VLPs para exponer epítopos en su superficie, de manera de establecer una nueva plataforma de presentación antigénica con fines vacunales. Como modelo de epítopo heterólogo se seleccionó el péptido G-H loop del virus de la fiebre aftosa (FMDV, serotipo A/Arg/2001), siendo el principal blanco de

anticuerpos neutralizantes viral. Para no alterar la correcta estructura y trimerización de RVG, se identificaron tres regiones con baja conservación entre glicoproteínas de Lyssavirus y en zonas de loops expuestas al solvente como sitios de inserción (S0, SI y SII). Se insertó la secuencia G-H loop en cada uno de ellos, y las construcciones se expresaron como proteínas de fusión en células HEK293. Las mismas se localizaron correctamente en la membrana plasmática, siendo detectadas con anticuerpos anti-RVG y anti-FMDV. A su vez, fueron capaces de brotar al sobrenadante de cultivo formando cVLPs que exponen el epítopo heterólogo en su superficie. Finalmente, se evaluó la inmunogenicidad de las mismas en ratones, y dos de dichas cVLPs fueron capaces de inducir anticuerpos hacia el epítopo heterólogo (S0 y SII), así como anti-RVG. Estos resultados sientan la base para una nueva plataforma de presentación antigénica con fines vacunales.

EVALUACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD Y EFICACIA VACUNAL DE TRES ANTÍGENOS DE *RHIPICEPHALUS MICROPLUS*

ASSESSMENT OF THE IMMUNOGENICITY AND VACCINE EFFICACY OF THREE *RHIPICEPHALUS MICROPLUS* ANTIGENS

López-Díaz DG* ^{1,2}, Pérez-Soria MM¹, Ocampo-Jiménez R³, Mosqueda J¹

¹Laboratorio de Investigación en Inmunología y Vacunas, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México

²Programa de Maestría en Salud y Producción Animal Sustentable. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, México

³Campo Experimental "Valle del Guadiana". Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Durango, México

dlopez99@alumnos.uaq.mx

Las garrapatas *Rhipicephalus microplus* son los ectoparásitos más dañinos para la ganadería tropical. En México, su impacto económico se estima en pérdidas anuales de 573.6 millones de dólares, sin considerar el costo derivado de las enfermedades que transmiten. La excesiva dependencia en acaricidas como principal método de combate a garrapatas, ha propiciado la aparición de cepas resistentes, a la vez que contribuye a la contaminación ambiental y de los subproductos animales. Derivado de lo anterior, se han propuesto nuevas estrategias que ayuden en el control del parásito, como el uso de vacunas, las cuales se han señalado como alternativas sustentables y efectivas. Con el propósito de identificar nuevas moléculas como candidatos vacunales, se evaluaron las proteínas VDAC, Voraxina y Quitinasa, a partir de las cuales se diseñaron 12 péptidos con epítopos B predichos, 4 por cada proteína. Estos péptidos fueron evaluados para determinar su inmunogenicidad individual inmunizando dos bovinos con 100 µg de cada péptido, en

un protocolo de cuatro inoculaciones a intervalos de 21 días, utilizando un adyuvante comercial. Solo los péptidos inmunogénicos fueron seleccionados para ser utilizados en un experimento de eficacia vacunal. Para esto, dos bovinos fueron inmunizados 3 veces cada veintidós días utilizando un adyuvante comercial con cada péptido e infestados con 10 000 larvas de *R. microplus* cepa Media Joya. El péptido Chitinasa 3 exhibió la mayor eficacia (71 %), afectando principalmente la supervivencia y oviposición de hembras, así como la viabilidad de las larvas. Por otro lado, se obtuvieron eficacias inferiores con los péptidos Voraxina 3 (51 %), VDAC 3 (40 %) y Voraxina 4 (27 %). Con este trabajo, se demostró que estas proteínas contienen péptidos con epítopos B inmunogénicos, y los anticuerpos generados son capaces de afectar significativamente parámetros biológicos de *R. microplus*. Estos resultados indican que estos péptidos pueden ser integrados en vacunas multiantigénicas.

VACUNAS DE NUEVA GENERACIÓN CONTRA EL VIRUS DE LA FIEBRE AFTOSA: UNA ESTRATEGIA PARA UNA PRODUCCIÓN SUSTENTABLE

NEW GENERATION VACCINES AGAINST FOOT AND MOUTH DISEASE VIRUS: A STRATEGY FOR SUSTAINABLE PRODUCTION

Lobo Gaitán FB¹; González-Mora, RD²; Arneodo Larochette, JD^{2,3}; Taboga O²; Marrero Díaz de Villegas R^{1,2}; Igarza RC³; Gismondi MI²; Molinari MP*

^{1,2}Universidad Nacional de Moreno, Moreno, Buenos Aires, Argentina

²Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Castelar, Buenos Aires, Argentina

³Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Castelar, Buenos Aires, Argentina

*molinari.maria@inta.gob.ar

La fiebre aftosa es una enfermedad que afecta ganado de importancia económica para el país. Es causada por un picornavirus, el virus de la fiebre aftosa (FMDV). Las vacunas inactivadas empleadas en la actualidad, aunque efectivas, conllevan importantes desventajas relacionadas a la manipulación de grandes masas virales. El objetivo del presente trabajo es investigar en el desarrollo de cápsides vacías recombinantes del FMDV empleando un sistema de producción en larvas de lepidópteros. Para esto, se utilizó el baculovirus recombinante AcP1-2A-3C fs, previamente desarrollado en el laboratorio, el cual produce cápsides vacías convencionales del serotipo A/Arg/2001. Este baculovirus expresa la construcción P1-2A-3C fs que codifica para el precursor P1-2A de las proteínas de cápside, de la proteína no estructural 2A y la proteasa 3Cpro desfasada del marco de lectura por una secuencia frameshift para disminuir la toxicidad conferida por la expresión de la proteasa 3C. Los baculovirus recombinantes

fueron caracterizados por titulación a punto final generando los bancos maestros de trabajo. Por otro lado, se obtuvieron larvas de *Rachiplusia nu* y se crecieron en condiciones controladas. Para estandarizar los parámetros de infección, se emplearon larvas homogéneas en las mismas etapas de desarrollo. La infección se realizó al primer día de estadio pupa. Las mismas, fueron inoculadas con una inyección de 10 µl de 1×10^6 ufp. El sobrenadante se cosechó a los 5 días post infección y 6 el material obtenido se clarificó por centrifugación. Las cápsides se concentraron por colchón de sacarosa 30 % y se purificaron por sedimentación sobre gradientes de sacarosa 15-45 % por ultracentrifugación. Como resultado, se encontró una correcta expresión de las proteínas VP0, VP3 y VP1 constituyentes de cápsides al analizar cada fracción del gradiente mediante Western Blot. Esta estrategia presenta buenas perspectivas para una rápida producción de cápsides en un sistema escalable económico, seguro y sustentable.

EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS INMUNOGÉNICAS DE UN FRAGMENTO RECOMBINANTE DE LA TOXINA EPSILON DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* TIPO D

EVALUATION OF THE IMMUNOGENIC CHARACTERISTICS OF A RECOMBINANT EPSILON TOXIN FRAGMENT FROM *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* TYPE D

Manfredi MJ^{1*}, Larsen AE^{1,2}, Barragán JH², Mortola EC^{1,2}, Sguazza GH¹

¹Centro de Microbiología Básica y Aplicada (CEMIBA). Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (UNLP) La Plata, Buenos Aires, Argentina

²Cátedra de Inmunología 2da Parte. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. La Plata 1900, Buenos Aires, Argentina

maurojmanfredi@gmail.com

La proteína ϵ (proteína ETX) es una potente toxina formadora de poros producida por *Clostridium perfringens* sintetizada en forma de protoxina inactiva en los toxinotipos B y D que se activa en el intestino causando la enterotoxemia, una enfermedad mortal principalmente en pequeños rumiantes. Por lo tanto, la inmunoprofilaxis es el único método para evitar la muerte de animales y la consecuente pérdida económica. Las vacunas comúnmente usadas, al ser formuladas como anavacunas presentan mayor riesgo de producir accidentes vacunales, y su producción conlleva un riesgo biológico al manipular tanto al microorganismo como la toxina per se, particularmente en el momento del filtrado antes de su inactivación. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue la obtención y caracterización de la toxina ϵ recombinante en un sistema de expresión en *Pichia pastoris* que potencialmente podría ser utilizada como inmunógeno. Para ello se desarrollaron dos versiones de la toxina recombinante: ϵ truncada (ϵ ETXt) y ϵ mutada (ϵ

ETXm) aplicando un cambio H106P que genera una proteína atóxica. Una vez obtenidas ambas proteínas, se optimizó su expresión en cultivos a baja y alta escala (fermentador). Posteriormente, los polipéptidos recombinantes, junto con la toxina ϵ nativa de *C. perfringens* (control positivo) fueron analizados por Western blot para evaluar su antigenicidad, empleando un suero policlonal anti toxina ϵ . Al revelado del Western blot, el suero policlonal reconoció a los tres antígenos evidenciando bandas específicas con un peso molecular de 28 KDa según lo esperado. En función de estos resultados, el sistema de expresión en *P. pastoris* permitiría la obtención de proteínas antigénicas que podrían ser utilizadas en la formulación de vacunas de nueva generación para el control de la enterotoxemia. Si bien los resultados obtenidos hasta el momento son alentadores, aún son necesarias pruebas *in vivo* para analizar su toxicidad e inmunogenicidad.

ESTUDIO DEL EFECTO PROTECTOR DEL CANDIDATO VACUNAL MVA-VP2 PARA LA ENFERMEDAD DE GUMBORO

STUDY OF THE PROTECTIVE EFFECT OF THE VACCINE CANDIDATE MVA-VP2 FOR GUMBORO DISEASE

Rizzi L¹, Jatón J¹, Lucero MS¹, De Rosa J¹, Pinto S², Berinstein A¹, Chimeno Zoth S¹, Gómez E¹

¹Laboratorio de Inmunología y Vacunas Aviares, Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

²Cátedra de Patología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

rizzi.lucia@inta.gob.ar

La enfermedad de Gumboro es una patología altamente contagiosa que afecta a pollos jóvenes, produciendo inmunosupresión. Es causada por el virus de la enfermedad infecciosa de la bursa (IBDV). Su control es esencial para el manejo de la producción avícola, dado que su persistencia puede ocasionar grandes pérdidas económicas. Previamente, se inmunizaron pollos libres de patógenos específicos (SPF) de 7 días de vida con el candidato vacunal MVA-VP2 (virus Vaccinia Ankara Modificado con la secuencia codificante para la proteína VP2 de IBDV). Una única dosis de MVA-VP2 de 5×10^5 UFP, por vía intramuscular, protegió ante el desafío con IBDV. Con el objetivo de evaluar si el candidato vacunal era eficaz en presencia de anticuerpos maternos, se realizó un ensayo en pollos comerciales no SPF que presentaban inmunidad pasiva adquirida de madres con anticuerpos anti IBDV. Para ello, se repitió el esquema vacunal utilizando MVA-VP2 y un MVA-GFP como control de

antígeno no relacionado, un grupo control de animal sano, y otro control de la infección (cada grupo conformado por 15 animales). Tres semanas posvacunación, los animales fueron desafiados con un aislamiento de campo de IBDV, y a los 7 días fueron sacrificados para la obtención de muestras de tejido de bursa. Se determinó la relación bursa-cuerpo, parámetro indicador del grado de atrofia de la bursa, y la carga viral por qPCR. Los parámetros evaluados no presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los grupos MVA-VP2 o MVA-GFP indicando que en las condiciones ensayadas el candidato no resulta eficaz. Las dosis utilizadas en el experimento con pollos SPF pueden no ser extrapolables a los animales no SPF, dado que poseen distinta genética y condiciones de base. Considerando esto, se plantea a futuro la evaluación del candidato vacunal en distintas condiciones de inmunización y desafío, analizando la posibilidad de aumentar la dosis de vacuna.

DISEÑO RACIONAL DE INMUNÓGENOS MULTIEPITOPE PARA LA PRODUCCIÓN DE SUEROS ANTI-ALACRÁN MEDIANTE VACUNOLOGÍA INVERSA DEL VENENO DE ESPECIES DE RELEVANCIA SOCIOSANITARIA

RATIONAL DESIGN OF MULTI-EPITOPE IMMUNOGENS FOR THE PRODUCTION OF ANTI-SCORPION SERA BY REVERSE VACCINOLOGY OF THE VENOM OF SPECIES WITH PUBLIC HEALTH INTEREST

Veiravé* A¹, Bulatovich S¹, Machtey M², Schierloh P^{2,3}

¹ Licenciatura en Bioinformática, Facultad de Ingeniería (FING), Universidad Nacional de Entre Ríos (UNER)

² Laboratorio de Salud y Bienestar Integral (LaSBI), FING UNER

³ Instituto de I+D+i en Bioingeniería y Bioinformática (IBB)-UNER-CONICET

pschierloh@ingenieria.uner.edu.ar

El establecimiento de poblaciones partenogenéticas de escorpiones sinantrópicos del género *Tityus* favorecido por el cambio climático y las condiciones habitacionales empobrecidas, ha incrementado la incidencia de alacranismo en los principales centros urbanos del país. Frente a una demanda creciente de antisueros para foboterapia, las fuentes naturales de antígeno presentan severas limitaciones de disponibilidad y estandarización por lo que el objetivo del trabajo fue diseñar *in silico* un inmunógeno multiepitope contra las principales neurotoxinas del veneno. Partiendo de 405 secuencias aminoacídicas (NCBI) de las especies de la región toxinológica III (sudeste de Brasil+Uruguay+Argentina) se seleccionaron por bibliometría 10 toxinas con mayor potencial patogénico en mamíferos (ligandos de canales de Na⁺ y K⁺). Combinando las estructuras 3D experimentales (PDB) o modeladas (AlfaFold2 DB) con toxicología experimental (Pubmed) y predictores basados en redes neuronales (DiscoTope3, ClusPRO), se definieron 4 epítopes neutralizantes conservados en todas las especies y con amplia cobertura funcional. Para la

construcción del ORF multiepitope se alternaron secuencias parciales de las toxinas Ts1, Ts2, Ts5 y Ts10 con 6 epítopes promiscuos TCD4 seleccionados mediante análisis *in silico* (NetMHCIIpan) empleando como receptores MHC-II los alelos DR1, DR2 y DR3 de los haplotipos más frecuentes en caballos criollos (IPD-MHC) a partir de una base de 75 péptidos empíricamente probados en caballo (IEDB). A modo de adyuvantes genéticos, se adicionó una secuencia de reconocimiento por TLR2 río abajo del péptido señal y por TLR4 en el extremo CO2-terminal. Sobre la secuencia del constructo maduro (escindido del péptido señal) se calculó PM (31155.77), PI (8.18) y solubilidad (0.41). La estructura 3D fué modelada (I-Tasser-MTD) para corroborar antigenicidad (DiscoTope3, ELiPRO), alergenidad (AllerCatPRO) y realizar docking rígido proteína-proteína (ClusPRO) verificando la interacción del constructo contra TLR2/1(6NIG) y TLR4/MD2(3VQ2). Este trabajo propone una nueva estrategia de diseño de inmunógenos para antivenenos de artrópodos.

SESIÓN IV. DIAGNÓSTICO

DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS BOVINA UTILIZANDO UN REACTIVO RECOMBINANTE CUTÁNEO

DIAGNOSIS OF BOVINE TUBERCULOSIS USING A RECOMBINANT SKIN REAGENT

Gatto M^{1,3*}, Ferrero S¹, Argüelles C², Paolazzi C³, Helguera G¹

¹Laboratorio de Biotecnología Farmacéutica, Instituto de Biología y Medicina Experimental (IByME-CONICET), Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

²Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos Malbrán" (ANLIS), Instituto Nacional de Producción de Biológicos (INPB), Departamento Reactivos Diagnósticos, Servicio Derivados de Micobacterias, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

³Agropharma Salud Animal, Moreno, Buenos Aires, Argentina

gustavoh@ibyme.conicet.gov.ar

La tuberculosis bovina (bTB) es una importante enfermedad que afecta al ganado, representando un riesgo para la salud animal y con potencial zoonótico. Además, debido a su impacto en la productividad ganadera y a sus planes de erradicación, tiene una gran repercusión económica. Actualmente no existe un tratamiento aprobado para la enfermedad en bovinos, por lo tanto, la única forma de controlar la bTB es por la detección de los animales infectados. En Argentina está aceptada como diagnóstico la prueba cutánea utilizando el Derivado Proteico Purificado (PPD). Este reactivo identifica individuos infectados, sin embargo, su especificidad se ve comprometida debido a que comparte antígenos con micobacterias ambientales. El objetivo de este trabajo fue el desarrollo y evaluación *in vivo* de un reactivo recombinante de detección de bTB (RRbTB) compuesto por una proteína de fusión formada por ESAT-6 (Early Secreted Antigenic Target 6 KDa), un antígeno inmunogénico de *Mycobacterium bovis*. El

RRbTB se expresó adecuadamente en *Escherichia coli* y se purificó por afinidad. A diferencia del PPD, demostró tener una composición definida. Para evaluar la actividad biológica *in vivo* de RRbTB, se comparó su capacidad para inducir respuesta de hipersensibilidad retardada (DTH) con el PPD patrón de SENASA utilizando el modelo de cuadrado latino en cobayos. En estos ensayos RRbTB indujo la formación de halos con un diámetro igual o superior al PPD patrón. Además, mediante un ensayo de líneas paralelas se pudo establecer la dosis bioequivalente, con una potencia relativa al PPD patrón de 123 % con límites de confianza entre 102 % y 150 %. Nuestros resultados sugieren que RRbTB induce adecuadamente DTH en cobayos y podría ser utilizado como un reactivo alternativo a PPD. En próximos estudios nos proponemos evaluar su actividad biológica en rodeos con bovinos infectados con bTB para confirmar su eficacia de diagnóstico a campo.

CUANTIFICACIÓN DE H_2O_2 COMO MARCADOR DE BIENESTAR ANIMAL EN DISTINTAS ETAPAS PRODUCTIVAS DE LA PRODUCCIÓN PORCINA: PERSPECTIVAS DESDE EL ENFOQUE UNA SALUD

QUANTIFICATION OF H_2O_2 AS A MARKER OF ANIMAL WELFARE IN DIFFERENT PRODUCTION STAGES OF SWINE PRODUCTION: PERSPECTIVES FROM THE ONE HEALTH APPROACH

Mansilla FC^{1*}, Romera AS¹, Maidana S¹, Perez C¹, Capozzo AV¹

¹Instituto de Virología e Innovaciones Tecnológicas (IVIT), Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA), INTA-Consejo Nacional de Investigaciones Técnicas (CONICET)

*mansilla.florencia@inta.gob.ar

Aunque las especies reactivas de oxígeno (ROS) median distintos procesos biológicos, su exceso causa la oxidación de biomoléculas críticas para la estructura y función celular. Distintos factores físicos o medioambientales inducen estrés oxidativo, causando importantes pérdidas económicas en sistemas intensivos de producción porcina. Estos animales pueden adquirir susceptibilidad a infecciones que involucran el uso de antibióticos para su control. La detección temprana de estrés permite desarrollar estrategias para reforzar el sistema inmune, reduciendo el uso de antibióticos y el consecuente riesgo de resistencia antimicrobiana (RAM). Desarrollamos y validamos un método rápido, económico y de alto rendimiento para cuantificar la producción de H_2O_2 (ROS) en muestras de suero basado en reacción del TMB y la peroxidasa. Se evaluaron 180 muestras de cerdos en distintos momentos del proceso productivo (al destete, al ingresar a engorde o al llegar al matadero; n=50 en cada grupo). Estos mantuvieron la misma densidad y el mismo tipo de alimentación. Un grupo de animales (n=30)

de un campo experimental fue usado como control. Las muestras se incubaron con TMB/peroxidasa y se determinó la densidad óptica (OD450nm). La presencia de H_2O_2 se cuantificó extrapolando estos valores a una curva estándar (0-1Mm).

Validamos niveles de exactitud, precisión, reproducibilidad, repetibilidad y variabilidad entre operadores y laboratorios (<30 %). Detectamos niveles basales de H_2O_2 inherentes a maniobras de sujeción durante el muestreo. No observamos diferencias con los animales en engorde. No obstante, los cerdos al destete y al llegar al matadero presentaron niveles de H_2O_2 significativamente superiores al basal (p<0,05 y 0,001; respectivamente). Proponemos el uso de un marcador bioquímico que fácilmente permita identificar puntos críticos de incremento de estrés para intervenir con una alternativa de mejora de bienestar animal en sistemas intensivos de producción porcina; contribuyendo a reducir RAM y la presencia de radicales libres en productos para consumo humano.

INMUNODIFUSIÓN RADIAL COMO PRUEBA ALTERNATIVA PARA TITULAR SUEROS HIPERINMUNES Y CALOSTROS DE EQUINOS INMUNIZADOS CONTRA *RHODOCOCCLUS EQUI*

RADIAL IMMUNODIFFUSION AS AN ALTERNATIVE TEST TO TITRATE HYPERIMMUNE SERA AND COLOSTRUM FROM HORSES IMMUNIZED AGAINST *RHODOCOCCLUS EQUI*

Oroño C^{*1}, Castañares M³, Borges P³, Barragán JH⁴, Manfredi M^{1,2}, Mortola E^{1,2}, Larsen A^{1,2}

¹Laboratorio de Inmunología Veterinaria

²CEMIBA (Centro de Microbiología Básica y Aplicada) Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

³Haras Rio Dois Irmaos, Pilar, Buenos Aires, Argentina

⁴Cátedra Inmunología 2ª parte, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Buenos Aires, Argentina

alelarsen@fcv.unlp.edu.ar

Rhodococcus equi (*R.equi*) es la causa más común de neumonía en potrillos de 3 semanas a 5 meses de edad. Su prevención se basa en la inmunoprofilaxis de las madres para generar un calostro de alta calidad inmunológica y asegurar una transferencia pasiva exitosa. Sin embargo, la vacunación de las madres como única medida de prevención no es siempre efectiva, por falta de respuesta de algunas yeguas y la rápida disminución de anticuerpos maternos en los potrillos. A esta medida, se le suma la administración de suero hiperinmune anti-*R.equi* (SHI-*R.equi*), tanto comerciales como caseros, al momento de nacer y posteriormente una o dos veces más a intervalos de 15 a 20 días. La producción de SHI casero tiene como limitación la utilización de la vacuna con el agregado o no de adyuvante oleoso como inóculo de una serie de inmunizaciones, lo que resulta en un suero de bajo título al que no se puede denominar hiperinmune. Por esto, es

esencial la titulación de estos sueros inmunes anti-*R.equi* (SI-*R.equi*) caseros teniendo en cuenta la variabilidad de la respuesta a las vacunaciones de los animales dadores. El objetivo del presente trabajo fue adecuar una prueba de inmunodifusión radial (IDR-*R.equi*) como herramienta de titulación alternativa al ELISA, plausible de ser realizada en un laboratorio de baja complejidad en el propio haras. El antígeno comercial para inmunodifusión en gel de agar para diagnóstico se sembró en el pocillo central de un portaobjetos que contenía agar con la muestra. Como muestra problema se utilizaron SI-*R.equi* caseros titulados por ELISA de 1/10.240 y 1/20.480, y SHI-*R.equi* comerciales de 1/10.240 y 1/5120, calostro de yeguas vacunadas de 1/1.280, 1/5.120, 1/10.240, 1/20480. La IDR-*R.equi* demostró ser de utilidad para detectar muestras con títulos mayores a 1/10.240 y 1/20.480, con halos bien definidos de 4 mm y 8 mm respectivamente.

INMUNOMARCACIÓN DEL RECEPTOR DE ESTRÓGENO ACOPLADO A PROTEÍNA G DURANTE LA GESTACIÓN PORCINA

IMMUNOLABELING OF G-PROTEIN COUPLED ESTROGEN RECEPTOR DURING SWINE PREGNANCY

Canovas ML^{1*}, Roth KN¹, Etcheverry B¹, Devaux L¹, Garcia MG¹, Lacolla DV¹, Velez CL^{1,2}, Williamson DM¹, Viglierchio MdC¹

¹Facultad Ciencias Veterinarias-Universidad Nacional de La Pampa, La Pampa. Argentina

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

*lorenacanvas92@gmail.com

La acción de los estrógenos se describe asociada a receptores nucleares cuya función es como factor de transcripción promovido por ligando. Sin embargo, el estradiol también media eventos de señalización rápidos que involucran receptores transmembrana como el receptor de estrógeno acoplado a proteína G (GPER). El objetivo fue analizar la expresión de GPER en interfase feto-materna porcina de diferentes períodos gestacionales. Se utilizaron úteros de cerdas no gestantes, placentas de 17-20, 30-35, 60-70 días de gestación (dg). La expresión de GPER se realizó por inmunoperoxidasa indirecta sobre cortes histológicos de muestras de útero no gestante y placentas mencionadas. Los resultados se expresaron de un modo semicuantitativo en epitelio materno y trofoblasto en función de la coloración detectada, (-)= negativo, (+)= positividad leve, (++)= positividad moderada y (+++)= positividad fuerte. Además, se cuantificó la inmunomarcación, determinando el porcentaje de área inmunomarcada (%AIM) con el software

ImageJ. Se realizó el análisis estadístico (ANOVA y Test de Tukey) considerando resultados significativos con un $p < 0,05$. En epitelio endometrial se observó expresión de GPER en los períodos estudiados (17-20 dg= ++; 30-35 dg y 60-70 dg= +), en trofoblasto se expresó con positividad moderada (++) en todos los períodos analizados. Con respecto al %AIM de GPER en cerdas de 17-20, 30-35 y 60-70 días de gestación, no se observó diferencias significativas en el epitelio endometrial (27,18 %; 31,55 % y 32,93 % respectivamente), mientras que en el trofoblasto se evidenciaron diferencias significativas a medida que avanza la gestación (18,16 %; 31,97 % y 42,34 % respectivamente). La inmunomarcación de GPER en epitelio endometrial y trofoblasto acuerdan con el rol de estos receptores en modular vías de señalización que intervienen en la implantación y en la remodelación de las vellosidades placentarias necesarias para acompañar el crecimiento exponencial de los fetos que se da a partir de los 70 días de gestación.

EVIDENCIA SEROLÓGICA DE *TRYPANOSOMA VIVAX* EN ESTABLECIMIENTOS LECHEROS DE ARGENTINA

SEROLOGICAL EVIDENCE OF *TRYPANOSOMA VIVAX* IN DAIRY FARMS IN ARGENTINA

Bontempi I^{1*}, Castro GV¹, Pujato N¹, Allassia M², Greif G⁴, Arias D³, Marcipar I¹

¹Laboratorio de Tecnología Inmunológica, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina

²Hospital de Salud Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina

³Laboratorio de Enzimología Molecular, Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL), Santa Fe, Argentina; Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina

⁴Laboratorio de Interacciones Hospedero-Patógeno/Unidad de Biología Molecular, Instituto Pasteur de Montevideo. Montevideo, Uruguay

* iabontempi@gmail.com

La Tripanosomiasis Bovina (TB) es una enfermedad que afecta al ganado bovino presentando signos clínicos como fiebre intermitente, anemia, aborto, pérdida de peso e incluso la muerte. En América del Sur es causada principalmente por el protozoo *Trypanosoma vivax* (*T. vivax*) y si bien fue reportada por primera vez en Argentina en Formosa en el 2006, su impacto en la cuenca lechera fue notable a partir del 2015. En Argentina no existen tests diagnósticos serológicos comerciales y hasta la fecha no se ha realizado un estudio serológico para determinar el alcance de la enfermedad en nuestro país. Previamente, nuestro grupo de trabajo desarrolló un ensayo de ELISA indirecto, el ELISA TvISG, que emplea dos proteínas de superficie de *T. vivax* y que tuvo una alta performance para la detección de la TB (Sensibilidad= 87 %, Especificidad= 94 %). En este trabajo aplicamos el ELISA TvISG para estudiar la frecuencia de la TB en la cuenca lechera Argentina. Para esto se

recolectaron 892 muestras de sangre de vacas lecheras, entre enero del 2021 y enero del 2023, provenientes de 40 establecimientos lecheros con denuncia de casos de *T. vivax* de las provincias de Santa Fe y Córdoba. Las muestras se procesaron mediante el ELISA TvISG, obteniendo un total de 472 muestras positivas (53 %). Los mayores porcentajes de positividad se observaron en el departamento de San Justo, Córdoba (69 %), y el departamento de San Cristóbal, Santa Fe (68 %). Los demás departamentos evaluados variaron del 21 al 55 %. Este es el primer trabajo de serodiagnóstico de *T. vivax* en nuestro país. Concluimos que la región de la cuenca lechera está siendo afectada fuertemente por la TB, señalando la importancia de tomar medidas preventivas de contención y control, para evitar la propagación de la enfermedad y aminorar las pérdidas económicas.

SEROPREVALENCIA MUNDIAL DE LA INFECCIÓN CONGÉNITA CON *NEOSPORA CANINUM* EN RUMIANTES: UN METANÁLISIS

GLOBAL SEROPREVALENCIE OF *NEOSPORA CANINUM* CONGENITAL INFECTION IN RUMINANTS: META-ANALYSIS

Mendoza-Morales LF¹, Filgueira S¹, Corigliano MG¹, Ramos Duarte VA², Sánchez A², Clemente M², Sander VA¹

¹Laboratorio de Biotecnologías en Bovinos y Ovinos. Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECh), CONICET. Escuela de Bio y Nanotecnologías, Universidad Nacional de San Martín. Chascomús, Buenos Aires, Argentina

²Laboratorio de Molecular Farming y Vacunas. Instituto Tecnológico de Chascomús (INTECh), CONICET. Escuela de Bio y Nanotecnologías, Universidad Nacional de San Martín. Chascomús, Buenos Aires, Argentina

*lfmendozam@intech.gov.ar

La neosporosis es considerada una de las mayores causas de abortos en el ganado bovino y estudios recientes sugieren que lo sería en pequeños rumiantes. La transmisión vertical de *Neospora caninum* representa la principal forma de infección y mantenimiento de la enfermedad en bovinos. Con el objetivo de estimar la seroprevalencia de la infección congénita con *N. caninum* en rumiantes (bovinos, ovinos y caprinos) realizamos una revisión sistemática y posterior metanálisis. Para ello, llevamos a cabo una estrategia de búsqueda y recolección de datos en 7 bases de datos internacionales, registrada en PROSPERO (CRD42022343547). Accedimos a un número final de 71 artículos publicados entre 1993 y 2022, incluyendo datos provenientes de 22 países en distintos continentes. Se empleó el modelo de efectos aleatorios y el software MetaXL 2.0. Encontramos que la seroprevalencia mundial de la infección congénita con *N. caninum* en rumiantes es

del 25 % (IC95%, 22-30) y los datos incluidos muestran una alta heterogeneidad ($Q = 2385$, $I^2 = 95\%$, $P < 0.001$), sin diferencias al analizar a cada especie de manera individual (en bovinos 25 %, IC 95% 21-29; en ovinos 25 %, IC95%, 13-38 y en caprinos 35 %, IC 95%, 13-60). El metanálisis de subgrupos según continentes mostró que la seroprevalencia de la infección congénita en rumiantes en América es del 23 % (IC95%, 18-28), en Asia del 24 % (IC 95%, 9-43), en Europa del 33 % (IC 95%, 25-42) y en Oceanía del 22 % (un dato). Estos resultados demuestran la alta prevalencia global de la infección congénita con *N. caninum* no sólo en bovinos, sino también en ovinos y caprinos, lo que sugiere la relevancia de esta vía de transmisión en estas especies. Finalmente, es importante alentar la investigación sobre la neosporosis en pequeños rumiantes, ya que los datos publicados son escasos y su impacto en estos animales resulta cada vez más evidente.

IDENTIFICACIÓN DE VITRONECTINA MEDIANTE INMUNOHISTOQUÍMICA EN LA GESTACIÓN PORCINA

IDENTIFICATION OF VITRONECTIN USING IMMUNOHISTOCHEMISTRY IN SWINE PREGNANCY

Canovas ML¹, Roth KN¹, Benitez V¹, Fernandez L¹, Lacolla DV¹, Viglierchio MdC¹, Velez C^{1,2}, García M¹, Williamson D^{1*}

¹Facultad Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa. La Pampa. Argentina

²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

* dwilliamson@vet.unlpam.edu.ar

La vitronectina es una molécula de adhesión que jugaría un rol importante en el desarrollo embrionario. La cerda posee una placenta epiteliocorial y no invasiva, por lo que las moléculas de adhesión y sus ligandos participan en el correcto desarrollo de la interfase feto-materna. El objetivo de este trabajo fue determinar la expresión de vitronectina en placentas porcinas. Se recolectó úteros de cerdas no gestantes y placentas de 17, 30, 60, 70 y 114 días de gestación (dg). La expresión de vitronectina se realizó por inmunoperoxidasa indirecta sobre cortes histológicos de útero no gestante y de placentas porcinas maternas y fetales en los periodos de gestación seleccionados. Los resultados se expresaron de un modo semicualitativo en glándulas y vasos sanguíneos maternos en función de la coloración detectada, determinando que: (-)= negativo, (+)= positividad leve, (++)= positividad moderada y (+++)= positividad fuerte. A nivel de vellosidades se determinó la densidad

óptica (DO) y porcentaje área inmunomarcada (%AIM) de la inmunotinción utilizando ImageJ. En glándulas se observó expresión a nivel apical a los 17 dg (+++) y 30 dg (++) , negativizándose a los 70 dg. El contenido de algunos vasos sanguíneos maternos expresó vitronectina sólo a los 17, 30 y 60 dg (++) . El epitelio materno a los 17 dg expresó baja DO y %AIM con respecto a los demás periodos analizados y en el trofoblasto comienza a disminuir la DO y el %AIM en el transcurso de la gestación. A término no hubo expresión de vitronectina en las estructuras analizadas. Estos resultados sugieren que la vitronectina expresada a los 60 y 70 dg podría ser proveída por las secreciones glandulares y los vasos sanguíneos en los primeros estadios gestacionales. Y su ausencia al finalizar la gestación sería necesaria para permitir el desprendimiento de la placenta fetal en el momento del parto.

EVALUACIÓN DE LA REFRACTOMETRÍA EN GRADOS BRIX PARA ESTIMAR EL ESTADO DE INMUNIDAD PASIVA EN POTRILLOS NEONATOS

EVALUATION OF REFRACTOMETRY IN BRIX DEGREES TO ESTIMATE THE STATE OF PASSIVE IMMUNITY IN NEONATAL FOALS

Larsen A^{*1,2}, Corva S³, Castañares M⁴, Borges P⁴, Barragán JH⁵, Mortola E^{1,2}

¹Laboratorio de Inmunología Veterinaria

²CEMIBA (Centro de Microbiología Básica y Aplicada)

³Bioestadística Aplicada, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Buenos Aires, Argentina

⁴Haras Rio Dois Irmaos, Pilar, Buenos Aires, Argentina

⁵Cátedra Inmunología 2^a parte, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Buenos Aires, Argentina

alelarsen@fcv.unlp.edu.ar

En los potrillos neonatos, las moléculas de inmunoglobulina (Igs) calostrales se absorben a través del intestino. Una falla en la transferencia de inmunidad pasiva (FTPI) ocasiona aumento de la morbi/mortalidad de los potrillos y retraso en el crecimiento. El tratamiento de la FTPI es tiempo dependiente, por lo que la medición rápida y precisa de Igs es importante para el manejo y cuidado del recién nacido. El objetivo de este estudio fue validar el uso del refractómetro óptico Brix (ROB) para evaluar una FTPI en neonatos y comparar el nivel de concordancia con la técnica de Inmunocrito (Ic) como estándar de referencia; probado previamente por nuestro grupo frente a la electroforesis como método cuantitativo de referencia (<https://doi.org/10.1111/evj.13237>). Las muestras de suero neonatal se sometieron a la prueba de Ic, que evalúa la concentración sérica de Igs totales y se la comparó con ROB que mide los porcentajes de sólidos totales. Se estimó la concordancia

entre los resultados de ambas pruebas y se utilizó un análisis de las características operativas para seleccionar los puntos de cortes óptimos para la ROB. El rendimiento y la concordancia se evaluaron utilizando las características de la prueba en umbrales óptimos y áreas bajo la curva ROC, y calculando el coeficiente kappa de Cohen, el cual resultó ser bajo ($k = 0,31$). La sensibilidad y especificidad del ROB en el punto de corte considerado como óptimo (8,75) fue 60 y 70 %, respectivamente. Nuestros datos sugieren que, si bien el uso del ROB es de utilidad para evaluar la calidad del calostro, resultaría poco confiable para la determinación de una FTPI. La baja sensibilidad del método haría que neonatos con FTPI no sean detectados, dando lugar a falsos negativos, lo que resultaría en un alto riesgo de morbi/mortalidad de potrillos por no contar con la protección adecuada.

LA COINFECCIÓN CON ALFAHERPESVIRUS BOVINO TIPO 1 MODULA LA EXPRESIÓN DE TLR7 Y CATELICIDINAS INCREMENTANDO LA REPLICACIÓN DE *NEOSPORA CANINUM* EN CÉLULAS NEURALES

CO-INFECTION WITH BOVINE ALPHAHERPESVIRUS TYPE 1 MODULATES THE EXPRESSION OF TLR7 AND CATELICIDINS INCREASING THE REPLICATION OF *NEOSPORA CANINUM* IN NEURAL CELL

Plá N^{*1}, Burucúa M², Cheuquepán F², Moore D^{1,2}, Cobo E³, Odeón A¹, Quintana S^{4,5}, Marin M²

¹Unidad Integrada Balcarce (Facultad de Ciencias Agrarias, UNMDP/Estación Experimental Agropecuaria Balcarce, INTA), Balcarce, Buenos Aires, Argentina

²Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS) INTA-CONICET, Balcarce, Buenos Aires, Argentina

³Production Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Calgary, Canada

⁴Instituto de Investigaciones de Producción, Sanidad y Ambiente (IIPROSAM), FCEyN, UNMDP-CONICET, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

⁵Instituto de Biología Molecular Aplicada, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

*pla.natalia@inta.gob.ar

Neospora caninum, protozoo intracelular obligado, ocasiona abortos en bovinos. Evidencias seroepidemiológicas indican que las infecciones virales causantes de inmunosupresión favorecerían la manifestación clínica de la neosporosis bovina. El alfa herpesvirus bovino tipo 1 (BoAHV-1) posee efecto inmunosupresor y tropismo por células del sistema nervioso central, donde *N. caninum* establece latencia. Sin embargo, los mecanismos inmunes innatos en casos de coinfección y su efecto en la replicación de *N. caninum* son aún desconocidos. En este trabajo evaluamos el efecto de la infección con BoAHV-1 en células neurales previamente infectadas con *N. caninum* sobre la expresión del receptor tipo toll 7 (TLR7) y catelicidinas (CAMP) y la replicación de *N. caninum*. Para ello, monocapas de células de neuroblastoma humano SH-SY5Y se infectaron con la cepa NC-1 de *N. caninum* (MOI: 0,2) y, 2h después, con la cepa Cooper de BoAHV-1 (MOI: 0,1). A las 24 y 48 h,

se analizó la expresión génica de TLR7 y CAMP por RT-qPCR y se realizó el recuento en microscopio de taquizoítos intracelulares y extracelulares. La expresión de TLR7 fue inhibida en células infectadas con *N. caninum* durante 24 h ($p \leq 0,05$), pero no hubo diferencias en la coinfección con respecto al control sin infectar. Este receptor se reguló positivamente luego de las 48 h, efecto que se mantuvo en la coinfección ($p \leq 0,05$). *N. caninum* indujo la expresión de CAMP durante las primeras 24 h (12 veces, $p \leq 0,05$) y disminuyó la misma a las 48 h ($p \leq 0,05$), con respecto al control. La coinfección con BoAHV1 suprimió la inducción de CAMP a las 24 h, observándose un leve incremento a las 48 h (1,3 veces, $p \leq 0,05$). En presencia de BoAHV-1 la replicación y liberación de taquizoítos aumentó ($p \leq 0,05$). Se concluye que la modulación de la respuesta inmune innata, primordialmente con un retraso en la producción de péptidos antimicrobianos, facilitaría la replicación de *N. caninum*.

DESARROLLO DE UN TEST ELISA PARA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTIEHRlichIA CANIS

DEVELOPMENT OF AN ELISA TEST FOR DETECTION OF ANTI-EHRlichIA CANIS ANTIBODIES

Pujato N^{1,3}, Peverengo L^{1,3}, Peretti L^{2,3*}

¹Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Santa Fe, Argentina

²Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Santa Fe, Argentina

³Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Santa Fe, Santa Fe, Argentina

lperetti@santafe-conicet.gov.ar

La ehrlichiosis monocítica canina (EMC) es una enfermedad infecciosa transmitida por la garrapata *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato con distribución mundial causada por la bacteria *Ehrlichia canis* con cada vez mayor prevalencia en nuestro país. La ehrlichiosis causa signos clínicos inespecíficos como fiebre, pérdida de peso, anorexia, trastornos hemorrágicos y linfadenomegalia y tiene una alta tasa de letalidad si no es controlada a tiempo durante el estadio agudo de la infección. Actualmente en Argentina se disponen de escasas herramientas para el diagnóstico serológico. Por lo cual, el objetivo de este trabajo es desarrollar un test del tipo ELISA para detectar anticuerpos (Ac) anti-*E. canis*, que brinde una herramienta adicional para alcanzar el diagnóstico de EMC a tiempo y proceder al tratamiento adecuado. Se realizó un ensayo de ELISA indirecto empleando 2 péptidos antigénicos (Ag1 y Ag2) previamente descriptos en la literatura, un Ac primario anti-IgG canina y un Ac secundario conjugado a peroxidasa. Se

evaluaron distintas concentraciones de dichos reactivos y distintas diluciones de muestra. Los sueros utilizados fueron previamente clasificados en negativos (n=10) y presuntamente positivos (n=23), en base a signos clínicos compatibles y hallazgo de alteraciones hematológicas y bioquímicas, como presencia de estructuras compatibles con mórulas, presencia de monocitos activados y recuento de plaquetas. Las condiciones óptimas del ensayo fueron 5 ug de antígeno/pocillo, dilución suero 1/20, Ac secundario 1/5.000 y Ac conjugado 1/30.000. Se logró discriminar las poblaciones de muestras negativas de las presuntamente positivas, alcanzando una sensibilidad de 91,3 % y una especificidad de 80 % para el Ag1 y una sensibilidad de 95,7 % y especificidad de 100 % para el Ag2. Si bien se debe evaluar un mayor número de muestras, los ensayos desarrollados permiten detectar Ac anti-*E. canis* de manera adecuada, mostrando el Ag2 un mejor desempeño.

CARACTERIZACIÓN DE UN ANTICUERPO MONOCLONAL ESPECÍFICO PARA *ANAPLASMA MARGINALE*

CHARACTERIZATION OF A SPECIFIC MONOCLONAL ANTIBODY FOR *ANAPLASMA MARGINALE*

Bellezze J^{1*}, Valentini BS¹, Bosio AS¹, Amherdt PA¹, Thompson CS¹, Primo ME¹

¹Instituto de Investigación de la Cadena Láctea (IDICAL) (INTA-CONICET). Rafaela, Santa Fe. Argentina

bellezze.julio@inta.gob.ar

La aparición de brotes de anaplasmosis bovina, causadas por *Anaplasma marginale*, en zonas no endémicas ha incrementado el uso de la vacunación con *Anaplasma centrale*. Para la identificación de portadores de *A. marginale* se utilizan técnicas serológicas basadas en la detección de anticuerpos contra la proteína MSP5 de *A. marginale* (MSP5m). MSP5m presenta 91,5 % de identidad con MSP5 de *A. centrale* (MSP5c). Los ELISAs que utilizan MSP5m como antígeno no pueden diferenciar animales vacunados de infectados. El objetivo del trabajo fue producir y caracterizar un anticuerpo monoclonal (AcM) específico para MSP5m. Ratones Balb/c se inocularon con MSP5m recombinante, se seleccionó el hibridoma productor del AcM6 que reconoce MSP5m pero no MSP5c y se cultivó en medio Ex-Cell® 610-HSF. AcM6 se purificó por afinidad con proteína G-sepharose a partir de 500 mL de sobrenadante. Se determinó la concentración midiendo la absorbancia a 280 nm, el isotipo con el kit de ELISA de Isotipificación (BD

Pharmingen™) y la constante de afinidad en solución por ELISA. La región de MSP5m reconocida por AcM6 se evaluó usando quimeras MSP5m/MSP5c por ELISA indirecto y Western Blot. La presencia de anticuerpos en 41 muestras de sueros bovinos infectados con *A. marginale* dirigidos contra el mismo epítopo que AcM6 se evaluó por ELISA de competición (ELISAc) usando MSP5c para bloquear los anticuerpos dirigidos contra regiones conservadas entre ambas moléculas. El rendimiento fue 250 µg, el isotipo IgG1κ, la constante de afinidad de 2×10^{-7} M y el epítopo reconocido se ubicó entre los residuos 87-146. Se detectaron anticuerpos capaces de inhibir la unión de AcM6 a MSP5m en todas las muestras, indicando que AcM6 reconoce un epítopo inmunodominante. La obtención de un AcM que identifica un epítopo específico e inmunodominante de MSP5m es una herramienta prometedora para el desarrollo de ELISAs específicos para *A. marginale*.

OPTIMIZACIÓN DE UN ELISA BASADO EN NANOPARTÍCULAS RECOMBINANTES PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA LA ENFERMEDAD DE GUMBORO

OPTIMIZATION OF AN ELISA BASED ON RECOMBINANT NANOPARTICLES FOR THE DETECTION OF ANTIBODIES AGAINST GUMBORO DISEASE

Lucero MS¹, Rizzi L^{1*}, Jatón J¹, De Rosa J¹, Berinstein A¹, Chimeno Zoth S¹, Gómez E¹

¹Laboratorio de Inmunología y Vacunas Aviares, Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, INTA-CONICET, Hurlingham, Buenos Aires, Argentina

rizzi.lucia@inta.gob.ar

La enfermedad de Gumboro, causada por el Virus de la enfermedad infecciosa de la bursa (IBDV), es una patología altamente contagiosa que afecta a pollos jóvenes, produciendo, en los casos más severos, inmunosupresión. Su presencia puede ocasionar importantes pérdidas económicas en la industria avícola. La principal estrategia preventiva es la vacunación, la cual es monitoreada mediante inmunoensayos que detectan anticuerpos contra IBDV. Los kits de ELISA disponibles en Argentina son importados y de costo elevado, por lo cual resulta beneficioso contar con un kit nacional de igual calidad. En nuestro laboratorio desarrollamos un ELISA basado en nanopartículas recombinantes para detectar anticuerpos contra IBDV, que presentó alta sensibilidad y especificidad. El objetivo del presente trabajo fue optimizar este inmunoensayo, para igualarlo en practicidad, rapidez y reproducibilidad a los test comerciales *gold standard*. Se evaluaron distintas condiciones en cada uno de los pasos. Como resultado se

redujo el tiempo de ejecución del ELISA a la mitad, un total de 2 horas desde que se agregan los sueros. Se cambiaron las placas por strips de producción nacional. Se eliminó la utilización de suero normal equino como diluyente, y se estableció que los pasos de lavado sean con agua. Se determinó en 1:500 la dilución de los sueros a testear y en 1:50000 la del anticuerpo secundario anti-pollo conjugado a peroxidasa. Por último, se estableció el TMB como solución de revelado, que es muy sensible y permite frenar la reacción contribuyendo a la reproducibilidad del ensayo entre laboratorios. Bajo estas condiciones se evaluaron 182 sueros (112 positivos y 70 negativos) estableciéndose un nuevo punto de corte en 0,358 con una sensibilidad del 97 % y especificidad del 100 % [AUC=0,997 (0,992; 1,001)]. Las modificaciones realizadas nos permitieron generar un kit más práctico y económico para el usuario, manteniendo su alta sensibilidad y especificidad.

SESIÓN V. ENSEÑANZA DE INMUNOLOGÍA VETERINARIA

DEL LABORATORIO AL CAMPO: ARTICULACIÓN VERTICAL EN LA DOCENCIA DE INMUNOLOGÍA EN LA CARRERA MEDICINA VETERINARIA

FROM THE LABORATORY TO THE FIELD: VERTICAL ARTICULATION IN THE TEACHING OF IMMUNOLOGY IN THE VETERINARY MEDICINE PROGRAM

Cariddi LN¹, González Pereyra ML¹, Dogi CA¹, García GR¹, Pastor N¹, Montironi ID¹, Di Giacomo AL^{1*}, Magnano G², Mació M², Macías A², Sticotti E², Arsaut S¹, Cecchini ME¹

¹Área Inmunología, Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina

²Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Córdoba, Argentina.

lcariddi@exa.unrc.edu.ar

Los estudiantes de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC) cursan la asignatura Inmunología en el primer cuatrimestre de tercer año, dictada por docentes de la FCEFQyN (UNRC). Anteriormente, los prácticos se limitaban a realizar técnicas de inmunodiagnóstico que se realizaban en el laboratorio. Uno de los trabajos prácticos era el de diagnóstico inmunológico de la tuberculosis bovina, donde se abordaban desde el aula conceptos teóricos para comprender la respuesta inmune que se pone en marcha durante la prueba, la razón de su utilización y sus limitaciones. La tuberculosis bovina es una enfermedad zoonótica causada por *Mycobacterium bovis*; y en Argentina, la prueba tuberculínica realizada a campo, constituye el instrumento básico para detectar la infección en el programa de control y erradicación de la enfermedad. Desde 2018, comenzamos a articular verticalmente con la asignatura Enfermedades Tóxicas y Transmisibles de los Rumiantes (FAYV, UNRC), lo que permitió trasladar este

trabajo práctico al campo. La práctica a campo demostró ser muy positiva en el proceso de aprendizaje de los estudiantes, ya que pueden posicionarse como sujetos activos, generando una relación de reciprocidad al asumirse como futuros profesionales veterinarios, responsables de la realización e interpretación de esta prueba de diagnóstico. La comparación con cohortes anteriores, donde no se realizó la práctica a campo, denota que el trabajo con animales facilita el proceso de enseñanza y aprendizaje ya que los alumnos responden positivamente hacia lo activo, sensorial, visual y secuencial. Además, relacionan conocimientos teóricos con prácticos y adquieren capacidad para llevar a cabo pruebas de diagnóstico a campo aplicando el conocimiento en situaciones reales. Esto les brinda una experiencia valiosa que los prepara para la práctica veterinaria. Por eso es fundamental la selección de las estrategias de enseñanza para promover aprendizajes significativos y mejorar el rendimiento académico de los estudiantes.

RELATO DE UNA EXPERIENCIA EXTENSIONISTA INNOVADORA: PRÁCTICAS PROFESIONALIZANTES EN CIENCIAS VETERINARIAS PARA EL DESARROLLO DE LA AGRICULTURA FAMILIAR

REPORT OF AN INNOVATIVE EXTENSIONIST EXPERIENCE: PROFESSIONAL PRACTICES IN VETERINARY SCIENCES FOR THE DEVELOPMENT OF FAMILY FARMING

Principi GM¹, Mortola E¹, Traveria G¹, Beltrami J^{1,2}, Vela ME^{1,2}, Bona C¹, Criado M¹, Vela Gerez R¹, Butler L^{1,3}, Larsen A*¹

¹Tambo y Cerdos Sanos. Proyecto de extensión universitaria. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional La Plata. La Plata, Buenos Aires, Argentina

²Centro Educativo para la Producción Total (CEPT) n°29. Payró, Buenos Aires, Argentina. Estudiantes extensionistas

³Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

alelarsen@fcv.unlp.edu.ar

El proyecto de extensión "Tambo y Cerdos Sanos" (TyCS) de la UNLP, lleva más de una década comprometido en la formación e investigación participativa en el ámbito de la agricultura familiar (AF). Su enfoque integral se centra en apoyar a los productores de la AF y sus organizaciones nucleadas en mesas locales interinstitucionales y escuelas agrarias, de los partidos de Punta Indio, Magdalena, San Vicente, Cañuelas y áreas cercanas. La estrategia educativa del proyecto se extiende al nivel universitario, involucrando estudiantes avanzados de la carrera de medicina veterinaria y a nivel secundario, a estudiantes de los dos últimos años de CEPT de la región enfocándose en prácticas integrales relacionadas con la sanidad animal. El proyecto ha llevado a cabo talleres y prácticas veterinarias sobre enfermedades que afectan animales de producción, su diagnóstico e inmunoprofilaxis, en varios CEPT de la región, lo que nos ha llevado a convertirnos en oferentes de prácticas profesionalizantes que se realizan cada dos años desde 2018. Estas prácticas se entienden como un dispositivo pedagógico específico para la formación para el trabajo, y en el caso del proyecto TyCS, se aplican en situaciones simuladas en espacios reales para facilitar la enseñanza y el aprendizaje situados, considerando el perfil de los estudiantes de una escuela agrotécnica. Para este fin, las prácticas se llevan a cabo en el campo de la Universidad Nacional de La Plata, en el establecimiento "El

Amanecer", Vieytes, que aporta un espacio seguro para trabajar con animales certificados negativos para brucelosis y tuberculosis, y en condiciones sanitarias óptimas. Participan en las prácticas estudiantes y docentes del nivel universitario y secundario, agentes del INTA y SENASA. Las actividades incluyen prácticas veterinarias tanto en el campo como en laboratorio de "campaña" y se centran en la colaboración entre los estudiantes del proyecto y los estudiantes secundarios supervisados por docentes, nodocentes y adscriptos a la docencia extensionistas de la Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP. Las actividades incluyen maniobras como inoculación de biológicos (vacunas, tuberculina), extracción de sangre, desuerado y pruebas de diagnóstico coproparasitológico y serológico (brucelosis, leucosis enzoótica bovina y determinación de la transferencia pasiva de la inmunidad). La jornada concluye con un almuerzo comunitario y reflexiones sobre la importancia de la formación y asistencia en sanidad animal para fortalecer el sector de la AF, que desempeña un papel crucial en la producción de alimentos en Argentina. La convivencia de los actores de ambos niveles educativos resultó ser muy enriquecedora, donde los estudiantes universitarios experimentan sus aptitudes docentes y los estudiantes secundarios se adentran en actividades propias de la profesión veterinaria.